

Desarrollo del gametofito y del esporofito joven de *Niphidium crassifolium* (Filicales: Polypodiaceae s. str.)

Irma Reyes Jaramillo, Blanca Pérez-García & Aniceto Mendoza

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Biología, Apartado postal 55-535, 09340 México, D.F.

(Rec. 19-V-1995. Rev. 28-VIII-1995. Ac. 13-IX-1995)

Abstract: The germination pattern of *N. crassifolium* is *Vittaria*-type. The prothallial development is *Drynaria*-type. Young prothalli are spatulate and naked, prothalli reach maturity about 80 days after the spore germination, with the differentiation of trichomes and gametangia. The antheridia and archegonia are typical of the leptosporangiate ferns. The morphogenic development is similar to those of the many species of Polypodiaceae s.str., in particular with *Campyloneurum angustifolium*. The sporophyte appears 90 days after sowing, with trichomes similar to the observed in prothalli and with branched trichomes in the petiole.

Key words: Gametophyte, morphogenesis, *Niphidium*, prothallus, Polypodiaceae s. str.

Niphidium es un género exclusivamente Neotropical compuesto de 10 especies, que se encuentran desde las Antillas y sureste de México a Bolivia y noreste de Argentina, la mayoría andinas (Lellinger 1972, Smith 1981), son epífitas y terrestres. Se considera que presenta afinidades con helechos polipodioides, sin embargo, el género parece aislado y comparte algunos caracteres con *Campyloneurum*, del cual difiere en el patrón y posición de los soros en las venas (Tryon y Tryon 1982).

La única especie mexicana es *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger que crece como epífita o epipétrico en selvas altas perennifolias, en bosques mesófilos de montaña y en bosques de *Pinus-Quercus-Liquidambar*, desde 350 a 1700 m snm (Smith 1981).

No existe literatura referente a la morfogenénesis de la fase gametofítica de las otras especies de *Niphidium*, y lo más relevante de la fase sexual de las Polypodiaceae s. str. incluye a Nayar (1962), Schraudolf (1967), Nayar y Raza (1970), Nayar y Kaur (1971), Reyes J. y Pérez-García (1994).

MATERIAL Y METODOS

Se recolectó *N. crassifolium* fértil en Cuetzálan, Puebla y en el Jardín Botánico "Faustino Miranda, UNAM". Los ejemplares de respaldo se encuentran en UAMIZ (Reyes J. 27; Pérez-García 1011).

Las esporas se obtuvieron de hojas fértiles de diferentes individuos, las cuales se metieron en sobres de papel, se secaron al aire libre y se separaron por medio de una malla de 0.074 mm de diámetro. Se sembraron sin tratamiento previo de esterilización, en 25 cajas de Petri de 5 cm de diámetro, que contenían medio de cultivo de Thompson (Klekowski 1969) en condiciones asépticas. Con un pincel de pocas cerdas, se esparcieron sobre la superficie del medio. La densidad de siembra fue en promedio de 310 esporas por cm² y el porcentaje de germinación fue del 95%.

Los cultivos se incubaron en condiciones de laboratorio dentro de bolsas de polietileno incoloro transparente, para evitar su desecación, con luz artificial (Solar 75 watts, luz de día), con un fotoperíodo de 12 hr luz-oscuridad y

temperatura de 15-28° C; el 10% de las cajas de cultivo se mantuvieron en la obscuridad envueltas en papel de estaño para determinar fotoblastismo.

Se hicieron cortes transversales de gametofitos maduros, para observar la estructura de los arquegonios; se fijaron en Craff III (Sass 1958), se incluyeron en parafina y la tinción se hizo con safranina-verde rápido.

Las fotomicrografías se obtuvieron de gametofitos y esporofitos vivos, con excepción de los cortes de arquegonios.

RESULTADOS

Las esporas de *N. crassifolium* son monoletas, elipsoidales, lisas, de color amarillo-verdoso, con lesura corta (Fig. 1), miden en su diámetro polar 60(70)80 µm y en el ecuatorial 45(52)70 µm.

El patrón de germinación es de tipo *Vittaria* (Nayar y Kaur 1971). Las esporas germinan a los 10 días después de la siembra. Al igual que en otras especies de Polypodiaceae s. str. se observaron glóbulos de aceite de color amarillo, tanto en la espora como en la primera célula protálica (Figs. 2, 3, 5).

El desarrollo protálico es del tipo *Drynaria* (Nayar y Kaur 1971), el filamento germinativo es una hilera de cuatro a siete células (21 días) (Figs. 5, 6), las cuales al dividirse longitudinalmente, dan lugar a la formación de la lámina del protalo.

Los gametofitos adquieren forma espatulada en un período de 20 a 30 días, no presentan pelos, conservan adherida la cubierta de la espora, tienen escasos rizoides hialinos y presentan una zona meristemática pluricelular central (Figs. 7-10). Después de los 60 días, los protalos son cordiformes, con alas isodiamétricas, glabros, una zona meristemática central bien definida y un cojinete poco conspicuo (Figs. 11, 14).

Los protalos maduros (70 días), se caracterizan por ser cordiformes, con alas muy amplias que le dan aspecto de olanes. La zona meristemática forma una profunda escotadura (Figs. 19, 20). El cojinete es central, conspicuo, con un grosor de tres a cinco células, en él se localizan los arquegonios. Es en esta fase en la que, se observan pelos unicelulares, papilados, del tipo común de los helechos avanzados, se encuentran en el margen y en ambas superficies

del protalo (Figs. 12, 13, 15, 16). Algunos de ellos se forman en proyecciones celulares del margen de la lámina (Figs. 17, 18). Los rizoides son abundantes, hialinos, de color pardo claro.

Los arquegonios se forman en el cojinete (alrededor de 20♀), distribuidos en la región próxima a la escotadura meristemática, a los 80 días de desarrollo, durante el estado cordiforme; son del tipo leptosporangiado (Figs. 20, 25, 26). El cuello de los arquegonios está formado por cuatro células (Figs. 25, 26), orientados hacia la región basal del protalo.

Los anteridios se forman simultáneamente que los arquegonios, son en mayor número que estos últimos, se localizan en la región media inferior del gametofito, en las alas y entre los rizoides, en posición marginal y superficial (Figs. 21-23). Muestran el tipo común de desarrollo y estructura descritos para las Polypodiaceae s. str. (Davie 1951). Son grandes, globosos y están constituidos por tres células: basal, media y opercular (discoidal) (Fig. 24).

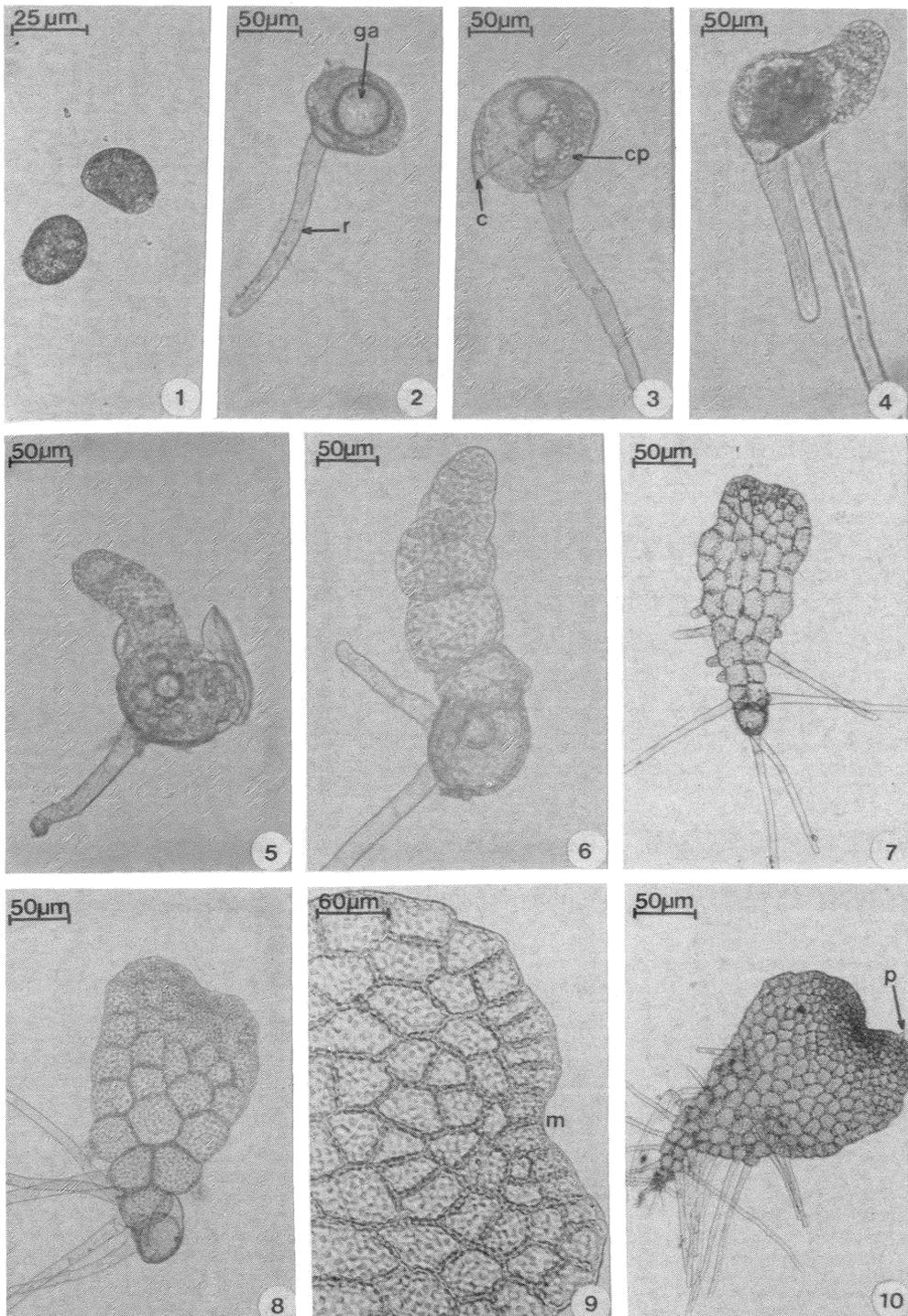
Los esporofitos se forman después del tercer mes de la siembra y las primeras hojas son de forma espatulada, margen liso, con estomas anomocíticos (Van Cotthen 1973, Thurston 1969) (Figs. 27, 28), con dos células oclusivas y están rodeados por células epidérmicas con paredes onduladas.

El esporofito presenta pelos unicelulares, cortos, capitados, al igual que los del gametofito; sin embargo, también tiene algunos pelos ramificados en el pecíolo, particularmente sobre la nervadura central.

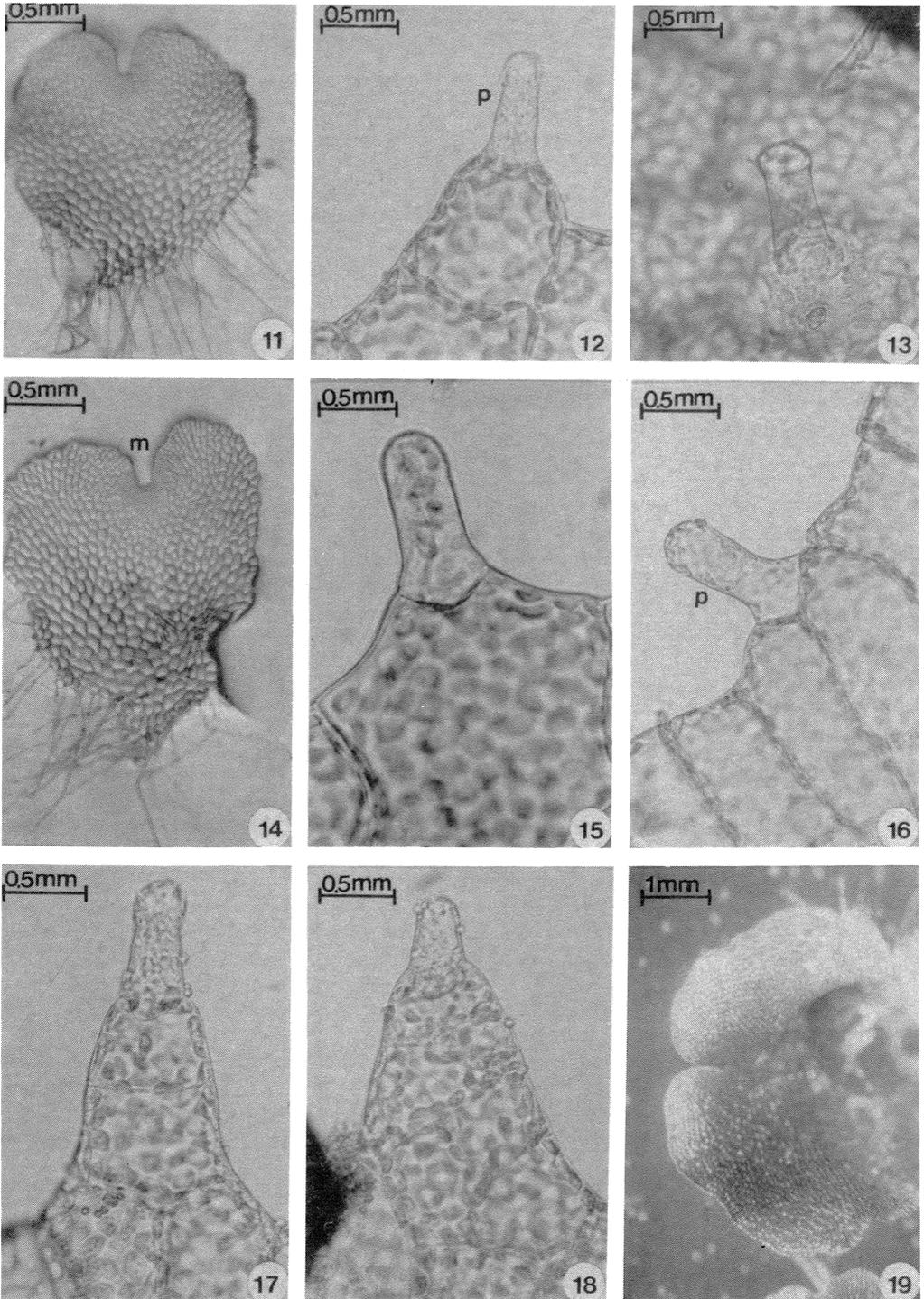
DISCUSIÓN

Al analizar y comparar el desarrollo gametofítico de *N. crassifolium* con el de otros polipodiáceos (Nayar 1962, Nayar y Kaur 1971, Reyes J. y Pérez-García 1994), encontramos que comparten gran número de características en cuanto al tipo de espora, germinación, desarrollo protálico y gametangios.

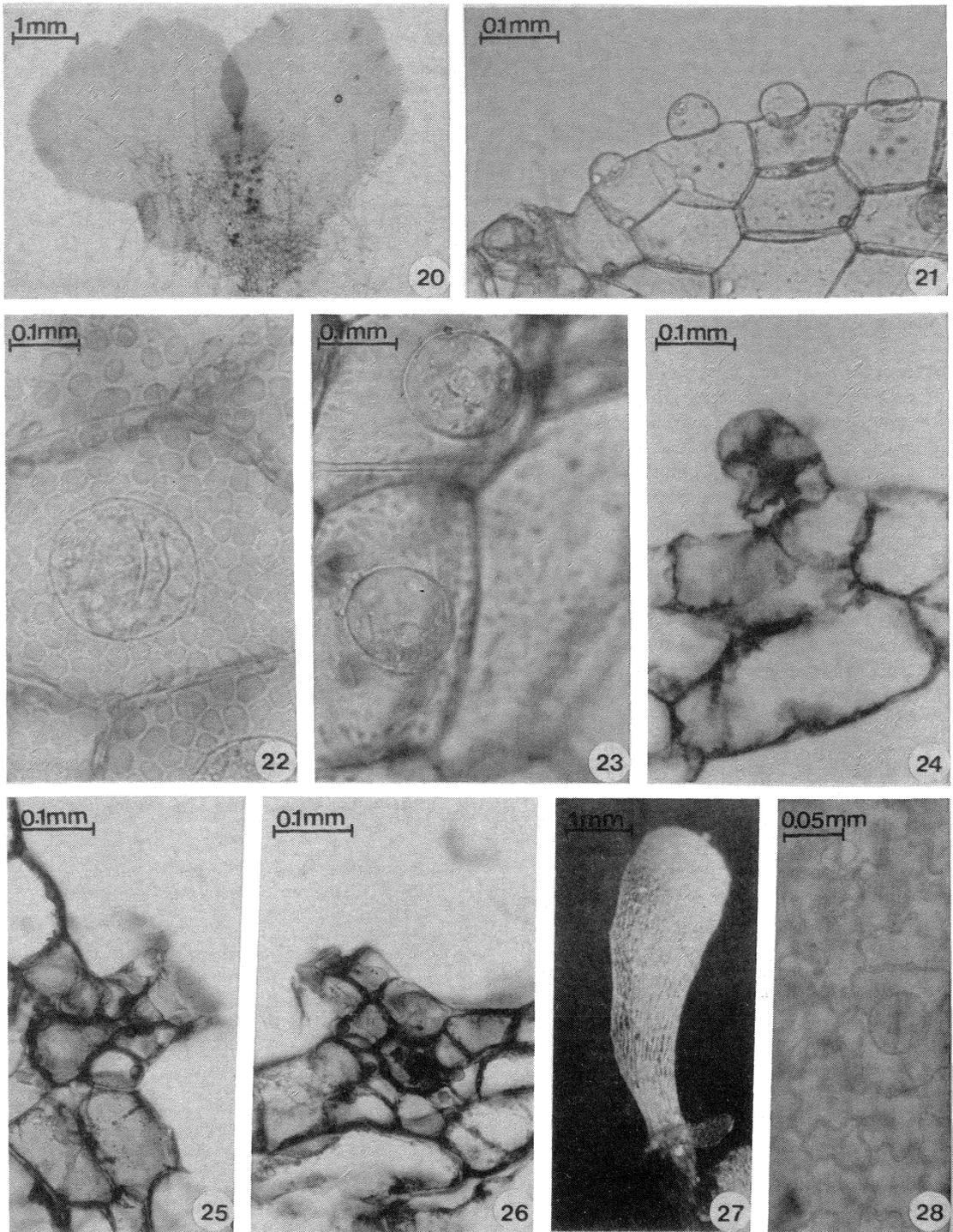
El tamaño de las esporas de *N. crassifolium* es grande (Tryon y Tryon 1982, Tryon y Lugar don 1990) si se le compara con el de otras especies de la familia Polypodiaceae s. str., su diámetro polar (80 µm) es mayor que los citados por Nayar (1962) y comparte los valores medios con *N. longifolium* (60-70 µm). Con respecto a



Figs. 1-10. Morfogénesis del gametofito de *Niphidium crassifolium*. 1. Espora. 2-3. Inicios de germinación. 4-6. Filamentos germinativos de 3-7 células. 7-8. Fases laminares jóvenes. 9. Zona meristemática. 10. Gametofito bidimensional (c. cubierta de la espóra, m. meristemo pluricelular, p. pelo, r. rizoide).



Figs. 11-19. Morfogénesis del gametofito de *Niphidium crassifolium*. 11-14. Fases laminares. 12-15-16. Pelos unicelulares marginales. 13. Pelo unicelular superficial. 17-18. Pelos en proyecciones celulares del margen de la lámina. 19. Gametofito adulto (m. meristemo, p. pelo).



Figs. 20-28. Morfogénesis del gametofito de *Niphidium crassifolium*. 20. Gametofito adulto. 21-22-23. Anteridios marginales y superficiales. 24. Anteridio. 25-26. Cuellos de arquegonios. 27. Esporofito. 28. Estoma en la lámina del esporofito.

su diámetro ecuatorial hay especies que lo rebasan como son *Campyloneurum angustifolium* (Sw.) Fée, *Crypsinus griffithianus* (Hook.) Copel; *C. hastatus* (Thunb.) Copel., *Lemmaphyllum carnosum* (Wall.) C. Presl y *Pleopeltis normalis* Moore. La variación en el tamaño de las esporas entre ésta y otras especies sugiere que puede haber diferentes niveles de ploidía en el género. En plantas de *N. crassifolium* de Jamaica se encontró que eran $n=74$, lo cual indica tetraploidía (Tryon y Lugardon 1990).

Por otra parte, comparten específicamente caracteres como son: espora convexa en vista lateral, y ovada-elíptica en la vista polar, la lesura corta, con exina relativamente lisa. De la misma manera, los glóbulos de aceite en las primeras fases de desarrollo del filamento germinativo, el número de células de éste (3-7) y la formación del protalo glabro, en las fases tempranas de crecimiento, con la posterior formación de pelos al adquirir aspecto cordiforme.

Se encontró que el desarrollo protálico de *N. crassifolium* presenta mayor semejanza con el de *C. angustifolium*, con algunas diferencias en los períodos de germinación y en la formación de gametangios principalmente.

Desafortunadamente la carencia de información, acerca del desarrollo gametofítico de las otras especies que componen el género *Niphidium*, no nos permite establecer comparaciones entre ellas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Ramón Riba y Nava, la revisión del manuscrito.

Esta investigación fue financiada por el Conacyt (Clave: 3903-N9401).

RESUMEN

El patrón de germinación de las esporas de *N. crassifolium* es del tipo *Vittaria*, y el desarrollo protálico es tipo *Drynaria*. Los gametofitos jóvenes espatulados son glabros, los protalos maduros son cordiformes, con pelos y forman gametangios a los 80 días. Los anteridios y los arquegonios son del tipo leptosporangiado. Su morfogénesis es similar a la de muchas especies de Polypodiaceae s. str., en particular a la de *Campyloneurum angustifolium*. Se obtuvo esporofitos después de 90 días, con pelos similares a los observados en los gametofitos y pelos ramificados en el peciolo.

REFERENCIAS

- Davie, J.H. 1951. The development of the antheridium in the Polypodiaceae. Amer. J. Bot. 38: 621-628.
- Klekowski, E.J. Jr. 1969. Reproductive biology of the Pteridophyta III. A study of the Blechnaceae. J. Linn. Soc. Bot. 62: 361-377.
- Lellinger, D.B. 1972. A revision of the fern genus *Niphidium*. Amer. Fern. J. 62: 101-121.
- Nayar, B.K. 1962. Morphology of spores and prothalli of some species of Polypodiaceae. Bot. Gaz. (Crawfordsville) 123: 223-232.
- Nayar, B.K. & F. Raza. 1970. Morphology of the prothalli of some species of the Polypodiaceae. II. *Lepisorus loriformis*, *L. thunbergianus*, *Polypodium vulgare* and *Weatherbya accedens*. Jour. Indian Bot. Soc. 49: 81-86.
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. Bot. Rev. (Lancaster) 37(3): 365-372.
- Reyes J.I. & B. Pérez-García. 1994. Morfología y estrategias reproductivas del gametofito de *Polypodium lepidotrichum* (Fée) Maxon (Polypodiaceae). Acta Bot. Mex. 28: 71-78.
- Sass, J.E. 1958. Botanical microtechnique. Iowa State University, Ames, Iowa. p.18.
- Schraudolf, H. 1967. Die steuerung der antheridienbildung in *Polypodium crassifolium* L. (*Pessopteris crassifolia* Underw. and Maxon) durch Licht. Planta (Berl.) 76: 37-46.
- Smith, A.R. 1981. Flora of Chiapas (D.E. Breedlove, ed.). Part 2. Pteridophytes. California Academy of Sciences, San Diego. p.154-155.
- Thurston, E.L. 1969. Taxonomic significance of stomatal patterns in the ferns. Amer. Fern J. 59: 68-79.
- Tryon, R.M. & A.F. Tryon. 1982. Ferns and allied plants with special reference to tropical America. Springer-Verlag, Nueva York. p.727-732.
- Tryon, A.F. & B. Lugardon. 1990. Spore of the Pteridophyta: surface, wall structures and diversity based on electron microscope studies. Springer-Verlag, Nueva York. p.339-340.
- Van Cotthem, W.R.J. 1973. Stomatal types and systematics, p.59-71. In A.C. Jermy, J.A. Crabbe & B.A. Thomas (eds.). The phylogeny and classification of the ferns. Academic, Nueva York.