

Polibotánica

ISSN: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

http:www.polibotanica.mx

# MORFOGÉNESIS DE LOS GAMETOFITOS Y ESPOROFITOS JÓVENES DE *Polystichum fournieri* A. R. SM. (POLYPODIALES-DRYOPTERIDACEAE)

# MORPHOGENESIS OF THE YOUNG SPOROPHYTES AND GAMETOPHYTES OF Polystichum fournieri A. R. SM. (POLYPODIALES-DRYOPTERIDACEAE)

Rosete-Escalante, L.; M.L. Arreguín-Sánchez, R. Fernández-Nava, y D.L. Quiroz-García MORFOGÉNESIS DE LOS GAMETOFITOS Y ESPOROFITOS JÓVENES DE *Polystichum fournieri* A. R. SM. (POLYPODIALES-DRYOPTERIDACEAE) MORPHOGENESIS OF THE YOUNG SPOROPHYTES AND GAMETOPHYTES OF *Polystichum fournieri* A. R. SM. (POLYPODIALES-DRYOPTERIDACEAE)



Núm. **44**: 119-135, México. Julio 2017 DOI: 10.18387/polibotanica.44.9



## MORFOGÉNESIS DE LOS GAMETOFITOS Y ESPOROFITOS JÓVENES DE *Polystichum fournieri* A. R. SM. (POLYPODIALES-DRYOPTERIDACEAE)

# MORPHOGENESIS OF THE YOUNG SPOROPHYTES AND GAMETOPHYTES OF *Polystichum fournieri* A. R. SM. (POLYPODIALES-DRYOPTERIDACEAE)

Rosete-Escalante, L.; M.L. Arreguín-Sánchez, R. Fernández-Nava, y D.L. Quiroz-García

MORFOGÉNESIS DE LOS GAMETOFITOS Y ESPOROFITOS JÓVENES DE *Polystichum fournieri* A. R. SM. (POLYPODIALES-DRYOPTERIDACEAE)

MORPHOGENESIS OF THE YOUNG SPOROPHYTES AND GAMETOPHYTES OF Polystichum fournieri A. R. SM. (POLYPODIALES-DRYOPTERIDACEAE)



Núm. 44: 119-135. Julio 2017

DOI: 10.18387/polibotanica.44.9 L. Rosete-Escalante M.L. Arreguín-Sánchez¹/luzma1950ipn@gmail.com R. Fernández-Nava¹ D.L. Quiroz-García¹

> Departamento de Botánica Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Instituto Politécnico Nacional Prolongación de Carpio y Plan de Ayala Apartado Postal 17-564, Ciudad de México <sup>1</sup>Becarios de COFAA del IPN

**R**ESUMEN: Se describe el desarrollo morfogénico de *P. fournieri*. Los especímenes fueron colectados en San Rafael, municipio de Tlalmanalco, en un bosque mesófilo de montaña, estado de México. Las esporas se sembraron en tres sustratos naturales como el maquique que son las fibras del tallo de *Cyathea*, musgo y tierra de hoja. La germinación de las esporas fueron tipo *Vittaria* y el desarrollo del protalo tipo *Aspidium*. Se encontraron dos tipos de esporas, unas subesferoidales pequeñas y otras elipsoidales grandes, el porcentaje fue de 32% y 68% respectivamente y se desarrollaron dos tipos de gametofitos cordados; el 32.6% fueron unisexuados masculinos y el 65.2% unisexuados femeninos, los gametangios se apreciaron siempre inmaduros. Es posible que las esporas pequeñas y subglobosas formen los protalos masculinos y las elipsoidales los femeninos. Se obtuvieron esporofitos apogámicos en musgo a los 206 días, en maquique a los 103 días y en tierra de hojas no se desarrollaron.

Palabras clave: apogamia, gametangios inmaduros, desarrollo de esporofitos, sustratos naturales.

**A**BSTRACT: We describe the development and morphology of gametophyte and young sporophyte of *Polystichum fournieri*. Studied material was collected in a cloud forest in San Rafael, Tlalmanalco municipality, State of Mexico. The spores were sown in three natural substrates, maquique fiber steam of *Cyathea*, moss and plant litter. The germination pattern was of *Vittaria* type and prothallial development was of *Aspidium* type.

Two types of spores were found, one type small subspheroidal and the other ellipsoidal, the percentage of occurrence was 32% and 68% respectively and two types of cordate gametophytes were obtained; 32.6% with only archegonia and 65.2% with only antheridia, the gametangia were always immature. It is possible that small and spheroidals spores could form male prothalli and the other female prothalli. Young sporophytes were apogamous and were obtained around 206 days after sowing in moss, after 103 days on maquique and we cannot observe their development in plant litter.

**Key words**: apogamy, inmature gametangia, sporophyte development, natural substrates.



# Introdución

Los helechos son plantas vasculares, que se originaron durante el Devónico según Nazario-Galindo, y Arreguín-Sánchez (2007). En México habitan principalmente en los bosques mesófilos de montaña, de encino y pino, selvas altas perennifolias, matorrales xerófilos y en vegetación acuática Montoya-Casimiro, Álvarez-Varela, Pérez-Hernández, y Arreguín-Sánchez (2000). A nivel mundial se estima que existen alrededor de 10 578 especies de helechos (PPG I, 2016) y en México se calculan unas 1 100 Riba (1993).

Los helechos presentan tres tipos de ciclos de vida: el isospórico, el heterospórico y el tipo *Equisetum* como lo refieren Montoya-Casimiro, Álvarez-Varela, Pérez-Hernández, y Arreguín-Sánchez (2000) y Arreguín-Sánchez, Fernández-Nava, y Quiroz-García (2004).

Una vez que las esporas caen en un medio propicio comienzan a germinar y a partir de la primera división de estas células comienzan a diferenciarse el rizoide y el filamento clorofílico. De acuerdo a Nayar y Kaur (1971) describen cuatro tipos de germinación: tipo *Osmunda*, *Vittaria*, *Anemia* e *Hymenophylum*; y, una vez que el filamento comienza a formar un talo se inicia el desarrollo protálico donde se reconocen siete tipos: *Adiantum*, *Drynaria*, *Kaulinia*, *Marattia*, *Osmunda*, *Ceratopteris* y *Aspidium* según Nayar y Kaur (1969).

La formación de anteridios y arquegonios se realiza a partir de alguna de las células del protalo que comienza a diferenciarse Rodríguez-Ríos (1973).

El género *Polystichum* se incluye en la familia Dryopteridaceae según lo indican Mickel y Smith (2004), Christenhusz, Zhang y Schneider (2011) y PPG I (2016), se caracteriza por presentar frondes pinnadas o bipinnadas, densamente escamosas desde la base, los esporangios se encuentran protegidos por un indusio peltado a veces ausente o fugaz, esporas monoletes con patrones de ornamentación variados. En el mundo existen alrededor de 200 especies, en México prosperan 18, siendo una de ellas *Polystichum fournieri* (Mickel, J., & A. R., 2004).

La hibridación es un fenómeno común en plantas y concretamente en el género *Polystichum*, se ha observado que ocurre en varios taxones. La hibridación es la mezcla de genes de dos especies distintas que forman un organismo diferente a ellos. Los helechos híbridos comúnmente son estériles Knobloch (1976) y poseen estructuras intermedias de sus padres Manton (1950). Los híbridos de *Polystichum* son triploides de padres diploides x tetraploides, y se cree que la perturbación y los sitios alterados la promueven y debido a ello constantemente se describen nuevas entidades taxonómicas, Barrington (1985b). Los híbridos presentan caracteres morfológicos que los identifican como formas intermedias entre los padres, como son: esporas con tamaños reducidos, sin contenido celular o esporas del tamaño de las normales pero con paredes colapsadas, o bien esporas agrupadas, aunque también, pueden observarse esporas aparentemente normales (Chambi, C. J., Cardozo, R. M., & Martínez, O. G., 2013) y es a través de estudios de desarrollo morfogénico de los gametofitos que se pueden detectar estas hibridaciones como la ausencia de uno o dos de los gametangios y la formación de esporofitos es a través de apogamia Bell (1992).

#### **Antecedentes**

Se han realizado estudios taxonómicos florísticos para el género *Polystichum* como los de (Smith, A. R., 1981), (Barrington, 1985a), (Barrington, 1985b), (Mickel, J., & Beitel, J. M., 1988), (Little, D. P., & Barrington, D., 2003), (Tahuilán-Martínez, J. U., Arreguín-Sánchez, M. L., & Fernández-Nava, R., 2003), (Mickel, J. T., & Smith, A. R., 2004). El trabajo de (Wagner, W. H., & Lim Chem, K., 1965) mencionan las formas para detectar híbridos interespecíficos del género *Dryopteris*.



Entre los trabajos que tratan aspectos relacionados con la fase sexual de algunos taxones de *Polystichum* tenemos los de (Patterson, 1942), (Chandra, P., & y Nayar, B. K.,1970), (Sato, T., & Sakai, A., 1980), (Panagua, E., Quintanilla, L. G., Sancho, A., & Pajarón, S., 2003), (Nazario-Galindo, A., & Arreguín-Sánchez, M. L., 2007), (Gabriel y Galán, J. M., & Prada, C., 2010); (Migliaro, G., & Gabriel y Galán, J. M., 2012) y (Mejía-Valencia, S., 2014).

El propósito de este trabajo es describir el desarrollo morfogénico de los gametofitos y esporofitos jóvenes de *Polystichum fournieri* en condiciones de cultivo con tres sustratos naturales (maquique, tierra de hoja y musgo) y su posible aprovechamiento comercial como planta de ornato.

# **M**ETODOLOGÍA

En la figura 1 se muestra los esporofitos de *Polystichum fournieri* de los cuales se tomaron las esporas. La especie se distribuye en México, Guatemala a Costa Rica. En México se ha recolectado en las entidades de Guerrero, Morelos, México, San Luis Potosí, Oaxaca y Chiapas. En el Valle de México es una planta escasa, se conoce de los municipios de Tlalmanalco y Amecameca a una altitud de 2 500 m.s.n.m. en bosque mesófilo de montaña según lo citan Arreguín-Sánchez, Fernández-Nava y Quiroz-García (2004).

La recolecta del material botánico fue realizada por Lucero Rosete. Las muestras de esporas de *P. fournieri* se tomaron de tres organismos en campo que tenían soros maduros, mismos que fueron colocados en sobres para traerlos al laboratorio, además se recolectó un ejemplar para su identificación, mismo que está en resguardo en el herbario de la ENCB (fig. 1).



**Fig. 1.** Ejemplar herborizado de *Polystichum fournieri* A. R. Sm., recolectado en San Rafael, municipio de Tlalmanalco, Estado de México, 2 500 m.s.n.m., 16 de agosto 2006 y del cual se tomaron las muestras de esporas.



La técnica utilizada para este trabajo fue la de (Montoya-Casimiro, M. C., Álvarez-Varela, R., Pérez-Hernández, S., & Arreguín-Sánchez, M.L., 2000). Las esporas se sembraron en quince frascos de vidrio de 125 ml y se utilizaron cinco por sustrato. En total, por cada sustrato se sembraron 0.03 g de material que resultó de raspar los soros, mismos que se revolvieron en 0.5 g de arena de río esterilizada; este material se repartió por partes iguales en cada uno de los cinco frascos de cada soporte. Las condiciones en que se mantuvieron los quince frascos germinadores fueron con luz natural en el invernadero a una temperatura de 20 a 25°C y cada frasco contenía 2 ml del agua con la que se esterilizó cada sustrato. Se tomaron muestras de un frasco por cada sustrato en intervalos de 15 días en condiciones de asepsia, uno se quedó como testigo y los otros germinadores se abrían una vez que se hubiera agotado el material biológico del anterior, la cantidad de muestra que se tomaba cada dos semanas era la que se alcanzaba a obtener con unas pinzas de punta fina, las muestras inmediatamente se fijaban en formol al 2% por 48 horas y posteriormente se teñían con safranina acuosa. Con lo anterior, se realizaron preparaciones permanentes que se montaron con una mezcla de miel de maíz, agua 1:1 y trazas de fenol, cada preparación se etiquetó con la fecha en que se fijó el material de cada soporte y fue así que se realizaron series de preparaciones las cuales se observaron, se interpretaron, se midieron y se tomaron fotomicrografías tanto al microscopio óptico como en el microscopio estereoscópico.

Cada una de las etapas correspondientes del desarrollo morfogénico como germinación, fase filamentosa, laminar y esporofítica, fueron observadas y descritas de acuerdo a las características de cada una de ellas, en la fase filamentosa: largo de los filamentos, número de células y rizoides; en la fase laminar: gametófito joven, largo, ancho, número de rizoides, gametófito adulto, largo, ancho, forma, sexualidad, número de rizoides; gametangios anteridios y arquegonios: tamaño, forma, número de anterozoides, número de células del canal del cuello y en los esporofitos: tricomas, forma de los primofrondes, venación. Estas medidas se tomaron cada 15 días para determinar el rango de desarrollo, con el propósito de establecer cuál de los tres soportes tenía las mejores características y condiciones para el desarrollo de la fase sexual de esta planta. Las medidas que se mencionan en las descripciones son los promedios de diez estructuras de cada fase.

La toma de muestras se suspendió el día 384 después de la siembra que fue cuando se formaron los esporofitos. Los frascos germinadores se siguieron observando tres meses después, cuando en musgo y maquique los esporofitos tenían de 1 a 6 cm de largo y en tierra de hoja seguían sin desarrollarse.

### **R**ESULTADOS

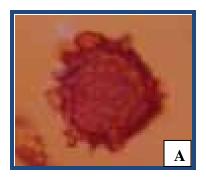
En total se elaboraron 246 laminillas de preparaciones permanentes que sirvieron de base para describir los resultados. La cronología resumida del desarrollo morfogénico se expone en el cuadro 1 y en la figura 11 se muestra el concentrado gráfico del desarrollo de este taxón.

#### **Esporas**

Se distinguieron dos tipos con base en el tamaño y forma de las mismas, unas pequeñas (fig. 2A) con promedios de 43.5  $\mu$ m de largo por 40.4  $\mu$ m de ancho; al dividir las medidas del eje mayor entre eje menor se encontró el factor 0.92, por lo que se concluye que la forma de estas esporas es subesferoidal según Kapp (1969) el número de pliegues y crestas es entre 15 y 20, el grosor de la perina oscila entre 2 a 5  $\mu$ m, la nexina y sexina de 1.5  $\mu$ m respectivamente. Las otras esporas se apreciaron un poco más alargadas (fig. 2B), en promedio de 46.08  $\mu$ m de largo por 32.7  $\mu$ m de ancho con factor 1.4, por lo que la forma de la espora es elipsoidal según la obra de (Tryon, A. F., & Lugardon, L. 1991), el número de pliegues y crestas son mayores a 20 y el grosor de la perina oscila entre 1 a 3  $\mu$ m, nexina y sexina de 1  $\mu$ m respectivamente y la superficie presenta un patrón rugulado.



Al revisar las esporas y diferenciar dos formas y tamaños de las mismas se contaron el porcentaje de estas en cinco esporangios tomados al azar observando una relación menor en las subesferoidales pequeñas (32%) y mayor número de las elipsoidales grandes (68%).



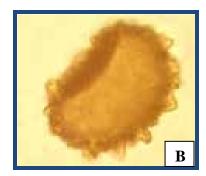
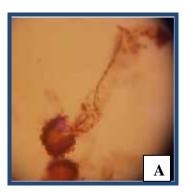


Fig. 2. Esporas. A, espora pequeña subesferoidal (40X). B, espora grande elipsoidal (40X).

#### Germinación

Fue de tipo *Vittaria* descrita por (Nayar, B. K., & Kaur, S. 1971), se presentó a los 15 días en musgo (fig. 3A), en maquique de los 29 a los 44 días (fig. 3B) y en tierra de hoja a los 44 días; para estas fechas, también se distinguían varios filamentos (fig. 3C, cuadro 1 y fig. 11).



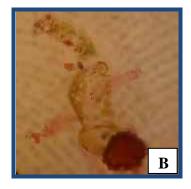




Fig. 3. Germinación. A, en musgo (40X). B, en maquique (40X). C, germinación y filamentos en tierra de hoja (10X).

#### Fase filamentosa

En musgo se presentó a los 15 días (fig. 4A), en maquique a los 29 días (fig. 4B) y en tierra de hoja entre los 44 a los 59 días (fig. 4C) en los tres sustratos esta fase se presentó con 5 a 6 células y los filamentos midieron entre 56 a 70 µm (cuadro 1, fig. 11). En todos los filamentos se diferencia un tricoma terminal y uno o dos rizoides de 22 a 28 µm de largo.

### Gametofito joven

Esta etapa se consideró antes de la formación de la escotadura (fig. 5), en musgo se apreció entre los 59 a 371 días, en maquique entre los 29 a 59 días y en tierra de hoja a los 59 días, en este último sustrato fueron muy escasos (cuadro 1, fig. 11). En todos los sustratos midieron



entre 430 a 520 µm de largo por 564 a 580 µm de ancho. En todos los soportes se apreció el desarrollo de tricomas desde la fase filamentosa hasta los gametofitos jóvenes. El inició del desarrollo del protalo fue a partir de un tricoma terminal en el filamento (fig. 5A) y posteriormente la formación de otro tricoma más (fig. 5C), entre ambos se diferenció el meristemo, dando origen al desarrollo tipo *Aspidium* (Nayar, B. K., & Kaur, S. 1969).

### Gametofito joven

Esta etapa se consideró antes de la formación de la escotadura (fig. 5), en musgo se apreció entre los 59 a 371 días, en maquique entre los 29 a 59 días y en tierra de hoja a los 59 días, en este último sustrato fueron muy escasos (cuadro 1, fig. 11). En todos los sustratos midieron entre 430 a 520 µm de largo por 564 a 580 µm de ancho. En todos los soportes se apreció el desarrollo de tricomas desde la fase filamentosa hasta los gametofitos jóvenes. El inició del desarrollo del protalo fue a partir de un tricoma terminal en el filamento (fig. 5A) y posteriormente la formación de otro tricoma más (fig. 5C), entre ambos se diferenció el meristemo, dando origen al desarrollo tipo *Aspidium* (Nayar, B. K., & Kaur, S. 1969).

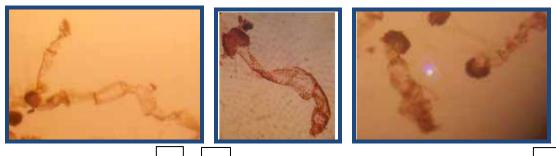
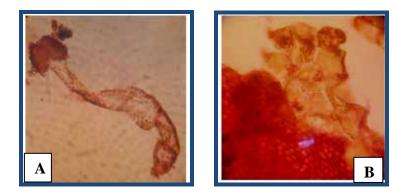


Fig. 4. Fase filamentosa. A m B (10X). B, en maquique (40X). C, en tierra de hoja (40X). C Figs. 4A y 4B, la flecha señala el tricoma terminal.



**Fig. 5.** Desarrollo del protalo tipo *Aspidium*. A, tricoma inicial de un filamento (40X). B, protalo joven, mostrando dos tricomas en el gametófito (10X).

#### Gametofito adulto

Se consideró gametófito adulto o cordado una vez que los protalos tuvieron bien desarrollada la escotadura (cuadro 1, fig. 11). En musgo se obtuvieron desde los 103 a los 371 días (fig. 6), en maquique de los 83 a los 384 días (fig. 7) y en tierra de hoja entre los 59 a los 384 días (fig. 8). Paralelamente al desarrollo del protalo se empezaron a diferenciar los gametangios y fue así



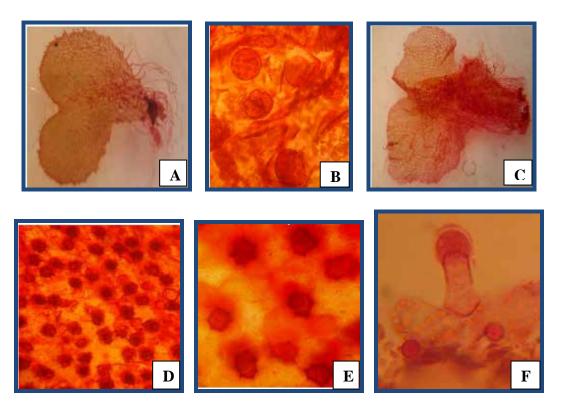
que ya en esta etapa se observaron gametofitos unisexuales. En el soporte de musgo los gametofitos masculinos midieron entre 4 a 5 mm de largo y ancho; los femeninos de 6 a 7 mm de largo por 8 a 11 mm de ancho. En el maquique los protalos masculinos fueron entre 2 a 3 mm de largo por 1.5 a 3 mm de ancho y los femeninos de 4 a 5 mm de largo por 2 a 4 mm de ancho y en tierra de hoja se presentaron gametofitos masculinos de 3 a 4 mm de largo por 3 a 5 mm de ancho y los femeninos de 6 a 8 mm de largo por 5 a 7 mm de ancho. En los tres soportes los gametofitos femeninos fueron un poco más grandes que los masculinos y formaban rizoides ventrales en mucho mayor cantidad que los masculinos y en varios de ellos, también se apreció el cojinete. En los gametofitos unisexuales masculinos y femeninos se observaron gran cantidad de tricomas marginales bicelulares de 250 a 300 µm (fig. 6F). En todos los sustratos se encontraron más gametofitos femeninos que masculinos, se contó la abundancia de los mismos que se tenían en las series de preparaciones fijas y se realizó una estimación porcentual. En total se contaron 68 gametofitos, 14 masculinos (32.6%) y 54 femeninos (65.2%).

#### **Anteridios**

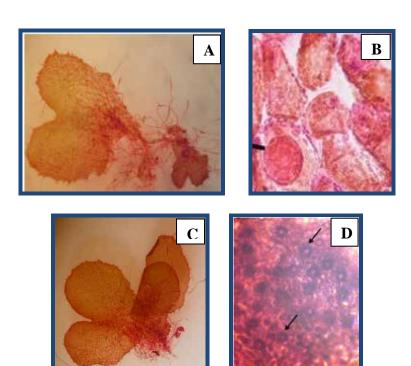
En musgo se desarrollaron a partir de los 103 a los 371 días (fig. 6B), en maquique de los 103 a 384 días (fig. 7B) y en tierra de hoja de los 59 a 339 días (fig. 8B). En los tres sustratos se apreciaron anteridios inmaduros (cuadro 1, fig. 11).

### Arquegonios

En musgo se desarrollaron entre los 206 a 371 días (figs. 6D, 6E), en maquique de los 103 a los 384 días (fig. 7D) y en tierra de hoja entre los 59 a los 103 días (fig. 8D). En todos los soportes y en todas las muestras analizadas se apreciaron inmaduros (cuadro 1, fig. 11).



**Fig. 6.** Gametofitos adultos en musgo. A, gametofito masculino (10X). B, anteridios (40X), C, gametofito femenino (10X). D, vista de los arquegonios (40X), E, detalle de unos arquegonios inmaduros (100X). F, detalle de un tricoma de los protalos (40X).



**Fig. 7.** Gametofitos adultos en maquique. A, protalos masculinos (10X). B, detalle de un anteridio (40X). C, protalos femeninos (10X). D, detalles arquegonios inmaduros (40X).

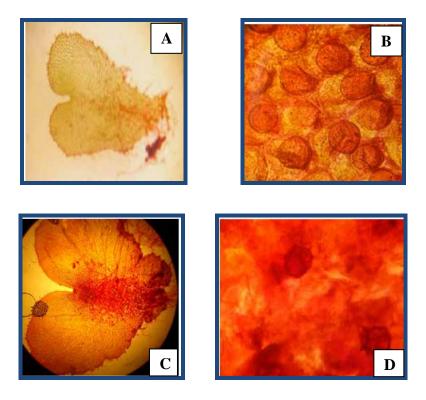
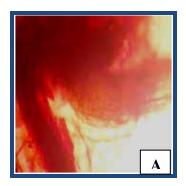


Fig. 8. Gametofitos adultos en tierra de hoja. A, gametófito unisexual masculino (10X). B, anteridios (40X). C, gametófito unisexual femenino (10X). D, arquegonios inmaduros (40X).



### Apogamia

En musgo se encontró desde los 206 a los 384 días (fig. 9A), en maquique de los 103 a los 356 días (fig. 9B) y no se observó en tierra de hoja (cuadro 1).



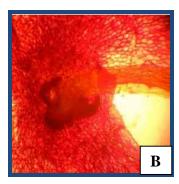
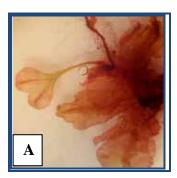
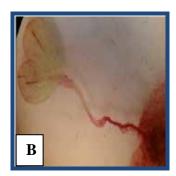


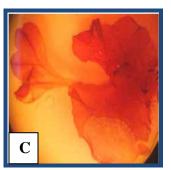
Fig. 9. Formación de yema apogámica. A, en musgo (40X). B, en maquique (40X).

### **Esporofito**

En musgo se desarrolló entre los 206 a los 384 días (figs. 10A y 10B), en maquique entre los 103 a los 384 días (fig. 10C), en tierra de hoja no se desarrolló (cuadro 1, fig. 11). Los esporofitos se presentaron de uno a dos por gametófito, lámina flabelada con venación dicotómica.







**Fig. 10.** Esporófito joven. A, esporófito en musgo mostrando esporófito joven y gametófito adulto (10X). B, detalle de la primofronde (10X). C, esporofito en maquique (10X).

**Cuadro 1.** Comparación resumida del desarrollo morfogénico de los gametofitos y esporofitos jóvenes en los tres sustratos.

	Musgo (días)	Maquique (días)	Tierra de hoja (días)
Germinación	15	29-44	44
Filamento	15	29	44-59
Gametofito joven	59-371	29-59	59
Gametofito adulto	103-371	83-384	59-384
Anteridios	103-371	103-384	59-339
Arquegonios	206-371	103-384	59-103
Apogamia	206-384	103-356	No se presentó
Esporofitos	206-384	103-384	No se presentó

Núm. 44: 119-135

# DISCUSIÓN

Al comparar los datos de este trabajo con los de la bibliografía consultada (cuadro 2) se aprecia que el tiempo de germinación de las esporas fue variable, para *P. polyblepharum* entre 2 y 3 días; *P. montevidense* en 3 días; *P. pycnolepis* en 7 días; *P. ordinatum* en 35 días; *P. distans* a los 16 días en musgo y 30 a 44 días en maquique y tierra de hoja; en *P. fournieri* entre los 15 a los 44 días, siendo más largos los tiempos de germinación en los sustratos naturales, posiblemente debido a que los medios nutritivos tienen mayor cantidad de nutrientes que aceleran esta etapa, aunque es frecuente que el ciclo se detenga en el desarrollo morfogénico del protalo sin producir esporofitos. En todos los casos la germinación fue de tipo *Vittaria*, excepto en *P. ordinatum* que fue de tipo *Anemia*. Con respecto al número de células del filamento clorofílico osciló entre 3 y 11, en *P. distans* se cita para esta etapa la presencia de anteridios (protandria). El desarrollo protálico en todas las especies fue el tipo *Aspidium*.

Los gametofitos maduros son de forma cordada en las especies citadas en el cuadro 2 y en *P. ordinatum* también existe la forma alargada en protalos unisexuados masculinos. La sexualidad de los protalos depende de la especie, desde los que sólo forman arquegonios como *P. tsussemense* y *P. montevidense*, o arquegoniados y bisexuados como en *P. pycnolepis* y *P.polyblepharum* o bien unisexuados masculinos, unisexuados femeninos y bisexuados como en *P. distans*, o sólo unisexuados masculinos y femeninos como en *P. ordinatum* y *P. fournieri*.

En ningún trabajo se cita la relación entre forma y tamaño de las esporas con la sexualidad de los gametofitos, en *P. fournieri* se estima que estas variaciones pueden estar ligadas a la formación de gametofitos unisexuales femeninos y unisexuales masculinos que está determinada entre otros aspectos por la forma y tamaño de las esporas. El porcentaje de esporas subesferoidales y pequeñas fue de 32%, y de las esporas más grandes elipsoidales fue de 68%. El número de gametofitos masculinos fue de 32.6% y de los gametofitos femeninos de 67.5%, por lo anterior y dada la relación porcentual que se encontró entre tamaño y forma de las esporas y la sexualidad de los gametofitos se considera que las esporas pequeñas subesferoidales son las que podrían originar protalos masculinos y los más grandes elipsoidales, podrían originar protalos femeninos.

En el cuadro 2 sólo *Polystichum ordinatum* y *P. fournieri* presentaron gametofitos unisexuados masculinos y unisexuados femeninos, pero la última con protalos masculinos y femeninos cordados y la primera con protalos femeninos cordados y masculinos alargados.

En *P. montevidense* se encontraron dos tamaños de esporas según lo citado por (Chambi, C. J., Cardozo, R. M., & Martínez, O. G., 2013) quienes además indican que el 12% de ellas presentan tamaño reducido, sin contenido celular o esporas del tamaño de las normales pero con paredes colap-sadas, que formaron sólo arquegonios sin desarrollo de esporofitos.

Wagner, W. H., & Lim Chen, K. (1965) indican que estos aspectos permiten la detección de factores genéticos que llevan a suponer la presencia de entidades híbridas y/o poliploides como esporas colapsadas, sin contenido celular.

En *P. fournieri* las esporas son aparentemente normales, con formas y tamaños diferentes, se desarrollaron los dos tipos de gametangios, que no maduraron para finalmente producir esporofitos apogámicos. Sin embargo Bell (1992), considera que la presencia de estas dos últimas características son suficientes para considerar que es una entidad híbrida y/o poliploide.

Con respecto a la formación de esporofitos, según se aprecia en el cuadro 2, los taxones que formaron esporofitos apogámicos fueron: *P. tsussemense, P. fournieri* y *P. polyblepharum*, los taxones que no desarrollaron esporofitos fueron *P. pycnolepis* y *P. montevidensis* y aquellas especies que produjeron esporofitos sexuales fueron *P. retroso-paleaceum*, *P. ordinatum* y *P. distans*. Considerando lo anterior, habría que resaltar que de las ocho especies sólo tres



produjeron esporofitos sexuales y las otras cinco o no produjeron o formaron esporofitos apogámicos. A este respecto, Patterson (1942) menciona que la presencia de esporofitos apogámicos indica un desorden genético al presentarse una meiosis incompleta; Barrington (1985a) menciona que *Polystichum* es un género cuyas especies tienden a hibridarse; (Mickel, J. T., & Smith, A. R., 2004) dicen que es un género proclive a formar híbridos. Tomando en cuenta las consideraciones anteriores, entonces esas cinco especies podrían considerarse híbridos o entidades poliploides por presentar una o varias de las siguientes condiciones: formación de esporofitos apogámicos o bien no se forman, la carencia de gametangios o bien la formación de gametangios no viables o de sólo uno de ellos y esporas anómalas. Entre estas condiciones caería *P. fournieri* por desarrollar gametangios no viables y esporofitos apogámicos.

En el cuadro 2 se incluyen datos del desarrollo morfogénico de *P. muricatum X P. polyphyllum* el cual muestra parte del comportamiento típico de un híbrido según Barrington (1985b), con la formación de protalos multicordados y anteridios y arquegonios estériles, sin desarrollo del esporófito. (Tahuilán-Martínez, J. U., Arreguín-Sánchez, M. L., & Fernández-Nava, R., 2003) mencionan la presencia de esporas anormales en un híbrido de *Plecosorus speciosissimus* y *Polystichum rachichlaena*. En *P. fournieri* no se presentaron los caracteres mencionados por estos autores.

(Panagua, E., Quintanilla, L. G., Sancho, A., & Pajarón, S., 2003) estudiaron la generación gametofítica del alotetraploide *Polystichum aculeatum* y sus padres diploides *P. setiferum* y *P. lonchitis*, detectando el 100% de germinación en el tetraploide y las diferencias que encontraron con este y sus padres diploides fueron el largo de los gametofitos y la longitud de los tricomas marginales, la expresión en el alotetraploide fue la mezcla de los diploides, en este trabajo el alotetraploide no parece presentar caracteres de poliploidia citados por autores anteriores como Barrington (1985a) y Bell (1992).

En P. fournieri el desarrollo del esporófito se observó en musgo a partir de los 206 días y en maquique a los 103 días y en tierra de hoja no se desarrollaron, la posible explicación al respecto podría deberse a lo citado en el trabajo de (Watson, P. J., & Vázquez, M., 1981) quienes indican que el microhábitat es trascendental en la historia de vida de las especies y las propiedades del sustrato son importantes, según estos autores el desarrollo apropiado del esporófito requiere de la asociación con musgos, va que éste evita la desecación y a la raíz del helecho joven le otorga agentes antimicóticos. Con lo anterior, quizás los protalos de P. fournieri en una etapa de su desarrollo requieran de la protección del musgo contra la desecación, razón por la cual obtuvimos esporofitos en musgo. En el caso del maquique que son raíces adventicias de los helechos arborescentes, es probable que éstas les confieran protección, razón por la cual, también se desarrollaron esporofitos en maquique. En tierra de hoja, que se hubiera pensado fuera el sustrato idóneo para la especie, sólo se formaron gametofitos unisexuados masculinos y femeninos que no alcanzaron la madurez ni formaron esporofitos. Cabe destacar que los tres sustratos se encuentran en los bosques mesófilos de montaña y que quizás la tierra de hoja sea el soporte idóneo para los esporofitos adultos, pero para los gametofitos jóvenes los soportes que les brindan protección y humedad son los aptos para ese periodo de vida.

Considerando que esta especie desarrolló esporofitos en maquique a los tres meses y medio, puede ser apta para cultivarse con miras a un posible aprovechamiento comercial, pero además estos datos podrían contribuir al conocimiento de la ecología de la colonización en las primeras etapas de su desarrollo, en esclarecer problemas de tipo taxonómico y en particular con aspectos relacionados con la hibridación y poliploidia del género.

Por último, analizando los trabajos del cuadro 2, *P. fournieri* se diferencia de los otros taxones por la presencia de dos tipos de forma y tamaño de esporas, la presencia de gametofitos



cordados unisexuados masculinos y unisexuados femeninos, la falta de maduración de ambos gametangios y el desarrollo de esporofitos apogámicos.

## **C**ONCLUSIÓN

El desarrollo morfogénico de los gametofitos y esporofitos jóvenes de *P. fournieri* se llevó a cabo en maquique y musgo, en tierra de hoja no se formaron esporofitos, considerando que los esporofitos en maquique se desarrollaron en tres meses y medio podría considerarse una especie apta para el cultivo en este soporte.

*P. fournieri* se diferencia de los taxones hasta ahora estudiados por la presencia de dos tipos de forma y tamaño de esporas, la presencia de gametofitos cordados unisexuados masculinos y unisexuados femeninos, la falta de maduración de ambos gametangios y el desarrollo de esporofitos apogámicos.

Según varios autores la serie de caracteres reproductivos que presenta esta especie, indicaría que podría ser una entidad híbrida y/o poliploide.

La relación porcentual de las esporas por la forma y el tamaño resultó coincidir con el número de gametofitos masculinos y femeninos que se desarrollaron, lo cual sugiere la posibilidad de que las esporas chicas y subesferoidales pueden desarrollar gametofitos masculinos y las esporas elípticas y grandes, gametofitos femeninos.

#### LITERATURA CITADA

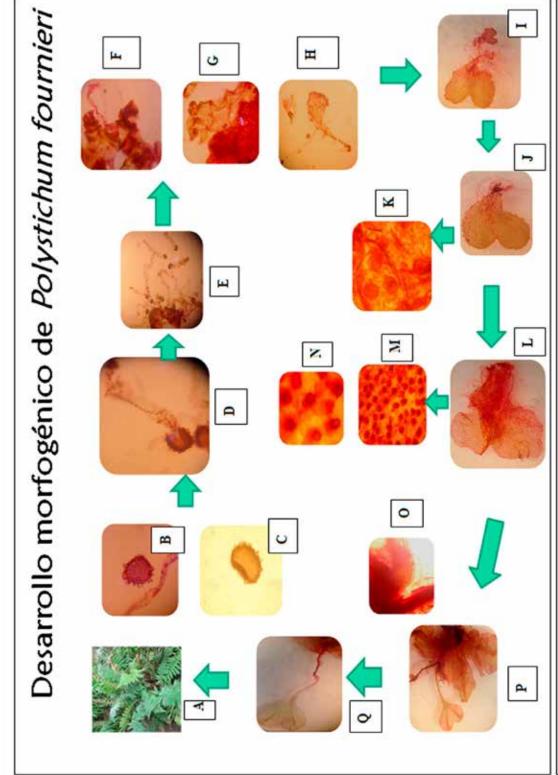
- Arreguín-Sánchez, M.L.; R. Fernández-Nava, y D. L. Quiroz-García, 2004. *Pteridoflora del Valle de México*. Ciudad de México. Instituto Politécnico Nacional.
- Barrington, D.S., 1985a. "The morphology and origin of a new *Polystichum* hybrid from Costa Rica". *Systematic Bot.*, **10**(2): 199-204.
- \_\_\_\_\_\_, 1985b. "The present evolutionary and taxonomic status of the fern genus *Polystichum*". *Amer. Fern J.*, **75**(1): 22-28.
- Bell, P.R., 1992. "Apospory and apogamy: implications for understanding the plant life cycle". *Int. J. Pl. Sci.*, **53**(3): 126-136.
- Chambi, C.J.; R.M. Cardozo, y O.G. Martínez, 2013. "Germinación de esporas y gametofitos de *Polystichum montevidense* (Spreng.) Rosenst. (*Dryopteridaceae*)". *Botánica Complutensis*, 37: 47-52.
- Chandra, P., y B.K. Nayar, 197. "Morphology of some polystichoid ferns, part. 1. The gametophytes of *Arachnoides*, *Cyrtomium* and *Polystichum*". *Bot. J. Linn. Soc.*, **63**: 265-276.
- Christenhusz, M. J.; X.C. Zhang, y H. Schneider, 2011. "A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns". *Phytotaxa*, **19**: 7-54.
- Gabriel y Galán, J.M., y C. Prada, 2010. "Gametophyte of Andean fern *Polystichum pycnolepis* (Kunze ex Klotzsch) T. Moore (Dryopteridaceae)". *Amer. Fern J.*, **100**(2): 103-109.
- Kapp, R. O., 1969. "How to know pollen and spores". Dubuque, Iowa: W. C. Brown Co.
- Knobloch, I., 1976. "Pteridophyte hybrids". *Biological Series, Michigan State University*, **5**(4): 278-352.
- Little, D.P., y D. Barrington, 2003. "Mayor evolutionary events in the origin and diversification of fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae)". *Amer. J. Bot.*, **90**(3): 508-514.
- Manton, I., 1950. Problems of cytology and evolution in the Pteridophyta. Cambridge University Press.
- Mejía-Valencia, S., 2014. *Descripción del ciclo de vida de Polystichum distans* E. Fourn. (Dryopteridaceae-Pteridophyta). Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México.



**Recibido:** 23/diciembre/2016

Aceptado: 27/junio/2017

- Mickel, J., y J.M. Beitel, 1988. "Pteridophyte Flora of Oaxaca, México". N.Y. Bot. Gard., 46: 310-316.
- Mickel, J., y A.R. Smith, 2004. "The pteridophytes of México". *Mem. New York Bot. Gard.*, **88**: 1-1054. Retrieved from http://agris.fao.org./agris- search/search.do?recordlD=US201300094942
- Migliaro, G., y J.M. Gabriel y Galán, 2012. "*Polystichum polyblepharum*" (Roem. ex Kunze) C. Presl (Dryopteridaceae-Polypodiopsida). *Plant Biosystems*, **146**(2): 368-373.
- Montoya-Casimiro, M. 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. Biol., Méx.*, **46**(3): 317-319.
- Nayar, B. K., y S. Kaur, 1964. "Ferns of India". XVI: Lemmaphyllum. Bull. Natl. Bot. Gards., 106: 1-15.
- Nayar, B.K., y S. Kaur, 1969. "Types of prothallia development in homosporous fern". *Phytomorphology*, **19**(2): 179-188.
- Nayar, B. K., y S. Kaur, 1971. "Gametophytes of homosporous ferns". *Bot. Rev.*, 3(3): 295-396.
- Nazario-Galindo, A. y M.L. Arreguín-Sánchez, 2007. "Descripción del desarrollo del gametofito y primeras fases del esporofito de *Polystichum ordinatum* (Kunze) Liebm. (Dryopteridaceae-Pteridophyta)". *Polibotanica*, **24**: 139-152. Retrieved from http://www.herbario.encb.ipn.mx/pb/pdf/pb24/polys.pdf
- Panagua, E.; L.G. Quintanilla, A. Sancho, y S. Pajarón, 2003. "A comparative study of the gametophytic generation in the Polystichum aculeatum group (Pteridophyta)". *Plant Sci.*, **164**(2): 295-303.
- Patterson, M.T., 1942. "Cytology of apogamy in Polystichum tsussemense". *Bot. Gaz.*, **104**: 107-114.
- PPG (The Pteridophyte Phylogeny Group) I, 2016. "A community-derived classification for extant lycophytes and ferns". *Journal of Systematics and Evolution*, **54**: 563-603.
- Riba, R., 1993. "Mexican pteridophytes: distribution and endemism". *Biological Diversity of Mexico*. Retrieved from http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0027847761ypartnerID=tZOtx3y1
- Rodríguez-Ríos, R., 1973. "Morfología de los protalos y esporofitos jóvenes de algunas especies chilenas de Blechnum (Polypodiaceae)". *Guyana Bot.*, **22:** 21-30.
- Sato, T. y Sakai, A., 1980. "Freezing resistance of gametophytes of temperate fern, *Polystichum retroso-paleaceum*". *Can. J. Bot.*, **58**: 1144-1148.
- Smith, A. R., 1981. Pteridophytes. *Flora of Chiapas Part.* 2. Pteridophytes. (D. E. Breedlove, Ed.). San Francisco, California: California Academy of Sciences.
- Tahuilán-Martínez, J.U.; M.L. Arreguín-Sánchez, y R. Fernández-Nava, 2003. "Revisión de los géneros *Onocleopsis, Plecosorus* y *Polystichum* (Dryopteridaceae-Pteridophyta) para la Cuenca del río Balsas, México". *Polibotánica*, **15**: 113-146.
- Tryon, A.F., y L. Lugardon, 1991. Spores of the Pteridophyta. Surface, Wall structure and diversity base don electron microscope studies. New York, NY: Springer.
- Wagner, W.H., y K. Lim Chen, 1965. "Abortion of spores and sporangia as a tool in the detection of Dryopteris hybrids". *Amer. Fern J.*, **55**(1): 9-29.
- Watson, P. J., y Vázquez, M., 1981. "Comparative ecology of *Woodsia scapularia* sporophytes and gametophytes". *Amer. Fern J.*, **71**(1): 3-9.



unisexuado masculino. K. Antendios. L. Gametófito unisexuado femenino. M. Aspecto general arquegonios. N. Detalle arquegonios. O. Yema Fig. 11. A. Esporófito adulto. B. Espora subesferoidal. C. Espora elipsoidal. D. Germinación tipo Vittaria. E. filamentos. F. detalle de un filamento con tricoma apical. G. Inicio del desarrollo protálico tipo Aspidium. H. Gametófito joven. I. Gametófito adulto. J. Gametófito apogamica. P. Esporófito joven con restos de gametófito adulto. Q. Detalle de la lámina joven del esporófito.

Cuadro 2. Trabajos relacionados con la biología reproductiva de algunos taxones de Polystichum y los resultados de este trabajo.

Paterson (1942)	Sato y Satai (1979)	Bamington (1985 b)	Nazzio- Gafindo y Arrgein- Siochez (2007)	Gabriel y Galán 7 Prada (2010)	Migliaco y Gabriel y Galin (2012)	Chambi or al. (2013)
Səluciğa de Beynnek	Streio de bosque	Metito modificado de Bold	Maquique***	Medio de agar mineral	Medio de agar mineral	Medio de Dyes gelificado y agar
210	396	NW	335***	NO	8	NO
Ародатіа	Sexual	NW	Sexual	NO	Apogamia	NO
NO	300-330	Estini	218***	180 zhundartes	50	100
N/M Si produce con baya intensidad de luz	300-330	Estril	396	180	NO	NO
Cordades masculinos NM	120 Cerdades	Multicerdado	136*** Cordidos frueninos 200*** Alze godos masculiros	60 Cordados unisexuales sólo fenerinos y bisexuales	40 Cerdades uniscruales femenians	40 Cordades unicexuales femenians
MN	MN	MN	Apiihw (3***	Aguinn 30	Aguinm 15	Афили 10-12
89	MN	NM	7-9	3.5	**	3-6
NN	NN	NN	35*** Abenin	7 Vistorio	2-3 Vinterio	3 Vineria
moniers	sapjodott	monoletes	monoletes	monoletes	sapjodott	sapjouou
P. undderworde (Hook.) J. Sm.	P. retroso- poliscesm (Kadama) Tagama	Hibrido P. maricana x P. polyphylan	P ordination (Konze) Liebm.	P. prenoigns (Kunze ex Xlotzsch) T. Moore	P. polyblepharam (Roem ex Knew) C. Pred	2. monuntimos (Spreng.) Rosenst.
	monoderes NM mascrutinos Signoduce N/O Apogamia 210 Sotución de Sombia (on baja de baz	monoders NM 6-8 NM mascrutinos Signoclades NO Apogamia 210 Satución de Egymnok NM interesidad de luz 300-330 Sexual 396 Sueto de bosque	monoletes NM NM reaccutinos Signoduce NO Apogamia 210 Sobnotion de Boynnok interasidad de luz Condados NO MM Signoduce NOM NM Multicondados Social Social NOM NM Multicondados Serial NOM NM NM Multicondados Social NOM	nonoletes         NM         NMM         Coordades con baja nonoletes         NMM         NMM interactions con baja nonoletes         NMM         NMM         NMM         NMM         NMM         NMM         NMM         NMM         NMM interactions         Secretal         Secretal         3906         Suppose           nonoletes         NM         NMM         NMM         Multicoordades         Estéril         Estéril         NMM         NMM         Medito de Boild           nonoletes         35°***         7-9         Agairinare demensions         1136****         2158***         Secraal         335***         Maquique**           Alorenia         Anemis         NM         Alargados         1206***         218***         Secraal         335***         Maquique**	December   No.   December   No.   December   Signotoure   No.   December   Signotoure   No.   December   No.   December   No.   December   No.   December   Decembe	December   No.   Appendix   No.   No.

Cuadro 2. Conclusión.

Autor	Mejia- Valencia (2014)	Rosele- Escalame et al. (2016)
Medio	Maquique*** Mago** Term & boja*	Maquique *** Minego** Term de hoja*
Esporofite	NO*** 412.428** 218*	163- 384*** 206-384** NO*
Tipo de Esporofito	Sernal	Apogamia ***103-356 **206-384
Arquegonio dias	162-412*** 319** 176-378*	103-384*** 206-371** 59-105*
Asteridio	30- 266*** 30-378** 30-428*	103- 38/*** 103- 371** 59.339*
Gametofito Adulto (dias, forma), sexo	73***  44**  H* Cordados y alargados unisaxuales masculmos y femeranales prosculmos y femeranales prosculmos y femeranales	83-384*** 103-371** 59-384** Confados unisexuales
Tipe provide y dias	Aspublica 59*** 44** 30*	Apidhan 29-59*** 59-571** 59*
Filamento Número de células	6-11 con auteridios (protendas)	3.6
Germinación dias y tipo	30*** 16** 44* Franco	29-44*** 15** 44* Whitaria
Esporas	monolens	monoleles, dos formas y dos tamaños
Especie	P. dixons E. Fourt.	P. fournierr J. Sm

Notas: N/M no menciona: N/O no se observó. \*\*\* Maguigue. \*\*Musgo. \* Tierra de hoia.