

DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO DEL GAMETOFITO Y PRIMERAS FASES DEL ESPOROFITO DE *POLYSTICHUM ORDINATUM* (KUNZE) LIEBM. (DRYOPTERIDACEAE-PTERIDOPHYTA)*

**Alejandra Nazario-Galindo
María de la Luz Arreguín-Sánchez****

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Botánica, Plan de Ayala y Carpio, Colonia Santo Tomás, México DF 11340

RESUMEN

Se describe el ciclo de vida de *Polystichum ordinatum* (Kunze) Liebm. Los especímenes fueron colectados en Cuetzalan, Puebla, México. Las esporas se sembraron siguiendo la técnica de Montoya-Casimiro *et al.* (2000). La germinación de la spora fue tipo *Vittaria*, y el desarrollo del protalo tipo *Aspidium*. Se encontraron dos tipos de gametofitos, uno cordado que forma sólo arquegonios y otro alargado con anteridios; en este último los anteridios presentaron cuatro posiciones diferentes: a) en la parte media, b) en posición proximal y central, c) sobre toda la superficie y, d) en el margen del gametofito. Se observaron tricomas en los gametofitos cordados y en los alargados, sólo son glabros y los anteridios se presentan marginales. Los esporofitos jóvenes se obtuvieron a los 325 días. El ciclo de vida de *Polystichum ordinatum* es parecido al ciclo tipo *Equisetum*, por presentar isosporia, desarrollo de gametofitos exospóricos y unisexuales.

Palabras clave: *Polystichum ordinatum*, gametofito, esporofito, pteridofita, Puebla.

ABSTRACT

This study examined the life cycle of *Polystichum ordinatum* (Kunze) Liebm. Specimens were collected at Cuetzalan, Puebla, Mexico. The spores were sown according to the technique of Montoya-Casimiro *et al.* (2000). The germination pattern was of the *Vittaria* type, and prothallial development was of the *Aspidium* type. Two types of gametophyte were found: cordate with only archegonia and elongated with antheridia. In the latter type of gametophyte antheridia developed in four different positions: a) in the middle part, b) in a proximal central position, c) over the whole surface and, d) along the margin of the gametophyte. Trichomes were observed in cordate and elongated gametophytes; only gametophytes with marginal antheridia were glabrous. Young sporophytes were obtained around 325 days after sowing. The life cycle of *P. ordinatum* is like that of *Equisetum*, having the same kind of spores, exosporic gametophytes and unisexual gametophytes.

Key words: *Polystichum ordinatum*, gametophyte, sporophyte, pteridophyta, Puebla.

* Trabajo parcialmente apoyado por la Dirección de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Politécnico Nacional, clave 20071073.

** Becaria de COFAA del IPN.

INTRODUCCIÓN

Los helechos son criptógamas vasculares que se desarrollaron en el periodo Devónico, hace aproximadamente 400 millones de años, se extinguieron casi en su totalidad durante el Carbonífero y otras llegaron hasta nuestros días.

El ciclo de las pteridofitas es típicamente digenético, diplo-haplofásico con una fuerte predominancia de la generación esporofítica sobre la generación gametofítica. En el envés de la hoja o fronde del esporofito se forman los esporangios agrupados generalmente en soros, cuando los esporangios maduran liberan miles de esporas, las esporas que encuentran condiciones favorables para germinar producen un gametofito, el cual se desarrolla hasta formar un esporofito nuevo.

En la mayor parte de los helechos, se encuentra un ciclo isospórico donde todas las esporas son idénticas. En ese caso, luego de la meiosis sigue la maduración de las esporas en los esporangios y posteriormente su diseminación. Al germinar, las esporas darán origen a los protalos, sobre los cuales se diferenciarán anteridios y arquegonios. Los gametos masculinos o anterozoides, nadan en el agua del medio exterior y son atraídos por quimiotactismo hacia los arquegonios, para fecundar la ovocélula. El cigoto se desarrolla en el seno del arquegonio para formar el joven esporofito que vivirá durante las primeras etapas como un dependiente obligado del gametofito que luego terminará por degenerar y desaparecer. El ciclo de la mayor parte de los helechos se caracteriza por una isosporia y una homoprotalía, con un solo tipo de espóra y protalo bisexuado.

Otros tipos de ciclos de vida en las pteridofitas, no tan comunes, son: el ciclo hete-

rospórico presente en pocos géneros como *Selaginella*, *Isoetes* y helechos acuáticos. Se distingue por la presencia de dos tipos de esporas: las megasporas, que darán lugar a gametofitos con arquegonios y éstos formarán la ovocélula, y las microesporas, que producirán anteridios y éstos anterozoides. Un tercer ciclo se considera intermedio entre el isospórico y el heterospórico, es de tipo *Equisetum* con esporas morfológicamente iguales, pero algunas de ellas producen gametofitos productores de anteridios y otras forman un gametofito con arquegonios.

OBJETIVOS

Describir el ciclo biológico de *Polystichum ordinatum* (Kunze) Liebm. y contribuir al conocimiento sobre la biología de esta especie.

Aportar información para la posible adaptación en cultivo y el aprovechamiento comercial de esta especie.

ANTECEDENTES

Entre los trabajos taxonómicos-florísticos que mencionan y describen al género *Polystichum* tenemos los siguientes:

Smith (1981) menciona que el género *Polystichum* en el norte de América Latina comprende aproximadamente dieciséis especies distribuidas hacia el sureste de México, en donde se pueden distinguir cuatro grupos de especies: *Polystichum ordinatum*, especie que se estudia en este trabajo, pertenece al grupo que se desarrolla en altitudes medias y altas con lámina bipinnada e indusio. Barrington (1985) revisó el estado taxonómico y evolutivo del género *Polystichum*, y concluyó que las especies de *Polystichum* están definidas por grandes características

morfológicas y citológicas además de las preferencias altitudinales y de hábitat. En cuanto a la hibridación menciona que es común en el género la producción de híbridos estériles y nuevas especies poliploides, estas hibridaciones sólo se producen en algunas especies que crecen en áreas como las montañas de los trópicos y en climas templados a fríos, también menciona que la variabilidad, especialmente ontogénica y fenotípica del género, es una respuesta que presentan algunos individuos a la perturbación ambiental, dificultando la clasificación del grupo. El género *Polystichum* presenta problemas sistemáticos en diferentes niveles taxonómicos debido a sus grandes variaciones estructurales, una de las principales características que definen a varios subgéneros incluidos en el género *Polystichum* es la presencia o ausencia de indusio peltado, y esto pone en duda si el género es o no monofilético. Además, presenta homoplastia y como consecuencia existe en la mayoría de sus especies hibridación interespecífica y con otros géneros más cercanos tales como *Plecosorus*, aunque en nuestro país todavía no se ha documentado la hibridación interespecífica. Barrington (1995), en Flora Mesoamericana, describió las características morfológicas de *Polystichum ordinatum*. Greer y McCarthy (1997) estudiaron cómo el anteridiógeno de *Polystichum acrostichoides* (Michx.) Schott que es soluble en agua, se utilizó como medio de cultivo el suelo y los gametofitos ya establecidos previamente se sembraron a diferentes distancias; encontraron que se formaron protalos con escotadura, los que estaban más alejados produjeron arquegonios y los más cercanos anteridios de forma precoz. Lorea-Hernández y A.R. Smith (1996), describieron e ilustraron a *Polystichum schizophyllum* Lorea-Hern. y A.R. Sm., especie endémica de Guerrero. Tahuilán-Martínez *et al.* (2003) describen

seis especies de *Polystichum* para la cuenca del río Balsas y encontraron un nuevo híbrido estéril entre *Plecosorus speciosissimus* X *Polystichum rachichlaena*. Pangua *et al.* (2003) realizaron un estudio comparativo en tres especies de *Polystichum*, todas ellas pertenecientes al grupo de *P. aculeatum*, donde encontraron que *P. lonchitis* (L.) Roth presentó gametofitos bisexuados, *P. setiferum* (Forssk.) Moore ex Woyn. los gametofitos fueron en una proporción mayor femeninos, pero también los hubo bisexuados y en *P. aculeatum* (L.) Roth ex Mert. todos fueron bisexuados.

Los trabajos que aportan datos sobre los ciclos de vida de algunas especies del género *Polystichum* son los de Patterson (1942) quien realizó un estudio citológico en *Polystichum tsussimense* J. Smith, encontrando una relación directa entre las características citológicas de las células esporógenas y la apogamia presente en la especie, realizó el cultivo de esporas en una solución nutritiva en donde sólo germinó un porcentaje bajo de las esporas, encontrando filamentos constituidos por seis a ocho células formados por divisiones transversales, los que produjeron de dos a tres rizoides, el gametofito fue de forma cordada y poseía tricomas unicelulares sobre el borde y la parte dorsal, mientras que la parte posterior produce numerosos rizoides, en la región protálica se produce un cojín de células donde se observó que aproximadamente a 1/8 de pulgada de la muesca apical se presentó la primera evidencia de apogamia en este grupo de células. Asimismo, apreció que cuando el gametofito se exponía a una gran cantidad de luz, éste no produce anteridios, y cuando se expone a luz poco intensa producía grandes cantidades de anteridios con anterozoides maduros, observándose sólo la formación de anteridios y no de arquegonios en esta forma de ga-

metofito. Simultáneamente realizó técnicas citológicas para poder determinar la relación de la apogamia y las células protálicas, encontrando que las divisiones nucleares en ocho células esporógenas son generalmente interrumpidas durante la profase y pasa a una anafase parcial acompañada de una división celular incompleta, produciendo como resultado un número diploide de cromosomas (91 pares). Las divisiones meióticas de la espora madre normalmente originan 32 esporas cada una con 91 cromosomas, de manera que el número de cromosomas en el gametofito y esporofito es similar. Sato y Sakai (1980) efectuaron experimentos con las esporas de la especie *Polystichum retroso-paleaceum* (Kodama) Tagawa exponiéndolas a temperaturas de hasta -70°C , esto con el objeto de entender la adaptación del ciclo de vida de los helechos a regiones frías, obteniendo así que las células pueden ser viables, a veces con temperaturas de hasta -196°C . Barrington (1985a) describió un nuevo híbrido triploide resultado de la cruce de las especies *Polystichum muricatum* (L.) Fée X *Polystichum polyphyllum* (Presl) Presl, provenientes de las altas montañas de Costa Rica, aparentemente la hibridación entre estas especies fue ocasionada por la perturbación humana en su hábitat. Al analizar el híbrido y sus padres observó que el híbrido al parecer estéril producía gametofitos con múltiples “muescas” meristemáticas, así también, con datos citológicos y morfométricos pudo comprobar cuáles fueron los padres que produjeron dicha hibridación. Además, menciona que se ha comprobado que otros géneros y especies producen híbridos fértiles y éstos pueden originar nuevas especies. Muccifora y Gori (1997), realizaron un trabajo citológico en el que encontraron paracrístales en las células del gametofito de *Polystichum setiferum* (Forssk.) T. Moore ex

Woynar, se sabe que en las plantas superiores estos paracrístales se utilizan como reservas de proteínas, ellos encontraron que en las hojas de las pteridofitas estos componentes son un elemento de especial importancia durante la formación de esporas, pero al encontrarlos en las células del gametofito sugieren que son un signo indicativo de que ciertas células tienen una baja actividad metabólica, ya que sólo fueron encontrados en las células que rodean a las células que originarán los anteridios y los arquegonios, las mismas que tienen una alta actividad metabólica y no tienen paracrístales; además se cree que eventualmente éstos podrían ser utilizados cuando sean requeridos por tener un contenido proteico de enzimas nucleares.

MÉTODOS

El material biológico se colectó en un bosque mesófilo de montaña ubicado cerca del poblado de Cuetzalan Puebla, México, el 18 de marzo del 2001 durante la mañana, teniendo cuidado de que los ejemplares tuvieran soros fértiles y maduros. Durante la colecta se separaron parte de las frondes en sobres blancos y se colectaron muestras completas de helechos que se depositaron en el Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Los especímenes fueron identificados y desinfectados antes de formar parte del acervo del herbario ENCB. La siembra se realizó el día 2 de abril del 2001, utilizando la técnica de Montoya-Casimiro *et al.* (2000).

RESULTADOS

Esporas

La siembra de las esporas se realizó el día 2 de abril del 2001. Éstas son de color castaño

oscuro de tipo monolete, de 45.1 μm de largo por 34.3 μm de ancho, de forma ovada a circulares, con exina de 11.8 μm de grosor, compuesta por una nexina menor de 1 μm de grosor, sexina de 1.7 μm de grosor y perina de 9.3 μm de espesor. La perina está formada por más de diez pliegues delgados y crestas que en la superficie forman un patrón regulado (Fig. 1).

Germinación

La germinación de las esporas se inició a los 35 días de la siembra y a los 58 días se observó la formación de un pequeño filamento de 130.8 μm de largo por 120.3 μm de ancho, en el cual se pudieron observar la germinación de la spora formada por aproximadamente seis células, cuatro forman el filamento clorofiliano y otras dos células que darán origen a los rizoides, ambos filamentos forman un ángulo de 45°, indicando una germinación de tipo *Vittaria* (Fig. 2). También en esa fecha se pudieron observar fases filamentosas más desarrolladas de 154 μm de largo por 105.5 μm de ancho, constituidas por siete a nueve células y otras con más de 12 células. En todos los filamentos se observan restos de esporas indicando que se trata de un desarrollo exospórico del gametofito.

A los 93 días se observaron filamentos de 442 μm de largo por 119 μm de ancho con 18 a 23 células donde ya se pudo apreciar la formación de rizoides de la mitad del filamento hacia la parte proximal, y de la mitad del filamento hacia la parte distal se apreciaron sobre el margen tricomas en desarrollo (Fig. 3), esta etapa puede considerarse como intermedia entre la filamentosas y la laminar.

Fase laminar

A los 58 días se observó una fase laminar temprana de 535.5 μm de largo por 229.5 μm de ancho. En la parte proximal se aprecian ocho células alargadas que sostienen la lámina que se forma en la parte distal, constituida por más de 35 células, las células que forman la parte central de la lámina son globosas de mayor tamaño que aquellas que están en el borde, que son rectangulares y delgadas, donde se puede observar una gran actividad en la división celular, también se distingue la formación de tricomas sobre el margen (Fig. 4).

A los 149 días se observaron fases laminares (Fig. 5) que midieron 0.7 mm de largo por 0.6 mm de ancho, se logró apreciar la formación de rizoides de aproximadamente 2 mm de largo, dispuestos de la mitad de la lámina hacia la parte proximal, que es más delgada en relación a la parte distal, así mismo, se observaron tricomas de 29.5 μm de largo dispuestos en forma regular sobre al margen, constituidos por dos células, una basal y una célula apical globosa con citoplasma granular. Sobre la superficie de la lámina se pudo distinguir un solo tricoma unicelular de 46.4 μm de largo con citoplasma homogéneo.

Para esta fecha también se observó el inicio de la formación de la escotadura del gametofito cordado, esta fase mide 0.7 mm de largo por 0.5 mm de ancho, donde la formación de rizoides está muy cerca de la parte proximal del gametofito y sobre el borde distal de la lámina se observan tricomas bicelulares dispuestos en forma regular con las mismas características que la fase anterior (Fig. 6a).

La escotadura que se forma entre los dos tricomas da al gametofito una forma asimétrica, formada por 27 células, donde la célula 11 de izquierda a derecha se identifica como la célula meristemática, este desarrollo del gametofito nos indica un desarrollo de tipo *Aspidium* (Fig. 6b).

A los 110 días se observó la formación de una fase cordada temprana de 0.7 mm de largo por 0.5 mm de ancho. En ésta se apreció la formación de rizoides de la mitad de la lámina hacia la parte basal, éstos son unicelulares, de 1 mm de largo y se tiñen profusamente con safranina, siendo poco abundantes. Sobre el borde se distribuyen tricomas bicelulares en forma regular con la célula apical globosa (secretora). En la superficie de la lámina se observaron pocos tricomas unicelulares con citoplasma uniforme dispuestos de manera regular (Fig. 6c).

A los 136 días se apreció la formación de gametofitos cordados de 3 mm de largo por 2 mm de ancho, tiene una forma simétrica con la parte proximal más delgada respecto a la distal. La formación de rizoides es más abundante de la mitad de la lámina hacia la parte proximal, los rizoides miden aproximadamente 3 mm de largo, son unicelulares, con citoplasma uniforme y se tiñen profusamente con safranina. Los tricomas bicelulares formados sobre el borde de la lámina tienen las mismas características que los descritos anteriormente (Fig. 6a). Los tricomas formados sobre la superficie de la lámina son más abundantes que en la fase anterior y están dispuestos de manera regular (Fig. 6c).

A los 157 días se continuó observando fases cordadas de 2 mm de largo por 1.5 mm de ancho. Los rizoides son más abundantes y

miden aproximadamente 1 mm de largo, formándose a partir de los dos tercios inferiores de la lámina hacia la parte proximal; éstos son unicelulares con citoplasma uniforme que toman profusamente el color de la safranina. Sobre el borde de la parte proximal se apreciaron tricomas bicelulares dispuestos en forma regular con las mismas características que los descritos anteriormente. Sobre la lámina se apreciaron más tricomas unicelulares.

Gametangios

Arquegonios. Los arquegonios se aparecieron a los 218 días de la siembra, sobre una fase cordada simétrica de 5 mm de largo por 5 mm de ancho en la que se apreció la formación de tricomas bicelulares de 38 μ m de largo, dispuestos en forma regular sobre el margen del gametofito teniendo las mismas características que los tricomas descritos anteriormente, además se pudo apreciar que alrededor de los arquegonios se comienzan a formar rizoides (Fig. 6d). También se observó la formación de una escotadura pronunciada formada por aproximadamente 30 células en constante división mitótica, éstas son delgadas y rectangulares, formando un meristemo pluricelular que forman una costilla media y da la apariencia de un cojinete a la zona de crecimiento de los arquegonios (Figs. 6e y 6d).

Los arquegonios aún inmaduros se desarrollan a 0.3 mm por debajo de la escotadura, dispuestos en forma regular, durante esta fase los rizoides se extienden desde la parte proximal hasta la zona de formación de los arquegonios. Los rizoides, que aún son pocos en esta fase, son unicelulares y de aproximadamente 3 mm de largo.

A los 224 días, se encontraron gametofitos cordados simétricos de 5 mm de largo por 8 mm de ancho, que poseían tricomas bicelulares distribuidos uniformemente sobre el margen de la lámina, con una célula apical globosa que toma el color de la safranina (Fig. 6a). Sobre la lámina se observaron una mayor cantidad de tricomas unicelulares (Fig. 6c). En la parte ventral del gametofito cordado se apreciaron los arquegonios en proceso de maduración formados a 0.5 mm por debajo de la escotadura, los rizoides de 4 mm de largo que rodean los arquegonios son más densos y se tiñen profundamente con la safranina (Fig. 6f).

A los 259 días se encontraron gametofitos cordados de 5.5 mm de largo por 7 mm de ancho (Fig. 6), en los que se observaron, sobre todo el borde de la lámina, tricomas bicelulares con una célula basal de citoplasma granular y una célula apical globosa de citoplasma uniforme (Fig. 6a). Los tricomas que se encuentran sobre la lámina son más densos y se distribuyen uniformemente sobre ésta (Fig. 6c); éstos son unicelulares en la parte distal globosa, la cual toma el color de la safranina. Además, los arquegonios que se distinguen a 0.5 mm por debajo de la escotadura, se apreciaron en un mayor estado de maduración, y los rizoides que los rodean son mucho más densos que en fases anteriores y se tiñen profusamente con la safranina (Fig. 6).

A los 237 días se observaron arquegonios en diferentes grados de maduración de 72.7 µm de largo por 52.9 µm de ancho, formados por cuatro células del canal del cuello, 10 células del cuello, una célula ventral y una ovocélula (Fig. 8).

Anteridios. A los 290 días se encontró un gametofito alargado, en el que se observaron

anteridios en un estado avanzado de maduración sobre el borde de la lámina, este gametofito no presentaba tricomas de ningún tipo, sólo se encontraron escasos rizoides dispuestos en la parte proximal (Fig. 7a). En la misma fecha se observó la formación de anteridios sobre otros gametofitos alargados, localizándose dos formas de distribución de los anteridios, en algunos gametofitos alargados los anteridios, todavía inmaduros, se encontraron en la parte central de la lámina sobre las zonas más teñidas de safranina; la formación de rizoides sólo se localiza en la parte ventral dispersos irregularmente sobre la lámina teñidos intensamente por la safranina (Fig. 7b). Cabe señalar que este gametofito alargado no presenta tricomas sobre la lámina, éstos se restringen al borde, repartidos irregularmente además de ser dispersos y poco abundantes.

Otro tipo de posición de los anteridios se observó en gametofitos alargados de 4 mm de largo por 2 mm de ancho, parecido al anterior pero con la diferencia que sólo forman anteridios desde la parte proximal hasta la parte central, los rizoides sólo se desarrollan en la parte proximal siendo escasos y con una distribución regular (Fig. 7c).

A los 366 días se apreciaron gametofitos alargados de 18 mm de largo por 6 mm de ancho con anteridios dispuestos sobre toda la lámina, éstos se ubican en forma gradual, encontrando la mayor cantidad de ellos en la parte distal y disminuyendo en número a medida que nos acercamos hacia la parte proximal. También sobre estos gametofitos se observaron tricomas bicelulares como los descritos anteriormente para los gametofitos femeninos sobre el borde de la lámina, así como la formación de escasos rizoides cerca de la parte proximal (Fig. 7d). Sobre el borde de estos gametofitos se encontraron

anterozoides maduros saliendo del anteridio, los anteridios son globosos de 38 μm de largo por 35.8 μm de ancho formados por dos células del pie, dos células de la pared y una célula opercular (Fig. 9). Se observaron anterozoides que salen del anteridio en forma de espiral de 0.84 μm de largo, dentro del anteridio se contaron de 27 a 55 anterozoides, dependiendo del grado de maduración (Fig. 9). En los gametófitos alargados no se formó cojinete, a diferencia de los cordados en donde este engrosamiento es muy claro; las zonas de los protalos alargados que se encuentran teñidos profusamente con la safranina son las zonas de diferenciación celular donde se van a formar o se están formando los anteridios.

Esporofito

A los 325 días se encontraron esporofitos todavía unidos a la fase cordada, los rizoides son unicelulares mucho más abundantes y aún siguen observándose tricomas como en las fases cordadas anteriores, se observó un esporofito por cada gametofito.

El esporofito midió 13 mm de largo con un peciolo de 7 mm y la lámina de 6 mm de largo, esta última es de forma flabelada y se aprecia la venación dicotómica. Sobre la superficie laminar del esporofito en desarrollo, se presentan tricomas periféricos formados por dos a tres células, la basal de 10.6 μm , una alargada de 50.6 μm y otra globosa apical de 21.1 μm de largo, ubicados sobre la superficie. En el margen del esporofito también se encuentran tricomas alargados formados por cuatro a seis células que miden desde 200.5 μm hasta 211.0 μm de largo, éstos tienen citoplasma granular que toman ávidamente el color de la safranina al igual que las células globosas de los otros tricomas (Fig. 10a).

En el peciolo del esporofito se presentaron dos tipos de tricomas que se encuentran entremezclados, unos con la terminación globosa que miden aproximadamente 16.9 μm de largo y los otros tricomas formados por una a cuatro células alargadas de aproximadamente 43.6 μm de largo, ambos tricomas toman fuertemente el color de la safranina (Fig. 10b). En esta fase todavía se encontraron abundantes rizoides del gametofito de hasta 5 mm de largo, que al igual que la superficie se tiñen profusamente con la safranina. A los 364 días se encontraron esporofitos de 16 mm de largo donde se apreció una lámina de 4 mm de ancho por 6 mm de largo que comenzó a dividirse en dos lóbulos y posteriormente en cuatro, que es donde se observa mejor la venación dicotómica y todavía persisten restos del gametofito (Fig. 10).

El esporofito adulto de *Polystichum ordinatum* (Kunze) Liebm., es una planta terrestre con rizoma erecto, escamas bicoloras lanceoladas a linear lanceoladas, lámina de 30 a 90 cm de largo por 14 a 28 cm de ancho, bipinnada, crenada acuminada, raquis cubierto por escamas, pinnas basales reducidas y acroscópicas, soros terminales, esporas monoletes y nervaduras libres. Se distribuye en Chiapas, Oaxaca, Veracruz y Guatemala. (Tahuilán-Martínez y Arreguín-Sánchez, 2003). En la figura 11 se muestra el detalle de la fronde donde se obtuvieron las esporas para la realización de este trabajo.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Al comparar nuestros resultados con los obtenidos por otros autores, observamos lo siguiente:

1) Las especies del género *Polystichum* han sido poco estudiadas desde el punto de vista

de su biología reproductiva, sin embargo, contamos con algunos datos de Nayar y Kaur (1969), Patterson (1942) y Barrington (1985) donde mencionan algunos aspectos relacionados con la germinación de la espора, el número de células del filamento, tiempo de formación del gametofito, el sexo de éste, el tiempo de aparición de los gametangios, entre otras (tabla 1).

2) Al comparar nuestro trabajo con los estudios citados anteriormente, encontramos que éstos no mencionan el tiempo de germinación de la espора de las especies que ellos trabajaron.

3) Los resultados del presente estudio nos indican que la germinación en *Polystichum ordinatum* se obtuvo a los 35 días. En cuanto al número de células que forman el filamento, Nayar y Kaur (1969) mencionan en general que en el filamento de las especies del género *Polystichum* se presentan de cuatro a ocho células; mientras que en *P. tsussimenes* varían de seis a ocho y en *P. ordinatum* de siete a nueve.

En lo referente a la formación del gametofito, ningún autor menciona el número de días en que se presentan ni los gametofitos jóvenes ni adultos. El desarrollo de esta fase en nuestra especie de estudio tuvieron lugar a los 136 días los de forma cordada y a los 290 días los de forma alargada. Con respecto a la forma de los gametofitos, Nayar y Kaur (1969) y Patterson (1942), los mencionan cordiformes, Barrington (1985) describe el gametofito del híbrido *P. muricatum* X *P. polyphyllum* como multilobulados y los gametofitos paternos como cordados. En *P. ordinatum* se obtuvieron dos tipos de gametofitos, unos cordados y otros alargados.

En cuanto al sexo del gametofito, Patterson (1942) menciona sólo la formación de anteridios, Barrington (1985) indica que el gametofito híbrido es estéril; en *P. ordinatum* los gametofitos cordados formaron sólo arquegonios y los alargados anteridios.

En relación al número de días en que se presentaron los gametangios, otros autores no mencionan este dato, en *P. ordinatum* se formaron los arquegonios a los 218 días y los anteridios a los 366 días. Atkinson y Stokey (1964) mencionan que en general en los helechos homospóricos los anteridios aparecen antes que los arquegonios, situación que no se presenta en *P. ordinatum*.

En lo que se refiere a los tricomas en los gametofitos, Nayar y Kaur (1969) describen a los gametofitos como profusamente pilosos, Patterson (1942) los observó unicelulares dispuestos sobre el borde y la parte dorsal de la lámina y en los gametofitos cordados de *P. ordinatum* los apreciamos unicelulares en la parte dorsal de la lámina y bicelulares sobre el borde. Algunos de los gametofitos alargados no presentaron tricomas, mientras que otros sí los presentaron bicelulares sobre el borde de la lámina. Por último, los datos sobre la formación del esporofito no se mencionan por otros autores y en *P. ordinatum* se presentó a los 325 días.

4) Patterson (1942) estudió las causas de la apogamia en *P. tsussimense*, sugiriendo que ésta se origina a partir de las células posteriores de la escotadura del gametofito desarrollándose hasta un esporofito. Otros autores no mencionan esta característica en el grupo, y en nuestro trabajo no observamos este fenómeno, además menciona que la presencia de gametangios está relacionada a la cantidad de luz que reciben los

gametofitos durante su desarrollo, a mayor intensidad de luz los gametofitos no producen anteridios, a menor cantidad de luz se producen abundantes anteridios, nunca observó arquegonios. En nuestro estudio la germinación se realizó bajo luz natural, es decir, solar, y se formaron tanto anteridios como arquegonios.

5) Pangua *et al.* (2003) menciona para tres especies de *Polysticum*: *P. lonchitis*, *P. aculeatum* y *P. setiferum*, la presencia de protalos bisexuados en las dos primeras y unisexuados (femeninos) y bisexuados en la última, no se menciona la forma de los mismos, se encontraron después de 32 semanas de cultivo y en los tres casos se obtuvieron esporofitos.

6) Las características que se observaron en *P. ordinatum* y que no han sido mencionadas para otras especies son:

a) Diferentes tipos de gametofitos, los cordados con arquegonios y los alargados con anteridios.

b) En el caso de los gametofitos cordados, llama la atención la gran producción de rizoides que rodea el área donde se desarrollan los arquegonios.

c) En los gametofitos alargados encontramos cuatro diferentes posiciones de los anteridios: en la parte media, en la parte proximal y central, y sobre toda la superficie de la lámina; los tres gametofitos antes descritos presentan tricomas bicelulares en el borde y el último tipo de gametofito presenta anteridios en el borde y no se apreciaron tricomas.

d) Hasta el momento no podemos explicar la presencia de tantos rizoides cerca de los

arquegonios, pensamos que posiblemente estos rizoides cumplan la función de protección y de mantener un microambiente más húmedo. En cuanto a las diferentes posiciones de los anteridios aún no tenemos una explicación que nos satisfaga por completo, pero quizás podría deberse a factores propios del cultivo o bien que se trate de una variación fenotípica.

7) Por lo mencionado en los puntos anteriores, concluimos que el ciclo de vida de *P. ordinatum* se apega más al ciclo tipo "*Equisetum*" por la presencia de esporas morfológicamente iguales, gametofitos exospóricos, unisexuados y con formas diferentes.

8) La germinación de las esporas no ocurre al mismo tiempo en todas ellas, es decir, es asincrónica, y es por eso que podemos encontrar a los 58 días fases laminares espatuladas como en la figura 4 y a los 93 días tener un gametofito filamentosos iniciándose la fase laminar como en la figura 3.

9) La aparición del esporofito joven de esta pteridofita tardó casi un año, y aunque presenta frondes muy llamativos al desarrollarse el esporofito, consideramos que es una especie que, bajo estas condiciones de cultivo, no se puede sugerir para su cultivo comercial, ya que la obtención de un esporofito adulto tarda mucho tiempo (aproximadamente dos o tres años), pero por otra parte, bajo este medio de cultivo ha sido, hasta el momento, la única forma de obtener esporofitos (véase tabla 1), de tal manera que la técnica resulta apropiada para producción de esporofitos, y quizá podría seguirse investigando para acelerar el crecimiento de éstos y así hacer redituable la explotación de la especie.

BIBLIOGRAFÍA

- Atkinson, L.R. and A.G. Stokey, 1964. "Comparative morphology of gametophyte of homosporous ferns". *Phytomorphology*, **14**(1): 51-70.
- Barrington, S. D., 1985. "The present evolutionary and taxonomic status of fern genus *Polystichum*: the 1984 Botanical Society of America Pteridophyte Section Symposium". *Amer. Fern J.*, **75**(1): 22-28.
- Barrington, S.D., 1985a. "The Morphology and Origin of a New *Polystichum* hybrid from Costa Rica". *Systematic Botany*, **10**(2): 199-204.
- Barrington, S.D., 1995. In: *Flora Mesoamericana*. R.C Moran y R. Riba, "Pteridofitas, Psilotaceae a Salviniaceae". **1**: 218-225.
- Greer, G.K. and B.C. McCarthy, 1997. "The antheridiogen neighborhood of *Polystichum acrostichoides* (Dryopteridaceae) on a native substrate". *J. Plant Sci.*, **158**(6):764-768.
- Lorea-Hernández, F. and A. R. Smith, 1996. "Two New Species from Southern Mexico". *Amer. Fern J.*, **89**(3):181-186.
- Montoya-Casimiro, M. del C., R. Álvarez-Varela, S. Pérez-Hernández y M. L. Arreguín-Sánchez, 2000. "Ciclos biológicos de *Blechnum occidentale* L. var. *occidentale* (Blechnaceae-Pteridophyta) y *Thelypteris resinifera* (Desv.) Proctor (Thelypteridaceae-Pteridophyta)". *An. Esc. nac. Cienc. biol.*, Mex. **46**(3):317-339.
- Muccifora, S. and P. Gori, 1997. "Nuclear paracrystals in the fern *Polystichum setiferum* gametophyte". *Amer. Fern J.*, **87**(1): 12-16.
- Nayar, B. K and S. Kaur, 1969. "Types of prothallial development in homosporous ferns". *Phytomorphology*, **19**(2):179-188.
- Pangua, Emilia, L.G. Quintanilla, A. Sancho y S. Pajarón, 2003. "A comparative study of the gametophytic generation in the *Polystichum aculeatum* group (Pteridophyta)". *J. Plant Sci.*, **164**(2): 295-303.
- Patterson, T. M. 1942. "Cytology of Apogamy in *Polystichum tsussemense*". *Botanical Gazette*, **104**: 107-114.
- Smith, A. R., 1981. "Pteridophytes". *Flora of Chiapas* Part. 2. Calif. Acad. of Science San Francisco. 370 pp.
- Sato, T. and Sakai A., 1980. "Freezing resistance of gametophytes of temperate fern, *Polystichum retroso-paleaceum*". *Can. J. Bot.*, **58**: 1144-1148.
- Tahuilán-Martínez, J.U., M.L. Arreguín-Sánchez y R. Fernández-Nava, 2003. "Revisión de los géneros, *Onocleopsis*, *Plecosorus* y *Polystichum* (Aspleniaceae-Pteridophyta) para la cuenca del Río Balsas, México". *Polibotánica*, **15**: 113-146.

Recibido: 13 febrero 2007. Aceptado: 3 septiembre 2007.

Descripción del desarrollo del gametofito y primeras fases del esporofito de *Polystichum ordinatum* (Kunze) Liebm.

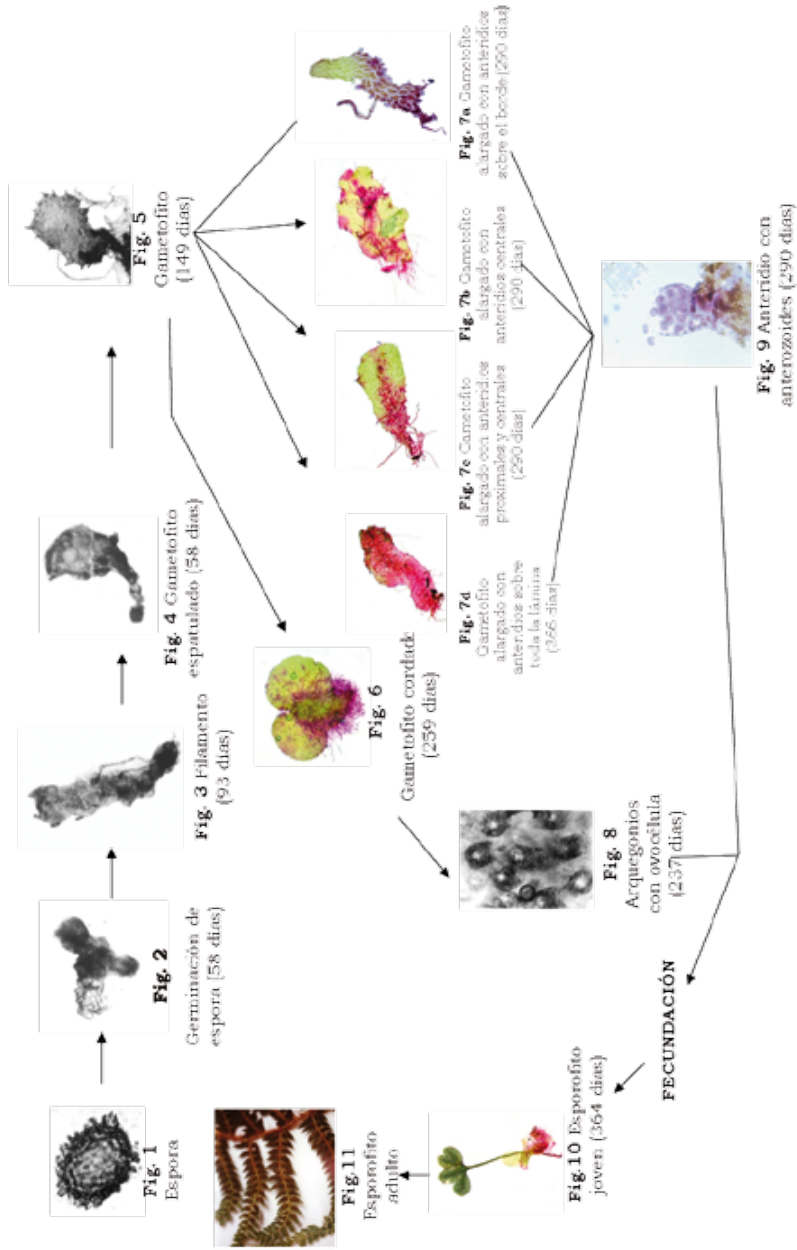




Fig. 6a Acercamiento de los tricomas marginales del gametofito cordado, donde se muestran las células basales y las células apicales globosas secretoras (60x)



Fig. 6b Detalle de la fase laminar mostrando la zona meristemática (40x)

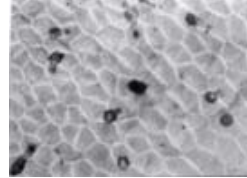


Fig. 6c Detalle de los tricomas de la superficie laminar. (60x)

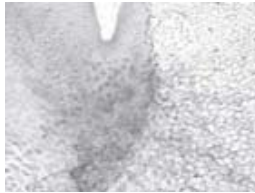


Fig. 6d Detalle de la zona de la escotadura del gametofito cordado con arquegonios maduros (60x)

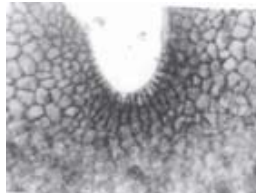


Fig. 6e Detalle de la escotadura del gametofito cordado donde se observa el meristemo pluricelular y la costilla media (60x)

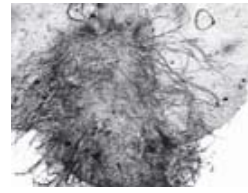


Fig. 6f Acercamiento del cojinete y de la zona de crecimiento y maduración de los arquegonios. (40x)

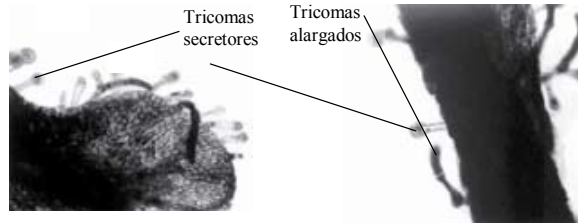


Fig. 10a Esporofito en desarrollo, se aprecia gran cantidad de rizoides y tricomas. (40x)

Fig. 10b Detalle del peciolo, del esporofito con los tipos de tricomas. (40x)

Tabla 1. Comparación de los datos obtenidos por otros autores en diferentes especies de *Polystichum*.

Especie	Autor/Año	Tiempo de germinación de las esporas (días)	No. de células del filamento	Formación del gametofito (días)	Forma del gametofito	Sexo del gametofito	Tiempo de aparición de Arquegonios/ Anteridios/ Arquegonios)	Tricomas	Aparición del esporofito	Apogamia
<i>Polystichum</i>	Nayar y Kaur (1969)	No menciona	4 a 8	No menciona	Cordiforme	No se menciona	No se menciona	Profusamente piloso	No se menciona	No se menciona
<i>Polystichum tsusseemans</i>	Patterson (1942)	No menciona	6 a 8	No menciona	Cordiforme	Sólo anteridios, no observó arquegonios	No menciona	Unicelulares sobre el borde y la parte dorsal	No menciona	Presenta
<i>Híbrido de Polystichum muricatum x Polystichum polyphyllum</i>	Barrington (1985)	No menciona	No menciona	No menciona	Multicordado (híbrido) Cordado (padres)	Estéril (híbrido)	No menciona	No menciona	No menciona	No se menciona
<i>Polystichum aculeatum</i>	Pangua <i>et al.</i> (2003)	No menciona	No menciona	No menciona	No menciona	bisexuado	No menciona	No menciona	Se presenta	No se menciona
<i>Polystichum lonchitis</i>	Pangua <i>et al.</i> (2003)	No menciona	No menciona	No menciona	No menciona	bisexuado	No menciona	No menciona	Se presenta	No se menciona
<i>Polystichum setiferum</i>	Pangua <i>et al.</i> (2003)	No menciona	No menciona	No menciona	No menciona	Femenino y bisexuado	No menciona	No menciona	Se presenta	No se menciona
<i>Polystichum ordinatum</i>	Nazarío-Galindo y Arreguin-Sánchez (presente estudio)	35	7 a 9	136	Cordado	Arquegonios	218	Bicelulares sobre el borde y unicelulares en la parte dorsal de la lámina	325	No se encontró
				290	Alargado	Anteridios	296	Bicelulares sobre el borde de la lámina o sin tricomas		