

**GAMETOFITOS Y ESPOROFITOS JÓVENES DE DOS PTERIDOFITAS:
ASPLENIUM MONANTHES L. (ASPLENIACEAE-PTERIDOPHYTA) Y
ELAPHOGLOSSUM MINUTUM (POHL EX FÉE) T. MOORE
(LOMARIOPSIDACEAE-PTERIDOPHYTA)***

**Lucía Sánchez-Montiel
María de la Luz Arreguín-Sánchez**
Rafael Fernández-Nava****

*Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Plan de Ayala
y Prolongación Carpio, Colonia Santo Tomás, México DF, 11340.*

RESUMEN

Se describen los ciclos de vida de *Asplenium monanthes* L. y *Elaphoglossum minutum* (Pohl ex Fée) T. Moore. El material de *A. monanthes* fue colectado en Tres Marias, estado de Morelos, en un bosque mesófilo de montaña y *E. minutum* en el Parque Nacional El Chico, estado de Hidalgo en una vegetación que corresponde a un bosque de *Pinus-Abies*. Las esporas fueron sembradas en frascos de vidrio con barro molido, piedra de río, tela de mosquitero y maquique (tallo de los helechos arborescentes) molido y agua, todo previamente esterilizado y cerrado con bolsas de plástico y alambre de cobre. La germinación de ambos géneros es de tipo *Vittaria*, el desarrollo del protalo tipo *Aspidium*, ambos ciclos son isospóricos. *E. minutum* el gametofito de forma cordada inicialmente, varía hasta ser un gametofito maduro alargado con gran cantidad de rizoides ventrales, dorsales y marginales.

En ambas especies se observa que cada una de las fases de su desarrollo se lleva a cabo muy lentamente, en *Asplenium* se obtuvieron esporofitos a los 349 días y en *Elaphoglossum* a los 350, por lo cual las especies estudiadas no se recomiendan para ser utilizadas comercialmente.

Palabras clave: ciclo de vida, *Asplenium*, *Elaphoglossum*, helechos mexicanos.

ABSTRACT

We describe the life cycles of *Asplenium monanthes* L. and *Elaphoglossum minutum* (Pohl ex Fée) T. Moore. The first species was collected from Tres Marias, Morelos, Mexico, in montane rain forest, the second from Parque Nacional El Chico, Hidalgo, in *Pinus-Abies* forest. Spores were sown in glass flasks prepared in the following manner: the flasks were layered with ceramic, river stone, mosquito net, ground maquique

*Trabajo parcialmente subsidiado por la Dirección de Estudios de Posgrado e Investigación del IPN. CGPI20071073.

** Becarios de COFAA del IPN.

(adventitious roots from tree fern trunks) and water. All the material was sterilized. The flasks were sealed with plastic bags and tied with copper wire. The germination pattern of both species is of the *Vittaria* type, and the prothallial development is of the *Aspidium* type. Both cycles are isosporous. The gametophyte of *E. minutum* is at first heart-shaped, but by the time it reaches maturity it has taken on an elongate form with many ventral, dorsal and marginal rhizoids.

In both species the cycles develop very slowly. In *Asplenium sporophytes* appear at 349 days and in *Elaphoglossum* at 350 days, making these species ill-suited for commercial exploitation.

Key words: life cycle, *Asplenium*, *Elaphoglossum*, Mexican ferns.

INTRODUCCIÓN

Las pteridofitas son un grupo de plantas que crecen en una gran variedad de ambientes como en los bosques mesófilos de montaña, en bosques de encino, de pino, en selvas altas perennifolias, aunque también se encuentran en matorrales xerófilos, y en vegetación acuática. Son plantas que con mucha frecuencia se utilizan como ornato en parques y jardines, en arreglos florales, en medicina tradicional y otras más como soportes de orquídeas y de otras epifitas. También son importantes desde el punto de vista paleobotánico, ya que debido a la resistencia que presentan las esporas a los factores ambientales se encuentran desde el paleozoico hasta el presente permitiendo determinar el tipo de flora que existió en las épocas geológicas pasadas y a su vez correlacionarlas con la flora actual.

Se considera que a nivel mundial existen alrededor de 10 000 especies y en México se ha calculado que podrían prosperar cerca de 1 100 especies (Riba, 1994). Algunas de estas plantas están en peligro de extinción en parte por la sobreexplotación que se hace del recurso y por estar acabando con sus hábitats naturales (Riba, *op.cit.*).

Las pteridofitas son plantas vasculares en donde el gametofito y el esporofito son fisiológicamente independientes uno del otro en la madurez, el gametofito, también llamado protalo, es pequeño e inconspicuo, y muy sensible a los cambios microambientales y a las presiones de selección del medio, sin embargo, esta fase es esencial por la variabilidad genética, promoviendo adaptaciones en estas plantas, en ella se ubican las estructuras reproductoras que son los arquegonios y anteridios; el arquegonio tiene forma de botella y está formado por células del cuello, del canal del cuello, la ovocélula y la célula ventral. Los anteridios son más o menos globosos y contienen a los anterozoides los cuales son liberados cuando han alcanzado la madurez y se desplazan para fecundar a la ovocélula y formar el cigoto, el cual iniciará al embrión y éste al esporofito (Cronquist, 1991).

El esporofito es la fase más larga y conspicua de estos organismos y generalmente es perenne, cuando las condiciones ambientales le son favorables; esta fase es vital porque se producen numerosos esporangios que nacen en las hojas o en apéndices modificados de las mismas, los cuales producen una gran cantidad de esporas dando a las poblaciones mayor posibilidad de dispersión y de incrementar el potencial de individuos y por lo tanto la supervivencia de las especies (Cronquist, *op. cit.*).

Las pteridofitas presentan tres ciclos de vida: el heterospórico, isospórico y el tipo Equisetum. El ciclo heterospórico se presenta en pocos géneros como *Selaginella*, *Isoetes* y helechos acuáticos, este ciclo se caracteriza por la presencia de dos tipos de esporas, las megaesporas (n) que darán origen a los gametofitos que originarán arquegonios (n) y éstos formarán la ovocélula y las microesporas que constituirán gametofitos con anteridios (n) que formarán anterozoides (Cronquist, *op. cit.*).

El ciclo isospórico se caracteriza por presentar esporas iguales, consta de dos fases la esporofítica (2n) que es la que forma las esporas (n), las cuales germinan y producen la fase gametofítica (n) que presentará anteridios y arquegonios, los cuales se unirán dando origen a un cigoto (2n) restableciéndose el número cromosómico diploide, este tipo de ciclo de vida se presenta en la gran mayoría de pteridofitas. Finalmente el tercer ciclo que se considera intermedio entre el isospórico y el heterospórico es el tipo *Equisetum*, que presentan esporas (n) morfológicamente iguales, pero algunas de ellas originarán un gametofito que produce anteridios y otras esporas formarán un gametofito con arquegonios (Cronquist, *op. cit.*).

Existen varios tipos de germinación de las esporas en helechos como el tipo *Osmunda*, *Vittaria*, *Anemia* e *Hymenophyllum* (Nayar & Kaur, 1971).

En cuanto a las pteridofitas estudiadas en este trabajo, encontramos que *Asplenium* es un género cosmopolita que comprende más de 600 especies que se encuentran en las áreas tropicales y subtropicales (Stolze, 1981). Son terrestres y epifitas, su rizoma escamoso, principalmente con escamas

clatradas y sus láminas son pinnadas o pinnadas pinnatífidas, aunque algunas son enteras, se pueden presentar glabras o pilosas. El protalo es cordado, esporangios agrupados en soros cubiertos por un indusio lineal. Las esporas son monoletes, de color negro, la sexina generalmente es equinada y la perina es granulosa, la germinación de las esporas es tipo *Vittaria* y el desarrollo del protalo de tipo *Aspidium* (Nayar & Kaur, *op. cit.*).

Por lo que respecta al uso encontramos que algunas especies de *Asplenium* se utilizan como plantas de ornato de interiores o bien, se emplean por sus propiedades medicinales como es el caso de *A. trichomanes* L., en medicina casera para limpiar los pulmones y conductos de la orina, también la planta es conocida como lejía de cenizas y con ese líquido se lava la cabeza para evitar la caída del cabello (Arreguín, 1987). *Asplenium monanthes* L. es empleada en medicina popular indígena como diaforético (Murillo, 1983). En varios sitios del Valle de México se ha observado que se tiene como planta de ornato en varias casas.

El género *Elaphoglossum* abarca aproximadamente 500 especies, de las cuales alrededor de 375 se encuentran en América tropical y en México prosperan unas 50 especies, generalmente son plantas epifitas, aunque algunas son terrestres, presentan un rizoma corto a largamente rastrero, muy raramente erecto, de delgado a robusto de uno a 15 cm de diámetro, con escamas de color naranja o negras unidas basalmente o peltadas, enteras a dentadas. Frondes hemidimorfos, de dos a 200 cm de largo, erectas, pecíolo glabro o escamoso, algunas veces con diminutos tricomas glandulares, láminas enteras, raramente denticuladas, raras veces glabras, a veces presentan pe-

queños tricomas, esporangios en posición acrosticoide, de anillo vertical. Las esporas son de tipo monoete de forma más o menos elipsoidal, generalmente la perina forma pliegues y crestas en cuya superficie forman un patrón reticular. Las esporas son de tipo *Vittaria* y el protalo es alargado con una gran cantidad de rizoides marginales con un desarrollo de tipo *Aspidium* (Mickel y Beitel, 1988 y Nayar y Kaur, 1971).

En cuanto a los usos de este género, *Elaphoglossum apodum* (Kaulf.) Schott, es utilizado para contrarrestar dolores de los pies y garganta (Murillo, 1983). Consideramos estudiar una especie de este género por ser una planta que podría introducirse como planta ornamental.

OBJETIVOS

Describir las fases gametofítica y esporofítica del ciclo biológico de *Asplenium monanthes* L. y *Elaphoglossum minutum* (Pohl ex Fée) T. Moore, y así contribuir al conocimiento de los ciclos de vida de las pteridofitas antes citadas.

ANTECEDENTES

La biología reproductiva de los helechos ha sido poco estudiada y es a partir de 1939 que Benedict menciona la forma de realizar el cultivo de helechos a partir de esporas utilizando una solución nutritiva de Knop, la cual consiste de agua, fosfato ácido de potasio, sulfato de magnesio, nitrito de potasio, nitrito de calcio y clorhidrato férrico. Davie (1951) estudió el desarrollo del anteridio en las Polyodiaceae, utilizando la técnica de cultivo de Moore en cajas de petri. Bridgers (1958) publicó unas técnicas para el cultivo artificial de esporas que

indica algunas formas para desinfectar las esporas y menciona la técnica de cultivo por flotación, concluye que el periodo de germinación es largo y no puede ser aplicable a la producción comercial de helechos. Stokey y Atkinson (1957) describen los gametofitos de algunas especies de *Elaphoglossum* y *Rhipidopteris* de América. Raghavan (1965) estudió la acción de la purina y pirimidina sobre el crecimiento y diferenciación del gametofito de *Asplenium nidus*. Miller (1968) mencionó algunas de las condiciones de germinación de las esporas dependiendo de factores como el agua, luz, pH, nutrientes, entre otros. Weinverg y Voeller (1969) mencionan los factores externos que inducen la germinación de esporas de helechos, presentan los resultados obtenidos sobre la dependencia de la luz en la germinación de especies de ocho familias de helechos y la habilidad de las giberelinas para reemplazar el requerimiento de luz, así como el efecto de varias condiciones externas en la germinación. Valla (1970) describe la técnica para hacer crecer las esporas de *Pteris cretica* L., *Asplenium nidus* L., *Adiantum raddianum* Presl y *Platyserium alpicorne* Gaud., la técnica consiste en una mezcla de partes iguales de tierra de humus y turba, lodo de río tamizados y musgo finamente molido. Voeller (1970) estudió la fisiología del desarrollo de algunos helechos leptoesporangiados. Nayar y Kaur (1971) trabajaron con gametofitos de helechos homospóricos y describen los diferentes tipos de germinación de esporas de helechos, así como los tipos de desarrollo protálico en este tipo de helechos. Atkinson (1973) publicó los resultados sobre el desarrollo del gametofito y las relaciones filogenéticas entre las familias de helechos leptoesporangiados y concluye que es poco el conocimiento que se tiene sobre los gametofitos de numerosos géneros, especialmente

de los grupos grandes de helechos; señaló que las características del gametofito pueden definir especies y que conocer cómo es la fase haploide es importante para entender las relaciones entre los grupos. Raghavan (1988) publicó un libro sobre la biología del desarrollo de gametofitos de helechos, describe cómo es la formación y desarrollo de las esporas, la fisiología de la germinación así como el desarrollo y maduración del gametofito y estrategias reproductivas. Muccifora y Gori (1995), cultivaron en condiciones controladas a *Asplenium trichomanes* L. ssp. *trichomanes*, realizaron observaciones bajo el microscopio electrónico del gametofito y describieron la formación de la primera célula protonemal, el tipo de protalo y el primer rizoide, así como la formación de los arquegonios y anteridios, además describieron la ultraestructura del gametofito maduro. Prada *et al.* (1996), mediante cultivo de esporas en condiciones controladas de luz y temperatura, realizaron un estudio comparativo de los gametofitos de *Asplenium majoricum* Litard y sus progenitores diploides *A. fontanum* (L.) Bernh. subsp. *fontanum* y *A. petrarchae* (Guérin) DC. subsp. *petrarchae*. Montoya-Casimiro *et al.* (2000) describieron los ciclos de vida de *Thelypteris resinifera* (Desvaux) Proctor y *Blechnum occidentale* L. var. *occidentale* utilizan una técnica donde el medio de soporte es el maquique, simulando el medio natural de los helechos.

METODOLOGÍA

La colecta de esporas de *Asplenium monanthes* se realizó en Tres Marías, estado de Morelos, en un bosque mesófilo de montaña y de *Elaphoglossum minutum* se colectó en el Parque Nacional El Chico, estado de Hidalgo, en bosque de pino con oyamel.

En ambos casos la colecta de los helechos con soros se llevó a cabo por la mañana, se dejaron en sobres de papel blanco, también se tomaron muestras para herborizar. Los sobres permanecieron por quince días en un lugar oscuro, en tanto el material colectado para herborizar fue identificado con ayuda de bibliografía específica como la de Smith (1981) y Mickel y Beitel (1988). La siembra y el seguimiento del ciclo se realizó de acuerdo a la técnica de Montoya-Casimiro *et al.* (2000), con barro molido, maquique y piedra de río, este material fue depositado en frascos de vidrio y cubiertos con plástico que se ajusta al frasco con alambre de cobre. La siembra de las esporas se lleva a cabo con un cubrebocas, se mezclan con arena previamente esterilizada, esta operación se realiza cerca de dos mecheros Bunsen, se abre uno de los frascos con los materiales antes mencionados y, previamente esterilizados, se vacía la arena con las esporas de manera uniforme en los frascos, se etiqueta el frasco con el nombre del helecho o el número de control de la especie, así como la fecha de siembra. De cada especie se sembraron 15 frascos. Los frascos se colocaron en una superficie ligeramente inclinada donde la luz solar incida indirectamente con una temperatura que oscilar entre los 15° y 22°C. De los quince frascos que se sembraron, uno de ellos quedó como testigo, los otros catorce se utilizaron para el seguimiento de los ciclos biológicos de las especies en cuestión.

La primera muestra se toma a los quince días después de la siembra, se selecciona un frasco al azar, en condiciones de esterilidad, las muestras se toman con pinzas estériles y se pasan en cajas petri con formol al 2% para fijar el material durante 48 horas, una vez transcurrido el tiempo, la muestra se coloca en otra caja de petri que contiene

suficiente agua y tres gotas de safranina, se dejan por espacio de cinco minutos y finalmente se quita el exceso del colorante con agua, el material se pasa con ayuda de agujas de disección en portaobjetos, se monta en gelatina glicerizada, sellando con barniz de uñas transparente. Cada lamini-lla se etiqueta con el nombre del género y la especie que corresponda, la fecha de la toma de muestra. Las preparaciones se observaron bajo el microscopio óptico y microscopio estereoscópico.

Las siguientes tomas de muestras se realizaron cada quince días y se sometieron al mismo procedimiento antes descrito. El seguimiento del ciclo se concluyó cuando el esporofito alcanzó 5 mm de altura, posteriormente el material permaneció en el invernadero hasta que fueron transplantados en macetas.

Las fotomicrografías al microscopio de luz se realizaron con un equipo Axiophot 1 Zeiss con cámara digital ZVS-47DE, con programa de captura y procesamiento de imágenes KS-400 Zeiss y con un microscopio estereoscópico Stemi SV-11 Zeiss con cámara digital SONY DXC-151A (640 X 480 línea).

RESULTADOS

Ciclo de vida de *Asplenium monanthes* L. Presenta esporas monoletes de color café claro, de forma ovada de 33.1 a 50.1 μm de largo por 22.8 a 32.9 μm de ancho exina con tres capas, la perina de 1.7 a 2.5 μm de grosor, sexina de 1.8 μm de espesor, equinada y nexina menor de 1 μm de grosor (Fig. 1a).

La etapa inicial de la germinación se llevó a cabo a los 28 días después de la siembra, se presentó un filamento de 54.4 μm de largo formado por tres células (Fig. 1b), con pocos pigmentos verdes, la germinación es tipo *Vittaria* descrito por Nayar & Kaur (1971).

Posteriormente, a los 69 días se presentaron filamentos con seis a siete células alargadas de color hialino de 272 a 296 μm de largo (Fig. 1c). En otra etapa más avanzada, se observó a los 76 días filamentos de 377.5 μm formados por 10 células y la aparición de rizoides. También en este tiempo se observó que comienzan a bifurcarse las células que forman el cuerpo del gametofito así como los rizoides (Fig. 1d).

El desarrollo del protalo corresponde al tipo de *Aspidium* descrito por Nayar y Kaur (1971). A los 114 días se observaron gametofitos, donde comienza apreciarse la forma cordada, con dos rizoides, el gametofito midió 88.4 μm de largo por 127.5 μm de ancho (Fig. 1e). Las células que forman la escotadura está representada por 35 células meristemáticas de forma rectangular y redondas (Fig. 1f). También se observaron: gametofito más desarrollado, forma cordada típica y la presencia de abundantes rizoides; el gametofito midió 520.2 μm de largo por 346.8 μm de ancho, constituido por 85 células (Fig. 1g).

Los anteridios se apreciaron a los 195 días, se encuentran en la parte inferior del gametofito, cerca de los rizoides (Fig. 1h), miden 36 μm de largo por 30.6 micras de ancho, ovado-globosos, constituidos por una célula opercular, dos basales y dos parietales, con más de 50 anterozoides. Posteriormente,

cuando ocurre la maduración de los anteridios, se abre la célula opercular y se liberan los anterozoides (Fig. 1i).

Los arquegonios se encuentran en la parte superior del gametofito en la región próxima a la escotadura, son de forma ovada, se forman después que los anteridios a los 229 días, miden 68 μm de largo y 44.2 μm de ancho; están formados por ocho células del cuello, tres células del canal del cuello, una célula ventral y la ovocélula (Figs. 1j y 1k).

Los esporofitos se forman a los 349 días, son pedicelados, las primeras hojas son enteras, miden de 1.5 a 3 mm de largo por 0.5 a 1 mm de ancho, margen entero (Fig. 1l), la superficie del esporofito presenta parénquima clorofiliano, posteriormente la lámina se bifurca. El peciolo y el ápice de la primofronde que aún no se bifurca (Fig. 1m), se aprecian tricomas formados por tres células con una terminación globular, donde se aprecia gran cantidad de contenido celular y en algunos de ellos se observó un conducto, lo que hace pensar que se trata de tricomas glandulares (Fig. 1n). A los 377 días el esporofito midió de 5 a 8 mm de largo; la lámina comienza a dividirse en dos lóbulos, de 2 a 3.5 mm de largo y peciolo de 2 a 4 mm.

El esporofito adulto presenta las siguientes características: son plantas terrestres y epífitas, rizoma corto, las frondes son erectas, densamente cespitosas de 65 cm de largo y 3.5 cm de ancho, pinnadas, lámina con hasta 50 pares de pinas cuadrangulares, reducidas en la base de la lámina, margen superior crenulado, con dientes mucronados o subenteros, soros frecuentemente uno o dos por pinna, indusio lineal de 2 a 5 mm de longitud por un 1 mm de ancho; esporas monoletes. (Fig. 1o) castañas, de 33 a 44

μm de largo por 23.6 a 34.6 μm de ancho, la exina esta conformada por tres capas, la perina de 1.7 a 3.4 μm de grosor, la sexina de 1.7 μm y la nexina menor de 1 μm de grosor (Fig. 2a).

El tipo de germinación de la espора es de tipo Vittaria; según la bibliografía consultada (Nayar y Kaur, 1971), el tiempo exacto de la germinación de las especies estudiadas es entre los ocho a 28 días, según se muestra en el cuadro 1.

En *Elaphoglossum minutum*, una vez que se realizó la siembra de las esporas, transcurrieron varios meses sin que se obtuvieran indicios de la germinación de las esporas y se pensó que tal vez las condiciones no eran las adecuadas para la germinación de las mismas, por lo que después de cuatro meses de no observar cambios se decidió suspender la revisión periódica de los frascos. A los ocho meses después de la siembra, se observaron unas estructuras verdes, por lo que se tomaron nuevamente muestras y se encontró el desarrollo de los gametofitos y el desarrollo de las estructuras reproductoras. A los 240 días se observaron gametofitos de forma cordada de un milímetro de longitud, (Fig. 2b); las células son alargadas de color verde claro. En esta etapa se encontraron numerosos rizoides de tipo cilíndrico de color café claro a rojizo en toda la parte basal y en los márgenes del gametofito. Los anteridios, aún inmaduros, se ubican abajo de la escotadura y los arquegonios inmaduros se presentan en la parte basal del mismo gametofito. En etapas posteriores a los 240 días, el gametofito típico cordado con escotadura visible (Fig. 2c) desaparece y comienza alargarse, sigue presentando numerosos rizoides, tanto en la parte ventral como en la dorsal y en el margen del gametofito (Fig. 2d y 2e). El gametofito

pierde por completo la forma cordada y se torna alargado, las estructuras reproductoras se encuentran en todo el gametofito, pero es común encontrar los arquegonios en el centro y los anteridios en la parte periférica del gametofito (Fig. 2f).

Los anteridios son globosos de 37.4 a 42.5 μm de diámetro (Fig. 2g) están formados por seis células, una opercular, dos laterales y tres basales, contienen más de 50 anterozoides, los cuales se observan enrollados esperando que la célula opercular se abra para ir a fecundar a la ovocélula. Ciclo de vida de *Elaphoglossum minutum*. Presenta esporas de tipo monoete, ovadas.

Los arquegonios son de forma alargada de 54.4 μm de largo por 34 μm de ancho (Fig. 2h). Están formados por una ovocélula, una célula ventral, tres células del cuello y seis células del canal del cuello (Fig. 2i).

Los primeros esporofitos se presentan a los 350 días, se encontraron de uno a dos esporofitos por cada gametofito (Fig. 2j) presenta algunos tricomas globosos de color café rojizo a lo largo del pecíolo y en el ápice de la primofronde, la lámina es entera, de tipo ovada de 3 mm de largo por 1.5 mm de ancho, de color verde intenso, para esta etapa de desarrollo aún se observan restos del gametofito.

El esporofito adulto (Fig. 2k) presenta las siguientes características: plantas rupícolas o terrestres, rizoma 2 a 3 mm de diámetro, con escamas de 3 mm de largo, ovadas-lanceolada a ovadas, anaranjadas o pardo amarillentas, con diversos tonos de negro, lustrosas con franjas esclerosadas o negras, enteras o con pequeñas extensiones filiformes irregulares, filipodios conspicuos, hoja

estéril, glabra o escamosa, de 4 a 24 cm de largo por 0.6 a 1.4 cm de ancho, linear-elíptica, hidatodos ausentes, escamas de la lámina diminutas, espaciadas, raras en el haz, hojas fértiles más largas que las estériles; esporangios en posición acrosticoide, con anillo vertical, esporas monoletes (Fig. 2a).

Nayar & Kaur (1971) mencionaron que el desarrollo gametofítico es muy similar en el grupo de las Aspleniaceae, indican que el tipo de desarrollo del gametofito más común corresponde al tipo *Aspidium* así como el tipo de germinación corresponde al tipo *Vittaria*.

Con base en la revisión bibliográfica y a las observaciones realizadas en este trabajo, se compararon los resultados obtenidos por otros autores y comparados con los nuestros (tabla 1). En *Asplenium monanthes* la germinación fue a los 28 días después de la siembra, presenta una estructura filamentososa de tres a cuatro células, mientras que en *A. majoricum* y *A. trichomanes* estudiadas por Prada (1996) y Muccifora *et al.* (1995), en los cuales el tiempo de germinación fue de ocho y 10 días, el número de células que conforman esta etapa es de cuatro a seis, además, Prada *et al.* (1996) señalan que el número de células que constituyen el filamento es variable y esto depende de cada especie.

En relación con la fase laminar no cordada, (Muccifora *et al.*, 1995) observó que en *A. trichomanes*, a los 35 días se obtiene un gametofito de forma espatulada conformada por 61 células, mientras que para la especie estudiada en este trabajo, esta fase se alcanza entre los 69 y 76 días, con 21 células; en *A. majoricum* Litard. no se describe esta etapa.

Por lo que respecta a los gametangios, los anteridios en *A. majoricum* se presentaron a los 35 días y poseen cinco células; para *A. trichomanes* spp *trichomanes* se forman a los 90 días.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

A. monanthes, los arquegonios se presentaron a los 229 días, presentan ocho células del cuello, tres células del canal del cuello, la célula ventral y la ovocélula.

Por lo que respecta al esporofito joven, en *A. majoricum* se observan a los 105 días, no indican sus características (tabla 1), en *A. monanthes* se presenta a los 349 días, con un tamaño de 1 a 3 mm de largo, la hoja es entera, ovada y con la presencia de numerosos tricomas tanto en su ápice como en el pecíolo.

Por lo que se refiere a *Elaphoglossum minutum*, su espora es tipo monoete, su patrón de germinación es tipo *Vittaria* y el protalo tipo *Aspidium*. Para el género *Elaphoglossum*, es poca la información bibliográfica, que menciona el desarrollo del gametofito de algunas especies de *Elaphoglossum* y *Rhipidopteris* de América (Stokey, A. y L. Atkinson, 1957). Se citan algunas variaciones en cuanto al tamaño de las esporas y la presencia de pliegues además de espinas. Por lo que se refiere al tiempo de germinación es variable; están en función de las condiciones ambientales como son: la edad de la espora y el tipo de medio utilizado; se mencionan características en cuanto a la forma del protalo, presencia de tricomas en el mismo y el tiempo de formación de las estructuras reproductoras.

El tiempo en que se efectúa el ciclo es muy variable según las especies, en algunas es muy largo como *E. angustissimum* y *E. gayanum* que dura hasta seis años y en otras especies se lleva a cabo hasta en menos de dos meses como en *E. tectum*. En *E. minutum*, el ciclo dura 12 meses (tabla 2). En la especie estudiada en este trabajo, se presentaron a los 195 días formados por dos células operculares, dos anulares y una basal.

Nayar y Kaur (1971) mencionan que los anteridios en las aspleniáceas se ubican en la parte inferior del gametofito y que normalmente se manifiestan antes que los arquegonios; Muccifora, 1995 encuentra que en *A. trichomanes* ssp. *trichomanes* observó que 15 días después de la formación de los arquegonios, los anteridios alcanzan la maduración, los arquegonios están formados por 16 células y se ubican abajo de la escotadura del gametofito al igual que los anteridios. En *A. monanthes*, los arquegonios se presentaron a los 229 días, presentan ocho células del cuello, tres células del canal del cuello, la célula ventral y la ovocélula.

En lo que respecta a los gametangios, los anteridios en *A. majoricum* se presentaron a los 35 días y tuvieron cinco células; para *A. trichomanes* ssp. *trichomanes* se forman a los 90 días.

Las primeras etapas del ciclo de *E. minutum* no se tienen, ya que la germinación duró ocho meses y se pensó que tal vez las condiciones no eran adecuadas, por lo que se suspendió la revisión periódica de los frascos. Posteriormente, a los ocho meses después de la siembra, al observar unos filamentos verdes se decidió seguir la toma de muestras, se encontró que el gametofito

en sus inicios es de forma cordada, y conforme el gametofito va madurando la forma cordada va desapareciendo adoptando una forma alargada; en la bibliografía (Stokey y Atkinson, 1957) hacen referencia a que existen especies que pueden presentar el tipo cordado y posteriormente ser del tipo alargado pero no ocurre el caso contrario. En *Elaphoglossum minutum* el gametofito posee numerosos rizoides en la parte ventral, dorsal y marginal, el margen presenta ondulaciones. El desarrollo del ciclo de manera general es muy lento.

Según los resultados de este trabajo, se concluye que el tiempo de germinación de las esporas varía según la especie, al examinar los diversos trabajos sobre *Asplenium* y *Elaphoglossum* se observó que el tiempo de germinación es diferente, además de que el medio de cultivo utilizado para cada una es distinto, por lo que la germinación y el resto de las etapas del ciclo biológico deben de estar vinculada a estos aspectos, medio de cultivo y comportamientos diferentes entre las especies.

Por último, en las especies estudiadas en este trabajo, sus ciclos son muy prolongados, por lo que no son recomendables para una explotación comercial, además, que una vez que se obtuvieron los esporofitos jóvenes y alcanzaron una altura de 5 a 7 cm, se transplantaron a vasos de polietileno de 12 cm de alto, se colocaron en estos vasos los mismos elementos que en los frascos germinadores y se taparon con bolsas de plástico; las plántulas no se murieron, pero su desarrollo es muy lento, de tal forma que después de tres años no han crecido más de 3 cm.

BIBLIOGRAFÍA

- Arreguín, S.M.L., 1987. "Importancia económica de las Pteridofitas". Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. *Informes Técnicos*, **I**(1):1-47. México.
- Atkinson, L. R. 1973. The gametophyte and family relationships. In: "The Phylogeny and Classification of the Ferns". A. C. Jermy, J. A. Crabbe & B.A. Thomas(eds.). Suppl. 1, *Bot. J. Linn. Soc.*, **67**(27): 73-90.
- Benedict, R.C., 1939. "Growing ferns from spores". *Amer. Fern J.*, **29**(3): 95-98
- Bridgers. B.T., 1958. "Techniques involving the sowing of spores on ferns for artificial cultures". *J. Wash. Acad. Sci.*, **48**: 158-159.
- Cronquist, A., 1991. *Introductory Botany. Harper International*. New York. U. S. A. 885 pp.
- Davie, J.H.. 1951. "The development of the Antheridium in the Polypodiaceae". *Amer. J. Bot.*, **38**: 621-628.
- Mickel, J.T. & J.M. Beitel, 1988. "Pteridophyta Flora of Oaxaca. México", *Mem. N. Y. Bot. Garden*, **46**: 1-568.
- Miller, J.H. 1968. "Fern gametophytes as experimental material". *Botanical Review*, **34**(4): 361-440.
- Montoya-Casimiro, C., Varela-Álvarez, R., S. Pérez-Hernández y M.L. Arreguín-Sánchez, 2000. "Ciclos Biológicos de *Blechnum occidentale* var. *occidentale*

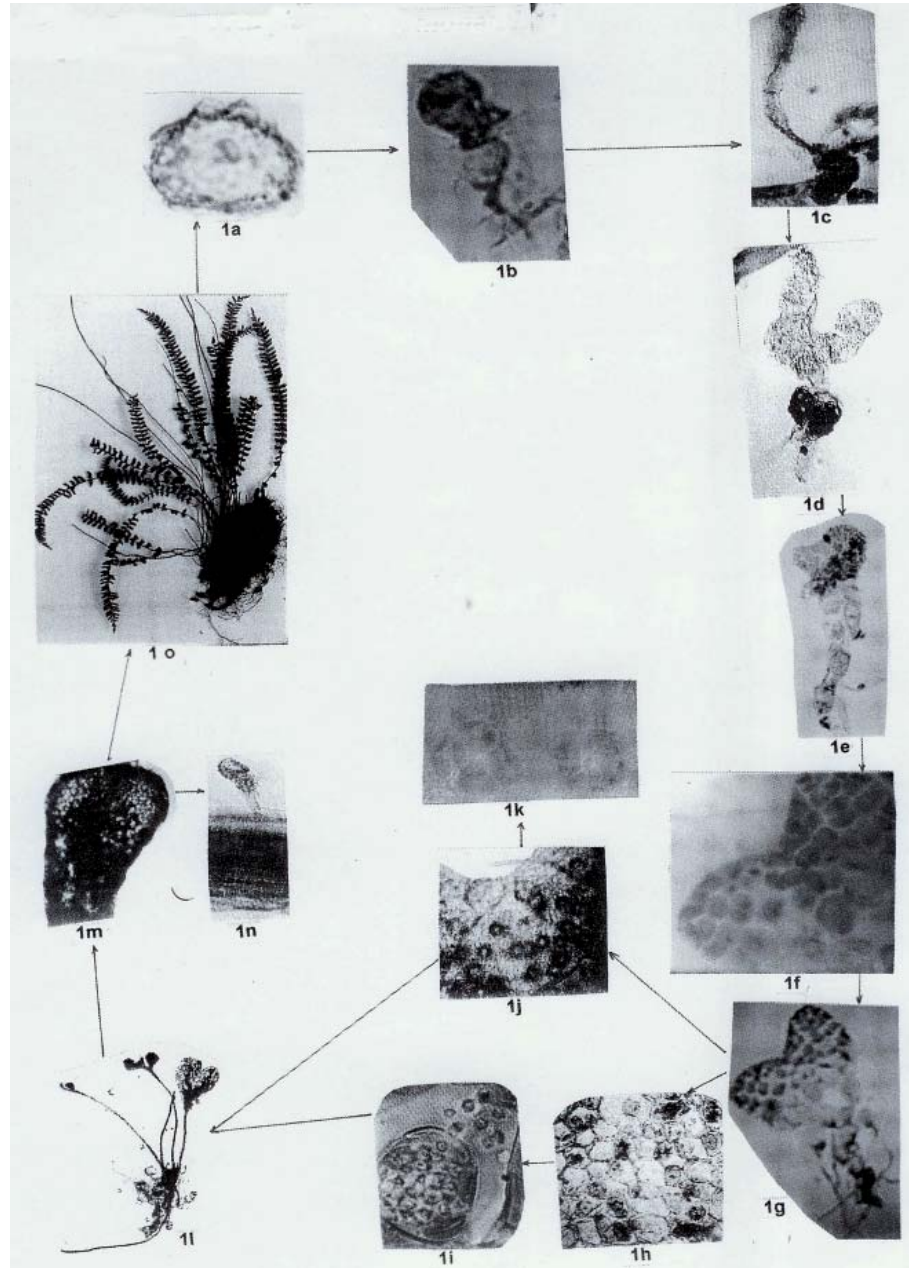


Fig. 1. Ciclo de vida de *Asplenium monanthes*.

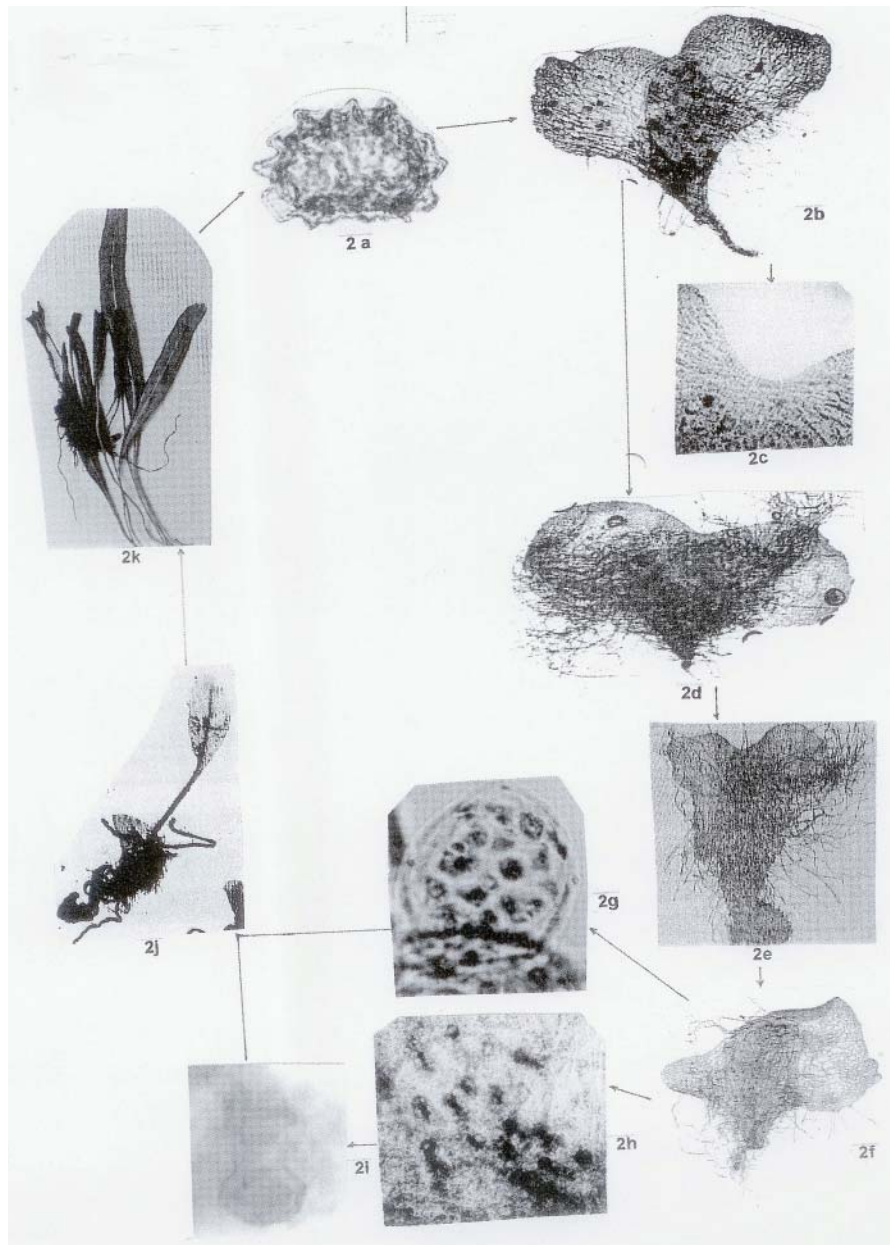


Fig. 2. Ciclo de vida de *Elaphoglossum minutum*.

Tabla 1. Comparación del desarrollo de diferentes especies de *Asplenium*.

| Especie | Tipo de germinación | Tipo de protalo | Primeras etapas de germinación | Fase laminar no cordada | Fase laminar cordada | Anteridios | Arquegonios | Esporofito | Medio de cultivo | Autor |
|--|---------------------|-----------------|--------------------------------|--------------------------|-------------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|---------------------------------------|--|
| <i>A. trichomanes</i> <i>spp. trichomanes</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | 8-10 días 5-6 células | 35 días 61 células | 60 días | 90 días | 75 días 16 células | no indican | Knop's modificado por Vaudos y Tourte | Muccifora, (1995). |
| <i>A. majoricum</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | 9 días 4-6 células | no indican | no indican | 35 días 5 células | no indican | 105 días | Agar | Prada, (1996). |
| <i>A. monanthes</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | 28 días 3-4 células | 69-76 días 21 células | 114-195 días 35-85 células | 195 días 5 células | 229 días 13 células | 349 días 1-3 mm | "Maquique" | Sánchez-Montiel y Arreguin-Sánchez (resultados de este trabajo). |

Tabla 2. Comparación del desarrollo de diferentes especies de *Elaphoglossum*.

| Especie | Tipo de germinación | Tipo de protalo | Tiempo del ciclo | Tiempo de germinación | Fase del gametofito cordado | Fase del gametofito alargado | Aparición del esporofito | Tipo de cultivo | Autor |
|-------------------------|---------------------|-----------------|------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------|-----------------|---|
| <i>E. angustissimum</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | seis años | 10 meses | no indican | no indican | no indican | no especifican | Stokey, A & L. Atkinson (1957) |
| <i>E. gayanum</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | seis años | cinco meses | no indican | no indican | no indican | no especifican | Stokey, A & L. Atkinson (1957) |
| <i>E. boragineum</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | no indican | no indican | no indican | no indican | no indican | no especifican | Stokey, A & L. Atkinson (1957) |
| <i>E. curvans</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | no indican | no indican | no indican | no indican | no indican | no especifican | Stokey, A & L. Atkinson (1957) |
| <i>E. papillosum</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | no indican | no indican | no indican | no indican | no indican | no especifican | Stokey, A & L. Atkinson (1957) |
| <i>E. mathewsii</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | 49 días | no indican | no indican | no indican | no indican | no especifican | Stokey, A & L. Atkinson (1957) |
| <i>E. tectum</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | 55 días | no indican | no indican | no indican | no indican | no especifican | Stokey, A & L. Atkinson (1957) |
| <i>E. minutum</i> | <i>Vittaria</i> | <i>Aspidium</i> | 12 meses | ocho meses | Presenta | Presenta | > 350 días | "Maquique" | Sánchez-Montiel y Arreguín-Sánchez (resultados de este trabajo) |

NOTA: Stokey, A. & L. Atkinson (1957) no especifican el medio de cultivo utilizado en cada especie, mencionan que se utilizó agar, musgo y agua.

- (Blechnaceae-Pteridophyta) y *The-lypteris resinifera* (Desvaux) Proctor, Thelypteridaceae-Pteridophyta”. *An. Esc. nac. Cienc. biol. Méx.*, **46**(3): 317-339.
- Muccifora, S, and P. Gori., 1995. “*Asplenium trichomanes* ssp. *trichomanes* Gametophyte. A light and electron microscope study”. *Caryologia*, **48**(3-4): 265-274.
- Murillo, T., 1983. *Usos de los helechos en Sudamérica y con especial referencia a Colombia*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 236 pp.
- Nayar, B.K. and S. Kaur, 1971. “Gametophytes of homosporous ferns”. *Bot. Rev.*, **37**(3): 295-396.
- Prada, C.E., E. Pangua A. Herrero and S. Pajarón, 1996. “A comparative study of the gametophytes of *Asplenium majoricum* Litard (Aspleniaceae) and related taxa”. *Anales Jardín Botánico de Madrid*, **54**:126-136.
- Raghavan, V., 1965. “Action of purine and pyrimidine analogs on the growth and differentiation of the gametophytes of the fern *Asplenium nidus*”. *American Journal Botany*, **52**:900-910.
- Raghavan, V., 1988. “Developmental biology of fern gametophytes”. Cambridge University Press. 361 pp.
- Riba, P., 1994. “El desarrollo de los estudios sobre pteridofitas de México”. In: *Taxonomía Biológica*. Ediciones Científicas Universitarias. Texto Científico Universitario. México, DF. pp 333-341.
- Stolze, R., 1981. “Ferns and fern allies of Guatemala”. *Polypodiaceae*. Fieldiana Botany, USA. **2**:210-238.
- Smith, A.R., 1981. “Flora of Chiapas”. *Pteridophytes*. Calif. Academy of Sciences **2**:59-60.
- Stokey, A. and L. Atkinson, 1957. “The gametophyte of some american species of *Elaphoglossum* and *Rhipidopteris*”. *Phytomorphology*, **7**(3,4): 275-292.
- Valla, J.J., 1970. “Técnicas para el cultivo de helechos a partir de sus esporas”. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, **13**(2-3): 145-150.
- Voeller, B., 1970. “Developmental physiology of fern gametophytes: relevance for Biology”. *BioScience*, **21**(6): 266-270.
- Weinverg, E.S. and B.R. Voeller, 1969. “External factors inducing germination of ferns spores”. *Amer. Fern. J.*, **59**(4): 153-167.