

Morfogénesis del gametofito del helecho *Thyrsopteris elegans* (Filicales: Thyrsopteridaceae)

Lilanca Pérez-García¹, Aniceto Mendoza¹, Ramón Riba¹ & Marcia Ricci²

¹ Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, Depto. de Biología, C.B.S., Apartado Postal 55-535, 09340 México, D.F., México.

² Jardín Botánico Nacional (CONAF) Casilla 317, Viña del Mar, Chile.

(Rec. 19-V-1995. Rev. 31-X-1995. Acep. 15-I-1996)

Abstract: As part of a series about Neotropical and related ferns, the morphogenetic development of *Thyrsopteris elegans*, an endemic species of the Archipelago Juan Fernandez Chile, is presented. The spores are tetrahedral-globose, trilete, homosporous, non-green. The germination of the spores is of the *Cyathea*-type and the prothallial development corresponds to the *Drynaria*-type. The antheridia and the archegonia are typical of the leptosporangiate ferns. The sporophyte appears 200 days after sowing. Apogamy was not observed in this species.

Key words: Chile, gametophyte, germination, morphogenesis, prothallus, *Thyrsopteris*.

Thyrsopteris elegans Kze., es un helecho endémico del Archipiélago Juan Fernández (Chile), crece en bosques, selvas altas y matorrales, a menudo mezclado con *Dicksonia berteriana* (Colla) C.Chr. de 400 a 1000 m snm.

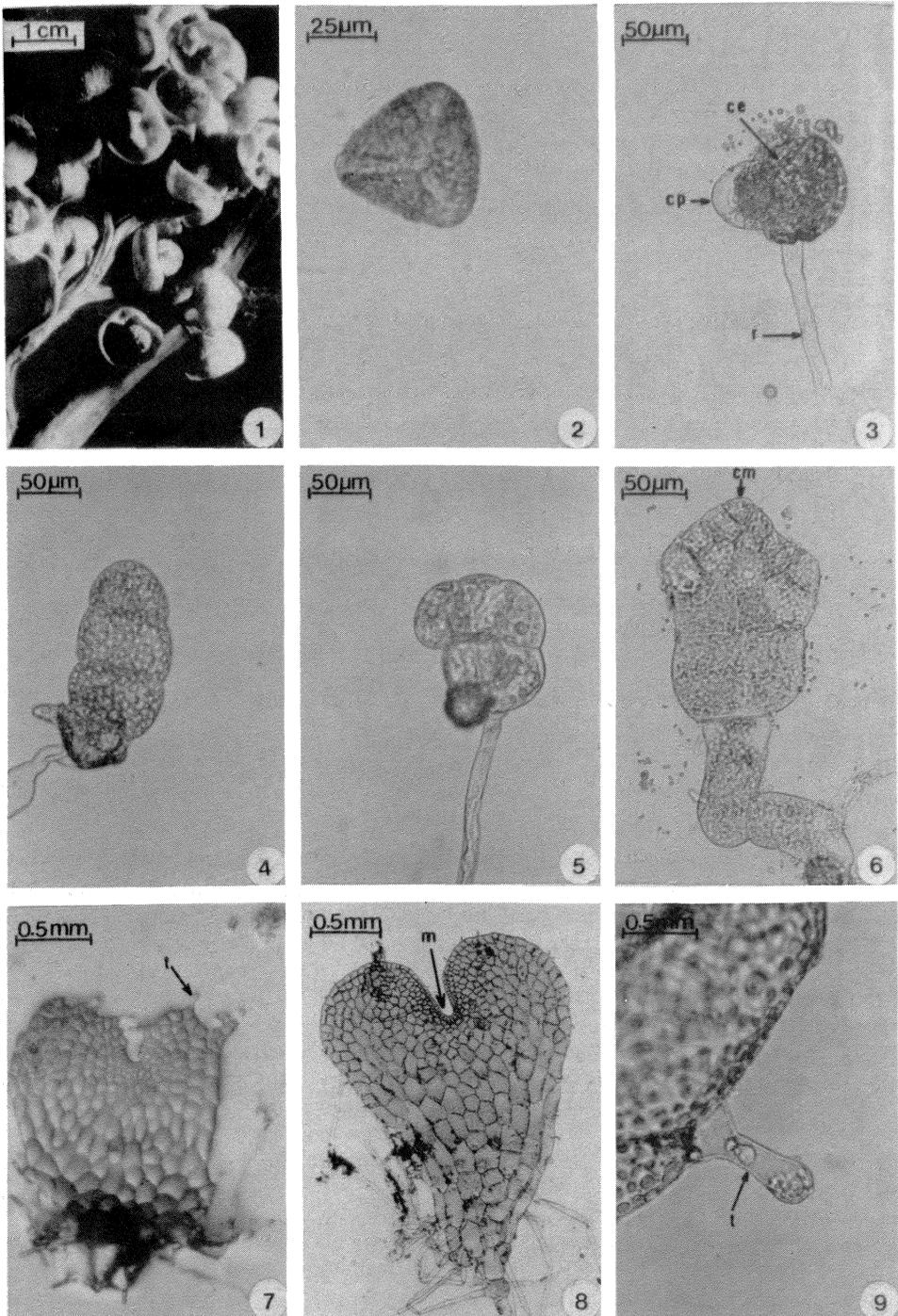
Las divisiones de las porciones estériles de la lámina y los ejes con surcos adaxiales son característicos del género. La superficie granulada de las esporas de *T. elegans* es similar a la de las esporas de *Dicksonia antarctica* Lab. y *Dicksonia sellowiana* (C.Presl) Hook.; esto refuerza la relación del género con Dicksoniaceae. Sin embargo el dimorfismo foliar parcial de las plantas y el número cromosómico $n = 76-78$, confirman que puede ser un elemento aislado de Dicksoniaceae, Tryon (1982).

Stokey (1930) describió la morfogénesis de la fase gametofítica de *T. elegans*, pero nuestras observaciones no apoyan los datos presentados en dicha publicación (véase Discusión).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares fértiles de *T. elegans* fueron recolectados en la localidad El Camote, Isla Robinson Crusoe (M. Ricci 0747, VINAD), a 475 m snm en matorrales. Las esporas de esta especie se obtuvieron de pinnas fértiles con esporangios maduros guardadas en sobres de papel (Fig. 1), dejándolas secar a temperatura ambiente para propiciar la apertura de los esporangios de manera natural; el material así obtenido se tamizó para eliminar fragmentos de esporangios y otras impurezas.

Se sembraron esporas de esta especie con una densidad media de 110/cm² en medio nutritivo de Thompson con agar (Pérez-García 1989) en 20 cajas de Petri, 4 de las cuales se cubrieron con papel estaño para determinar fotoblastismo. Los cultivos se mantuvieron en un régimen lumínico de 12 x 12 hr, a una temperatura de 20-28°C (Pérez-García y Riba 1982), las cajas se colocaron dentro de bolsas de polietileno incoloro transparente durante todo el



Figs. 1-9. Morfogénesis del gametofito de *Thyrsopteris elegans*. 1. Divisiones de la porción fértil de la lámina y los ejes con surcos adaxiales. 2. Espora. 3. Inicio de germinación de la espora. 4-5. Desarrollo del filamento germinativo. 6. Inicios de la fase laminar. 7-8. Fase laminar con un meristemo pluricelular. 9. Tricoma, unicelular, papilado-capitado, marginal. ce. cubierta espora, cm. célula meristemática, cp. célula protálica, m. meristemo pluricelular, r. rizoide y t. tricoma.

proceso, abriéndose cada 8-10 días para las revisiones periódicas y definir el inicio de la germinación; en cada revisión se humedeció el medio con agua destilada esterilizada, para evitar desecación y propiciar el desplazamiento de los anterozoides cuando los gametofitos alcanzaran la madurez sexual; las cajas mantenidas en la obscuridad se abrieron después de los 100 días de la siembra. El material vivo se fotografió con un fotomicroscopio Carl Zeiss, un microscopio óptico "MicroStar" AO y un microscopio estereoscópico Star Zoom AO 580, con película Plus-X de 35 mm.

RESULTADOS

Esporas. Las esporas de *T. elegans* son tetraédrico-globosas, triletes, con ángulos prominentes y áreas adyacentes deprimidas, la superficie de la espora ésta cubierta por una perispora irregularmente granulosa de color pardo oscuro (Gastony 1981, Tryon & Tryon 1982, Tryon & Lugardon 1990) miden 40-52 μm de longitud (Fig. 2).

Germinación. La germinación de *T. elegans* se inicia entre los 20-25 días después de la siembra, apareciendo primero la célula rizoidal, como una protuberancia corta, globosa y hialina, con escasos cloroplastos y de posición lateral. La célula protálica emerge después de la rizoidal, es corta y con abundantes cloroplastos, se conserva la cubierta de la espora que cubre una parte de las células protálica y rizoidal (Fig. 3). La germinación de *T. elegans* corresponde al tipo *Cyathea* de Nayar y Kaur (1971), porque el filamento germinativo crece a lo largo del eje polar, mientras que la célula rizoidal crece a lo largo del plano ecuatorial (Nayar & Kaur 1969). Las esporas mantenidas en la obscuridad no germinaron después de 100 días, por lo tanto se consideran fotoblásticas positivas.

Fase filamentosa. Después de 25-30 días la célula inicial sufre divisiones transversales formando gametofitos filamentosos cortos, de 3-6 células de longitud, sin tricomas, los rizoides son cortos, hialinos, algunos con escasos cloroplastos (Figs. 4, 5); entre los 30-35 días la segunda o tercera célula apical de los gametofitos filamentosos, tienen divisiones longitudinales y transversales, formando gametofitos de 7-16

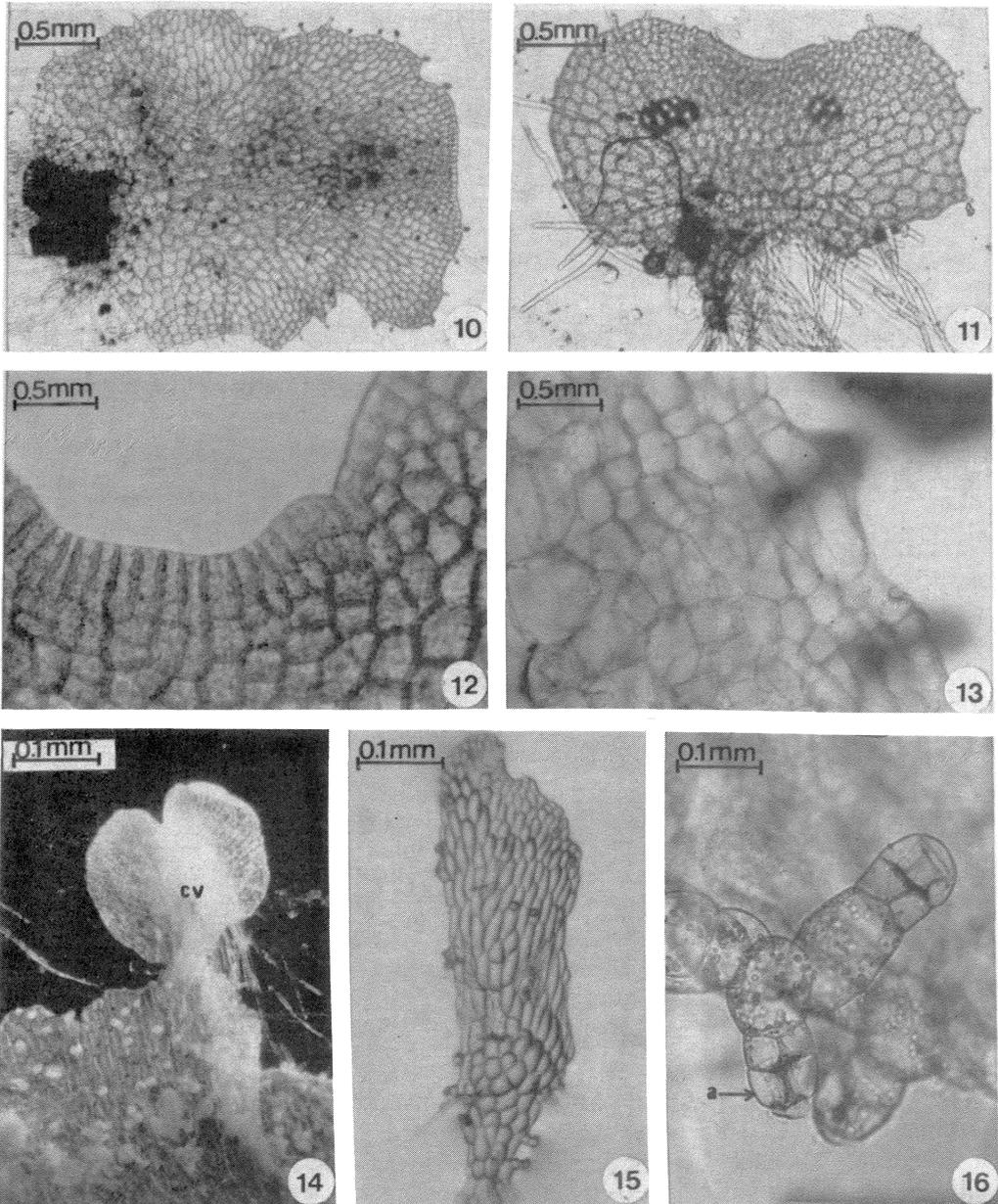
células: 2 células basales de las cuales una de ellas tiene rizoides y conserva la cubierta de la espora, 4-6 células medias y 2-7 células apicales, en donde se nota claramente la célula meristemática inicial en forma de cuña, de posición central, que va formando nuevas células laterales más pequeñas por lo que aumenta la superficie del protalo (Fig. 6) y se inicia la fase laminar.

Fase laminar. La formación de la lámina se da entre los 45-55 días de edad, por divisiones longitudinales y oblicuas de las últimas células del gametofito filamentosos, formando un protalo cordiforme-espátulado corto, a veces alargado. En esta fase las células del tercio basal tienen numerosos rizoides cortos y largos de color pardo claro.

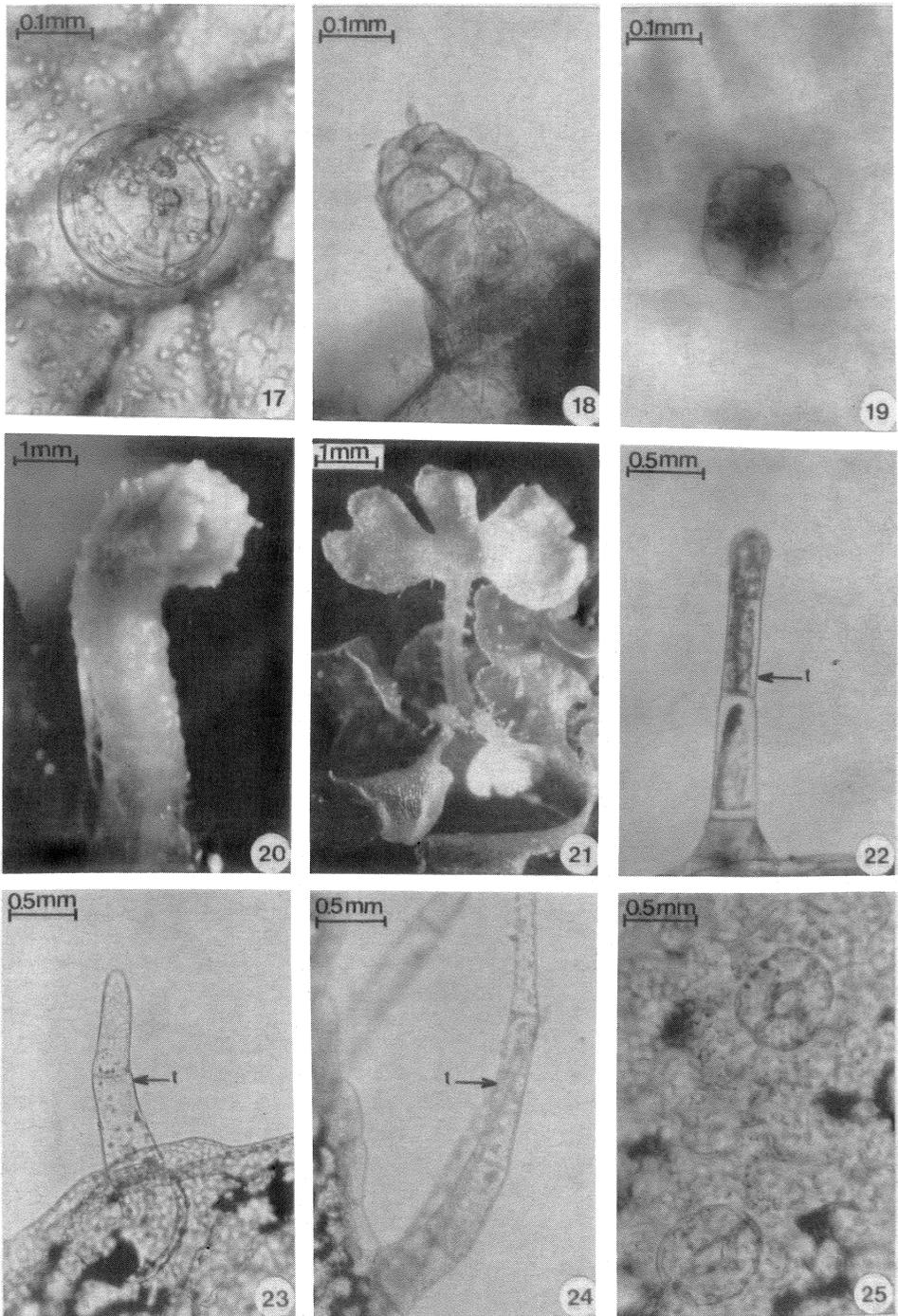
Los protalos laminares jóvenes carecen de tricomas (35 días), los que se desarrollan en fases más avanzadas (55 días) (Figs. 7, 8), los tricomas son escasos, unicelulares y papilados-capitados, son marginales y superficiales (Fig. 9); la célula meristemática se diferencia tardíamente formando un meristemo pluricelular. Por estas razones, el desarrollo protálico corresponde al tipo *Drynaria* (Nayar & Kaur 1969).

Fase adulta. Entre los 100-120 días el protalo adulto es cordiforme-espátulado alargado a cordiforme-arriñonado (Figs. 10, 11), con la zona meristemática central (Fig. 12) y escotadura poco pronunciada, lo que hace que el cojinete, de posición central y con un grosor de 7-9 células no sea muy alargado (Fig. 13). En gametofitos de esta edad notamos el desarrollo inicial de anteridios en el margen, lámina y cojinete, los rizoides son alargados y de color pardo oscuro. Cuando los gametofitos son viejos (345 días), muestran ondulaciones muy irregulares con los márgenes pardo-oscuro, presentan numerosos crecimientos vegetativos (Fig. 14), tanto marginal y superficialmente en ambas caras del protalo, son gametofitos bidimensionales con escasos tricomas, con escotadura y alas poco desarrolladas, éstos, presentan gran cantidad de anteridios con 5 células (véase gametangios), se encuentran en el margen, parte anterior y basal del protalo (Fig. 15).

Dada la presencia de numerosos anteridios, su posición y desarrollo en fases jóvenes de gametofitos, podemos inferir la presencia de anteridiógenos.



Figs. 10-16. Morfogénesis del gametofito de *Thyrsopteris elegans*. 10. Protalo adulto cordiforme-espátulado alargado. 11. Protalo adulto cordiforme arriñonado. 12. Zona meristemática central. 13. Cojinete con 7-9 células en sección transversal. 14. Crecimiento vegetativo marginal. 15. Crecimiento vegetativo bidimensional con anteridios. 16. Anteridio. a. anteridios, cv. crecimiento vegetativo.



Figs. 17-25. Gametangios y esporofitos de *Thyrsopteris elegans*. 17. Anteridio. 18. Cuello de arquegonio. 19. Boca de arquegonio. 20. Vernación circinada. 21. Hoja joven del esporofito. 22. Tricoma del pecíolo. 23-24. Tricomas de la lámina. 25. Estomas de la lámina. t. tricoma.

Gametangios. Los gametofitos adultos son protándricos; los anteridios se diferenciaron entre los 120-130 días, en el margen y superficie inferior de la lámina, así como en la base del cojinete, están formados por 5 células, dos basales, dos semianulares y una célula opercular, que se desprende para liberar los anterozoides ó bien éstos pueden ser liberados a través de un poro (Figs. 16, 17).

Los arquegonios se diferenciaron entre los 130-160 días, sobre el cojinete, cerca de la zona meristemática, con las bocas orientadas hacia la base del protalo, los cuellos están formados por 4 hileras de 4-6 células cada una (Fig. 18), distinguiéndose claramente los núcleos en cada una de ellas. Las bocas de los arquegonios maduros, se abren en forma de roseta y se ven claramente las cuatro células que las constituyen (Fig. 19). No observamos tendencia de apogamia en esta especie.

Esporofito. Después de los 200 días de cultivo, se advierte la aparición del joven esporofito de *T. elegans*, como un eje erecto, con la parte distal encorvada (venación circinada) y el inicio de las pinnas (Fig. 20). Las primeras hojas, son simétricas con un patrón de venación dicotómica, inicialmente con tres lobos (Fig. 21), los tricomas del pecíolo y de la lámina, son pluricelulares (3-6 células), aciculares y secretores (Figs. 22, 23, 24), se localizan en su mayoría sobre las venas. Los estomas son diafíticos (Van Cotthem 1973), se encuentran en el pecíolo y en la cara inferior de la lámina, están formados por dos células oclusivas, no presentan células subsidiarias y están rodeados por células epidérmicas con paredes onduladas (Fig. 25).

DISCUSIÓN

La idea de estudiar la morfogénesis del gametofito de *T. elegans* surgió porque este helecho es un elemento endémico restringido al Archipiélago Juan Fernández que se localiza a 667 km de la costa de Chile. Al revisar la bibliografía sobre el tema, se encontró que Stokey (1930) ya había hecho mención del estudio del gametofito de esta especie. Sin embargo, nuestras observaciones difieren de manera notable, con las de esa autora.

Lo primero que llama la atención, fue la diferencia en las dimensiones de las esporas, según Stokey son de 210-275 μm (promedio 230-250 μm), mientras que las nuestras son de 40-52 μm , Tryon y Lugardon (1990) citan datos de 42-57 μm , nuestros datos concuerdan más con estos últimos autores, es posible que las esporas con las que trabajó Stokey hayan sido de otra especie, pues la diferencia en tamaño es significativa.

En cuanto al inicio de germinación, Stokey (1930) menciona que es de 4-7 días, mientras que en nuestro estudio la germinación fue tardía, de 20-25 días, el porcentaje de esporas viables fue de 50% y el desarrollo de la fase filamentosa fue lento.

Por otro lado, Stokey señala que los gametofitos adultos de esta especie carecen de tricomas, mientras que los gametofitos obtenidos en este estudio desarrollaron tricomas escasos, unicelulares y papilado-capitados.

Por otra parte, la estructura de los anteridios que observamos en nuestro estudio corresponden al típico anteridio de helechos leptosporangiados con pocas células (3-5) y difieren notablemente de los esquematizados en el trabajo de Stokey.

La misma autora menciona que *T. elegans* muestra una fuerte tendencia a presentar crecimientos apogámicos, nosotros obtuvimos esporofitos resultantes de la reproducción sexual sin evidencia de apogamia.

Por todo lo anterior, suponemos que Stokey trabajó con esporas de alguna otra especie que no corresponden a *T. elegans* y lamentablemente en su publicación no hace referencia a ejemplares de respaldo ubicados en algún herbario.

AGRADECIMIENTOS

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

RESUMEN

Se presenta el desarrollo morfogénico del gametofito de *T. elegans*, especie endémica del Archipiélago Juan Fernández, Chile. Las esporas son tetraédrico-globosas, triletas, homospóricas, no clorofílicas. La germinación es del tipo *Cyathea* y el desarrollo protálico corresponde al tipo *Drynaria*. Los anteridios y los arquegonios corresponden al tipo

común de leptosporangios. Los esporofitos aparecen después de los 200 días a partir de la siembra. No observamos evidencias de apogamia en este estudio.

REFERENCIAS

- Gastony, J.G. 1981. Spore morphology in the Dicksoniaceae. I. The genera *Cystodium*, *Thyrsopteris* and *Culcita*. *Amer. J. Bot.* 68: 808-819.
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. *Phytomorphology* 19: 171-188.
- 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, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Pérez-García, B. & R. Riba. 1982. Germinación de esporas de Cyatheaceae bajo diversas temperaturas. *Biotropica* 14: 281-287.
- Stokey, A.G. 1930. Prothallia of the Cyatheaceae. *Bot. Gaz. (Crawfordsville)* 90: 1-45.
- Tryon, R.M. & A.F. Tryon. 1982. Ferns and allied plants with special reference to tropical America. Springer-Verlag, Nueva York. 857 p.
- Tryon, A.F. & B. Lugardon. 1990. Spores of the Pteridophyta: surface, wall structures and diversity based on electron microscope studies. Springer-Verlag, Nueva York. p. 228-230.
- Van-Cotthem, W.R.J. 1973. Stomatal types and systematics. In A.C. Jermy, J.A. Crabbe & B.A. Thomas (eds.). *The Phylogeny and classification of the ferns*. Academic, Nueva York. p. 59-71.