



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
IZTAPALAPA**

“Morfología de los gametófitos y esporófitos jóvenes de especies selectas del género *Thelypteris* subg. *Cyclosorus* (Thelypteridaceae)”.

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Biología

PRESENTA

María Eugenia Muñiz Díaz de León

Diciembre de 2005

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la
Unidad Iztapalapa aprobó la Tesis que
Presentó

María Eugenia Muñiz Díaz de León

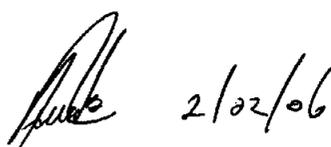
El día 14 de diciembre del año de 2005

Comité Tutorial

Tutor: Dra. Blanca Pérez-García

Asesor: Dra. Judith Márquez Guzmán

Asesor: M. en C. Aniceto Mendoza Ruiz

Handwritten signature and date. The signature is in cursive and appears to be 'Aniceto'. To the right of the signature is the date '2/02/06'.

Sinodal: M. en C. Ana Rosa López Ferrari

Sinodal: Dr. Daniel Tejero Díez

**“La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma
Metropolitana pertenece al Padrón de Postgrados de Excelencia de
CONACyT”**

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la
Unidad Iztapalapa aprobó la Tesis que
Presentó

María Eugenia Muñiz Díaz de León

El día 14 de diciembre del año de 2005

Comité Tutorial

Tutor: Dra. Blanca Pérez-García

Asesor: Dra. Judith Márquez Guzmán

Asesor: M. en C. Aniceto Mendoza Ruiz

Sinodal: M. en C. Ana Rosa López Ferrari

Sinodal: Dr. Daniel Tejero Díez

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis se ha concluido gracias al apoyo de mi querida Directora, la Dra. Blanca Pérez-García a quien agradezco de manera especial por ser mi madre académica, además de mi confidente y amiga. A la Dra. Judith Márquez por su gran apoyo en las Técnicas de Microscopía Electrónica y por ser una guía en mi desempeño académico, profesional y personal y a mí querido amigo y maestro el M. en C. Aniceto Mendoza por asesorar el trabajo continuo de campo y laboratorio para la realización de mi trabajo.

Agradezco al Sr. Jorge Lodigiani Coordinador del laboratorio de Fotografía de la UAM-I, por el revelado e impresión de la parte de Microscopía Fotónica y a la M. en C. Silvia Espinosa Técnico Académico de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias, UNAM por su valioso apoyo y asesoría en las Técnicas de Microscopía Electrónica. También al M. en C. Alejandro Martínez Mena Coordinador de Microcine de la Facultad de Ciencias, UNAM, por escanear las láminas y fotografías para el presente manuscrito y al Dr. Gerardo Rivas Lechuga por su asesoría en el análisis estadístico utilizado en el presente trabajo.

La presente tesis se las dedico a mis queridas hijas Perla y Jazmín, ya que son la fuerza y el estímulo que fundamenta y da impulso a todos los objetivos de mi vida y a mis padres que siempre están conmigo otorgándome su apoyo incondicional.

RESUMEN

Las especies incluidas dentro de la familia Thelypteridaceae se encuentran ampliamente representadas en las zonas tropicales de México. La morfología del esporófito ha sido estudiada por los taxónomos, sin embargo, el gametófito de este grupo de plantas es poco conocido. Con la finalidad de aportar conocimientos acerca de la morfogénesis de la fase sexual de los helechos, en este trabajo se presenta el estudio comparativo de las siguientes especies: *Thelypteris dentata* (Forssk.) E. P. St. John, *T. hispidula* (Decae.) C. F. Reed, *T. interrupta* (Willd.) K. Iwats., *T. kunthii* (Desv.) C. V. Morton., *T. ovata* R. P. St. John. var. *lindheimeri* (C. Chr.) A. R. Sm., *T. patens* (Sw.) Small. y *T. puberula* var. *puberula* (Baker) C. V. Morton var. *puberula.*, del género *Thelypteris* subg. *Cyclosorus*. Se describe el tipo de germinación, el patrón de desarrollo protálico, la morfología de los gametófitos adultos hasta la obtención del esporófito joven, y se realiza también una evaluación de la utilidad de las características del gametófito en la taxonomía del grupo. Además, se estudiaron *T. concinna* (Willd.) Ching y *T. pilosula* (Klotzsch et H. Karst. Ex Mett.) R. M. Tryon especies del subg. *Amauropelta* y *Macrothelypteris torresiana* (Gaud.) Ching, con el fin de comparar el gametófito a nivel de subgéneros. Las esporas de todas las especies son monoletes, elipsoidales y fotoblásticas positivas, características de los helechos homospóricos, presentaron diferencias significativas a nivel de especie en cuanto al tamaño y ornamentación de la spora. La germinación observada fue del tipo *Vittaria* para todas las especies bajo estudio. Los filamentos germinales uniseriados en general son cortos sin embargo, en *M. torresiana* éstos fueron más largos. El patrón de desarrollo protálico en las especies del subg. *Cyclosorus* y *Amauropelta* fue el tipo *Aspidium*. Se formaron tricomas unicelulares. En *M. torresiana* se presentó el desarrollo protálico tipo *Drynaria*. Los gametófitos adultos dioicos

son espatulados a cordiformes, con tricomas marginales en mayor número y superficiales siempre en menor número, los talos masculinos en general son espatulados con el margen ondulado y los femeninos son cordiformes y de alas amplias. Los gametófitos monoicos invariablemente son cordiformes con las alas amplias.

Los anteridios se forman entre los 40-50 días, después de sembradas las esporas, presentan de manera constante la célula basal angosta o ensanchada, una célula media no dividida y una opercular. La dispersión de los anterozoides es por tres mecanismos desprendimiento total del opérculo, desprendimiento parcial del opérculo y por desgarramiento del opérculo formando un poro. Los arquegonios constan de 4-5 células del cuello y 4 células triangulares en la boca del cuello. La primera hoja del esporófito, en la mayoría de las especies estudiadas se forma entre los 70-120 días después de sembradas las esporas. La primera hoja es lobulada, con nervadura dicotómica abierta con tricomas glandulosos, los cuales son paulatinamente sustituidos por tricomas aciculares, característicos del esporófito. Por otro lado los estomas en todas las especies fueron del tipo anomocítico. El análisis estadístico mostró que existen diferencias significativas en el tamaño de las esporas y de los tricomas. Como conclusión del presente trabajo se puede indicar que estos caracteres pueden ser utilizados para identificar a las especies circunscritas dentro del género *Thelypteris*, ya que se presentan de manera constante en los taxa estudiados. Por otro lado, la forma de los gametófitos adultos, el tiempo de aparición de los gametangios y el método de dispersión de los anterozoides, representan caracteres de valor taxonómico que combinados con otras características pueden ser considerados como herramientas útiles para identificar a las especies circunscritas en el subg. *Cyclosorus*.

ABSTRACT

The species of the family Thelypteridaceae are widely represented in tropical zones of Mexico. The taxonomus been studied sporophyte morphology of this group, however, gametophyte of this taxon is poorly known. In order to contribute with updated knowledge about the morphogenesis of the sexual phase of ferns, is presented the comparative study of the species *Thelypteris dentata* (Forssk.) E. P. St. John, *T. hispidula* (Decae.) C. F. Reed, *T. interrupta* (Willd.) K. Iwats., *T. kunthii* (Desv.) C. V. Morton., *T. ovata* R. P. St. John. var. *lindheimeri* (C. Chr.) A. R. Sm., *T. patens* (Sw.) Small. and *T. puberula* var. *puberula* (Baker) C. V. Morton var. *puberula.*, belonging the genus *Thelypteris* subgenus *Cyclosorus*. It is described the morphology of the germination kind, the prothallial development pattern, the morphology of adult gametophyte until the development of young sporophyte. Too, the usefulness of the characteristics of gametophyte in the taxonomy of these plants is evaluated. Besides, were studied *T. concinna* (Willd.) Ching and *T. pilosula* (Klotzsch et H. Karst. Ex Mett.) R. M. Tryon species of the subgenus *Amauropelta* as *Macrothelypteris torresiana* (Gaud.) Ching, in order to compare at subgeneric level. Spores of all species are monolete, ellipsoids and positive photoblastics, typical of homosporous ferns. They show significative differences at specific level, in terms of size and ornamentation the spore. The observed germination was of the *Vittaria* type for all the studied species. The uniseriate germinal filaments are shorts; however, in *M. torresiana* these were longer. The pattern of prothallial development in the species of subgenera *Cyclosorus* and *Amauropelta*, was the *Aspidium* type. In early stages, were formed unicellular trichoma. In *M. torresiana*, the prothallial development was of *Drynaria* type. Adult dioecious gametophyte are spatulate cordiform, with marginal trichoma always in great number, and the shallows always in less number; these

were, masculine tallus in general are spathulate, with undulated margin, and the female are cordiform and wide winged. Monoecious gametophyte are always cordiform, with wide wings.

Anteridia are developed between 40-50 days after seeded the spores, they show the basal cell narrowed or wide, the median cell undivided, and one cell opercular: There were found three type of dispersal of antherozoids: by total detachment of operculate, partial detachment of operculate, and the ripped of the operculate, forming a pore. Archegonia are formed by 4-5 cells of the neck, and four triangular cells of the neck's mouth. The first leaf of sporophyte in the most of the studied species, is formed between 70-120 days after seeded the spores. The leaf is lobulated, with opened dicotomic nerve, with glandulose trichoma, which are gradually replaced with acicular trichoma typical of the sporophyte. On the other way, the stome in all the species were of the anomocytic type. The statistic analysis show that there are significant differences in the spore and trichoma size. As results of this work, we can concluded that these characters can to be used to identify the species belonging to the genus *Thelypteris*, because they are exhibited constantly in the studied taxa. On the other way, the shape of the adult gametophyte, the time of emergence of gametangia and the dispersal method of antherozoids, represent characters of taxonomic value, which in combination with another features, can to be considered as useful tools to identify the species of the subgenus *Cyclosorus*.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	10
ANTECEDENTES.....	18
Morfogénesis de la fase sexual en helechos homospóricos.....	21
Criterios para determinar la germinación de esporas.....	22
Patrones de germinación de esporas.....	22
Tipos de germinación.....	23
Desarrollo protálico.....	28
Tipos de desarrollo protálico.....	28
Gametófito adulto.....	33
Tricomas.....	33
Gametangios (Anteridios y Arquegonios).....	34
OBJETIVO GENERAL.....	36
OBJETIVOS PARTICULARES.....	36
HIPÓTESIS.....	37
MÉTODOS.....	37
Diseño experimental.....	40
Procesamiento de material para Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).....	42
RESULTADOS.....	44
Esporas.....	44
<i>Macrothelypteris torresiana</i>	45
<i>Thelypteris concinna</i>	50
<i>T. dentata</i>	53
<i>T. hispidula</i>	58
<i>T. interrupta</i>	64
<i>T. kunthii</i>	69
<i>T. ovata</i> var. <i>lindheimeri</i>	74
<i>T. patens</i> var. <i>patens</i>	80
<i>T. pilosula</i>	85
<i>T. puberula</i> var. <i>puberula</i>	90
Análisis estadístico Kruskal-Wallis.....	94
DISCUSIÓN.....	97
CONCLUSIONES.....	106
LITERATURA CITADA.....	108

INTRODUCCIÓN

Los helechos de la familia Thelypteridaceae A. R. Sm., tienen amplia distribución a nivel mundial. En la república mexicana se encuentran representados por un gran número de especies. Los esporófitos se caracterizan por ser terrestres o rupícolas, raramente epífitos; el rizoma es erecto, decumbente a rastrero, robusto o delgado, en corte transversal presentan generalmente una estela de tipo dictiostélica, con muchas o pocas escamas con tricomas; raíces fibrosas; hojas agrupadas en una corona o espaciadas; pecíolo con dos haces vasculares que se fusionan en la base en forma de “U”, aeróforos ausentes o presentes, lámina simple, pinnada o pinnado-pinnatífida; generalmente pelosa, a veces glandulosa, esparcidamente escamosa o sin escamas, raramente glabra; raquis sulcado adaxialmente o no sulcado; nervaduras simples o anastomosadas. Soros redondos a ocasionalmente alargados, a veces arqueados, dispuestos sobre las nervaduras del envés; parafisos ausentes u ocasionalmente presentes; indusio reniforme bien desarrollado, pequeño y espatulado o ausente. Esporas monoletes, la superficie reticulada o con crestas más o menos conectadas entre sí en forma de alas, a menudo perforadas o variadamente verrugosas a papilosas o equinadas (Knobloch & Correll, 1962; Kramer & Green, 1990; Moran & Riba, 1995; Pérez-García *et al.*, 1999; Smith, 1995).

La delimitación de los géneros dentro de la familia Thelypteridaceae es muy heterogénea de acuerdo con los diferentes autores. Algunos reconocen un solo género *Thelypteris* Schmidel, mientras que otros son menos conservadores. Iwatsuki (1963) reconoce tres géneros, Pichi-Sermolli (1977) considera 32 géneros y Holttum (1971) 23 géneros en todo el mundo. Anteriormente las especies ubicadas en esta familia formaban parte del género

Dryopteris dentro de la familia Dryopteridaceae (Tryon & Tryon, 1982).

Considerando el criterio de Smith (1971) el género *Thelypteris* S. S. contiene los siguientes subgéneros: *Amauropelta* (Kunze) A. R. Sm., *Cyclosorus* (Link) C. V. Morton, *Goniopteris* (C. Presl) Duek, *Macrothelypteris* H. Itô Ching, *Meniscium* (Schreb.) C. F. Reed, *Stegnogramma* (Blume) C. F. Reed y *Steiropteris* (C. Chr.) K. Iwats.

Características taxonómicas del género *Thelypteris*

El género *Thelypteris* comprende alrededor de 800 especies (Smith, 1971) circunscritos en varios subgéneros, con una amplia distribución en todo el mundo. Varios autores han estudiado a este grupo de plantas (Christensen, 1911; Ching, 1963; Holttum, 1969, 1971; Iwatsuki, 1964; Morton, 1963), y la contribución más reciente es la de Smith (1971). Las plantas del género se caracterizan por ser terrestres o rupícolas; por presentar un rizoma larga o cortamente rastrero a erecto, raramente ascendente, dictiostélico con las escamas en el ápice, enteras y generalmente setosas. El pecíolo con dos haces vasculares semicirculares en la base que se fusionan distalmente; sus hojas son generalmente monomorfas y salen en forma de racimo; la lámina es generalmente pinnada a pinnado-pinnatífida, raramente simple o más de 2 veces-pinnada; los ejes de la lámina generalmente son sulcados adaxialmente, los surcos no son continuos con los surcos del siguiente orden, las nervaduras son simples a anastomosadas y entonces las aréolas pueden o no tener nérvulos libres incluidos dirigidos hacia el margen; el indumento puede estar formado por tricomas de varias clases: aciculares, hamatos, septados, estrellados, o raramente ausentes. Soros inframedios a medios, ocasionalmente casi marginales; exindusiados o con indusio espatulado o frecuentemente reniforme. Presentan

esporas monoletes (triletes en unas cuantas especies del Viejo Mundo), generalmente con una perisporio prominente. Números cromosómicos $X= 27, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36$ (Knoblock & Correl, 1962; Kramer & Green, 1990; Mickel & Beitel, 1988; Mickel, 1992; Moran & Riba, 1995; Pérez-García *et al.*, 1999; Smith, 1971, 1973, 1980a y 1981; Stolze, 1981).

Algunos autores han propuesto la segregación de varios subgéneros, tomando en cuenta las características del esporófito. A continuación se presenta la diagnosis de cada uno de ellos de acuerdo con el criterio de Mickel & Beitel, 1988; Morán & Riba, 1995; Smith, 1971, 1973, 1980a, 1981 y Stolze, 1981.

Amauropelta

Lámina pinnada a pinnado-pinnatífida, reducida hacia la base, con uno o usualmente varios pares de pinnas reducidas, las pinnas basales con frecuencia auriculiformes o glanduliformes; las venas libres reducidas en el margen por arriba del seno; soros redondos, oblongos o alargados a lo largo de las nervaduras; esporangios glabros o raramente setosos.

Cyclosorus

Lámina pinnado pinnatífida, las pinnas proximales no reducidas o gradualmente reducidas en algunas especies; las nervaduras llegan al margen por arriba del seno o generalmente conniventes con el mismo; indumento de tricomas aciculares; soros redondos con indusio redondo-reniforme persistente; esporangios glabros.

Goniopteris

Lámina esencialmente pinnada, pinnas enteras o con el margen serrado u ondulado, en ocasiones muy poco profundas; areolas formadas por la unión de las venas meniscioides 3-15 series; soros redondos, con indusio reniforme o ausente; esporangios glabros, setosos o con tricomas estrellados.

Macrothelypteris

Lámina 2-pinnado-pinnatífida, un medio a más de la costa o más dividida; pinnas proximales poco reducidas o no reducidas; aeróforos ausentes; venas libres, conniventes con el seno seno, o con 1-2 pares anastomosados, soros redondos, con un indusio pequeño; esporangios con glándulas capitadas cerca del anillo.

Meniscium

Lámina pinnada; pinnas enteras; las proximales más largas; nervaduras anastomosadas regularmente en pares; indumento de tricomas aciculares; soros alargados a lunulares, exindusiados, generalmente confluentes donde las venas se anastomosan; esporangios glabros o setosos.

Stegnogramma

Lámina pinnada-pinnatífida, sin pinnas proximales reducidas, las inferiores son más largas o casi tan largas como la media; venas conniventes con el seno o reducidas al margen en el seno, o si se presentan pinnas basales reducidas, las venas se anastomosan con una vena excurrente del seno; soros alargados a lo largo de las venas, exindusiados; esporangios con

frecuencia setosos.

Steiropteris

Lámina pinnatífida o pinnado-pinnatífida; pinnas proximales más largas; pinnas distales gradualmente reducidas; aeróforos de 2-10 mm de longitud en la base de las pinnas; nervaduras proximales llegando al margen por arriba del seno; soros redondeados, indusiados o exindusiados.

En el presente trabajo se estudió el desarrollo de la fase sexual de especies selectas del género *Thelypteris* subg. *Cyclosorus*. Se seleccionaron sólo las especies que, cuando se realizaron las recolecciones presentaban estructuras fértiles y que tenían esporas viables. Se abordó el estudio del subg. *Cyclosorus* ya que incluye un gran número de especies presentes en México (Figs. A1-A3), y muchas de las cuales carecen de estudios morfogenéticos. Se observaron los patrones de germinación y desarrollo protálico, así como los gametófitos maduros hasta la formación de las primeras hojas en el esporófito de las especies estudiadas. Para determinar el número de especies circunscritas en el subg. *Cyclosorus* presentes en México, se realizó una revisión bibliográfica (Knoblock & Correl, 1962; Kramer & Green, 1990; Mickel & Beitel, 1988; Mickel, 1992; Moran & Riba, 1995; Pérez-García *et al.*, 1999; Smith, 1971, 1973, 1980, 1981 y Stolze, 1981). De acuerdo con la información obtenida se consideran 13 taxa (12 especies y 2 variedades) para México:

- Thelypteris albicaulis* (Fée) A. R. Sm.
- Thelypteris augescens* (Link) Munz et. I. M. Johnst.
- Thelypteris dentata* (Forssk.) E.P. St. John
- Thelypteris grandis* A.R. Sm. var. *pallescens* (C.Chr.) A. R. Sm.
- Thelypteris hispidula* (Decne.) C. F. Reed
- Thelypteris interrupta* (Willd.) K. Iwats.
- Thelypteris kunthii* (Desv.) C.V. Morton.
- Thelypteris lanosa* (C. Chr.) A. R. Sm.
- Thelypteris ovata* R. P. St. John. var. *lindheimeri* (C. Chr.) A. R. Sm.
- Thelypteris patens* (Sw.) Small.
- Thelypteris puberula* (Baker) C.V. Morton var. *puberula*.
- Thelypteris puberula* (Baker) C.V. Morton var. *sonorensis* A. R. Sm.
- Thelypteris tuerckheimii* (Donn. Sm.) C. F. Reed



Fig. A1. *Thelypteris interrupta* subg. *Cyclosorus* Cosamaloapan, Ver.



Fig. A2. *Thelypteris ovata* var. *lindheimeri* subg. *Cyclosorus* Pinal de Amoles, Qro.



Fig. A3. *Macrothelypteris torresiana* subg. *Macrothelypteris* Tuxtla, Ver.

La mayor diversidad de especies de este subgénero se encuentra en los estados de Chiapas, Oaxaca, Veracruz y región central de la república (Fig. A4) (Arreguín-Sánchez *et al.*, 2001; Smith, 1995; Knobloch & Correll, 1962; Magaña, 1992; Mickel & Beitel, 1988; Mickel, 1992; Palacios-Ríos, 1992; Smith, 1981; Riba *et al.*, 1996 y Sousa & Cabrera, 1983).

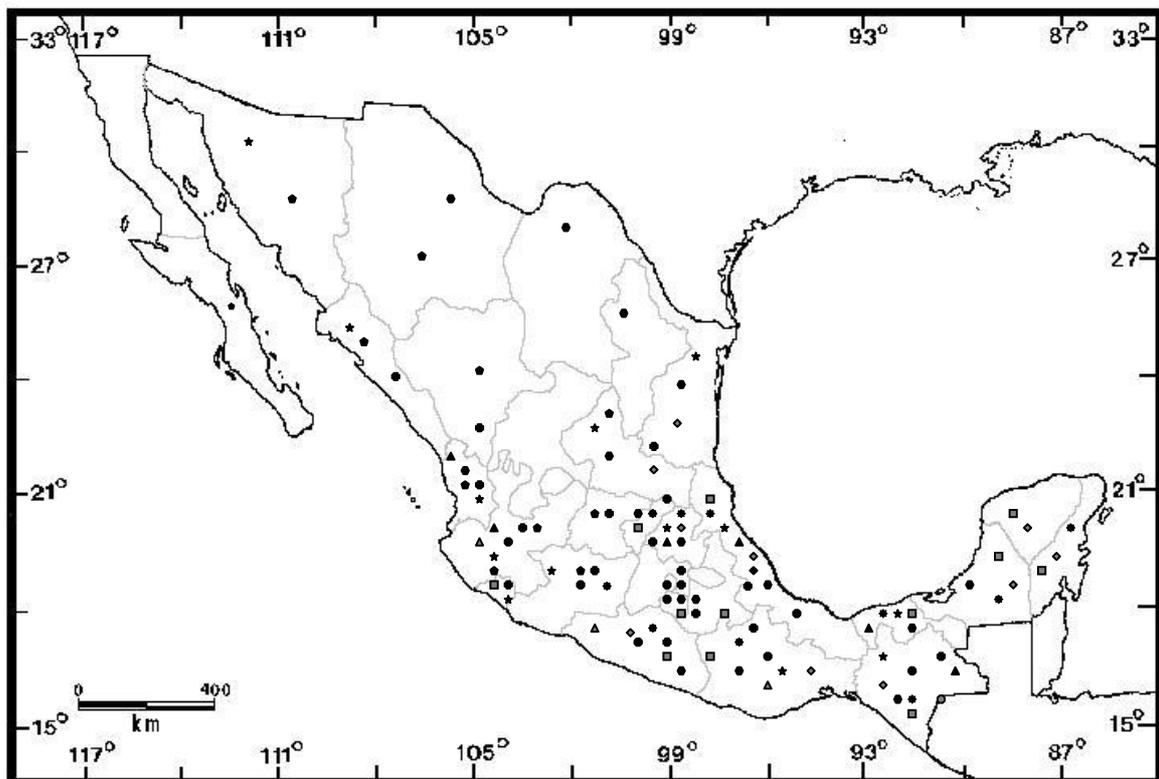


Figura A4. Mapa de distribución de las especies de *Thelypteris* subg. *Cyclosorus* en México.

- | | | |
|------------------------|---|---|
| ● <i>T. albicaulis</i> | ▲ <i>T. interrupta</i> | ◆ <i>T. puberula</i> |
| ■ <i>T. augescens</i> | ◇ <i>T. kunthii</i> | ● <i>T. puberula</i> var. <i>sonorensis</i> |
| ■ <i>T. dentata</i> | ◆ <i>T. lanosa</i> | ● <i>T. tuerckheimii</i> |
| ▲ <i>T. grandis</i> | ● <i>T. ovata</i> var. <i>lindheimeri</i> | |
| ★ <i>T. hispidula</i> | * <i>T. patens</i> var. <i>patens</i> | |

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Morison (1699) descubrió la germinación de las esporas en pteridofitas y por ello se le considera el iniciador del conocimiento de la morfología de la fase sexual en helechos. Desde entonces, diferentes autores han contribuido a afinar el estudio morfogenético de este grupo de plantas, que incluye la descripción de las esporas, la germinación y el desarrollo protálico. Entre los más importantes se encuentran Lindsay (1794), Kaulfuss (1827), Bischoff (1828), Fée (1852), Kny (1869), entre otros.

Algunos autores como Bower (1928) no consideraron las características del desarrollo del gametófito para establecer relaciones filogenéticas ya que se basaron únicamente en caracteres del esporófito. Christensen (1938) y Copeland (1947) incluyeron en su trabajo una descripción del gametófito, aunque sin correlacionar sus características con las del esporófito. Por su parte Stokey (1950), en su trabajo para las pteridofitas del Nuevo Mundo, amplió el conocimiento de la morfología de los gametófitos y desde entonces han comenzado a ser tomados en cuenta en la clasificación de los helechos.

En el Viejo Mundo, Nayar & Kaur (1969, 1971) aportaron conocimientos útiles en el estudio de la morfología de los gametófitos, así como la información sobre diversos aspectos de la germinación de las esporas, la morfología de los protalos adultos y su propagación vegetativa, incluyendo algunas características del desarrollo de la fase sexual de la familia Thelypteridaceae.

Los estudios en gametófitos de helechos de la familia Thelypteridaceae son escasos, y

en su mayoría se han realizado para especies asiáticas Atkinson (1971) describió el gametófito de *Thelypteris erubescens* (Wall. ex Hook) Ching, considerando características como el tamaño, la ornamentación y los mecanismos de dispersión de la spora, el estado filamentoso de 4-6 células hasta la formación de un protalo maduro (cordado y fotosintético); la formación de estructuras de fijación (rizoides) y la formación de los órganos sexuales de tipo avanzado. Concluyó que los rasgos morfológicos observados en esta especie eran indicativos de su relación con otros helechos dentro de la familia. Dos años después Atkinson & Stokey (1973) observaron el desarrollo de los gametófitos de 16 especies de la familia Thelypteridaceae que crecían en Jamaica, describiendo las semejanzas y diferencias en la germinación, la morfología del gametófito, los gametangios y la dehiscencia de los anteridios presentes entre los taxa.

Otro de los trabajos realizados por Atkinson (1975) fue documentar la diversidad de gametófitos afines a *Thelypteris* del Viejo Mundo incluyendo a las especies: *Metathelypteris singanalensis* (Kak.) Ching, *Mesophlebium crassifolium* (Bl.) Holttum, *Plesioneuron marattioides* (Alston) Holttum, *Coryphopteris* sp. ined. y *Amphineuron opulentum* (Kaulf.) Holttum. En su contribución, este autor describe la ornamentación de las esporas, el tipo de germinación, el número y tipo de tricomas, el color y tipo de secreción glandular y con base en estos resultados apoyó un rearrreglo taxonómico del grupo.

Por otro lado Huckaby & Raghavan (1981 a, b), estudiaron la germinación de esporas en algunas especies de *Thelypteris* y establecieron que su patrón de germinación es un carácter potencial para usos taxonómicos en este grupo. Asimismo realizaron estudios fisiológicos

sobre del requerimiento de luz como factor de fotocontrol para la germinación de esporas de *Thelypteris kunthii* (Desv.) C. V. Morton.

Recientemente, se han aportado conocimientos novedosos acerca de la fisiología, los cambios bioquímicos, el crecimiento y la maduración así como diversas estrategias reproductivas de los gametófitos (Raghavan, 1989). Este autor establece nuevos tipos de patrones de germinación, conforme a los planos de división y polaridad de las esporas. Actualmente se considera a la fase gametofítica de gran importancia para establecer relaciones filogenéticas entre los diversos grupos de helechos.

Otros trabajos, además de describir el proceso de germinación y desarrollo del gametófito, se han enfocado también al estudio del desarrollo de las estructuras reproductoras y los mecanismos de dispersión. Tigerschiöld (1989 a, b) describió el mecanismo de apertura de los anteridios en 18 especies del género *Thelypteris* y realizó un estudio sobre las características del gametófito y la apertura del anteridio en algunas especies asiáticas de la familia Thelypteridaceae, estableciendo cuatro tipos de dehiscencia anteridial: por desprendimiento total, por desprendimiento parcial, por ruptura irregular de la pared y por la formación de un poro. Asimismo documenta que, en siete de las 18 especies estudiadas, los anteridios se abren por los diversos mecanismos anteriormente señalados. El mismo autor Tigerschiöld (1990), concluyó que los caracteres gametofíticos son criterios taxonómicamente confiables, ya que es posible distinguir a las diferentes especies del género *Thelypteris*.

Por otra parte, Korpelainen (1997) estudió la determinación del sexo y los mecanismos

de reproducción en *Athyrium borianum* (Willd.) Tagawa, *Thelypteris subpubescences* (Blume) Holttum y *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, en gametófitos aislados, en pares y en grupos, observando la influencia de los sistemas de reproducción intragametofítica e intergametofítica y los efectos de la cercanía entre ellos. Concluyó que estos sistemas afectan el estado sexual, el tamaño del gametófito y la eventual formación del esporófito, además de tener influencia directa en la sobrevivencia y mortalidad de las plantas.

Para el subg. *Cyclosorus* se cuenta con trabajos que abordan el desarrollo de los gametófitos de *Thelypteris patens* (Sw.) Small y *Thelypteris puberula* (Baker) C. V. Morton var. *puberula*, estableciendo que las diferencias más significativas entre las dos especies fueron el tamaño y la cantidad de pelos, la forma del protalo adulto, los tipos de rizoides y el desarrollo del esporófito en *Thelypteris patens* (Reyes Jaramillo & Pérez-García, 1991). Así mismo Pérez-García *et al.* (1994) describieron las esporas, la ornamentación, el tipo de germinación, el desarrollo protálico y la fase adulta de *Thelypteris rhachiflexuosa* Riba, y confirmaron que la morfología gametofítica es similar a la mencionada en la bibliografía, para otras especies del mismo género.

Morfogénesis de la fase sexual o gametofítica en helechos homospóricos

El inicio de la fase gametofítica en helechos comienza con la germinación de la espora; la cual depende de factores como la luz, la humedad y la temperatura, que pueden afectar el curso de la germinación. Definitivamente, para que inicie la germinación en las diferentes esporas de helechos, se necesita cierto grado de humedad así como luz, ya que la mayoría son fotosensibles. Existen diferentes criterios, utilizados por varios autores, para establecer el

inicio de la germinación:

Criterios para definir la germinación de las esporas en helechos

Los criterios para definir el inicio de la germinación han sido propuestos por varios autores:

- a) La germinación inicia con la imbibición, hinchamiento y ruptura del exosporio (Weinberg & Voeller, 1969).
- b) La germinación inicia con la primera mitosis de la espora que va a dar origen a la primera célula rizoidal y a la primera célula protálica (Miller, 1968).
- c) El rompimiento de la cubierta de la espora marca el inicio de la germinación (Miller, 1968).
- d) La germinación inicia cuando emerge la primera célula rizoidal y/o protálica o ambas. Este último criterio se considera como el más confiable a utilizar, ya que evidentemente se observa el inicio de la germinación de la espora (Miller, 1968; Mendoza, *et al.* 1996-1997).

Patrones de germinación de las esporas de helechos homospóricos

En la mayoría de los helechos homospóricos, la germinación de la espora produce un rizoide primario, seguido de un filamento germinal pluricelular uniseriado. Momose (1940) y Nishida (1965) clasificaron los patrones de germinación con base en la relación espacial (posición relativa) de la célula basal, protálica y rizoidal primaria. Posteriormente Atkinson & Stokey (1964) reconocieron dos patrones de germinación, el bipolar y el tripolar, que posteriormente se dividen en dos tipos, Hymenophylloide y Trichomanoide, pero estos no se

aplican a todos los helechos, ya que se ajustan únicamente a Osmundaceae e Hymenophyllaceae. En general los tipos de germinación propuestos por Atkinson y Stokey son muy similares a los propuestos por Momose (1940) y Nishida (1965). Los autores antes mencionados no tomaron en cuenta la polaridad de la espora, por esta razón no son utilizados actualmente para establecer los tipos de germinación en helechos.

Nayar & Kaur (1969, 1971), Rhagavan (1989) y Reyes Jaramillo *et al.* (2003) establecieron varios criterios sobre los patrones de germinación y desarrollo protálico, basándose en los planos de división celular y en la dirección del crecimiento del rizoide y de la célula protálica. Sugirieron tres categorías que incluyen varios tipos de germinación. Nayar y Kaur (1969) propusieron los tipos de germinación *Osmunda*, *Vittaria*, *Gleichenia*, *Hymenophyllum*, *Trichomanes* y *Mecodium*. Posteriormente Raghavan (1989) aumentó los tipos de germinación *Ceratopteris*, *Lygodium* y *Dicksonia* (Fig. A). Por otro lado Reyes Jaramillo, *et al.* (2003) incluyeron el tipo de germinación *Pleopeltis*. Todos los tipos anteriores son los utilizados actualmente para describir el patrón de germinación de las esporas en pteridofitas, considerando la estructura y las bases fisiológicas de la polaridad de las esporas.

Tipos de germinación de las esporas

I) La germinación bipolar: es característica de las familias Osmundaceae y Thelypteridaceae (Tabla 1), incluye varios tipos de germinación, los cuales se caracterizan por la formación de una pared paralela al plano ecuatorial, el alargamiento de la primera célula

rizoidal y el gametófito joven es paralelo al eje polar de la espora, dentro de este grupo se encuentran los siguientes tipos de germinación (Fig. A, a 1-24).

Tipo *Ceratopteris*: la primera división origina una célula rizoidal inicial, la cual es perpendicular al eje polar de la espora, la segunda división da origen a un filamento inicial en el mismo plano que el rizoide pero orientado en sentido opuesto, esta segunda división es perpendicular a la primera; la secuencia de divisiones es similar al tipo *Vittaria* pero la orientación de la célula hija es opuesta (Fig. A. a 1-4).

Tipo *Dicksonia*: el rizoide inicial se forma por una pared paralela al eje polar de la espora y el filamento germinativo crece a lo largo del eje polar, mientras que el rizoide inicial crece a lo largo del plano ecuatorial (Fig. A. a 17-20).

Tipo *Gleichenia*: en la germinación se forma lateralmente un rizoide inicial por una división paralela al eje polar de la espora, y posteriormente una serie de divisiones en la célula protálica inicial por paredes paralelas a la primera da como resultado un filamento germinal uniseriado. El filamento germinal y la célula rizoidal se alargan a lo largo del plano ecuatorial de la espora en direcciones opuestas (Fig. A. a 21-24).

Tipo *Lygodium*: muestra un patrón en el cual la primera división celular de la espora es perpendicular al eje polar, originando un filamento inicial y una célula intermedia; el rizoide inicial se forma a través de la división de la célula intermedia en forma de cuña que se encuentra entre el rizoide y la célula protálica inicial (Fig. A. a 5-8).

Tipo *Osmunda*: en estados tempranos la primera división da lugar al rizoide, el cual es perpendicular al eje polar de la espora y la segunda división produce un filamento inicial en el mismo plano que el rizoide, pero orientado en sentido opuesto, esta segunda división es paralela a la primera (Fig. A. a 13-16).

Tipo *Vittaria*: la primera división da lugar al rizoide inicial que es perpendicular al eje polar de la espora, la segunda división produce un filamento en el mismo plano que el rizoide pero orientado en sentido opuesto, esta segunda división es perpendicular a la primera (Fig. A. a 9-12).

II) Germinación de tipo tripolar: se encuentra en familias Gleicheniaceae, Cyatheaceae e Hymenophyllaceae (Tabla 1). Se caracteriza por que la primera división celular se da por la formación de una pared paralela al eje polar de la espora y más tarde el alargamiento y división del gametófito ocurre en tres direcciones, este grupo incluye los siguientes tipos de germinación (Fig. A. b 1-12).

Tipo *Hymenophyllum*: este tipo de germinación es básicamente tripolar, todas las divisiones celulares de la espora son paralelas al eje polar. Las primeras dos paredes son perpendiculares entre sí y dividen a la espora en una lámina ecuatorial expandida de tres células iguales. En cada una de estas células se forma una célula hija lenticular hacia el centro de la pared lateral periférica. Cada célula lenticular puede crecer en un rizoide o en un filamento germinal; en fases subsecuentes hay una serie de divisiones por paredes paralelas a la última pared formada (Fig. A. b 1-4).

Tipo *Mecodium*: aquí no solo se dan las dos primeras divisiones del tipo *Hymenophyllum* el cual persiste, sino adicionalmente ocurren más divisiones en cada una de las tres células de modo que la lámina formada tiene 9-12 células expandidas a lo largo del plano ecuatorial de la espora en germinación (Fig. A. b 5-9).

Tipo *Trichomanes*: en este caso aparentemente hay ausencia de las dos primeras divisiones en el tipo *Hymenophyllum*, de modo que la espora se divide directamente en tres células, de las cuales una se desarrolla un rizoides y las dos restantes en la lámina protálica (Fig. A. b 10-12).

III) Germinación de tipo amorfo: se encuentra restringida a grupos más primitivos como Schizaeaceae, Marattiaceae y Ophioglossaceae (Tabla 1). La división celular y la dirección del crecimiento se efectúan en diversos planos y el resultado es una masa amorfa de células, en lugar de un filamento germinativo uniseriado (Nayar & Kaur, 1971; Mendoza, 2001).

Tabla 1. Tipos de germinación de las esporas en helechos

Germinación bipolar	Familia	Tipos de germinación
	Osmundaceae y Thelypteridaceae	Tipo <i>Ceratopteris</i> Tipo <i>Dicksonia</i> Tipo <i>Gleichenia</i> Tipo <i>Lygodium</i> Tipo <i>Osmunda</i> Tipo <i>Vittaria</i> Tipo <i>Pleopeltis</i> Tipo <i>Hymenophyllum</i>
Germinación tripolar	Gleicheniaceae, Cyatheaceae e Hymenophyllaceae	Tipo <i>Mecodium</i> Tipo <i>Trichomanes</i>
Germinación amorfa	Marattiaceae y Ophioglossaceae	

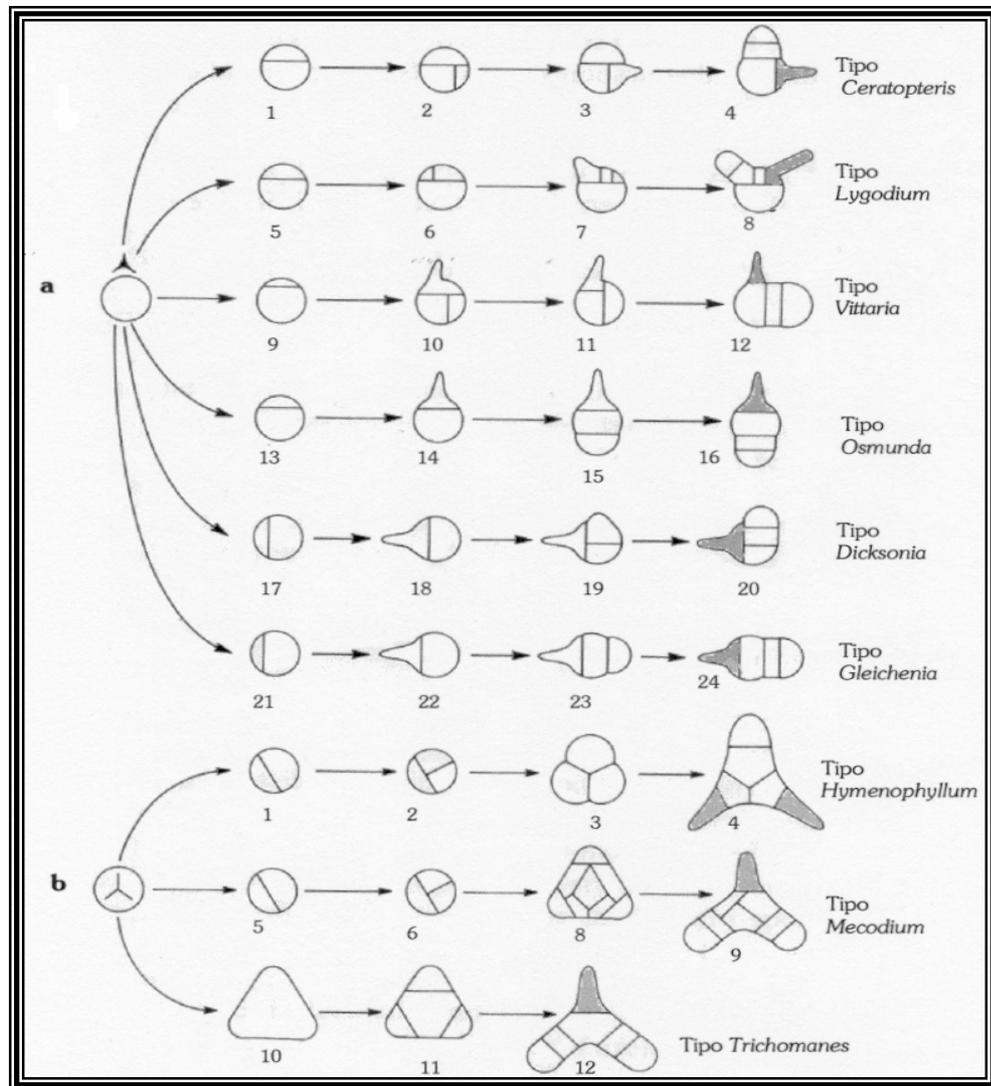


Fig. A. Esquema de los diferentes tipos de germinación de las esporas de helechos homospóricos. a) germinación bipolar: tipo *Ceratopteris* (a 1-4); tipo *Lygodium* (a 5-8); tipo *Vittaria* (a 9-12); tipo *Osmunda* (a 13-16); tipo *Dicksonia* (a 17-20); tipo *Gleichenia* (a 21-24). b) germinación tripolar: tipo *Hymenophyllum* (b 1-4); tipo *Mecodium* (b 5-9); tipo *Trichomanes* (b 10-12). (Tomado de Mendoza, 2001). O = células protálicas, ● = rizoides.

Desarrollo protálico

Una vez que se ha descrito en la germinación de la espora los planos de división celular primario, así como la posición de la primera célula rizoidal, hasta la formación de una fase filamentosa uniseriada, es necesario determinar ahora la posición de la primera célula o células meristemáticas en el protalo y establecer los planos de división y diferenciación para la formación de una estructura laminar (fase bidimensional) hasta que se constituya un talo adulto.

Nayar & Kaur, 1969 describieron siete tipos de desarrollo protálico en helechos homospóricos: *Adiantum*, *Aspidium*, *Ceratopteris*, *Drynaria*, *Kaulinia*, *Marattia* y *Osmunda*. La diferencia entre todos ellos radica principalmente en la secuencia de las divisiones celulares durante la etapa de desarrollo y la región donde se establece la célula meristemática o el meristemo pluricelular, y la forma final del talo adulto. En el prótalo joven de los tipos *Adiantum*, *Drynaria* y *Marattia* se forma una célula meristemática apical y en los tipos *Aspidium* y *Osmunda* el meristemo se encuentra en posición lateral. En el tipo *Ceratopteris* se desarrolla el meristemo pluricelular lateral y en el tipo *Kaulinia* no existe una región meristemática definida (Fig. B).

Tipos de desarrollo protálico

La característica principal del desarrollo protálico es la polaridad de las divisiones celulares y los cambios definidos y repentinos que experimenta durante este proceso.

Dependiendo de las secuencias de las divisiones celulares durante la ontogenia del protalo en los helechos homosporicos, se han reconocido los siguientes tipos de desarrollo:

Tipo *Adiantum*

En éste, se establece una célula protálica a partir de la división de la célula terminal del filamento. La célula terminal del filamento puede dividirse mediante una pared vertical, seguida inmediatamente por una pared oblicua a ella entre las células hijas, delimitando así a la célula meristemática, que posteriormente será reemplazada por un meristemo pluricelular. Por actividad de esta última célula se forma una lámina protálica espatulada, en la cual el ápice se va modificando hasta formar una escotadura que finalmente se hace cordiforme (Fig. B. 8-17).

Tipo *Aspidium*

En contraste con los otros tipos de desarrollo, en éste varía la secuencia de las divisiones celulares ya que el desarrollo del talo joven está condicionado por la formación temprana de pelos en el protalo joven. La germinación de la espora origina un filamento germinal y en la célula terminal se produce un pelo en su ápice. La formación de la lámina se inicia por las células intercalares. La lámina protálica generalmente es asimétrica, con un lado mayor que el otro. Una de las células hijas de la penúltima célula se diferencia en una célula obcónica en forma temprana o algunas veces cuando el talo ya tiene varias células de ancho y por medio de divisiones oblicuas desarrolla lateralmente un meristemo en el talo. Continuamente se producen pelos marginales. En algunos casos, sin embargo, la célula terminal del filamento germinal, después de producir el pelo, puede dividirse

longitudinalmente de tal forma que el pelo queda colocado sobre una de las células hijas. La célula que lleva el pelo queda inactiva o incluso quiescente mientras su célula hermana (junto con la célula que se encuentra por detrás de ella) se desarrolla en una lámina protálica. Esta lámina puede ser ligeramente asimétrica. Otra variación es aquella en la cual la formación de la placa se inicia antes de la formación del pelo. Las células anteriores del filamento germinal (incluyendo la célula terminal) se dividen longitudinalmente, iniciando la formación de la lámina. Entonces se produce un pelo en una de las células hijas de la célula terminal o puede no formarse hasta después (Fig. B. 28-40).

Tipo *Ceratopteris*

La formación de una lámina protálica se inicia por la división longitudinal de las células anteriores del filamento germinal. En este tipo de desarrollo, la lámina es espatulada no merística y se establece un meristemo pluricelular a partir de un grupo de células marginales en posición lateral, lejos de la región apical. (Fig. B. 8, 11, 18-19, 21-24).

Tipo *Drynaria*

Difiere del tipo *Adiantum* en que el establecimiento de la célula meristemática apical es mucho más retardado, los protalos generalmente desarrollan pelos en el margen y superficiales en las etapas adultas del desarrollo protálico (Fig. B. 8,11, 18-20, 15-17).

Tipo *Kaulinia*

Después de la germinación de la espora se forma un filamento germinal alargado, se diferencia una lámina protálica ancha, espatulada y no merística (no hay diferenciación de un

meristemo organizado) como en el tipo *Drynaria*. Posteriormente la lámina se alarga y adquiere forma de banda o cinta, la cual puede ramificarse. El ápice es redondeado, y frecuentemente tiene abundantes rizoides marginales (Fig. B. 8, 11, 18-19, 25-27).

Tipo *Marattia*

La germinación de la espora da lugar a una lámina pluricelular ovalada o circular (en lugar de un filamento germinal), que rápidamente adquiere más de una célula de grosor. La lámina se expande por la actividad meristemática difusa y posteriormente se diferencia una célula meristemática obcónica por medio de dos divisiones oblicuas en una de las células marginales lejos del extremo de la lámina, ésta es posteriormente reemplazada por un meristemo pluricelular (Fig. B. 6-7, 15-17).

Tipo *Osmunda*

Como resultado de la germinación de la espora se forma un filamento germinal corto, bicelular. Este forma una placa de 4 células por medio de una división longitudinal en cada célula, seguida de una expansión lateral de las células hijas. Mediante repetidas divisiones transversales y longitudinales de las células del cuadrante, se forma una lámina protálica circular u ovada (Fig. B. 1-5, 15-17).

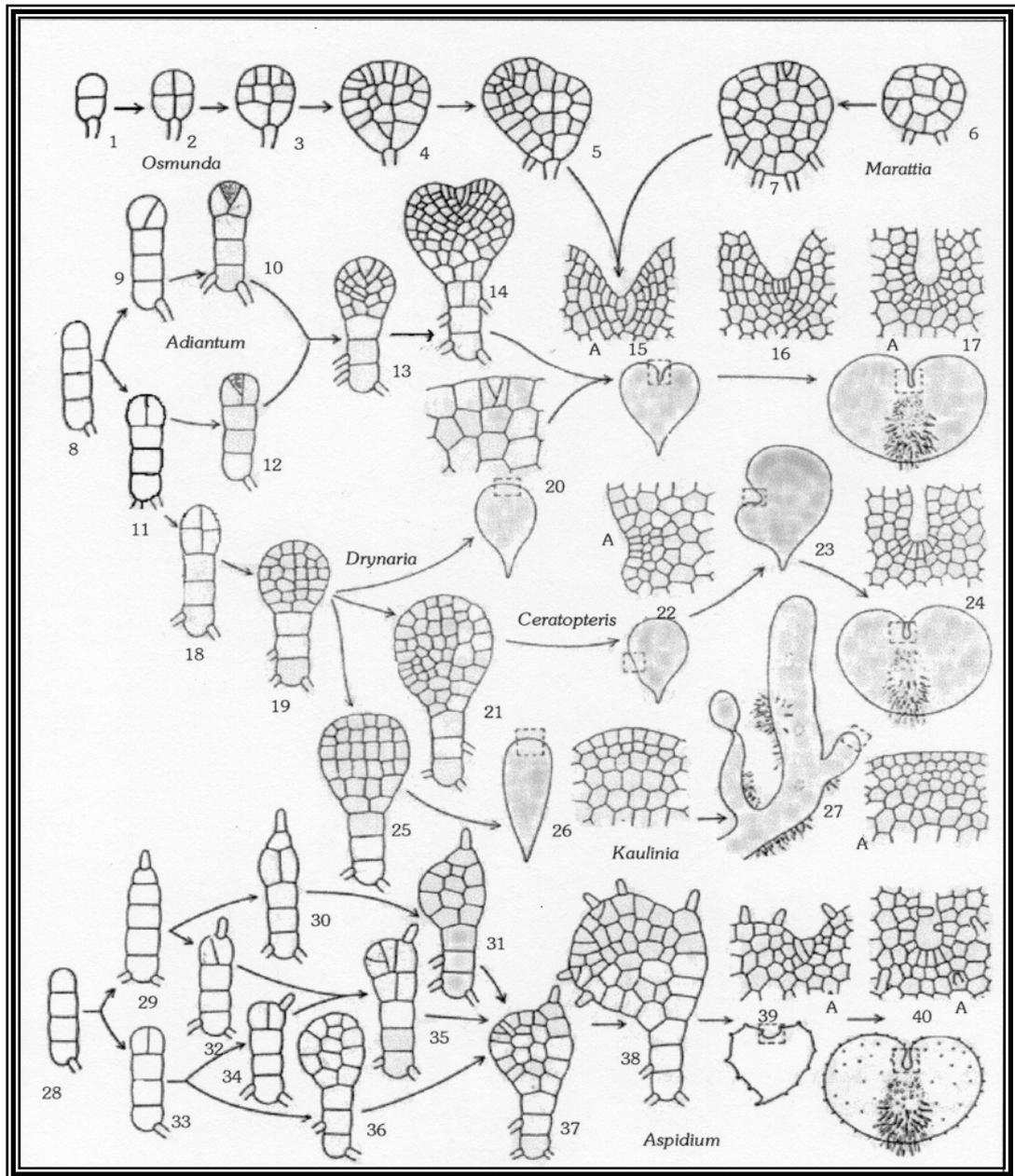


Fig. B. Diagrama ilustrado de los patrones de desarrollo descritos para helechos homospóricos: tipo *Osmunda* (Figs. 1-5, 15-17), tipo *Marattia* (Figs. 8-17), tipo *Adiantum* (Figs. 8-17), tipo *Drynaria* (Figs. 8, 11, 18-20, 15-17), tipo *Ceratopteris* (Figs. 8, 11, 18-19, 21-24), tipo *Kaulinia* (Figs. 8, 11, 18, 19, 25-27), tipo *Aspidium* (Figs. 28-40). A= acercamiento de la zona meristemática (Tomado de Mendoza, 2001).

Gametófitos adultos

Los gametófitos adultos presentan formas muy variadas, en general se reconocen ocho formas de talos adultos, donde las más comunes son la cordiforme y la espatulada, las menos frecuentes son la filamentosas y la acintada o cintiforme. Se ha observado que la forma de los talos se repite de manera consistente entre las especies, lo cual puede considerarse como una serie de rasgos que unifican grupos taxonómicos y que representan la genealogía de los diferentes taxa.

Tricomas

Muchos de los gametófitos de helechos carecen de tricomas, sin embargo, en ciertas familias la presencia, así como la posición y la forma que estos presentan, son importantes. Por ejemplo en la familia Thelypteridaceae, pueden ser de posición marginal o superficial (en una o ambas superficies) y de diversos tipos (unicelulares, bicelulares o multicelulares, aciculares, capitados, bifurcados, estrellados etc.). Los tricomas, en algunas especies, no tienen ningún tipo de secreción, o al menos no es visible, pero en otras es tan abundante que puede apreciarse como una sustancia amarillenta que aparece a manera de capuchón en la punta del tricoma (Mendoza, 2001). En el caso de que los tricomas se presenten, se debe considerar la fase en que aparecen, el tipo, la posición y si son unicelulares o pluricelulares (ramificados o no ramificados). También se debe tomar en cuenta si son glandulares. En la actualidad no es posible precisar el valor de los pelos como un carácter taxonómico o como en el caso del esporófito, el mismo carácter puede ser importante en algunos casos y en otros no, como la ausencia o la presencia de tricomas de un tipo peculiar, lo cual puede sugerir afinidades entre los grupos que presentan esa característica (Atkinson & Stokey, 1964).

Gametangios

Los órganos sexuales son considerados como caracteres de suma importancia para establecer relaciones entre grupos. Se toma en cuenta si los gametófitos maduros son monoicos o dioicos (si los gametangios masculinos y femeninos se forman en el mismo talo o en distintos individuos). Aunque generalmente los anteridios aparecen primero que los arquegonios durante el desarrollo, esta condición puede variar en los diferentes grupos de helechos.

La posición que guardan los anteridios en el talo es importante, ya que se presentan en la superficie ventral con distribución amplia, en el cojinete entre los rizoides, en posición lateral cerca de las alas o incluso en posición marginal entre otras. Los anteridios maduros en filicales pueden ser de dos tipos: los que tienen muchas células en la pared (más primitivos) y tienden a ser de mayor tamaño y aquellos que presentan una pared compuesta de 3 ó 4 células (más avanzados) que son en general de menor tamaño; estos presentan una célula basal de forma variable, una célula media cilíndrica (ó anular) y la célula distal u opercular (Atkinson & Stokey, 1964).

Los arquegonios generalmente se forman en la superficie ventral del talo, sobre el cojinete, de una a varias semanas después de la formación de los anteridios, en la mayoría de los helechos, estos pueden ser abundantes o escasos, más aún no presentarse en los talos. El arquegonio se considera bastante uniforme, 4 células triangulares forman la boca del arquegonio, y donde solo el cuello presenta variaciones apreciables como diferencias en

longitud y curvatura, esta última se refiere a si se encuentran dirigidos hacia la muesca o a la parte posterior indicando la posibilidad de una fecundación intergametofítica o intragametofítica (Atkinson & Stokey, 1964).

En la presente tesis se muestra el seguimiento del desarrollo de la fase sexual de especies selectas de *Thelypteris* subg. *Cyclosorus* pues no se tiene información suficiente sobre este proceso. Considero que es de vital importancia la realización de estudios de este tipo que aporten conocimientos nuevos y originales en este campo, para intentar establecer relaciones los taxa circunscritos en el subgénero, con base en las semejanzas o diferencias del patrón de desarrollo de la fase sexual así como precisar si estas características gametofíticas pueden ser usadas como caracteres confiables para delimitar a los subgéneros, específicamente *Cyclosorus*.

La identificación y circunscripción taxonómica de los helechos se ha establecido con base en caracteres morfológicos del esporófito. De acuerdo con la literatura se ha confirmado que a partir de la morfología de los gametófitos de estas plantas, se pueden obtener evidencias para resolver problemas de relaciones entre los grupos o demostrar la unidad de un género o la conveniencia de combinar grupos de géneros o quizás resolver problemas entre grupos de géneros o de especies.

El gametófito es una entidad de considerable valor en el estudio de las relaciones entre los helechos, posee estructuras útiles que sugieren relaciones filogenéticas a nivel de familia pero probablemente de manera más frecuente entre géneros y especies (Atkinson, 1973).

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento de la biología de algunas especies selectas de *Thelypteris* (subg. *Cyclosorus*) de la familia Thelypteridaceae presentes en México, mediante el estudio y la definición de los procesos morfogenéticos de la fase sexual.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Conocer los patrones de germinación, desarrollo y características morfológicas de la fase sexual de especies selectas de *Thelypteris* subg. *Cyclosorus*: *Thelypteris albicaulis* (Feé) A. R. Sm., *Thelypteris augescens* (Link) Munz et. I. M. John st., *Thelypteris dentata* (Forssk.) E.P. St. John, *Thelypteris grandis* A. R. Sm. var. *pallescens* (C. Chr.) A. R. Sm., *Thelypteris hispidula* (Decne.) C.F. Reed, *Thelypteris interrupta* (Willd.) K. Iwats., *Thelypteris kunthii* (Desv.) C. V. Morton., *Thelypteris lanosa* (C. Chr.) A. R. Sm., *Thelypteris ovata* R. P. St. John var. *lindheimeri* (C. Chr.) A.R. Sm., *Thelypteris patens* (Sw.) Small., *Thelypteris puberula* (Baker) C. V. Morton var. *puberula*, *Thelypteris puberula* (Baker) C. V. Morton var. *sonorensis* A. R. Sm. y *Thelypteris tuerckheimii* (Donn. Sm.) C. F. Reed.
- 2.- Determinar las características distintivas de la fase sexual, y definir si estas pueden ser usadas como caracteres confiables para delimitar al subgénero *Cyclosorus*.
- 3.- Comparar la morfogénesis del gametófito de las especies estudiadas con la de los representantes de otros subgéneros.
- 4.- Proponer, mediante análisis de semejanzas y diferencias de los gametófitos, distintos grados de afinidades entre las especies estudiadas.

HIPÓTESIS

Sí con las características morfológicas de los gametófitos se pueden establecer similitudes o diferencias entre los taxa, **entonces** éstos nos permitirán delimitar a las especies que constituyen al subg. *Cyclosorus* y establecer relaciones con los otros subgéneros que se encuentran circunscritos dentro de la familia Thelypteridaceae.

METODOS

Se llevó a cabo una revisión de los ejemplares depositados en algunos de los principales herbarios institucionales mexicanos (UAMIZ, MEXU, ENCB, IEB etc.), con el fin de determinar la distribución y definir los sitios de recolección de las diferentes especies circunscritas en el subgénero *Cyclosorus*. Posteriormente se realizaron varios viajes a diferentes localidades previamente seleccionadas en los Estados de Querétaro y Veracruz, con el fin de obtener los ejemplares de respaldo (fértiles) y las esporas viables para el estudio (Lorea & Riba, 1990; Metsger & Byers, 1999).

Se recolectó material fértil de siete especies del género *Thelypteris* del subg. *Cyclosorus* en diferentes localidades de dos estados de la República: *T. dentata*, *T. hispidula*, *T. kunthii*, *T. interrupta*, *T. ovata* var. *lindheimeri*, *T. patens*, *T. puberula* var. *puberula*. Se recolectaron también *Macrothelypteris torresiana* (subg. *Macrothelypteris*), *Thelypteris concinna* (Willd.) Ching y *Thelypteris pilosula* (Klotzsch et H. Karst. Ex Mett.) R. M. Tryon (subg. *Amauropelta*). Las especies encontradas pertenecen a diferentes regiones de los Estados de Querétaro y Veracruz, y corresponden a las zonas tropicales cálido-húmedas de México

(Tabla 2). En general, las especies estudiadas se encuentran en zonas expuestas a lo largo de caminos o sobre la pared de la carretera por lo que son heliófilas. Otras se encuentran a la orilla de ríos o cercanos a cuerpos de agua.

Tabla 2. Especies estudiadas de *Thelypteris* subg. *Cyclosorus*.

Taxa	No. recolecta	Localidad	Hábitat/Altitud	Fecha
<i>Macrothelypteris torresiana</i> (Gaud.) Ching	MME-1	Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Ver.	SAP, 120 msnm 18°35'19"N 95°05'31"W	04/05/2002
<i>Thelypteris concinna</i> (Willd.) Ching	MME-31	Río Verdito, 7 km., después de Lobo, rumbo a Agua Zarca, Qro.	VS, 1250 msnm 21°15'31" N 99°07'31" W	21/11/2002
	MME-33	6 km. después de Río Verdito rumbo a Agua Zarca, Qro.	BMM 1320 msnm 21°13'44.6" N99°06'44.4" W	21/11/2002
<i>Thelypteris dentata</i> (Forssk.) E.P. St. John	MME-25	km. 75 de la carr. Fortín-Orizaba, Ver.	BE, 960 msnm 18°53'19"N 97°00'37"W	07/05/2002
<i>Thelypteris hispídula</i> (Decne.) C. F. Reed.	MME-5	Camino a la Playa Icacos, Ver.	VS, 5 msnm 18°35'11"N 95°03'08"W	04/05/2002
	MME-18	Península Moreno, Ver.	SM, 60 m snm 18°26'59"N 94°58'28"W	05/05/2002
	MME-22	Santiago Tuxtla, rumbo a Alvarado, Ver.	RV, 240 m snm 18°33'28"N 95°19'15"W	06/05/2002
<i>Thelypteris interrupta</i> (Willd.) K. Iwats.	MME-24	Sobre la carretera federal Cosamaloapan, Ver.	ZI, 0 m snm 18°16'44"N 25°55'02"W	06/05/2002
<i>Thelypteris kunthii</i> (MME-28)	MME-28	25 Km. después de Landa de Matamoros, rumbo a Lobo, Qro. Entre roca basáltica.	BE, 1470 msnm 21°16'28.3"N 99°12'50.9"W	21/11/2002
	MME-30	Río Verdito 10 km. después de Lobo, rumbo a Agua Zarca, Qro. En una cañada.	VS, 1100 msnm 21°14'52" N 99°07'53" W	21/11/2002
<i>Thelypteris ovata</i> var. <i>lindheimeri</i> (MME-27)	MME-27	4 km después de Pinal de Amoles, Rumbo a Jalpan, Qro. A un lado de la carretera.	BMM, 1560 msnm 21° 11'04" N99° 34'45" W	20/11/2002
<i>Thelypteris patens</i> var. <i>patens</i> (Sw.) Small	MME-19	Santiago Tuxtla, rumbo a Alvarado, 2 km. Después de Tapalpa, Ver.	RV, 240 msnm 18°33'28"N 95°19'15"W	06/05/2002
<i>Thelypteris pilosula</i> (Klotzsch et H. Karst. ex Mett.) R. M. Tryon	MME-29	5 km. después de Lobo rumbo a Agua Zarca, Qro.	VS, 1250 msnm 21°15'31"N99° 07'31"W	21/11/2002
	MME-34	1 km. después de El trapiche, carretera Jalpan-Río Verde, Qro.	BG, 630 msnm 21°20'12.7"N 99°32'11"W	22/11/2002
<i>Thelypteris puberula</i> (Baker) C. V. Morton var. <i>puberula</i>	MME-38	Río Filobobos, Tlapacoyan, Ver., a la orilla del río.	BS, 400 msnm	08/11/2002

MME: Ma. Eugenia Muñiz Díaz de León; SAP= Selva Alta Perennifolia; BE=Bosque de encino; BMM= Bosque mesófilo de montaña; BG= Bosque de galería; VS= Vegetación Secundaria; SM= Selva Mediana; RV=Roca Volcánica; ZI=Zonas inundables a la orilla de carretera.

Los ejemplares de respaldo se identificaron con el apoyo de claves y posteriormente se etiquetaron y montaron (Knoblock & Correll, 1962; Mickel & Beitel, 1988; Mickel, 1992; Smith, 1971, 1973, 1980, 1981; Pacheco & Lorea, 1985; Palacios- Ríos, 1992 y Pérez-García *et al.*, 1999) éstos se encuentran depositados en el herbario UAMIZ.

Las pinnas fértiles de los helechos se colocaron en sobres de papel y se desecaron en condiciones naturales, hasta la liberación y obtención de las esporas. Posteriormente se tamizaron con una malla metálica con poros de 0.074 mm de diámetro, para eliminar residuos de hojas, parafisos, escamas, esporangios etc. Una vez obtenidas las esporas para cada especie, se preparó y esterilizó el material de cristalería (cajas de petri, pipetas, matraces, etc.). Se preparó el medio de cultivo de Thompson (Klekowski, 1969). En las Tablas 3 y 4, se presentan los micronutrientes y macronutrientes utilizados.

Se describieron las características de las esporas de cada una de las especies recolectadas mediante la observación en microscopía óptica y electrónica (Tryon & Lugardon, 1991), para cada taxón estudiado se sembraron las esporas en 4 cajas de petri de 5 cm de diámetro, con medio de cultivo de Thompson y agar previamente esterilizado, para lo cual se utilizaron pinceles de pocas cerdas, espolvoreando las esporas sobre la superficie de los medios de cultivo utilizados. Una de las cajas se cubrió completamente con papel estaño para impedir la penetración de la luz, mientras que las tres restantes se mantuvieron expuestas a la luz. Para cada una de las especies se realizaron 4 repeticiones con la finalidad de establecer con mayor precisión las diferentes etapas del desarrollo protálico. Se tomaron los datos de densidad por cm^2 para las distintas especies, en condiciones controladas de luz, temperatura,

humedad y pH (Mendoza *et al.* 1996-1997). Se sembraron también las esporas en pequeñas macetas con tierra negra y materia orgánica (3-4 por especie).

Las cajas de petri y macetas se colocaron dentro de bolsas de plástico transparente para evitar la contaminación y desecación. Los cultivos se mantuvieron en un estante tipo esqueleto, con un régimen lumínico artificial de 12 hrs. luz/obscuridad utilizando lámparas de 75 watts, luz del día con una temperatura de entre 22-25° (Mendoza, *et al.* 1996-1997, 1999).

Los cultivos se abrieron periódicamente para regarlos con 3 gotas de agua esterilizada cada tercer día, y para realizar las observaciones pertinentes y poder establecer el inicio de la germinación de las esporas y realizar el seguimiento de las distintas fases del desarrollo de los gametófitos. Se tomaron datos y fotomicrografías (tanto del material vivo y/o fijado) de las distintas fases de germinación y desarrollo hasta la obtención del esporófito en condiciones de laboratorio.

Diseño experimental

Tanto para las esporas como para los tricomas se registró el tamaño (largo y ancho) y se realizó el análisis estadístico Kruskal-Wallis (Conover, 1999) para determinar si existen diferencias significativas en tamaño a nivel de especie.

Tabla 3. Soluciones madre utilizadas para la preparación del Medio de Thompson para cultivar gametófitos.

Macroelementos	Peso (gr)/100ml de agua destilada
Nitrato de amonio (NH_4NO_3)	2.5
Fosfato de potasio (K_2HPO_4)	2.0
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1.0
Cloruro de calcio (CaCl_2)	1.0

Microelementos	Peso (gr)1000 ml de agua destilada
Sulfato de manganeso (MnSO_4)	0.0220
Sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.0240
Sulfato de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.0290
Acido bórico (H_3BO_3)	0.1860
Molibdato de sodio ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.0035
Sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	2.5000
Sodio EDTA (etilendinitrilotetracetato disódico)	3.7000

(Tomado de Klekowski, 1969).

Tabla 4. Substancias para la preparación del medio de Thompson.

Macroelementos	Volumen en (ml)
NH_4NO_3	5
K_2HPO_4	25
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	12
CaCl_2	2
Microelementos	Volumen en (ml)
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	10
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10
H_3BO_3	10
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10
Sodio EDTA	10
agar	10 gr
agua destilada (aforar a)	1000

(Tomado de Klekowski, 1969)

Procesamiento de material para Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Con el fin de definir con mayor precisión la morfología de los protalos, tricomas y gametangios, se observaron los gametófitos adultos al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB). Los gametófitos adultos de las diferentes especies se colocaron en viales de vidrio y se fijaron en glutaraldehído-paraformaldehído y en FAA más sacarosa (López *et al.*, 1998). La fijación de los protalos se probó en diferentes tiempos (22 hrs., 24 hrs. y 172 hrs.).

Para el caso del glutaraldehído se mantuvieron a una temperatura de 4° C (refrigeración), mientras que los fijados en FAA se conservaron a temperatura ambiente de 1-30 días.

A los gametófitos fijados en glutaraldehído-paraformaldehído, se les hicieron 5 enjuagues con buffer de collidina preparada a partir de la solución madre de collidina en proporción 1:1 con agua destilada. El glutaraldehído-paraformaldehído se reemplazó inmediatamente por buffer de lavado (buffer de collidina). Los gametófitos fijados en FAA se enjuagaron directamente con agua destilada antes de la deshidratación.

La deshidratación para las muestras fijadas en glutaraldehído-paraformaldehído y FAA consistió en cambios en alcoholes graduales al 30%, 50%, 70%, 85%, 96% y 100% a temperatura ambiente. El tiempo en cada cambio para los gametófitos se estableció entre 5-10 minutos. Los alcoholes se prepararon un día antes de realizar la deshidratación. Las muestras en alcohol absoluto se pasaron a la mayor brevedad al proceso de desecación. Con la finalidad de observar las muestras al MEB, el procesamiento se llevó hasta la desecación a punto crítico. La desecación consistió en sustituir el alcohol por CO₂ líquido, llevar al CO₂ a punto crítico en el cual se transforma en gas sometiénolo a una temperatura de 36.1° C y una

presión de 1070 lb/ pg^2 durante 6 hrs. Para que el CO_2 se mantenga líquido y sustituya al alcohol, es necesario enfriar la cámara en donde se encuentran las muestras controlando la presión. Una vez eliminado el alcohol, se induce la desecación al punto crítico llevando al CO_2 a la temperatura crítica para transformarlo de la fase líquida a la fase gaseosa.

Una vez desecadas las muestras, se montaron en los portamuestras cilíndricos de metal, compatibles para la evaporadora de carbono y oro, previamente marcados, sobre cinta conductora. Se recubrieron utilizando la evaporadora de carbono y oro y se mantuvieron en un ambiente seco colocándolas en una cámara con gel de sílice. En este momento las muestras estuvieron listas para su observación en el MEB.

Para el tratamiento de las esporas no se utilizó ningún fijador. La desecación se realizó a temperatura ambiente. Una vez desecadas las esporas se montaron en los portamuestras para MEB, espolvoreando las esporas con un pincel de pocas cerdas, sobre la cinta conductora. El recubrimiento se efectuó de acuerdo con el método antes señalado para los gametófitos.

RESULTADOS

Para todas las especies aquí estudiadas las esporas son homospóricas, no fotosintéticas, monoletes, reniformes de acuerdo a Tryon & Lugardon (1991); el color varía de pardo claro (amarillentas) en algunas especies a pardo oscuro en otras; presentan perisporio con ornamentación reticular a manera de crestas consistentes o alas, verrucosa a papilosa, constan de una serie de pliegues de diferente tamaño o denticulados en algunas especies (Wood, 1973). En la Tabla 5, se presentan los datos relativos a diez especies correspondientes a los subgéneros *Cyclosorus*, *Amauropelta* y *Macrothelypteris*.

TABLA 5
Diversidad de esporas de Thelypteridaceae subg. *Cyclosorus*.

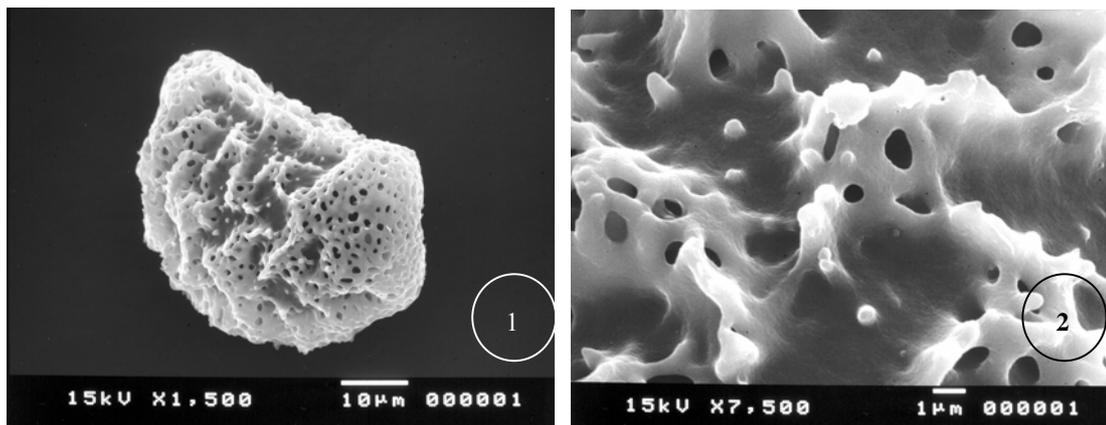
Taxa	Tipo y color de Espora	Medidas	Descripción
<i>Macrothelypteris torresiana</i>	Monolete, pardo claro (amarillentas)	l= 50(60)67 μm a=32(38)42 μm	Con perisporio reticulado, con numerosas perforaciones y verrucosas en los bordes de los pliegues
<i>Thelypteris concinna</i>	Monolete, pardo oscuro	l=38(42)47 μm a=25(28)33 μm	Con perisporio reticulado, con perforaciones de amplios diámetros
<i>Thelypteris dentata</i>	Monolete, pardo oscuro	l= 40(44)50 μm a=28(30)35 μm	Perisporio reticulado, con anchos pliegues consistentes y escasas perforaciones
<i>Thelypteris hispidula</i>	Monolete, pardo claro	l= 45(50)57 μm a=25(31)35 μm	Perisporio reticulado, formado por pliegues delgados, con bordes verrucosos
<i>Thelypteris interrupta</i>	Monolete, pardo claro a amarillentas	l=48(55)62 μm a=30(35)40 μm	Perisporio reticulado, equinado
<i>Thelypteris kunthii</i>	Monolete, pardo oscuro	l=43(50)55 μm a=28(34)38 μm	Perisporio reticulado, con pliegues consistentes, ligeramente verrucoso y pocas perforaciones
<i>Thelypteris ovata</i> var. <i>lindheimeri</i>	Monolete, pardo oscuro	l=45(47)52 μm a=30(32)40 μm	Perisporio reticulado, con pliegues irregulares, con perforaciones y ligeramente verrucoso
<i>Thelypteris patens</i> var. <i>patens</i>	Monolete, pardo oscuro	l=40(49)53 μm a=33(36)38 μm	Perisporio reticulado, con pliegues muy irregulares y perforaciones de amplio diámetro
<i>Thelypteris pilosula</i>	Monolete, pardo oscuro	l=48(50)52 μm a=30(34)3 μm	Perisporio reticulado, con pliegues regulares y consistentes, cúmulos de perina centrales y ligeramente equinado
<i>Thelypteris puberula</i> var. <i>puberula</i>	Monolete, pardo oscuro	l=50(68)77 μm a=38(47)60 μm	Perisporio reticulado, con pliegues regulares, verrucoso

l= largo de la espora; a=ancho de la espora.

A continuación se presentan las descripciones de los diferentes estados de desarrollo de cada una de las 10 especies seleccionadas, por ser las que se encontrabas fértiles y fue posible procesar.

Macrothelypteris torresiana

Esporas monoletes, elipsoidales, fotoblásticas positivas; el tamaño promedio es de 60 X 37 μm ; color pardo claro (amarillentas); la ornamentación del perisporio es reticulada con pliegues regulares a lo largo de la espора y transversales, presenta numerosas perforaciones en los pliegues y verrucosas en los bordes de los pliegues (Figs. 1 y 2).



Figs. 1 y 2. *Macrothelypteris torresiana*. 1. Espora monolete. 2. Acercamiento del perisporio.

Germinación

La germinación que presentó en la espора fue del tipo *Vittaria* (Nayar & Kaur, 1971), ésta comenzó a partir de los 5 días después de sembradas las esporas, emergió primero la célula rizoidal a partir de la primera división. Posteriormente se formó la célula protálica como resultado de una segunda división, ambos en el mismo plano pero en sentido opuesto (Fig. 3).

Fase filamentosa

Las divisiones transversales continuas de la célula protálica inicial originaron un filamento uniseriado largo de 8-10 células (Fig. 4). Las células tienen forma de barril y presentan abundantes cloroplastos discoidales. Por otro lado el rizoide es hialino, más largo que el filamento y presenta cloroplastos.

Fase bidimensional

Esta fase comenzó a partir de los 13-15 días después de sembradas las esporas. El patrón de desarrollo observado correspondió al tipo *Drynaria* (Nayar & Kaur, 1969). Este se caracteriza porque el filamento germinal, uniseriado, sufre divisiones longitudinales y transversales formando una lámina. En esta etapa no se observó el establecimiento temprano de una célula meristemática inicial obcónica. Los protalos jóvenes son láminas espatuladas, sin una muesca definida y por lo tanto, aún no se definen las alas (Figs. 5-7). La lámina tiene apariencia redondeada en el margen apical. En esta etapa no se aprecia la formación de tricomas; los rizoides son hialinos y largos, en algunos casos contienen cloroplastos.

Gametófito adulto

Los gametófitos son típicamente espatulados, muy alargados, con el margen ondulado (Fig. 8 y 12). Se distingue una muesca poco profunda casi imperceptible. Alas angostas y se comienza a formar un meristemo pluricelular apical. En esta etapa de desarrollo se forman los tricomas unicelulares capitados, marginales y superficiales (Fig. 8, 14). Se diferencian gametófitos dioicos con anteridios y arquegonios.

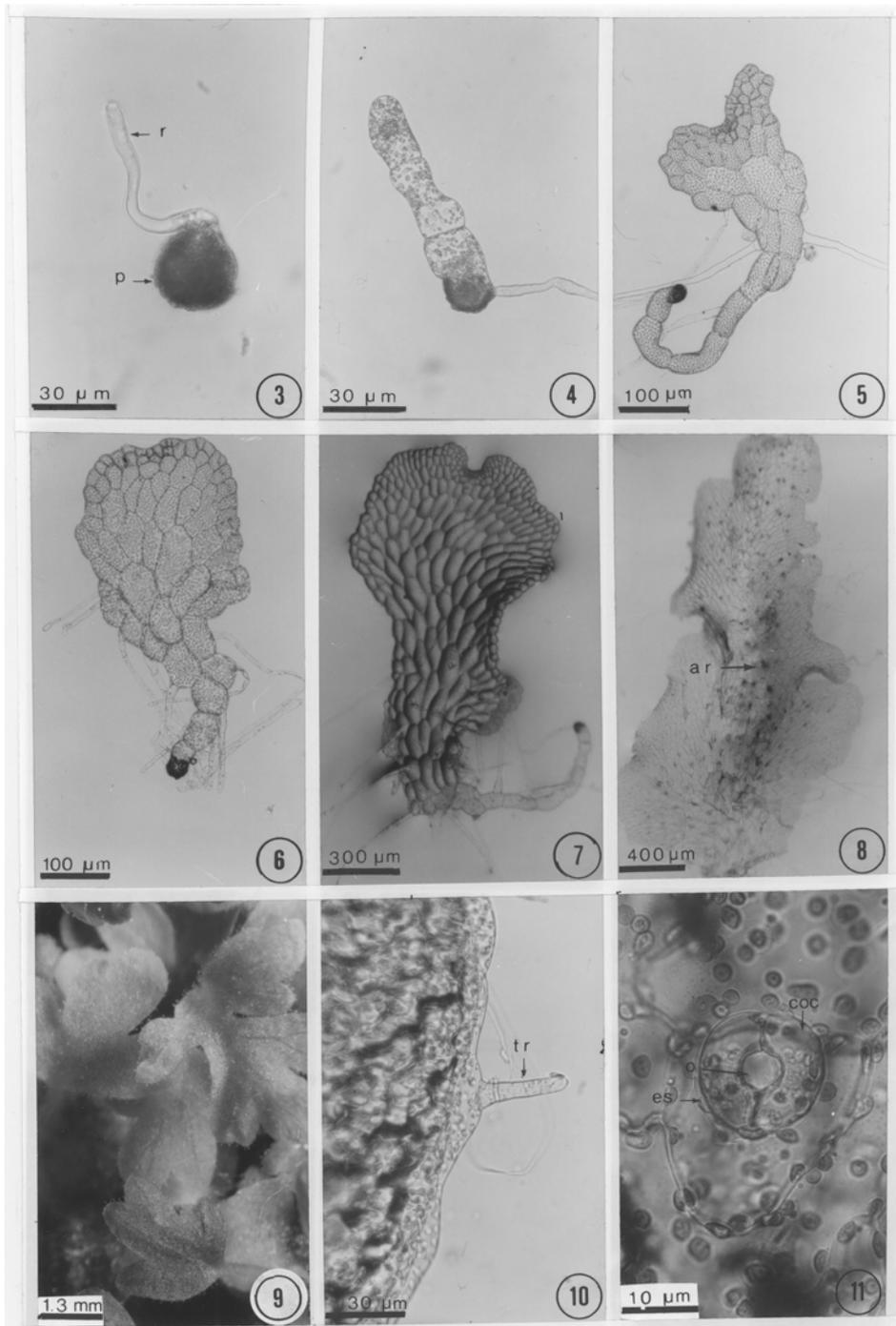
Gametangios

Los anteridios se desarrollan a partir de los 50 días en ambas superficies del gametófito, sobre el cojinete, cercanos a la muesca (Fig. 12), o con frecuencia se extienden hacia el margen: presentan la célula basal, la anular o media y la opercular (Fig. 13).

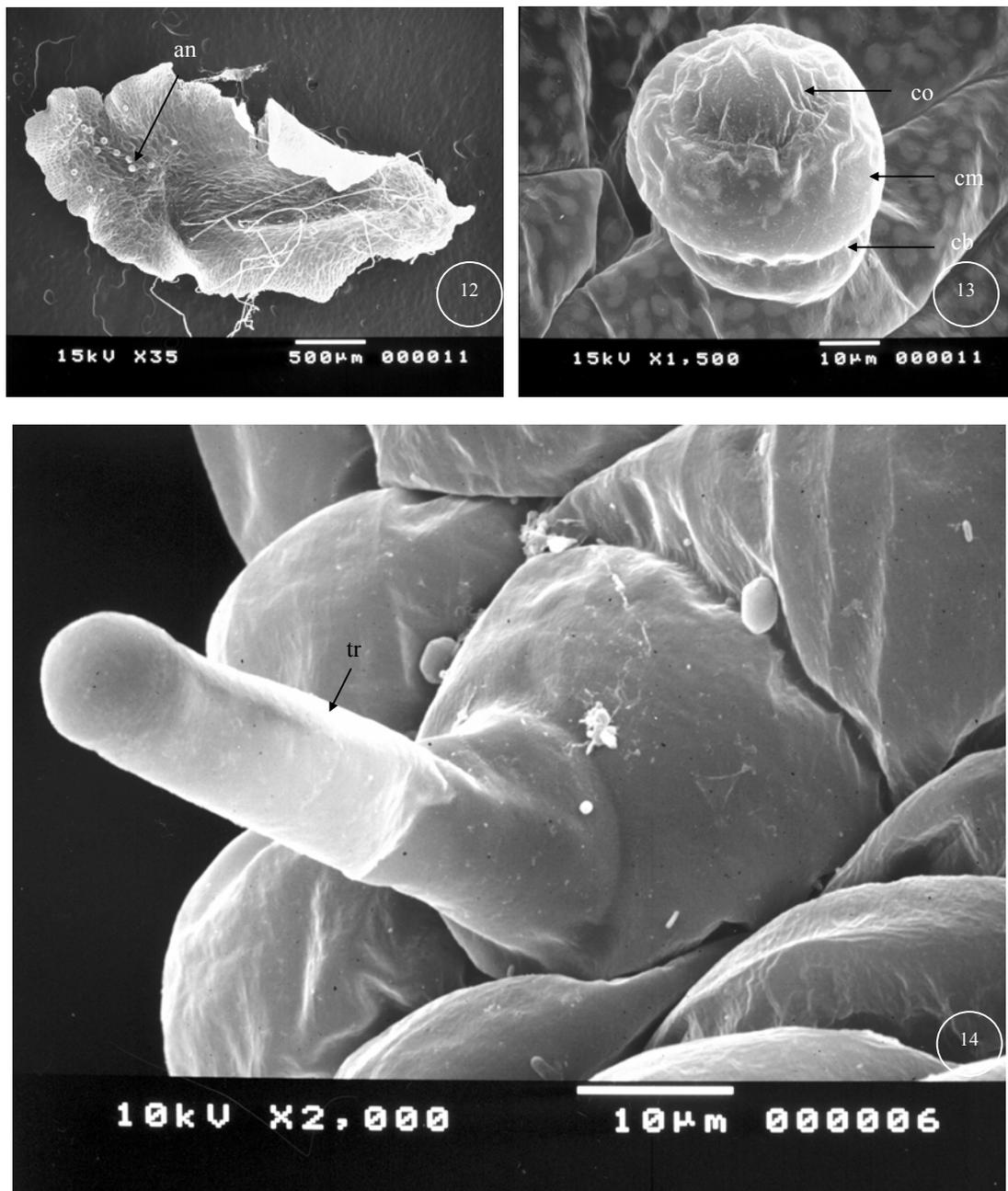
Los arquegonios se formaron sobre el cojinete, en la superficie ventral del gametófito (Fig. 8). Aparecen después de los anteridios (protándricos), presentan de 4-6 células del cuello y 4 células triangulares que forman la boca del cuello del arquegonio.

Esporófito

La hoja del esporófito es lobulada (Fig. 9), presenta nervadura dicotómica abierta, tricomas capitados marginales y superficiales similares a los del gametófito (Fig. 10) y estomas anomocíticos (Fig. 11).



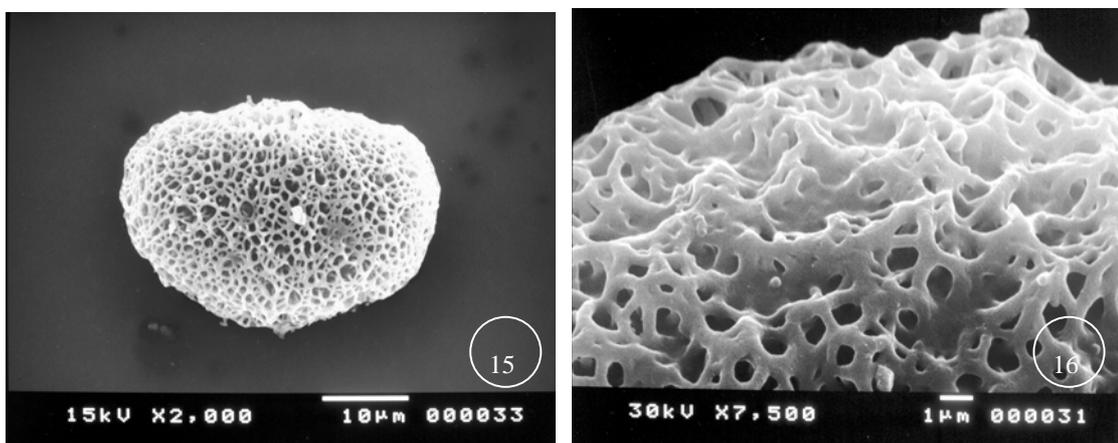
Figs. 3-11. Germinación y desarrollo protálico de *Macrothelypteris torresiana*. 3. Inicios de germinación (6 días). 4. Fase filamentososa, (7 días). 5-7. Fase bidimensional (15 días). 8. Gametófito femenino espatulado, con margen ondulado (80 días). 9-11. Esporófito (91) días. 9. Primeras hojas del esporófito. 10. Tricoma marginal unicelular. 11. Estoma anomocítico. ar= arquegonio, coc= célula oclusiva, es= estoma, o= ostiolo, p= perisporio, r= rizoide, tr= tricoma.



Figs. 12-14. *Macrothelypteris torresiana*. 12. Gametófito masculino. 13. Anteridio en vista lateral. 14. Tricoma bicelular. an= anteridio, cb= célula basal, cm= célula media, co= célula opercular, tr= tricoma.

Thelypteris concinna

Esporas monoletes, elipsoidales, fotoblásticas positivas. El tamaño promedio es de 42 x 28 μm ; son de color pardo oscuro; ornamentación reticulada difusa con pliegues irregulares que recorren la mayor parte de la superficie de la espora, el perisporio se encuentra completamente perforado, las perforaciones son de gran tamaño (Figs. 15 y 16).



Figs. 15-16. *Thelypteris concinna*. 15. Espora monolete. 16. Acercamiento del perisporio.

Germinación

La germinación de las esporas comenzó a partir de los 11 días después de haberlas sembrado. La célula rizoidal es corta, hialina y con cloroplastos, con una pared perpendicular al eje polar de la espora, posteriormente se alarga el rizoide y disminuye el número de cloroplastos contenidos en él. La célula protálica inicial emergió posteriormente a la célula rizoidal y presentó gran cantidad de cloroplastos y una gota de aceite (Fig. 17). Esta germinación corresponde al tipo *Vittaria* (Nayar & Kaur, 1971).

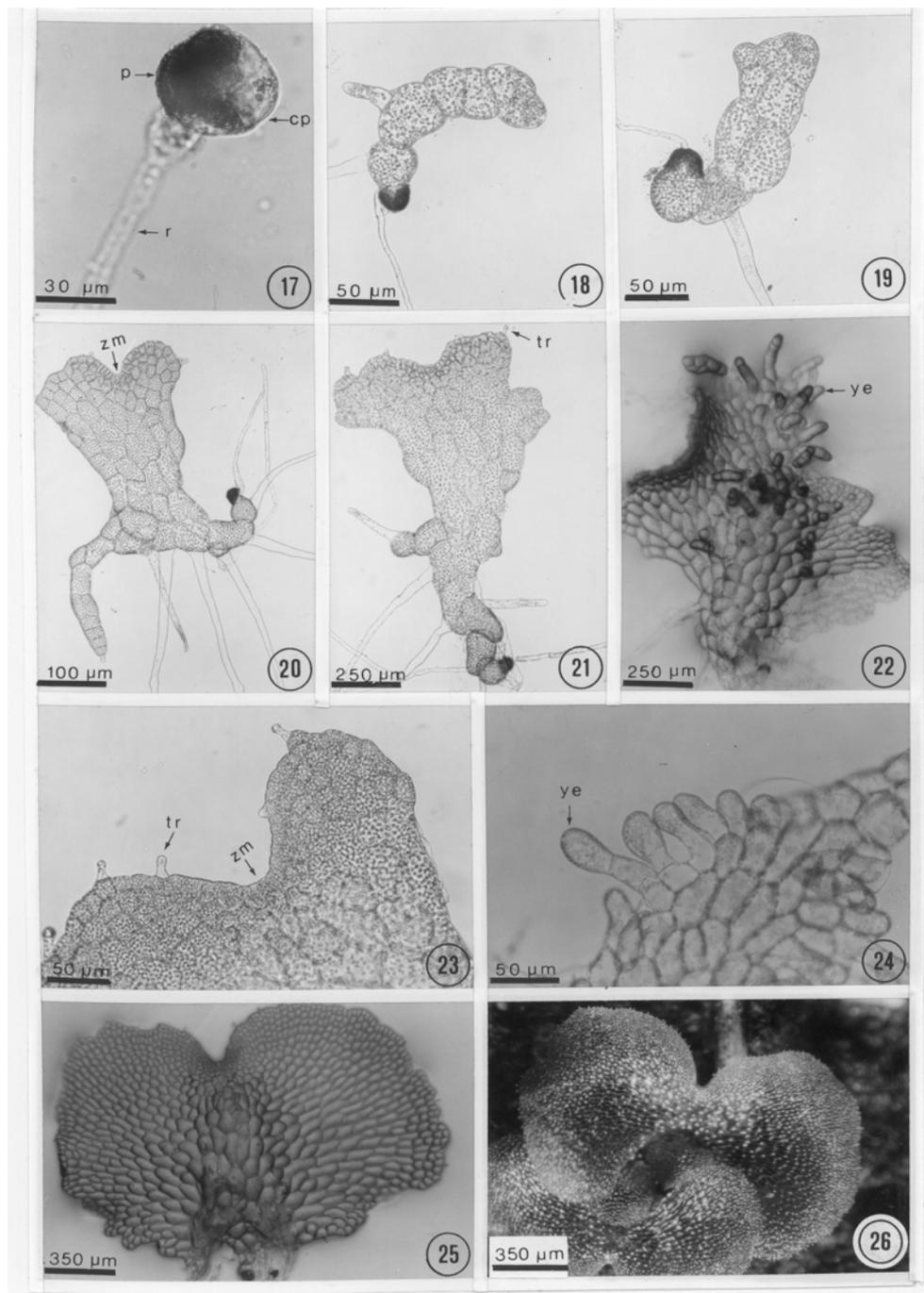
Fase filamentosa

Posteriormente la célula protálica inicial se divide transversalmente formando un filamento uniseriado, de 4-6 células con forma de barril y gran número de cloroplastos discoidales (Fig. 18), en esta fase no se observó la formación de tricomas.

Fase bidimensional

A partir de los 20 días de sembradas las esporas comenzó la formación de la lámina (fase bidimensional), la célula apical del filamento se divide oblicuamente, estas divisiones forman la lámina (Fig. 19). A partir de los 22 días, cuando la lámina presenta entre 16 y 20 células, se forma el primer tricoma en una de las células, la cual queda inactiva. Simultáneamente se diferencia una célula meristemática inicial obcónica que origina una lámina joven ligeramente asimétrica por un lapso de tiempo muy corto, posteriormente el gametófito desarrolla amplias alas y un meristemo pluricelular en posición apical (Figs. 20 y 21). Los rizoides en esta etapa son hialinos y más largos que la longitud del gametófito. El desarrollo observado corresponde al tipo *Aspidium* (Nayar & Kaur, 1969), el cual da origen a un gametófito espatulado a cordiforme.

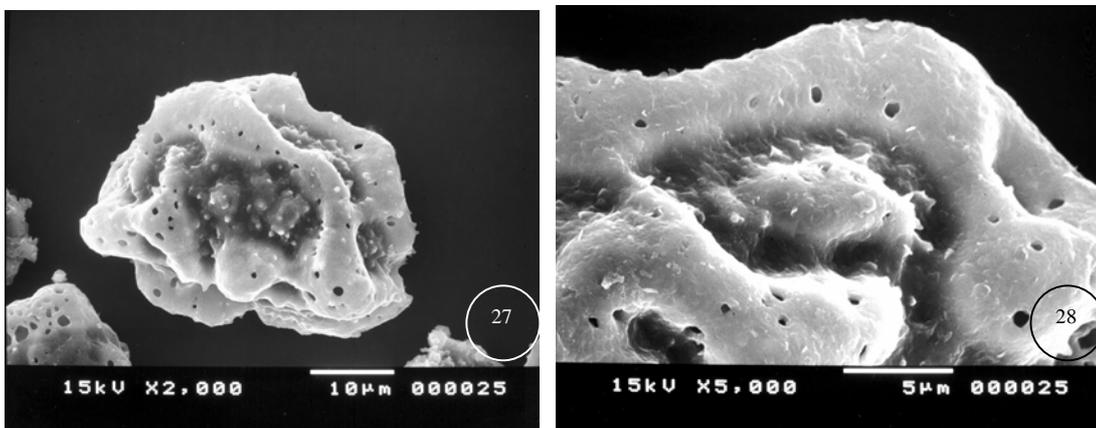
No se observó la formación de anteridios y arquegonios en esta especie, en cambio los gametófitos formaron un gran número de yemas en la superficie ventral, en la zona del cojinete y en ocasiones hacia el margen, para dar origen a nuevos gametófitos por propagación vegetativa (Figs. 22-24).



Figs. 17-26. Germinación y desarrollo protálico de *Thelypteris concinna*. 17. Inicios de germinación (9-13 días). 18. Fase filamentosa, (14 días). 19. Inicio de la fase bidimensional (18 días). 20-21. Gametófito espatulado (20 días). 22. Gametófito con yemas ventrales (74 días). 23. Tricomas marginales unicelulares (20 días). 24. Gametófito con yemas marginales (77 días). 25-26. Gametófitos cordiformes (47 días). cp= célula protálica, p= perisporio, r= rizoides, tr= tricoma, ye= yemas, zm= zona meristemática.

Thelypteris dentata

Las esporas son monoletes, elipsoidales y fotoblásticas positivas. El tamaño promedio es de 44 x 30 μm ; color pardo oscuro; el perisporio presenta ornamentación reticulada, con pliegues anchos y consistentes; Presenta pequeños cúmulos al centro de la red y pequeños poros dispersos en los pliegues (Figs. 27 y 28).



Figs. 27-28. *Thelypteris dentata*. 27. Espora monolete. 28. Acercamiento del perisporio.

Germinación

La germinación comenzó a partir de los 5 días de haber sembrado las esporas. La primera célula rizoidal es corta, hialina y con cloroplastos, con una pared perpendicular al eje polar de la spora; posteriormente se alarga el rizoide y disminuyen los cloroplastos. Poco después emerge la célula protálica inicial, la cual se caracteriza por presentar gran cantidad de cloroplastos y una gran gota de aceite (Figs. 29 y 30). Esta germinación corresponde al tipo *Vittaria*.

Fase filamentosa

La célula protálica inicial se dividió transversalmente formando un filamento uniseriado de 4-6 células con forma de barril y gran número de cloroplastos discoidales (Fig. 31). En esta fase no se observó la formación de tricomas.

Fase bidimensional

A partir de los 11 días comenzó la formación de la lámina, se inició antes de la formación de los tricomas marginales. La célula apical del filamento se divide oblicuamente, diferenciándose en una célula meristemática inicial obcónica en la parte distal del filamento, iniciando así la formación de la lámina (Figs. 32 y 33). Cuando la lámina presentó entre 16 y 20 células, se formó un tricoma en una de las células quedando ésta inactiva, simultáneamente se estableció una célula meristemática inicial obcónica que dio origen a una lámina joven ligeramente asimétrica por un lapso de tiempo muy corto, ya que en poco tiempo el gametófito desarrolló amplias alas y un meristemo apical (Fig. 34). La formación de los tricomas marginales se presentó en etapas tempranas de la fase bidimensional, a partir de los 22 días; los rizoides son hialinos y más largos que el gametófito. El desarrollo observado correspondió al tipo *Aspidium* (Nayar & Kaur, 1969).

Gametófito adulto

Los gametófitos adultos son cordiformes espatulados a reniformes, con el margen ondulado, alas simétricas y un meristemo apical. Los anteridios se formaron a partir de los 43 días, en la superficie ventral de los gametófitos espatulados, a lo largo del cojinete entre los rizoides, cercanos a la muesca (Fig. 38), en algunos casos se extienden hacia el margen. En los

protalos dioicos, los arquegonios se desarrollan en la superficie ventral de la región distal del gametófito, cercanos a la muesca. Tanto los gametófitos masculinos como los femeninos, presentan numerosos tricomas unicelulares glandulosos, marginales y superficiales (Figs. 39 y 40).

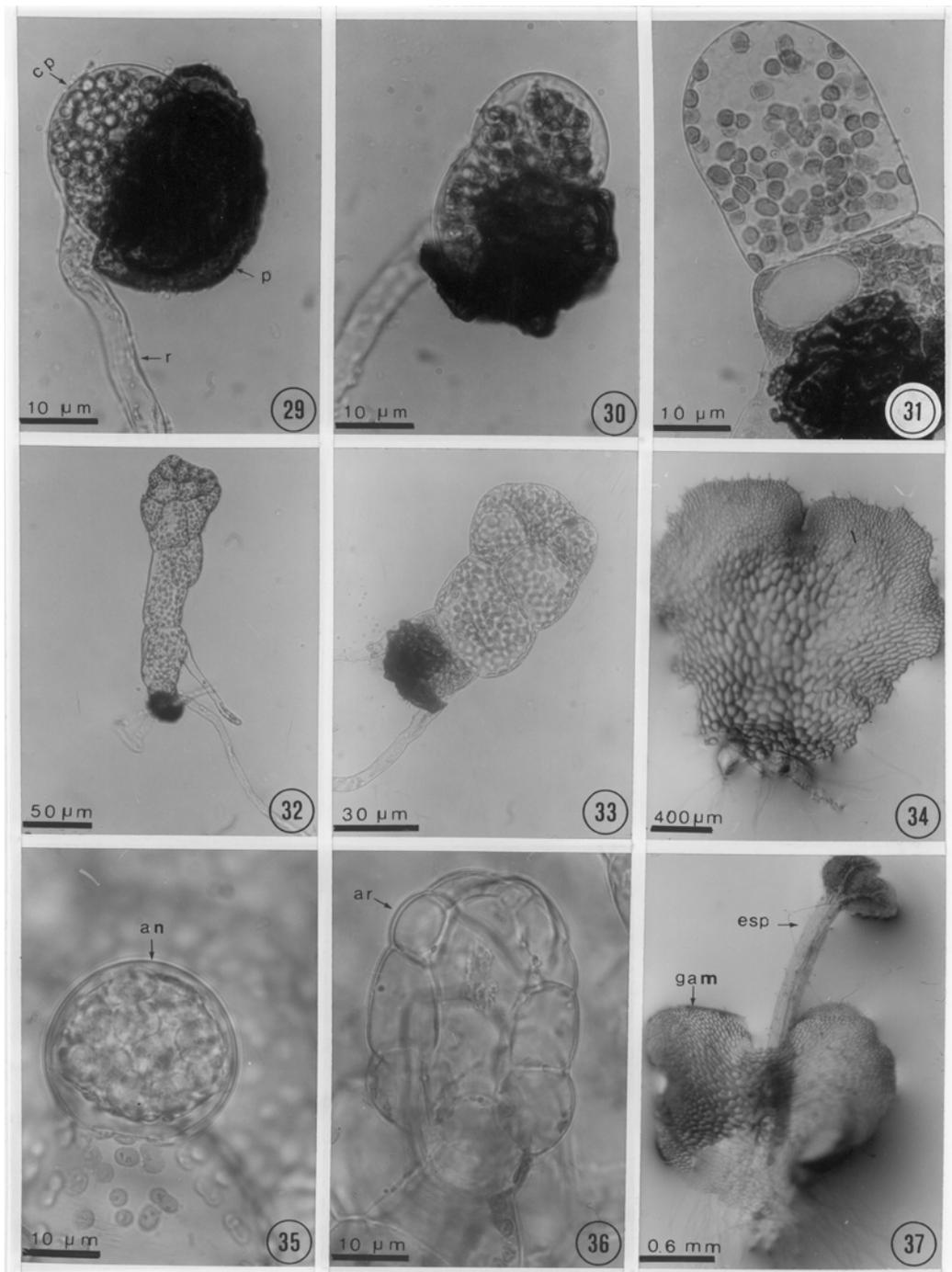
Gametangios

Los anteridios se desarrollan a partir de los 45 días. Están formados por 3 células, una basal, una media y una opercular (Fig. 41). La salida de los anterozoides se realiza por desgarramiento de la parte central del opérculo formando un poro apical (Fig. 42).

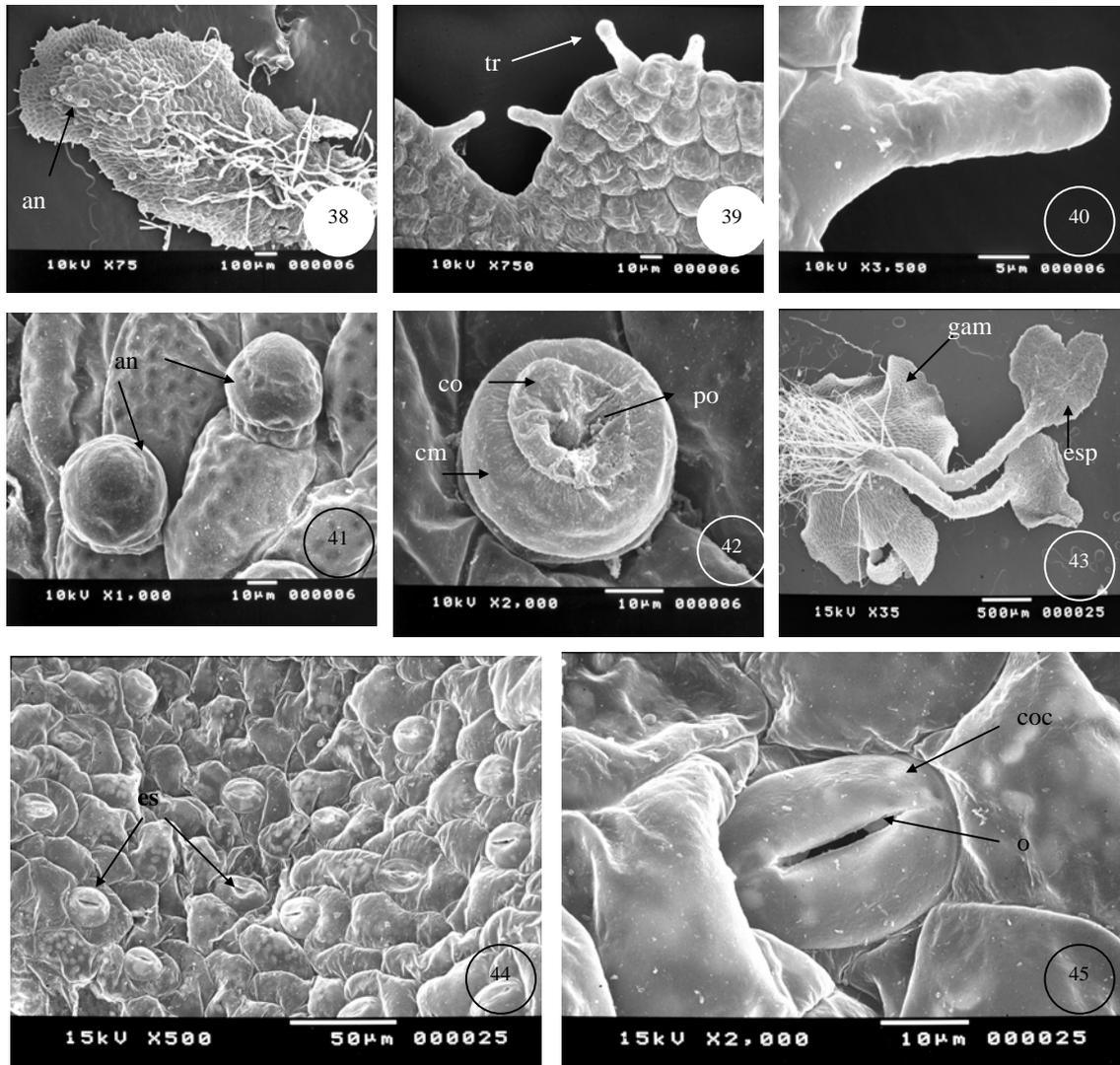
Los cuellos de los arquegonios se encuentran dirigidos hacia la región proximal del gametófito, constan de 6-8 células, la boca del cuello esta conformada por 4 células (Fig. 36).

Esporófito

El esporófito se formó a partir de los 96 días de sembradas las esporas (Figs. 37 y 43). La lámina y el pecíolo presentaron tricomas unicelulares capitados, muy semejantes a los observados en el gametófito, posteriormente se formaron tricomas aciculares característicos del esporófito adulto. Los tricomas glandulosos paulatinamente son sustituidos por los aciculares hasta que en la hoja madura únicamente se encuentran tricomas aciculares. La hoja inicialmente es lobulada y con nervadura dicotómica abierta, los estomas observados son del tipo anomocítico (Figs. 44 y 45).



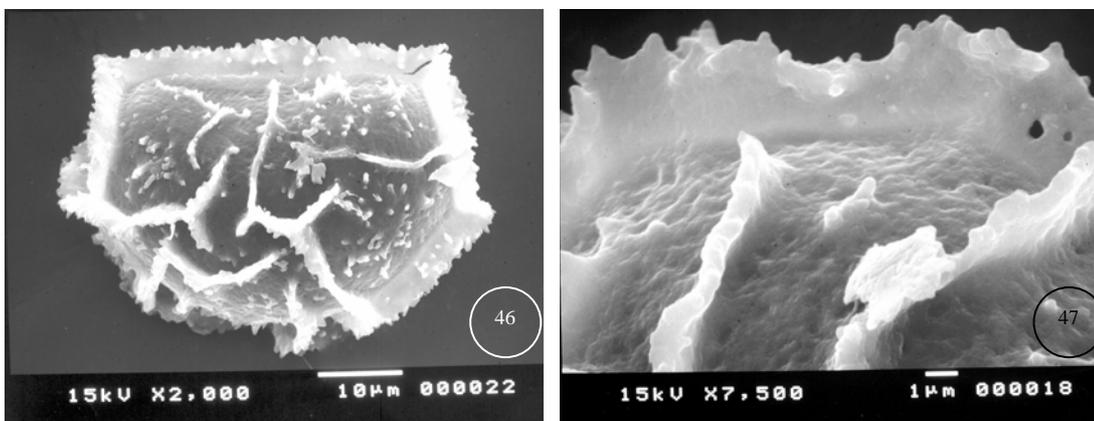
Figs. 29-37. Germinación y desarrollo protálico de *Thelypteris dentata*. 29-31. Inicios de germinación. 29. Célula rizoidal alargada y célula protálica (7 días). 30-31. Célula protálica dividiéndose por mitosis para formar el filamento. 32-33. Inicios de la fase bidimensional por mitosis sucesivas (14 días). 34. Gametófito joven (43 días). 35-36. Gametangios. 35. Anteridio (45 días). 36. Arquegonio (43 días). 37. Esporófito joven (97 días). an= anteridio, ar= arquegonio, cp= célula protálica, esp= esporófito, gam= gametófito, p= perisporio, r= rizoide.



Figs. 38-45. Gametófito adulto y esporófito de *Thelypteris dentata*. 38. Gametófito masculino espatulado con tricomas marginales (50 días). 39. Meristemo pluricelular en posición apical. 40. Tricoma unicelular marginal. 41. Anteridios sobre el cojinete. 42. Anteridio con opérculo rasgado formando un poro apical. 43. Gametófito y esporófito joven. 44. Distribución de los estomas en la superficie abaxial de la hoja. 45. Acercamiento del estoma anomocítico. an= anteridio, cm= célula media, co= célula opercular, coc= células oclusivas, es= estoma, esp= esporófito, gam=gametófito, o= ostiolo, po= poro.

Thelypteris hispidula

Las esporas son monoletes, elipsoidales y fotoblásticas positivas. Presentan un tamaño promedio de 50 X 31 μm ; color pardo claro a pardo oscuro; la ornamentación del perisporio es reticulada formada por pliegues regulares muy delgados a manera de alas amplias, con el borde de los pliegues verrucoso (Figs. 46 y 47).



Figs. 46-47. *Thelypteris hispidula*. 46. Espora monolete. 47. Acercamiento del perisporio.

Germinación

La aparición de la primera célula rizoidal, establece el inicio de la germinación, esto ocurrió entre los 5 y los 7 días después de haber sembrado las esporas. La célula rizoidal se origina de la primera división celular perpendicular al eje polar de la espora, ésta presenta cloroplastos y posteriormente se alarga para constituir el rizoide (Fig. 48). La célula protálica inicial se presenta en el mismo plano que la rizoidal pero en sentido opuesto, esta germinación corresponde al tipo *Vittaria*. La célula protálica presenta numerosos cloroplastos y una gran gota de aceite (amarilla).

Fase filamentosa

El filamento es uniseriado y consta de 4-6 células protálicas, en forma de barril y numerosos cloroplastos discoidales. Los rizoides se encuentran opuestos al filamento, estos son hialinos, con cloroplastos y son más largos que el filamento. En esta fase se diferencia una célula meristemática obcónica inicial, en la región distal del filamento, la cual por múltiples divisiones forma un gametófito laminar espatulado (Figs. 49-51).

Fase bidimensional

La fase laminar inició entre los 7-11 días, a partir de la célula apical y células intercalares del filamento. Se puede apreciar en etapas tempranas de la formación de la lámina el establecimiento de una célula meristemática obcónica inicial, que posteriormente se establece como un meristemo pluricelular apical (Figs. 52 y 53). A partir de los 12-14 días, se comienzan a formar tricomas unicelulares, capitados y marginales, en los gametófitos de entre 14-18 células. Este patrón de desarrollo corresponde al tipo *Aspidium* (Nayar & Kaur, 1969). Los tricomas superficiales aparecen a partir de los 21 días. El protalo en esta etapa presenta alas ligeramente asimétricas, muesca poco profunda, y células con un gran número de cloroplastos discoidales (Figs. 54-56).

Los gametófitos jóvenes son en general espatulados, con rizoides hialinos muy largos, con cloroplastos. Se presentan escasos tricomas unicelulares, capitados y marginales; alas ligeramente asimétricas; muesca poco profunda en donde se localiza el meristemo apical; el tejido del gametófito contiene abundantes cloroplastos discoidales. A partir de los 21 días se

comienzan a formar tricomas superficiales en menor número que los marginales. Los rizoides en esta etapa son numerosos, largos y sin cloroplastos.

Gametófito adulto

Los gametófitos adultos observados son espatulados a cordiformes, con el margen ondulado, las alas simétricas y un meristemo apical en la zona de la muesca, la cual es poco profunda. Presentan numerosos tricomas glandulosos marginales y escasos tricomas superficiales. Los rizoides son numerosos, hialinos y muy largos. Son protogíneos, y en su mayoría dioicos, y en menor proporción se observaron también gametófitos monoicos. Los gametófitos anteridiados tienen el margen muy ondulado y alas angostas (Fig. 57), mientras que en los arquegoniados se observaron alas amplias.

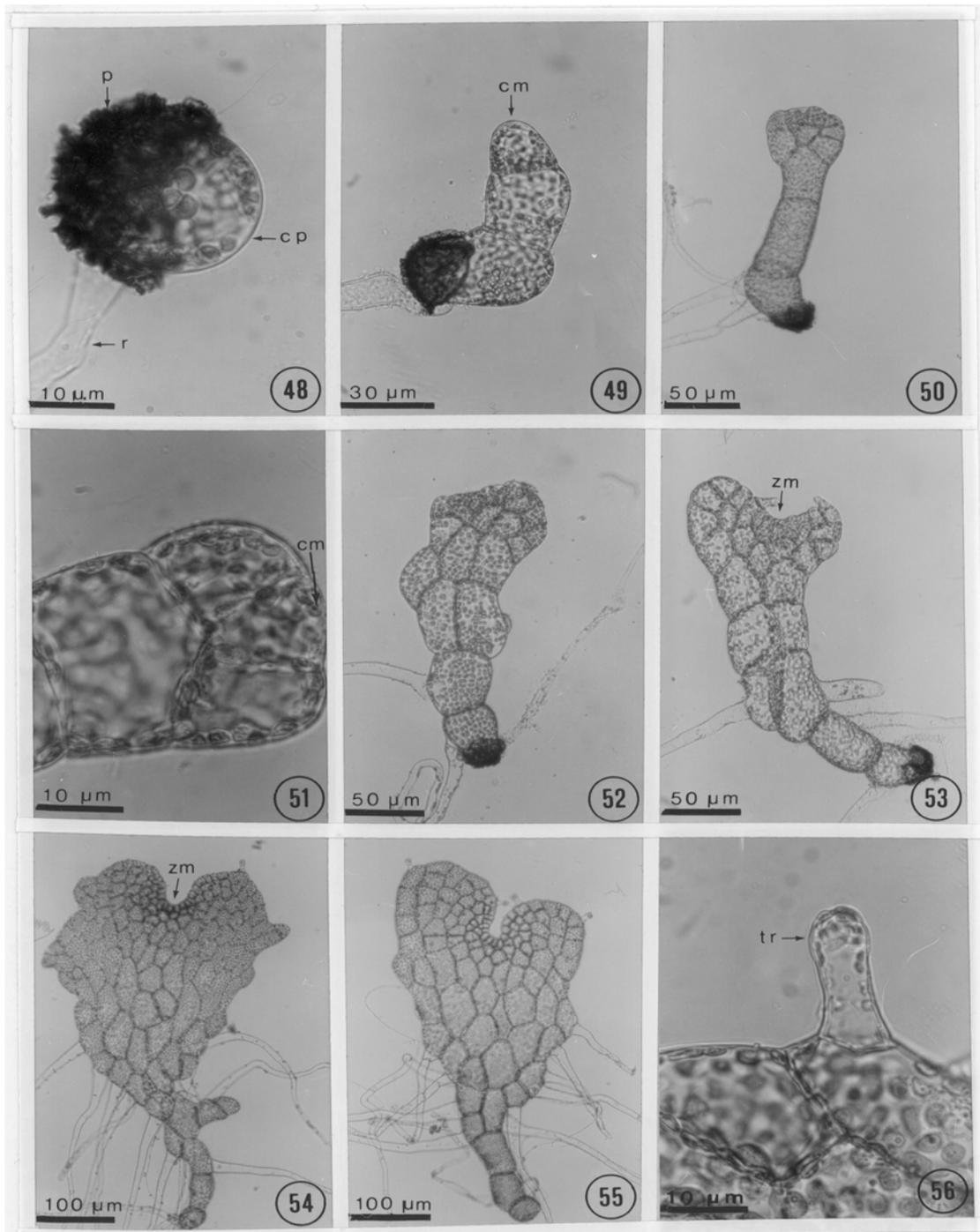
Gametangios

Los anteridios comenzaron a formarse a partir de los 40 días, en la superficie ventral, sobre el cojinete. En algunos gametófitos también se presentaron en la superficie dorsal. Los anteridios están conformados por tres células una basal, una media y la opercular (Fig. 60). La dispersión de los anterozoides se realiza principalmente por desgarramiento del opérculo para formar un poro apical (Fig. 61).

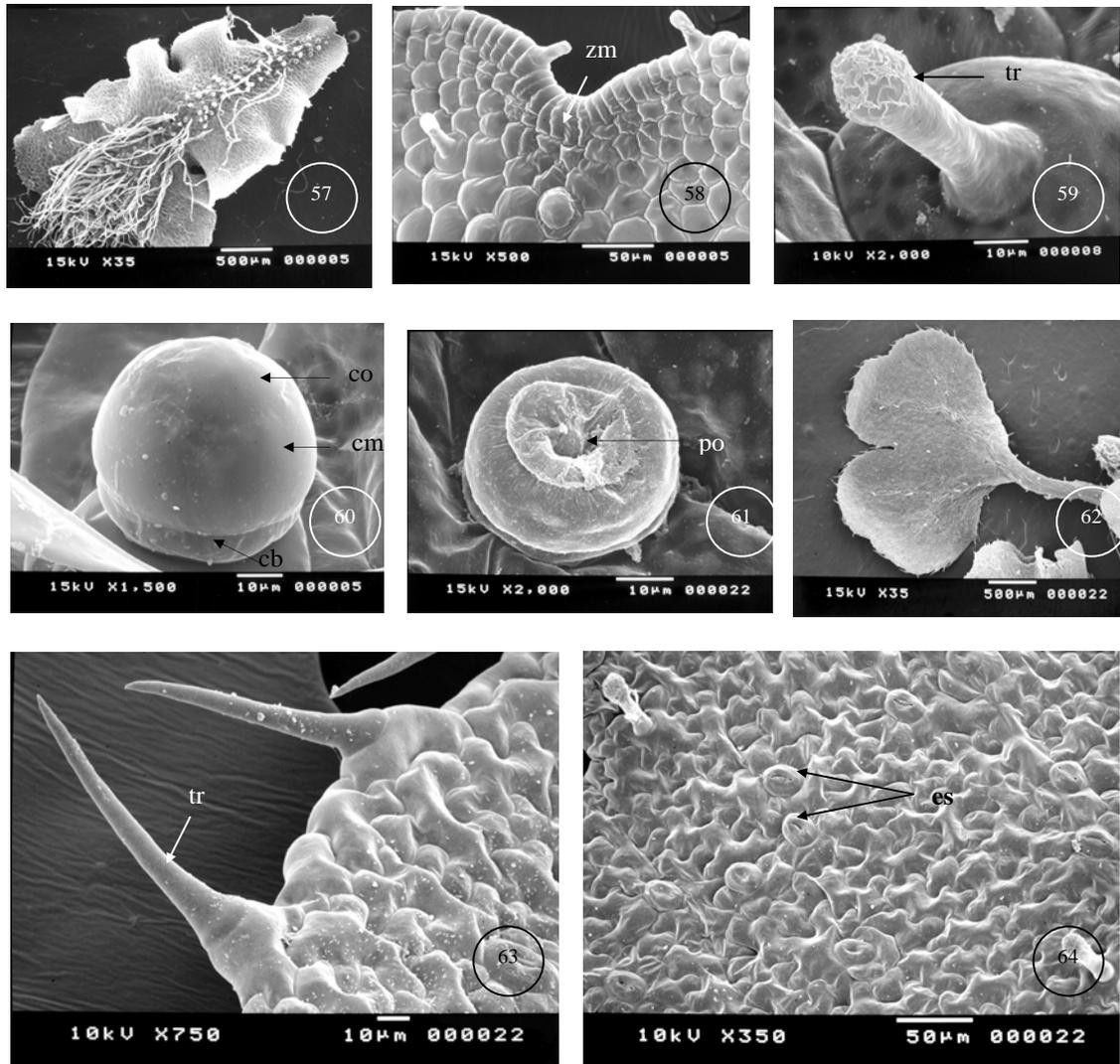
Los arquegonios se formaron en la superficie ventral, muy cercanos a la muesca, poco antes que los anteridios (protogíneos), tienen de 6-8 células del cuello, 4 células en la boca del arquegonio. En el gametófito los cuellos se encuentran dirigidos hacia la región proximal del gametófito.

Esporófito

La primera hoja del esporófito se formó a partir de los 70 días después de haber sembrado las esporas. La lámina al inicio es bilobada con nervadura dicotómica abierta (Fig. 62), con tricomas marginales capitados muy similares a los del gametófito y posteriormente se forman tricomas aciculares (Fig. 63) característicos del esporófito adulto, presenta estomas anomocíticos (Fig. 64). El pecíolo también presenta tricomas unicelulares, capitados y después aciculares.



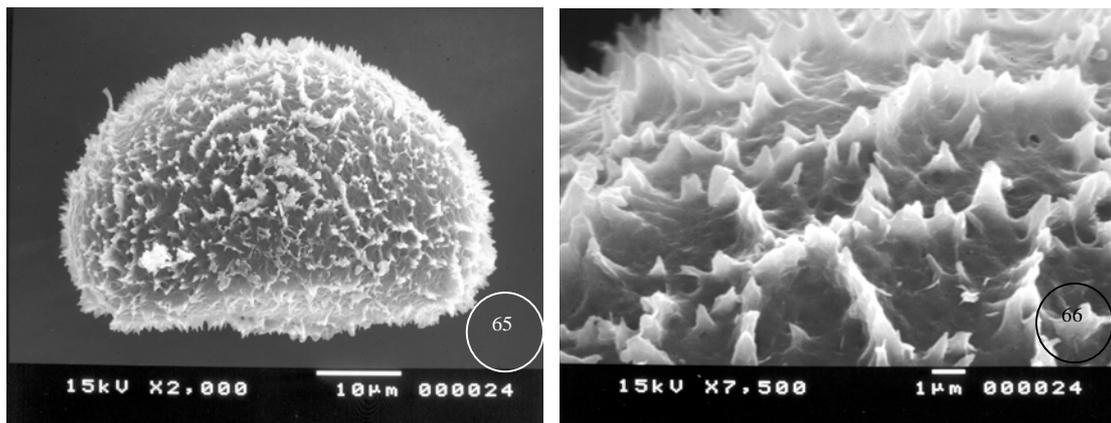
Figs. 48-56. Germinación y desarrollo protálico de *Thelypteris hispidula*. 48-49. Inicios de germinación. 48. Primera célula protálica y célula rizoidal. 49. Filamento corto. 50-52. Fase bidimensional. 50. Inicios de la fase laminar. 51. Célula obcónica apical. 52. Fase bidimensional. 53. Primeros tricomas. 54-55. Gametófito joven con tricomas marginales. 56. Tricoma unicelular con cloroplastos. cm= célula meristemática, cp= célula protálica, p= perisporio, r= rizoide, tr= tricoma, zm= zona meristemática.



Figs. 57-64. Gametófito adulto, gametangios y esporófito de *Thelypteris hispidula*. 57. Gametófito masculino espatulado con el margen ondulado (45 días). 58. Meristemo apical. 59. Tricoma superficial glanduloso. 60. Anteridio en vista lateral. 61. Anteridio mostrando el poro apical por rasgamiento del opérculo. 62-64. Esporófito. 62. Primera hoja del esporófito (110 días). 63. Tricomas aciculares. 64. Distribución de los estomas anomocíticos en la hoja. cb= célula basal, cm= célula media, co= célula opercular, es= estoma, po= poro, tr= tricoma, zm= zona meristemática.

Thelypteris interrupta

Las esporas son monoletes, elipsoidales y fotoblásticas positivas; tamaño promedio de 55 X 35 μm ; color pardo claro (amarillentas); El perisporio es reticular equinado, formado por pequeños pilares semejando espigas (Figs. 65-66).



Figs. 65-66. Esporas de *Thelypteris interrupta*. 65. Espora monolete. 66. Acercamiento del perisporio.

Germinación

La germinación comenzó a los 7 días de haber sembrado las esporas. La primera división celular origina la primera célula rizoidal en posición perpendicular al eje polar de la espora, ésta se alarga posteriormente para constituir el rizoide, el cual presenta cloroplastos. La segunda división origina la célula protálica, que contiene numerosos cloroplastos y 1-2 grandes gotas de aceite. Tanto el rizoide como la primera célula protálica se encuentran en el mismo plano, pero orientados en sentido opuesto. Este patrón de germinación corresponde al tipo *Vittaria* (Nayar & Kaur, 1971).

Fase filamentosa

A partir de divisiones paralelas de la célula protálica, se forma un filamento uniseriado de 4-6 células, las cuales presentan forma de barril y numerosos cloroplastos discoidales. Los rizoides son más largos que el filamento y se aprecia una disminución en el número de cloroplastos.

Fase bidimensional

A partir de los 11 días después de la siembra, dio inicio la fase laminar del desarrollo gametofítico. La formación de la lámina inicia a partir de la división longitudinal de las células intercalares del filamento, o por una división oblicua de la célula terminal diferenciándose una célula meristemática inicial obcónica en la parte proximal del filamento. Este desarrollo corresponde al tipo *Aspidium* (Nayar & Kaur, 1969). Los gametófitos laminares se observan a partir de los 18 días (18-25 células), son espatulados, con una muesca poco profunda, con meristemo apical y ligeramente asimétricos. A partir de los 13 días se comienza a formar el primer tricoma, siempre en posición apical; en esta fase se aprecian de 3-4 rizoides hialinos muy largos. A los 21 días se presentan tricomas marginales escasos (2), éstos son unicelulares, capitados y con cloroplastos. La asimetría de los gametófitos es apreciable sólo por un lapso de tiempo muy corto, ya que a los 38 días los gametófitos son simétricos, en esta fase la muesca es más o menos profunda, se presentan numerosos tricomas marginales y se comienzan a formar tricomas superficiales; los rizoides son numerosos, hialinos, largos y sin cloroplastos.

Gametófito adulto

Los gametófitos adultos son protogíneos y dioicos, los femeninos son cordiformes espatulados a reniformes, con el margen ondulado; la muesca es profunda en los gametófitos cordiformes con alas amplias. Los gametófitos masculinos son espatulados con alas angostas y con una muesca poco profunda; el meristemo es apical en ambos (Fig. 67). En esta fase todos los gametófitos son simétricos. Presentan numerosos tricomas marginales y escasos tricomas superficiales, glandulosos. Los rizoides se desarrollan en la superficie ventral, en la parte media basal del cojinete, son numerosos, hialinos y muy largos. En esta fase aún se conserva la cubierta de la espora.

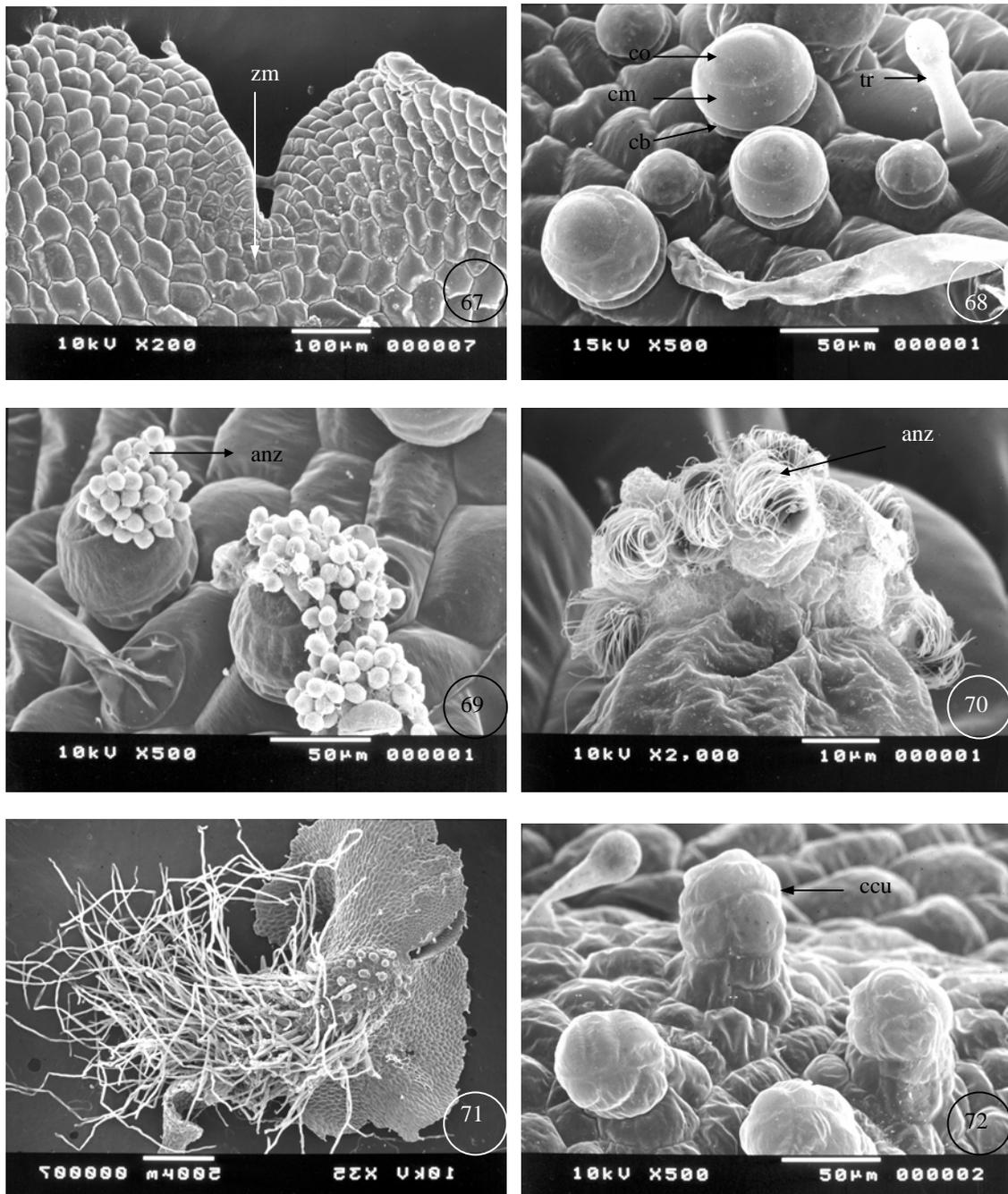
Gametangios

Los anteridios se forman a partir de los 60 días después de la formación de los arquegonios. Se encuentran en la superficie ventral, en la zona del cojinete, muy cercanos a la muesca, sin embargo en algunos casos se presentan a lo largo del cojinete. Están formados por tres células una basal, una media y la opercular (Fig. 68). La dispersión de los anterozoides se realiza comúnmente por la apertura parcial del opérculo (Fig. 68) y con menor frecuencia por desgarramiento del opérculo formando un poro apical (Fig. 69). Los anterozoides multiflagelados se dispersan formando una masa compacta que sale paulatinamente conforme abre la célula opercular o por el poro apical (Figs. 69 y 70).

Por otro lado, los arquegonios se forman a partir de los 50 días, se desarrollan en la superficie ventral, en la parte distal del gametófito sobre el cojinete, muy cercanos a la muesca (Fig. 71). Los cuellos de los arquegonios presentan de 6-8 células y en la boca 4 (Fig. 72), éstos se encuentran dirigidos hacia la parte proximal del gametófito.

Esporófito

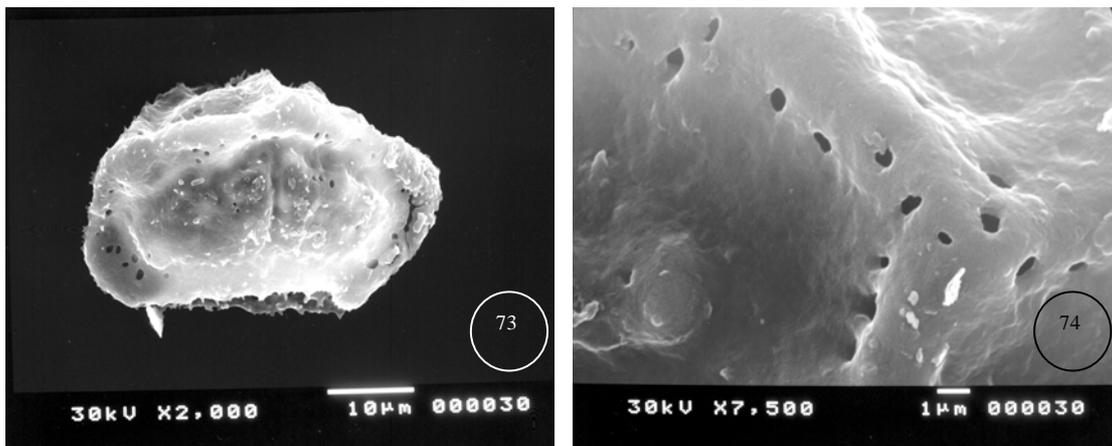
El esporófito se desarrolla a partir de los 76 días después de haberse sembrado las esporas. Las hojas son lobadas, con nervadura dicotómica abierta y estomas anomocíticos. La lámina y el pecíolo, presentan tricomas unicelulares capitados, muy semejantes a los observados en el gametofito, además de tricomas unicelulares aciculares característicos del esporófito adulto.



Figs. 67-72. Gametófito adulto y gametangios de *Thelypteris interrupta*. 67. Meristemo apical. 68. Anteridios y tricoma superficial. 69. Anteridio con apertura parcial del opérculo, se observa la salida de los anterozoides. 70. Acercamiento de los anterozoides multiflagelados. 71. Gametófito femenino con amplias alas. 72. Arquegonios en vista lateral. anz= anterozoides, cb= célula basal, ccu= células del cuello, cm= célula media, co= célula opercular, tr= tricoma, zm= zona meristemática.

Thelypteris kunthii

Las esporas son monoletes, elipsoidales y fotoblásticas positivas; el tamaño promedio es de 50 X 34 μm ; color pardo oscuro; la ornamentación del perisporio es reticulada, con anchos pliegues regulares y consistentes, los cuales presentan pequeños poros aislados (Figs. 73-74).



Figs. 73-74. *Thelypteris kunthii*. 73. Espora monolete. 74. Acercamiento del perisporio

Germinación

La germinación comienza a partir de los 10 días de haber sido sembradas las esporas. Este patrón de germinación corresponde al tipo *Vittaria* (Nayar & Kaur, 1971), en el cual se forma la célula rizoidal con cloroplastos, a partir de la primera división perpendicular al eje polar de la espora y una segunda división celular que da origen a la primera célula protálica, la cual presenta numerosos cloroplastos y una gota de aceite (amarilla).

Fase filamentosa

Los filamentos uniseriados constan de 4-6 células protálicas, con forma de barril y numerosos cloroplastos discoidales (Figs. 75 y 76). Los rizoides son hialinos con escasos cloroplastos y son más largos que el filamento.

Fase bidimensional

La formación de la lámina inicia a partir de los 12 días de sembradas las esporas. El desarrollo protálico observado es el tipo *Aspidium* (Nayar & Kaur, 1969) y consiste en la formación de la lámina por divisiones de las células intercalares. El gametófito es espatulado y presenta alas ligeramente asimétricas (17-22 células) en esta etapa. El primer tricoma se forma en una de las células apicales en etapas tempranas de la fase bidimensional (Fig. 77). La formación de una célula meristemática obcónica inicial, se produce antes de la formación del tricoma. Los gametófitos jóvenes son láminas espatuladas de 17 a 22 células, con una muesca poco profunda y alas ligeramente asimétricas. Presentan tricomas unicelulares capitados marginales (Figs. 80 y 85); los rizoides son hialinos sin cloroplastos y más largos que el gametófito.

Gametófito adulto

Los gametófitos adultos son protogíneos, dioicos y monoicos. Cordiforme- espatulados con el margen ondulado; los gametófitos masculinos son espatulados, con alas angostas (Figs. 78 y 84) y los femeninos son cordiformes, con alas amplias; la muesca no es muy profunda y en ambos casos son simétricos. Presentan numerosos tricomas glandulosos marginales (24) y

superficiales en número menor. Los rizoides son hialinos y largos. Los gametófitos viejos (108 días) comienzan a formar láminas nuevas a partir del meristemo apical.

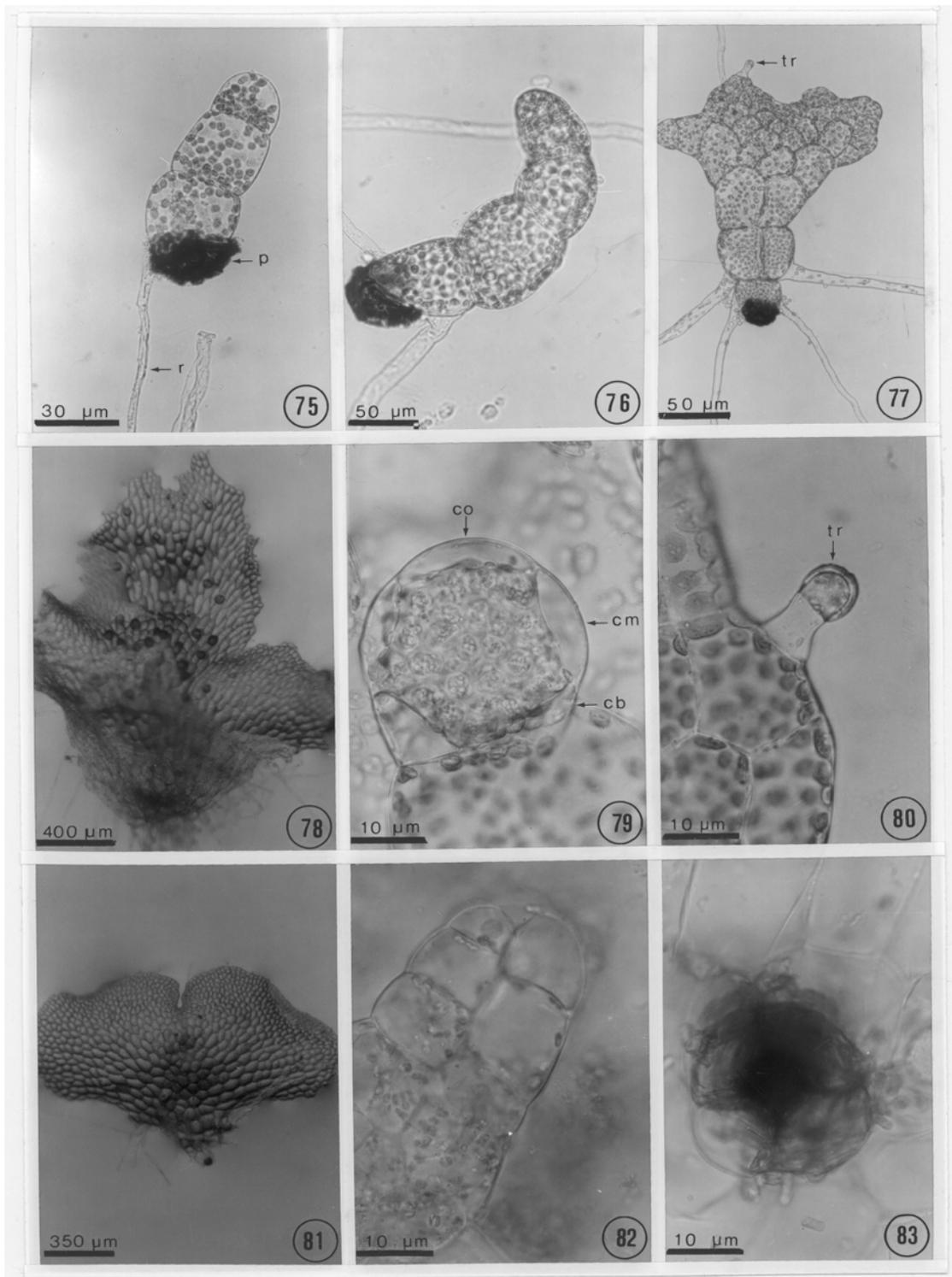
Gametangios

En los gametófitos monoicos los anteridios, comenzaron a formarse a partir de los 29 días de sembradas las esporas. Se desarrollan en la superficie ventral, sobre el cojinete. Están conformados por una célula basal, una célula media y la célula opercular (Figs. 79 y 86). La dispersión de los anterozoides se realiza por desprendimiento del opérculo (Figs. 86 y 87) y en algunos por un poro apical formado en el opérculo.

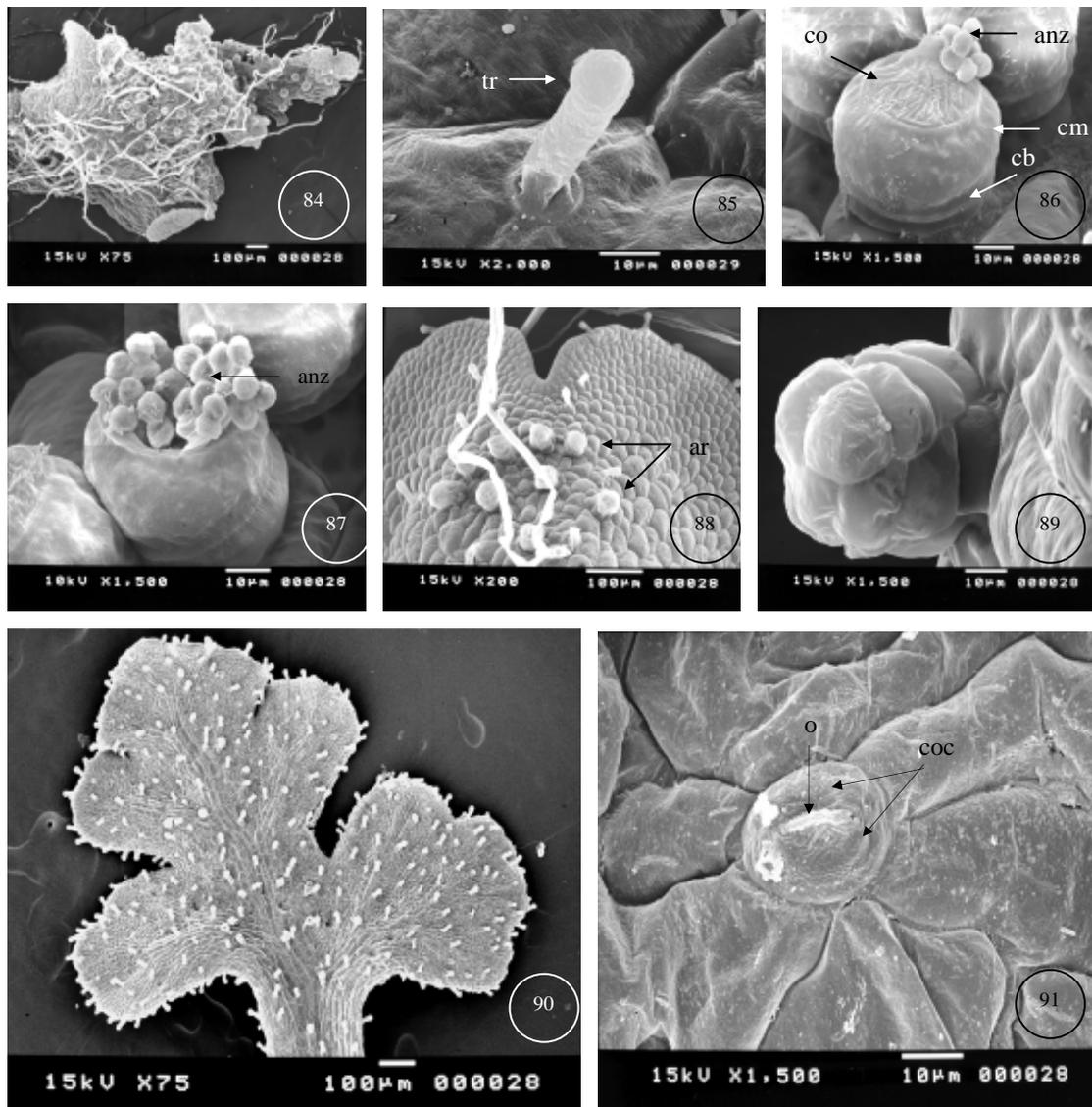
Los arquegonios se desarrollan a los 25 días de haber sido sembradas las esporas, en la superficie ventral, muy cercanos a la muesca. La mayoría de los gametófitos maduros forman únicamente arquegonios originando protalos dioicos. Sin embargo, en algunos gametófitos se desarrollan posteriormente anteridios. Los cuellos constan de 4-6 células (Figs. 82 y 89) y 4 células constituyen la boca del cuello (Fig. 83). Los cuellos se encuentran dirigidos hacia la parte proximal del gametófito.

Esporófito

El esporófito se forma a partir de los 108 días. La hoja es lobulada, con nervadura dicotómica abierta (Fig. 90). Los tricomas son capitados similares a los del gametófito y aciculares, se encuentran en el margen y en la superficie de la lámina y el pecíolo los estomas son anomocíticos (Fig. 91).



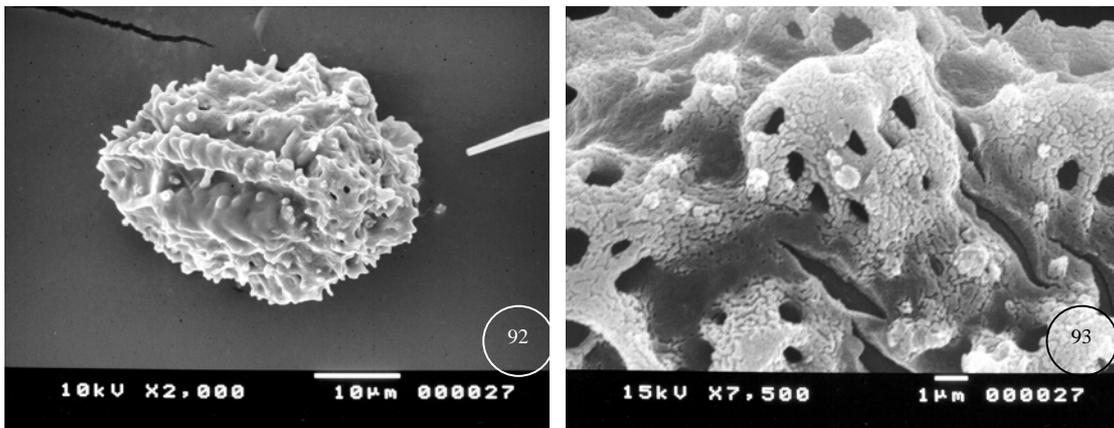
Figs. 75-83. Germinación y desarrollo protálico de *Thelypteris kunthii*. 75. Inicios de germinación (10 días). 76. Filamento de tres células (13 días). 77. Fase bidimensional e inicios de la formación de tricomas marginales unicelulares. 78. Gametófito masculino (30 días). 79. Anteridio (30 días). 80. Tricoma glanduloso marginal. 81. Gametófito femenino (44 días). 82. Arquegonios (44 días). 83. Boca del arquegonio con cuatro células. cb= célula basal, cm= célula media, co= célula opercular, r= rizoides, tr= tricoma.



Figs. 84-91. Gametófito, gametangios y esporófito de *Thelypteris kunthii*. 84. Gametófito masculino espatulado con el margen ondulado. 85. Tricoma superficial glanduloso. 86. Anteridio con desprendimiento parcial del opérculo. 87. Anteridio con desprendimiento total del opérculo. 88. Gametófito femenino con amplias alas. 89. Cuello del arquegonio en vista lateral. 90. Primera hoja del esporófito. 91. Estoma anomocítico en la lámina. anz= anterozoides, ar= arquegonios, cb= célula basal, cm= célula media, co= célula opercular, coc= células oclusivas, o= ostiolo, tr= tricoma.

Thelypteris ovata* var. *lindheimeri

Esporas monoletes, elipsoidales y fotoblásticas positivas; el tamaño promedio es de 47 X 32 μm ; de color pardo oscuro; la ornamentación del perisporio es reticulada, con pliegues irregulares no consistentes, con perforaciones de diámetro amplio (Figs. 92-93).



Figs. 92-93. *Thelypteris ovata* var. *lindheimeri*. 92. Espora monolete. 93. Acercamiento del perisporio.

Germinación

La germinación comienza a partir de los 5 días después de sembradas las esporas y corresponde al tipo *Vittaria* (Nayar & Kaur, 1971), que consiste en la formación de la célula rizoidal con cloroplastos, como resultado de la primera división, que es perpendicular al eje polar de la espora. La segunda división da origen a la primera célula protálica, la cual se desarrolla en sentido opuesto al rizoide y presenta gran número de cloroplastos y 1 a 2 gotas de aceite de gran tamaño.

Fase filamentosa

A partir de divisiones transversales consecutivas de la célula protálica (Fig. 94), se forma un filamento uniseriado de 4-6 células con forma de barril y con numerosos cloroplastos discoidales. En esta etapa se presentan de 2 a 3 rizoides con pocos cloroplastos, más largos que el filamento germinal.

Fase bidimensional

La formación de la lámina comienza a los 13 días de sembradas las esporas, el desarrollo protálico observado corresponde al tipo *Aspidium* (Nayar & Kaur, 1969), en el cual, las células intercalares (penúltima o antepenúltima) se dividen longitudinalmente para dar inicio al crecimiento en anchura, del gametófito. Se observó el establecimiento temprano de una célula meristemática inicial obcónica en la parte apical. Los gametófitos bidimensionales, a los 17 días, se caracterizan por ser laminares y espatulados, con gran número de cloroplastos discoidales; las alas en esta etapa son ligeramente asimétricas; con una muesca poco profunda y un meristemo apical (Figs. 95 y 96). Los tricomas marginales se comienzan a formar en esta etapa. A los 30 días las alas son casi simétricas; presentan tricomas marginales y algunos superficiales (1-4) en la zona del cojinete.

Gametófito adulto

Los gametófitos adultos son cordiforme-espatulados, con el margen ondulado. En esta etapa son simétricos, la mayoría de los gametófitos presentan amplias alas. En todos ellos el meristemo es apical, en la zona de la muesca. Presenta numerosos tricomas glandulosos marginales y algunos superficiales; los rizoides se encuentran en la superficie ventral, son

hialinos y muy largos. Los gametófitos son dioicos. Se observó un mayor número de gametófitos masculinos (Fig. 100) que femeninos (Fig. 105). Los gametófitos viejos (108 días) comienzan a formar láminas nuevas a partir del meristemo apical.

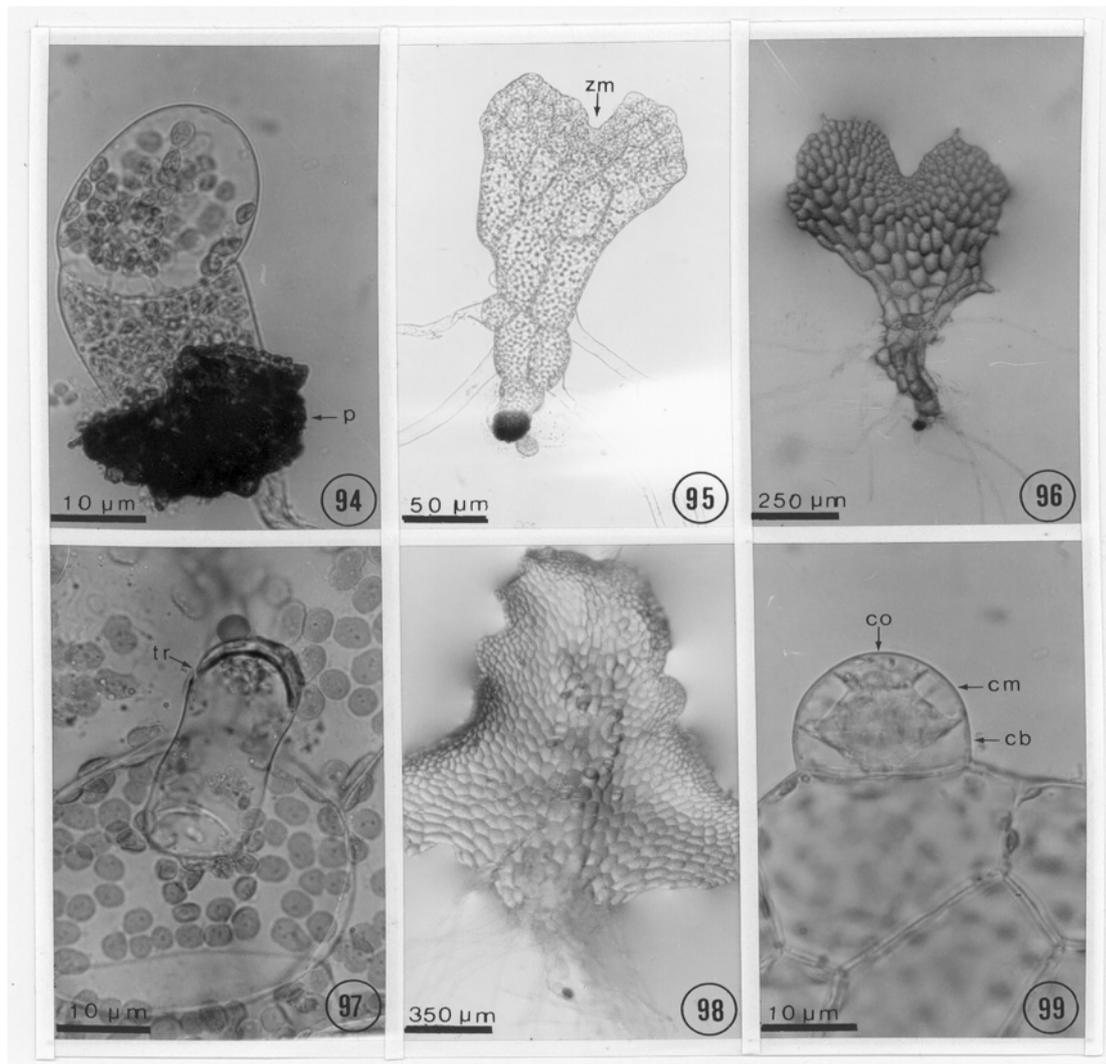
Gametangios

Los anteridios se forman entre los 30-50 días, en la superficie ventral de los talos, en el cojinete (Figs. 100 y 102), o se extienden hacia las alas e inclusive pueden llegar al margen en los gametófitos anteridiados. En algunos casos, los anteridios también se encuentran en la superficie dorsal. Están formados por tres células, la célula basal que es grande y cilíndrica, una media y la opercular (Figs. 99, 103 y 104). La dispersión de los anterozoides es por desprendimiento parcial del opérculo (Fig. 104).

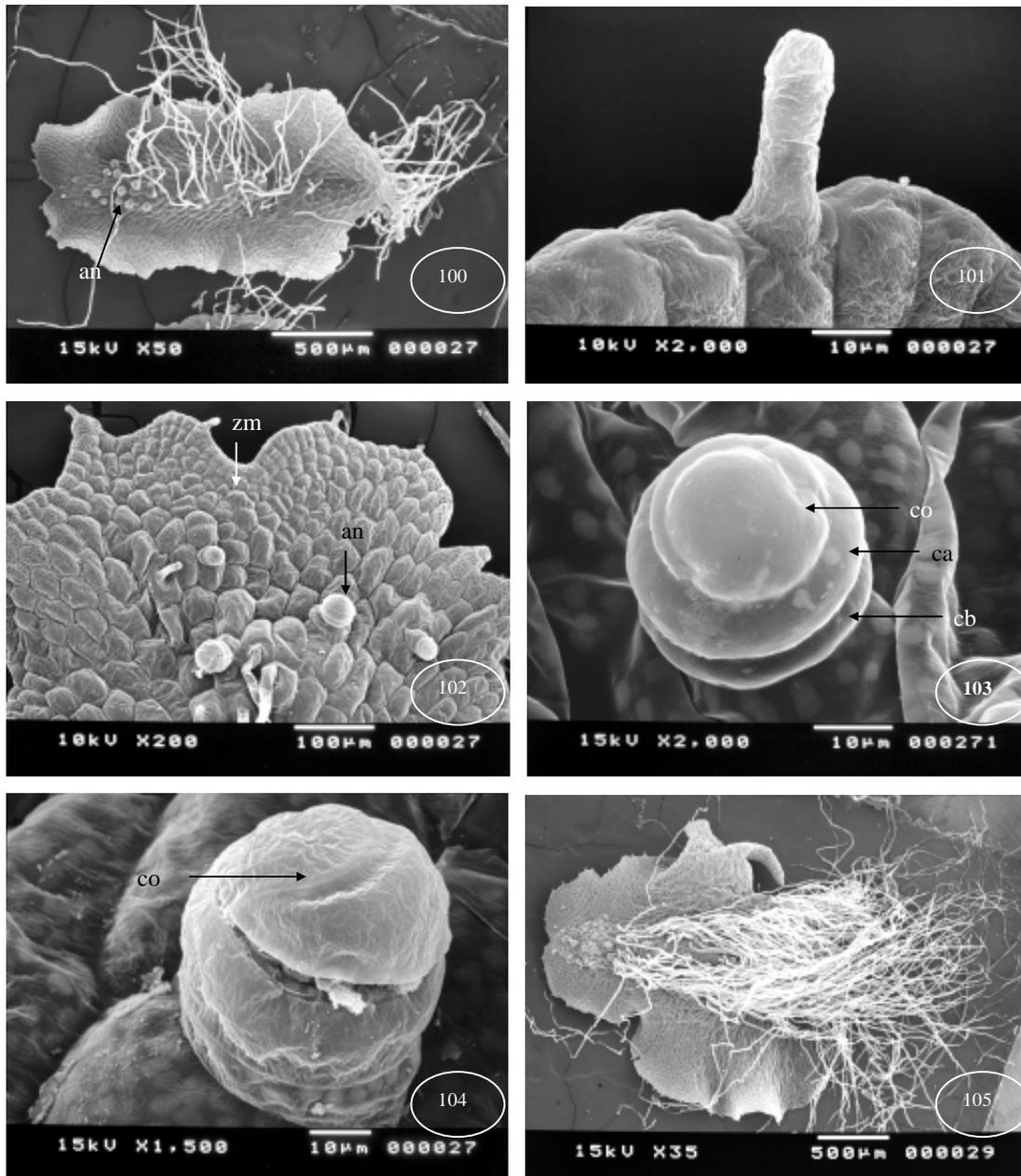
Los arquegonios se forman después que los anteridios (protándricos), a partir de los 40 días después de la siembra, se originan en la superficie ventral, en la parte anterior del cojinete, cerca de la zona meristemática (Fig. 105-106), los cuellos presentan 4 hileras de células y están dirigidos hacia la parte posterior del gametófito, lo cual indica que la fecundación se realiza de manera intragametofítica (Fig. 107).

Esporófito

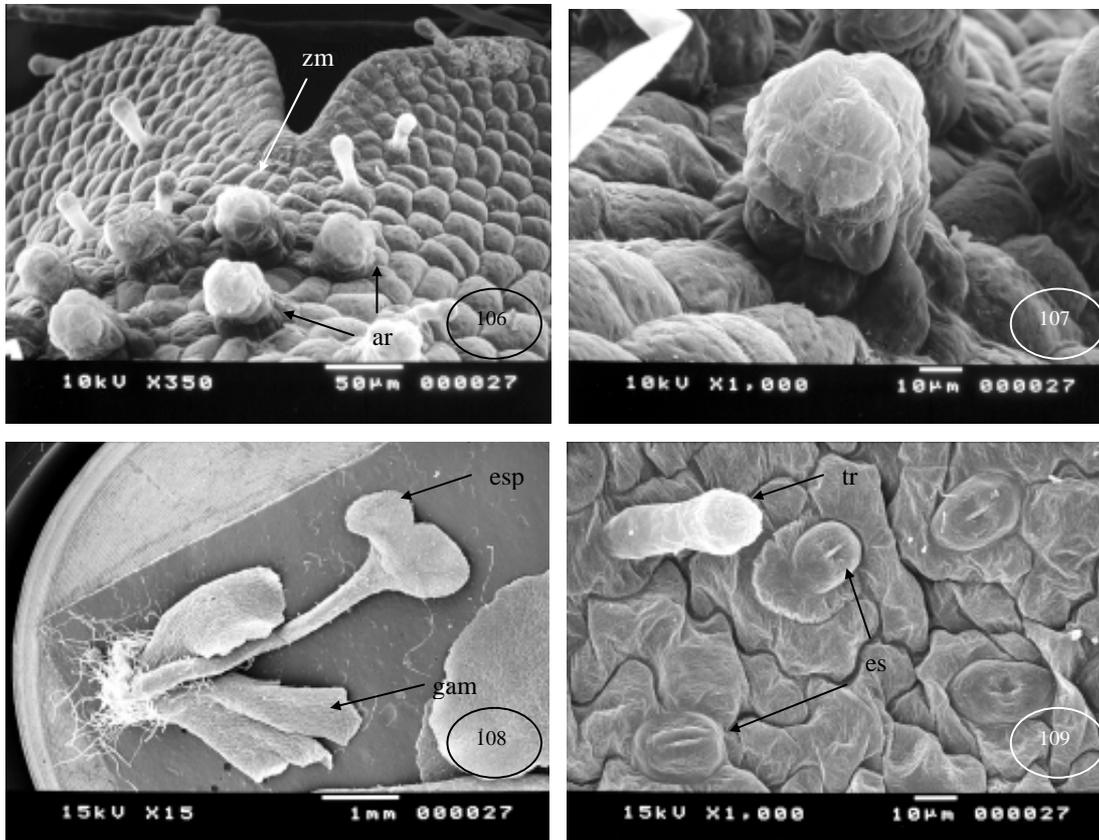
El esporófito se forma a los 97 días de sembradas las esporas, la lámina es bilobada, con nervadura dicotómica abierta (Fig. 108) y presentan tricomas unicelulares capitados, similares a los observados en el gametófito y posteriormente se desarrollan tricomas aciculares característicos del esporófito. Los estomas son anomocíticos (Fig. 109).



Figs. 94-99. Germinación y desarrollo protálico de *T. ovata* var. *lindheimeri*. 94. Filamento de dos células protálicas y célula rizoidal alargada (8 días). 95. Gametófito laminar sin tricomas (17 días). 96. Gametófito laminar con tricomas marginales (29 días). 97. Tricoma unicelular capitado superficial (46 días). 98. Gametófito masculino (46 días). 99. Anteridio. cb= célula basal, cm= célula media, co= célula opercular, p= perisporio, tr= tricoma, zm= zona meristemática.



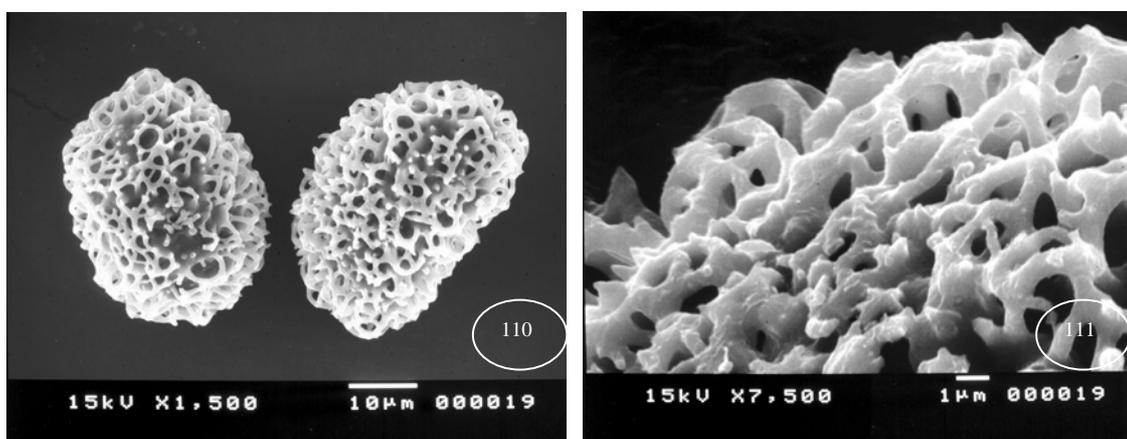
Figs. 100-105. Gametófito adulto, gametangios y esporófito de *Thelypteris ovata* var. *lindheimeri*.
 100. Gametófito masculino con márgenes ondulados. 101. Tricoma glanduloso marginal. 102. Zona meristemática. 103. Anteridio. 104. Vista lateral del anteridio con desprendimiento del opérculo. 105. Gametófito femenino más o menos cordiforme. an= anteridio, cb= célula opercular, cb= célula basal, co= célula opercular, zm= zona meristemática.



Figs. 106-107. Gametófito adulto, arquegonios y esporófito de *Thelypteris ovata* var. *lindheimeri*. 106. Meristemo apical. 107. Vista lateral del arquegonio. 108. Gametófito y esporófito. 109. Estomas anomocíticos y tricoma. ar= arquegonios, es= estoma, esp = esporófito, gam= gametófito, tr= tricoma, zm= zona meristemática.

Thelypteris patens var. *patens*

Sus esporas son monoletes, elipsoidales y fotoblásticas positivas; el tamaño promedio es de 49 X 36 μm ; color pardo oscuro, la ornamentación del perisporio es reticulada, los pliegues se presentan de manera irregular y el tienen perforaciones de grandes diámetros (Figs. 110-111).



Figs. 110-111. *Thelypteris patens* var. *patens*. 110. Espora monolete. 111. Acercamiento del perisporio.

Germinación

La germinación comenzó a partir de los 6 días después de sembradas las esporas y correspondió al tipo *Vittaria* (Nayar & Kaur, 1971), que consiste en la formación de la célula rizoidal con cloroplastos, como resultado de la primera división, que es perpendicular al eje polar de la espora. La segunda división da origen a la primera célula protálica que se desarrolla en sentido opuesto al rizoide. Esta célula se caracteriza por presentar un gran número de cloroplastos y 1-2 gotas de aceite de gran tamaño (Fig. 112).

Fase filamentosa

A partir de divisiones transversales consecutivas de la célula protalial, se forma un filamento uniseriado que consta de 4-6 células con forma de barril y con numerosos cloroplastos discoidales, presenta 2 rizoides hialinos más largos que el filamento (Fig. 113).

Fase bidimensional

El desarrollo protálico corresponde al tipo *Aspidium*, la fase laminar comienza entre los 11 a 14 días, a partir de la división de las células intercalares y apical del filamento; los gametófitos son espatulados, ligeramente asimétricos (Figs. 114-115); posteriormente se diferencia una célula obcónica meristemática apical, que es reemplazada rápidamente por un meristemo, a los 18 días los protalos son asimétricos, la muesca es poco profunda y el tejido del gametófito presenta grandes cloroplastos discoidales (Fig. 116). La formación de tricomas unicelulares capitados marginales comienza a partir de los 21 días (Figs. 117-118), mientras que los tricomas superficiales se forman a partir de los 38 días.

Gametófito adulto

Los gametófitos adultos son monoicos y dioicos cordiforme-espatulados con el margen ondulado; la muesca es más o menos profunda (Figs. 117 y 123) y con tricomas glandulosos marginales y superficiales (Fig. 118 y 122). Los protalos masculinos presentan alas angostas, mientras que en los femeninos son amplias y con una muesca más o menos profunda.

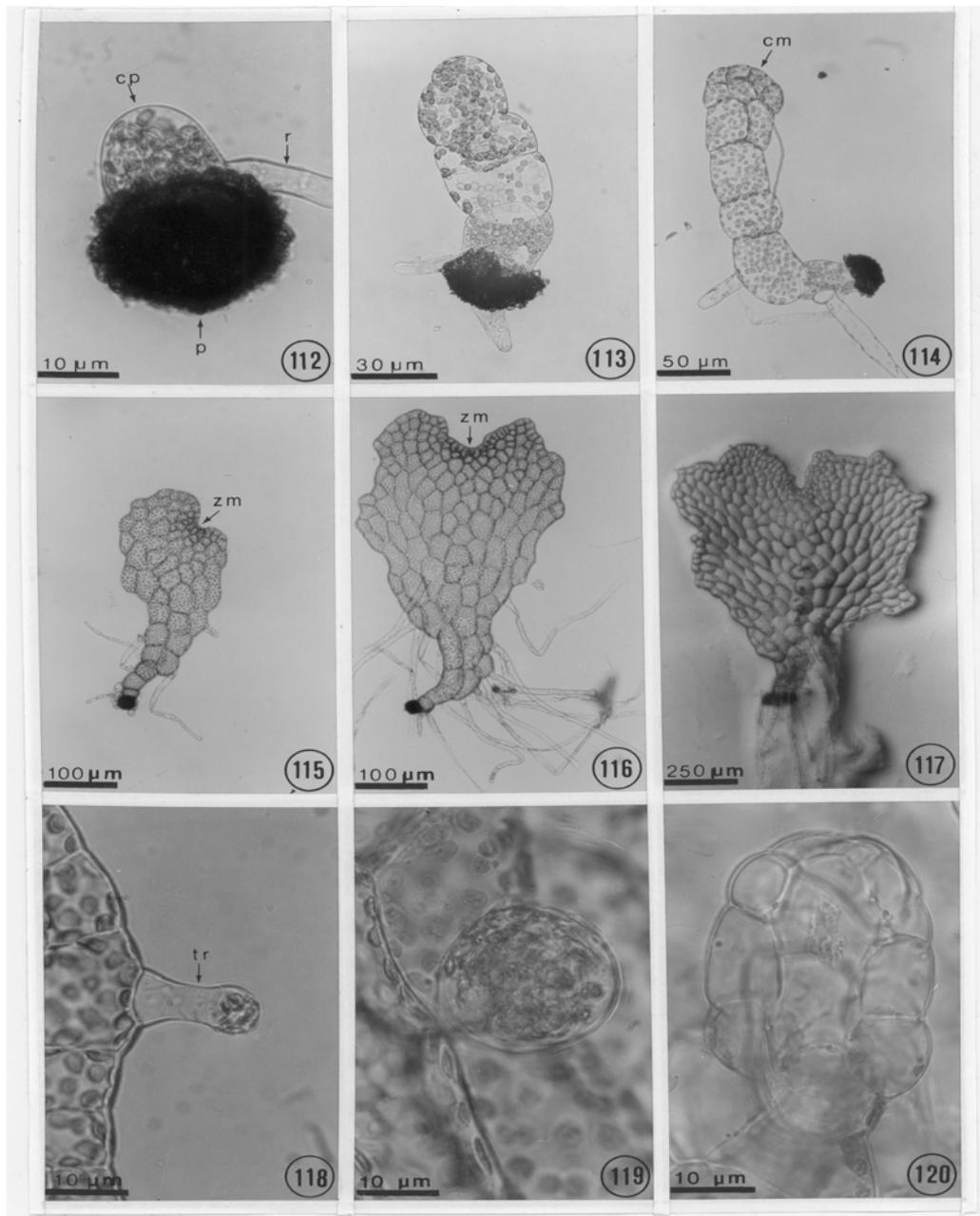
Gametangios

Los anteridios se comenzaron a formar a partir de los 43 días de sembradas las esporas, y presentan 3 células: la basal, la media y una opercular (Figs. 119 y 124).

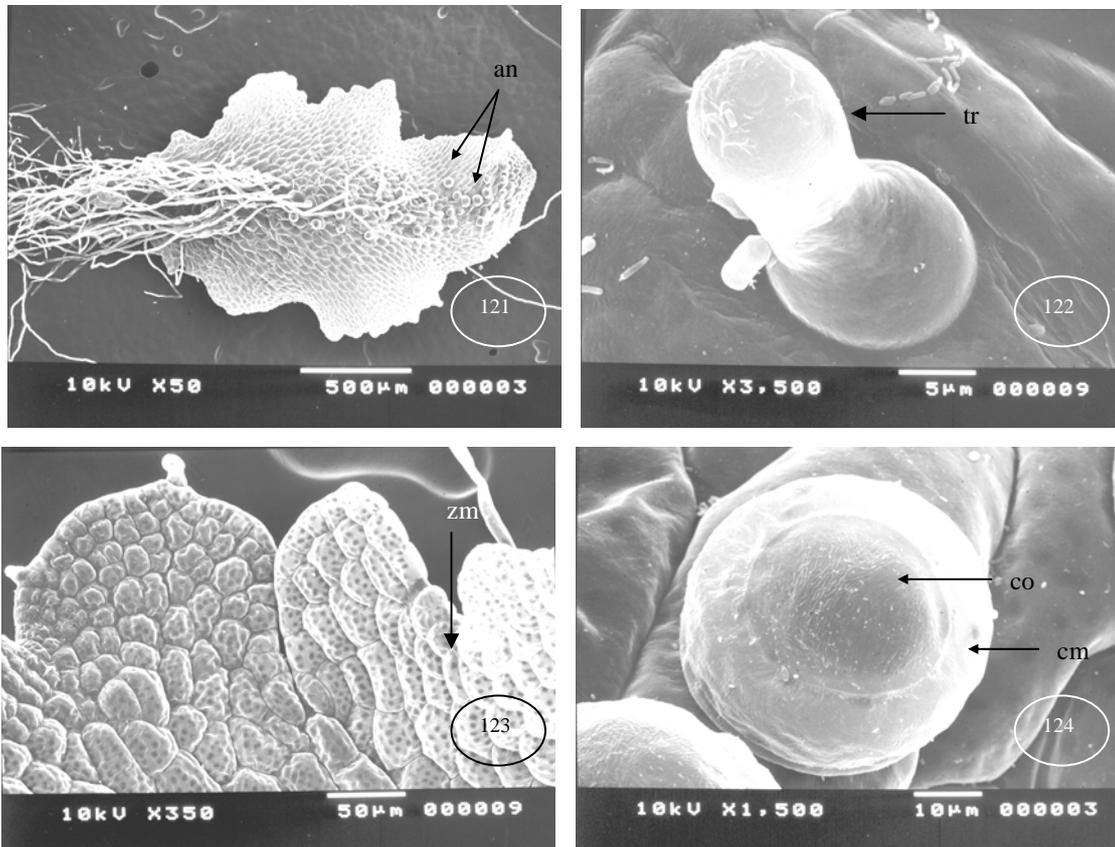
Los arquegonios se desarrollan en el cojinete, cercanos a la muesca. Constan de cuatro células en la boca del cuello y cuatro células por hilera en el cuello (Fig. 120).

Esporófito

La primera hoja del esporófito se forma a partir de los 85 días, es bilobulada en las primeras etapas de desarrollo y posteriormente aumenta el número de lóbulos hasta formar la hoja dividida. Presenta tricomas unicelulares capitados, semejantes a los encontrados en el gametófito y posteriormente éstos son sustituidos por tricomas aciculares. Los estomas son anomocíticos.



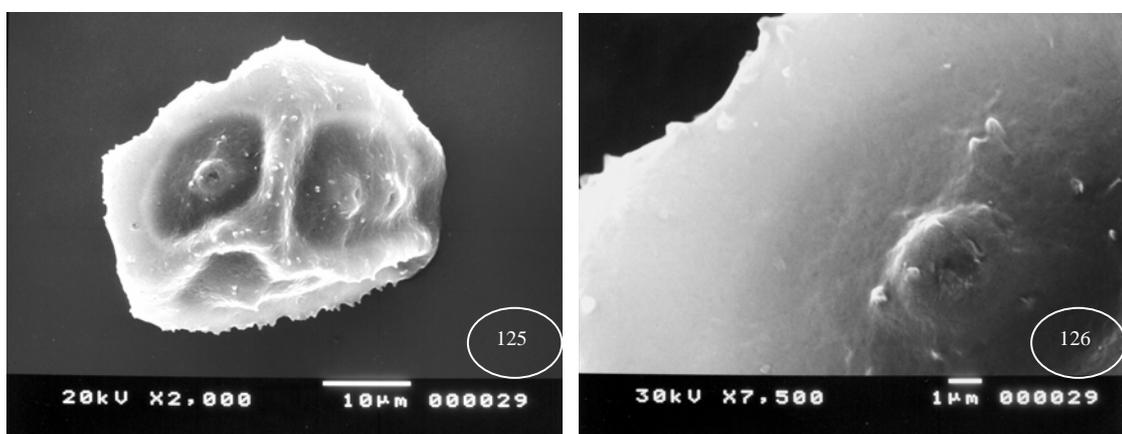
Figs. 112-120. Germinación y desarrollo protálico de *Thelypteris patens* var. *patens*. 112. Inicios de germinación (7 días). 113. Filamento de 5 células (10 días). 114. Inicios de la formación de la lámina. 115. Gametófito espatulado con alas asimétricas. 116. Gametófito con alas simétricas y meristemo apical (21 días). 117. Gametófito laminar con tricomas marginales (50 días). 118. Tricoma unicelular glanduloso. 119. Anteridio (73 días). 120. Arquegonio. cm= célula meristemática, cp= célula protálica, p= perisporio, tr= tricoma, r= rizoide, zm= zona meristemática.



Figs. 121- 124. Gametófito adulto y gametangios de *Thelypteris patens* var. *patens*. 121. Gametófito masculino espatulado. 122. Tricoma glanduloso superficial. 123. Meristemo apical. 124. Anteridio cerrado. an= anteridios, cm= célula media, co= célula opercular, tr= tricoma, zm= zona meristemática.

Thelypteris pilosula

Sus esporas son monoletes, elipsoidales y fotoblásticas positivas; el tamaño promedio es de 50 X 34 μm ; son de color pardo oscuro, la ornamentación del perisporio es reticulada, con pliegues regulares y consistentes, ligeramente equinada, sin perforaciones y con pequeños cúmulos centrales (Figs. 125 y 126).



Figs. 125-126. *Thelypteris pilosula*. 125. Espora monolete. 126. Acercamiento del perisporio.

Germinación

La germinación comenzó a partir de los 6 días de sembradas las esporas y correspondió al tipo *Vittaria* (Nayar & Kaur, 1971), que consiste en la formación de la célula rizoidal con cloroplastos, como resultado de la primera división, que es perpendicular al eje polar de la espóra. La segunda división da origen a la primera célula protálica que se desarrolla en sentido opuesto al rizoide. Esta célula se caracteriza por presentar un gran número de cloroplastos y 1-2 gotas de aceite de gran tamaño (Fig. 127).

Fase bidimensional

El desarrollo de la lámina comienza a los 10 días y corresponde al tipo *Aspidium* (Nayar & Kaur, 1969), que se caracteriza porque las células intercalares (penúltima o antepenúltima) se dividen longitudinalmente para dar inicio al crecimiento en anchura del gametófito; se observa el establecimiento temprano de una célula meristemática inicial obcónica en la parte apical.

Los gametófitos bidimensionales, a los 20 días, se caracterizan por ser laminares y espatulados, con gran número de cloroplastos discoidales; son ligeramente asimétricos; con una muesca poco profunda y un meristemo apical (Figs. 128-129). Presentan tricomas marginales con cloroplastos y se comienzan a formar en esta etapa tricomas superficiales en la cara ventral (Figs. 130 y 136) A los 30 días los gametófitos son cordiformes y casi simétricos; los rizoides son muy largos, hialinos y sin cloroplastos.

Gametófito adulto

A los 37 días de sembradas las esporas, los gametófitos son cordiforme-espatulados con margen lobulado y tricomas glandulosos marginales y superficiales (Fig. 131, 133 y 136). Son protándricos y dioicos, sin embargo, en algunos gametófitos primero se forman arquegonios y posteriormente anteridios en el mismo talo. Los protalos masculinos son espatulados y se presentan en menor número (Fig. 131-135), mientras que, los talos femeninos, son cordiformes y con alas amplias, y son más numerosos. Los arquegonios se desarrollan en la parte anterior del cojinete, cercanos a la muesca, con los cuellos dirigidos

hacia la parte posterior del protalo. Los gametófitos simétricos presentan una muesca más o menos profunda con un meristemo pluricelular apical (Fig. 133).

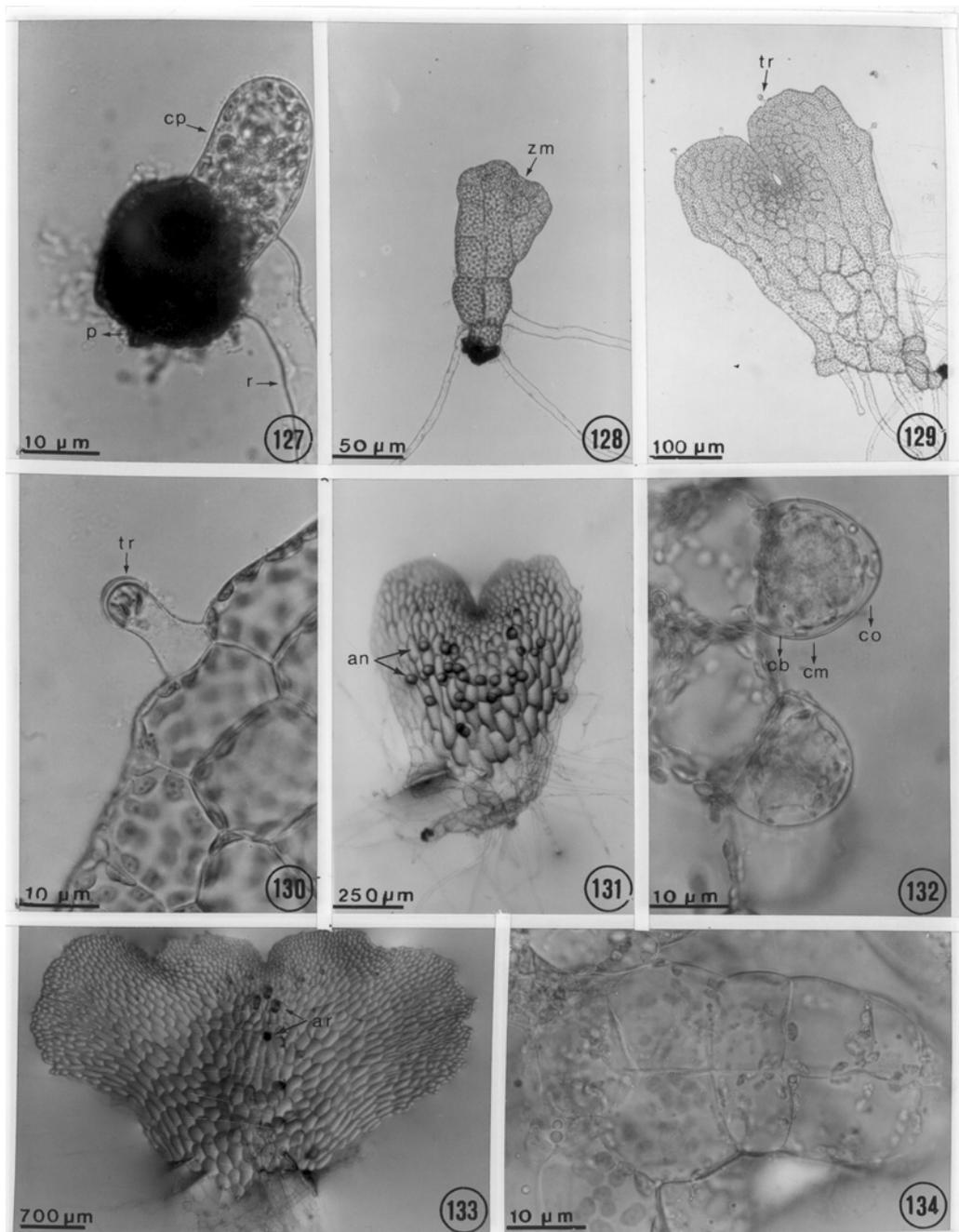
Gametangios

Los anteridios se forman a los 40 días, son numerosos y se desarrollan en la superficie ventral, a lo largo del cojinete, en algunos se extienden hacia el margen, y en otros casos se presentan también en la superficie dorsal. (Figs. 131 y 135), están formados por tres células: la basal, la media y la opercular. La liberación de los anterozoides se realiza por desprendimiento incompleto de la célula opercular (Figs. 132 y 137).

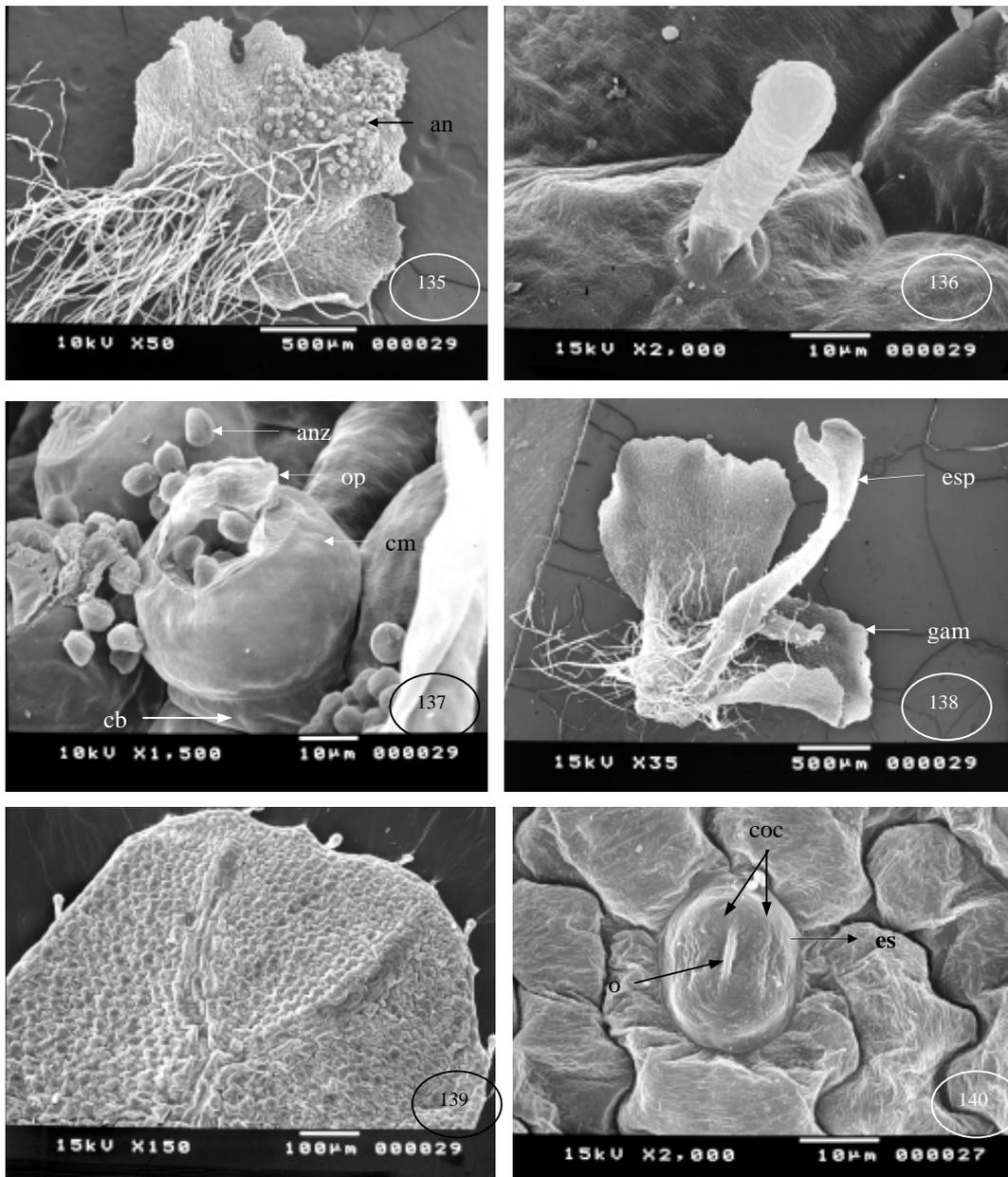
Los arquegonios son escasos, 2-4 por gametófito, se encuentran sobre el cojinete, cercanos a la muesca, con los cuellos dirigidos hacia la parte posterior del gametófito; presentan 4 hileras de células y de 5-6 células del cuello (Figs. 133-134).

Esporófito

El esporófito se desarrolla a partir de los 90 días después de sembradas las esporas. La hoja es bilobulada, con nervadura dicotómica (Figs. 138-139); presenta tricomas similares a los del gametófito en la lámina y el pecíolo. Los estomas son anomocíticos (Fig. 140).



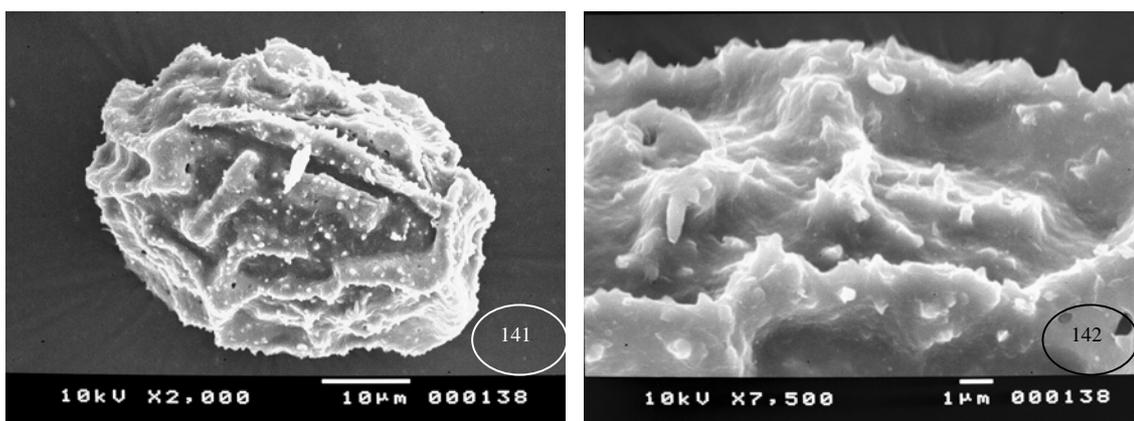
Figs. 127-134. Germinación y desarrollo protálico de *Thelypteris pilosula*. 127. Inicios de germinación (9 días). 128. Gametófito laminar. 129. Gametófito joven simétrico con meristemo apical y tricomas (20 días). 130. Tricoma glanduloso (29 días). 131. Gametófito masculino (30 días). 132. Anteridios (69 días). 133. Gametófito femenino (43 días). 134. Cuello del arquegonio. an= anteridios, ar= arquegonios, cb= célula basal, cm= célula media, co= célula opercular, cp= célula protálica, p= perisporio, r= rizoide, tr= tricoma, zm= zona meristemática.



Figs. 135-140. Gametófito, gametangios y esporófito de *Thelypteris pilosula*. 135. Gametófito masculino. 136. Tricoma superficial. 137. Anteridio liberando anterozoides. 138. Esporófito y gametófito. 139. Primera hoja del esporófito. 140. Estoma anomocítico. an= anteridios, anz= anterozoides, cb= célula basal, cm= célula media, co= célula opercular, coc= células oclusivas, es= estoma, esp= esporófito, gam= gametófito, o= ostiolo, op= opérculo.

Thelypteris puberula var. *puberula*

Sus esporas son monoletes, reniformes a elipsoidales, fotoblásticas positivas; el tamaño promedio es de 68 X 47 μm ; de color pardo oscuro; la ornamentación del perisporio es reticulada con pliegues anchos, consistentes, poco perforados y verrucosos (Figs. 141-142).



Figs. 141-142. *Thelypteris puberula* var. *puberula*. 141. Espora monolete. 142. Acercamiento del perisporio.

Germinación

La germinación inició entre los 7-8 días después de sembradas las esporas, correspondió al tipo *Vittaria*, en el cual emerge la célula rizoidal a partir de la primera división y a partir de la segunda división, se forma la célula protálica, la cual presenta 1 a 3 gotas de aceite y numerosos cloroplastos.

Fase filamentosa

Múltiples divisiones transversales de la célula protálica originaron un filamento uniseriado de 4 células con forma de barril y con numerosos cloroplastos muy grandes y de forma discoidal. Se presentan rizoides muy largos, con algunos cloroplastos.

Fase bidimensional

La fase laminar dio inicio cuando las células intercalares del filamento se dividieron longitudinalmente. El desarrollo protálico correspondió al tipo *Aspidium* (Nayar & Kaur, 1969), dado que presenta una etapa de asimetría corta y la formación de tricomas unicelulares capitados en etapas tempranas del desarrollo, a los 20 días los gametófitos espatulados laminares comenzaron a formar 1-2 tricomas capitados marginales, a los 26 días eran ligeramente asimétricos, la muesca poco profunda y se comenzó a diferenciar un meristemo en la zona apical; presenta 4-6 rizoides hialinos, con cloroplastos.

Gametófito adulto

Los gametófitos adultos son monoicos y dioicos, protándricos, cordiforme-espatulados, con el margen ligeramente lobulado, la mayoría presenta amplias alas, y son simétricos. Los protalos son cordiformes (Fig. 143); la muesca es más o menos profunda y el meristemo pluricelular se encuentra en esta zona (Fig. 144). Presenta escasos tricomas glandulosos marginales y superficiales. Los rizoides son de dos tipos, uno ensanchado en la base y el otro recto, son muy largos, hialinos y sin cloroplastos en esta etapa.

Gametangios

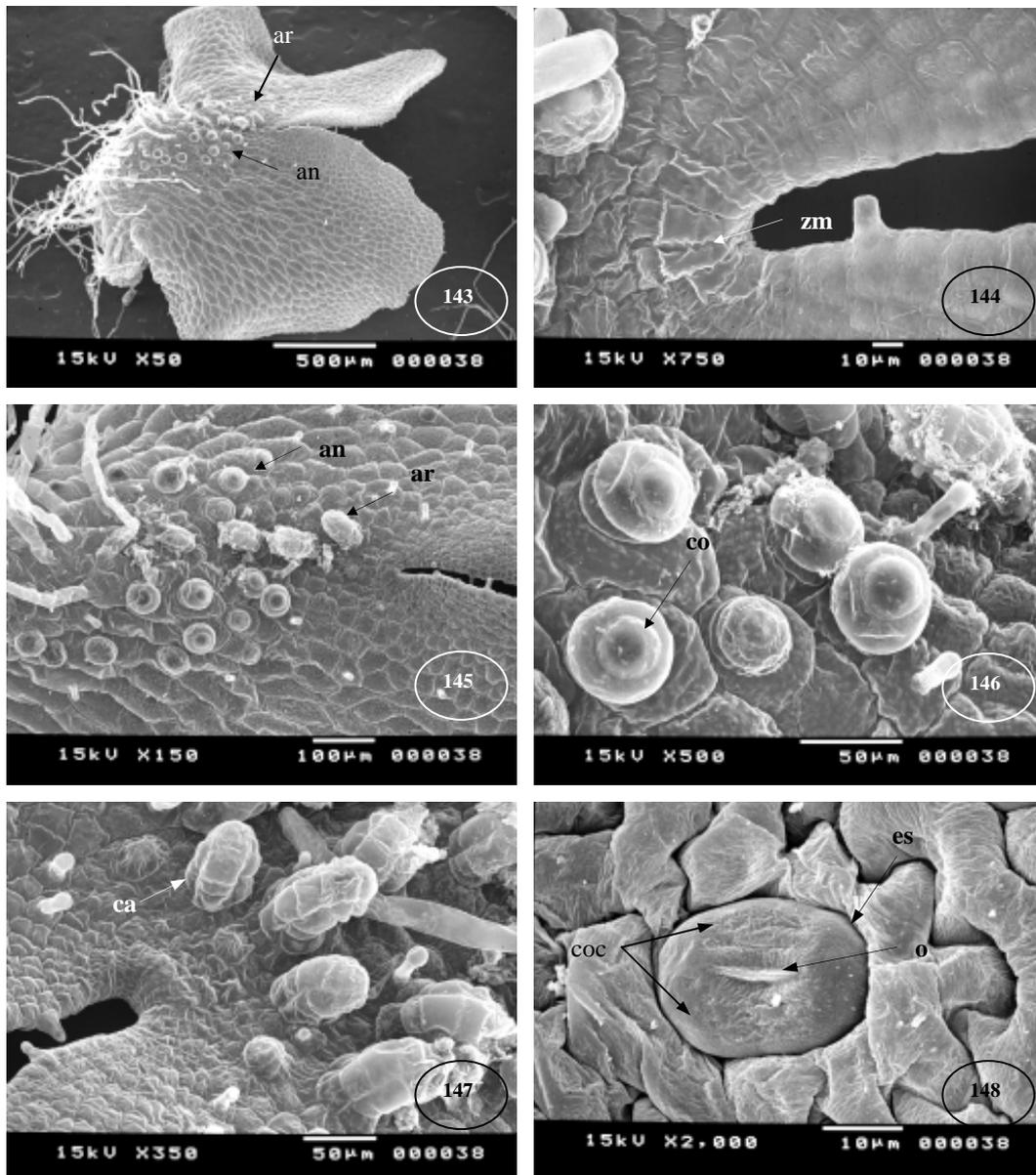
Los anteridios se desarrollaron en la superficie ventral de los gametofitos, a partir de los 40-45 días de sembradas las esporas, a lo largo del cojinete en los gametófitos dioicos, sin embargo, se presentan con mayor frecuencia los protalos monoicos, en los cuales los anteridios se forman en la parte posterior de los gametófitos, entre los rizoides (Figs. 145 y

146). Los anteridios están conformados por tres células la basal, la media y la opercular, la dispersión de los anterozoides se lleva a cabo por desprendimiento total y parcial del opérculo.

Los arquegonios se formaron después de los anteridios, en el cojinete, muy cercanos a la muesca. Presentan 4 hileras de células del cuello (Fig. 147).

Esporófito

El esporófito se formó a partir de los 90 días de sembradas las esporas, se observó únicamente en los cultivos de tierra negra estéril. La hoja es bilobada, con nervadura dicotómica, presenta tricomas unicelulares capitados en el pecíolo, en el margen y sobre ambas superficies. Presenta inicialmente tres lobulaciones, las cuales van aumentando en número conforme se desarrolla la hoja. Presenta estomas anomocíticos (Fig. 148).



Figs. 143-148. Gametófito adulto, gametangios y esporófito de *Thelypteris puberula* var. *puberula*.
 143. Gametófito monoico. 144. Meristemo apical. 145. Disposición de los anteridios y arquegonios.
 146. Anteridios y tricoma superficial. 147. Arquegonios cercanos a la muesca. 148. Estoma
 anomocítico. an= anteridio, ar= arquegonio, ca= cuello del arquegonio, co= célula opercular, coc=
 células oclusivas, es= estoma, o= ostiolo, zm= zona meristemática.

Análisis estadístico para el largo y ancho de esporas y tricomas:

A partir de las pruebas de Kruskal-Wallis se evidenciaron las frecuencias significativas ($p < 0.05$) para el largo y ancho de las esporas así como de los tricomas de las diez especies bajo estudio.

Para el largo de las esporas los valores de 62.5, 57.5,....., donde sí existen diferencias significativas: $H(2,250)=192.5257$ y $p < 0.05$ (Fig. C1). Lo mismo ocurre para el ancho, donde también se presentan diferencias significativas: 42.5, 35....., $H:(2,250)=175.0242$ y $p < 0.05$ (Fig. C2).

Respecto al largo de las esporas se observó que en algunas especies como *Thelypteris concinna*, *T. interrupta* se presentó la mayor variabilidad en cuanto a tallas, mientras que en *T. dentata*, *T. kunthii*, y *T. ovata* hubo una variación menor. La diversidad en el ancho de las esporas se observó que está estrechamente relacionada con rangos de variación del largo. El tamaño es característico de cada una de las especies, por lo que se puede considerar como un carácter constante e este nivel.

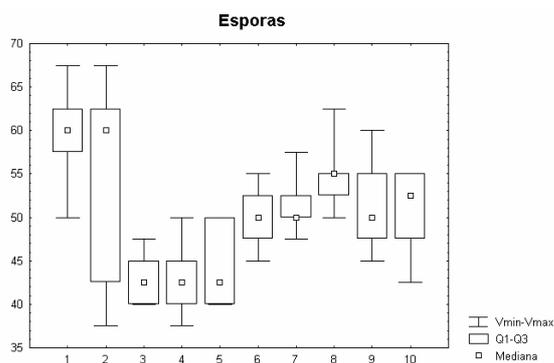


Fig. C1. Gráfica de dispersión para el largo de las esporas

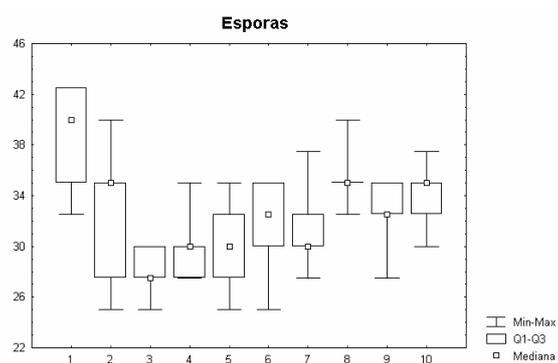


Fig. C2. Gráfica de dispersión para el ancho de las esporas

Se obtuvieron diferentes rangos de variabilidad para el largo y ancho de los tricomas. La talla presentó diferencias significativas a nivel de especie, donde los valores 30, 30 es significativa $H(2,150)=107.3092$, y $P<0.05$ (Fig. D1) y para el ancho, con los valores 12.5, 15....., también se presentan diferencias significativas $H(2,150)=95.0055$ y $P<0.05$ (Fig. D2).

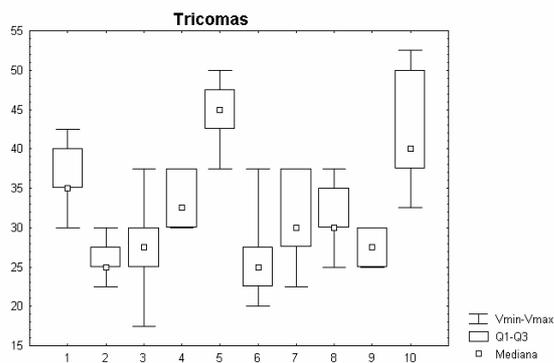


Fig. D1. Gráfica de dispersión para el largo de los tricomas.

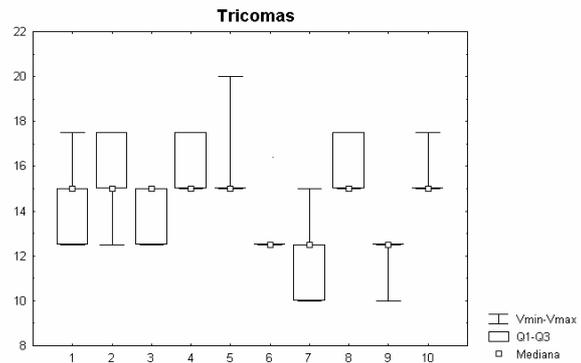


Fig. D2. Gráfica de dispersión para el ancho de los tricomas.

Para el largo de los tricomas se encontró que la variabilidad más grande la presentaron *Thelypteris dentata*, *T. kunthii*, *T. ovata* y *T. puberula*, mientras que en *M. torresiana*, *T. hispidula*, *T. interrupta*, *T. patens* y *T. pilosula* la variación en talla fue menor y en *T. concinna* fue mínimo el rango de diversidad en tamaño. En el caso del ancho, para la mayoría de las especies estudiadas, la variación en la talla fue muy poca. En *T. interrupta* se presentó la mayor variabilidad, mientras que *T. kunthii* se observó nula variación en el ancho de los tricomas. Se pudo constatar con el análisis estadístico del tamaño de los tricomas es constante para cada una de las especies y diferente entre ellas.

Tabla 6. Cuadro comparativo de germinación y desarrollo protálico.

<i>Especie</i>	<i>Germinación</i>		<i>Filamento germinativo</i>	<i>Desarrollo protálico</i>		
	Tipo	Inicio (días)	No. de células	Tipo	Inicio (días)	Formación de tricomas (días)
<i>M. torresiana</i>	<i>Vittaria</i>	5	8-10	<i>Drynaria</i>	13-15	45-50
<i>T. concinna</i>	<i>Vittaria</i>	11	4-6	<i>Aspidium</i>	20	22
<i>T. dentata</i>	<i>Vittaria</i>	5	4-6	<i>Aspidium</i>	11	20
<i>T. hispidula</i>	<i>Vittaria</i>	6-7	4-6	<i>Aspidium</i>	7-11	12-14
<i>T. interrupta</i>	<i>Vittaria</i>	7	4-6	<i>Aspidium</i>	11	13
<i>T. kunthii</i>	<i>Vittaria</i>	10	4-6	<i>Aspidium</i>	12	14
<i>T. ovata</i> var. <i>Lindheimeri</i>	<i>Vittaria</i>	5	4-6	<i>Aspidium</i>	13	17
<i>T. patens</i>	<i>Vittaria</i>	6	4-6	<i>Aspidium</i>	11-14	21
<i>T. pilosula</i>	<i>Vittaria</i>	6	4-6	<i>Aspidium</i>	10	12
<i>T. puberula</i> var. <i>puberula</i>	<i>Vittaria</i>	8	4-6	<i>Aspidium</i>	14-16	20

Tabla 7. Gametofito adulto y esporofito de las especies estudiadas.

<i>Especies</i>	<i>Gametofito adulto</i>			<i>Esporofito</i>	
	Morfología	Anteridios	Liberación de anterozoides	Expresión sexual	Tricomas en la primera hoja y peciolo
<i>M. torresiana</i>	Espatulado muy alargado con el margen ondulado	50	Desprendimiento del opérculo	Dioico	Unicelular capitado
<i>T. concinna</i>	Espatulado-cordiforme	-	-	-	Unicelular capitado
<i>T. dentata</i>	Cordiforme- espatulados a reniformes	43	Poro apical por desgarramiento	Dioicos	Unicelular capitado
<i>T. hispidula</i>	Espatulado-cordiformes	40	Desgarramiento (poro apical)	Dioicos	Unicel. capitado
<i>T. interrupta</i>	Cordiforme-espatulados	60	Apertura parcial del opérculo y desgarramiento (poro apical)	Dioicos	Unicelular capitado
<i>T. kunthii</i>	Cordiforme-espatulados	29	Apertura total del opérculo y desgarramiento (poro apical)	Dioicos y monoicos	Unicelular capitado
<i>T. ovata</i> var. <i>lindheimeri</i>	Cordiforme-espatulados	30-50	Apertura parcial del opérculo	Dioicos	Unicelular capitado
<i>T. patens</i>	Cordiforme-espatulados	43	Apertura total del opérculo	Dioicos y monoicos	Unicelular capitado
<i>T. pilosula</i>	Cordiforme-espatulado	40	Apertura parcial y total del opérculo	Dioicos	Unicelular capitado
<i>T. puberula</i> var. <i>puberula</i>	Cordiforme-espatulados	40-45	Apertura parcial y total del opérculo	Monoicos y dioicos	Unicelular capitado

DISCUSIÓN

Las esporas de las especies estudiadas son las características de los helechos homospóricos, de acuerdo con Tryon & Lugardon (1991) todas son monoletes, elipsoidales y no fotosintéticas, el color varía de pardo claro a pardo oscuro, rasgos observados y reportados para especies del género por Reyes Jaramillo & Pérez-García (1991) en *Thelypteris* subg. *Cyclosorus*. En *Macrothelypteris torresiana*, *Thelypteris concinna*, *T. interrupta*, *T. ovata* var. *lindheimeri* y *T. puberula* var. *puberula* las esporas se tornan amarillentas, característica asociada al grosor del perisporio. Al determinar la fotoblasticidad de las esporas se encontró que todas son fotoblásticas positivas (la germinación se realiza en presencia de luz) (Miller, 1968) carácter que comparten las especies de los tres subgéneros estudiados en este trabajo, esto concuerda con lo observado por Atkinson (1971, 1975), Reyes Jaramillo y Pérez-García (1991) en otras especies de la familia Thelypteridaceae.

En general al hacer el análisis estadístico del tamaño de las esporas, se encontró que existen diferencias significativas, a nivel de especie, para el largo y el ancho de las esporas en las diez especies estudiadas, para cada especie se observa que se presenta diferente grado de variación en la talla de las esporas (Fig. C1 y C2).

Otra diferencia clara entre los taxa, es la ornamentación del perisporio, que es característica de cada una de las especies. La ornamentación más común del perisporio es la reticulada, en la cual se presentan de manera constante una serie de pliegues continuos o interrumpidos, consistentes o a manera de alas oblicuas o a lo largo de la espora. Sin embargo

la amplitud y el grosor de los pliegues es variable en *Macrothelypteris torresiana*, *Thelypteris concinna*, *T. dentata*, *T. hispidula*, *T. kunthii*, *T. ovata* var. *lindheimeri* y *T. puberula* var. *puberula*. En *T. interrupta* se presentó reticulación equinada, mientras que en *T. patens* la reticulación no es muy evidente ya que las alas son amplias y con grandes perforaciones semejando una red, en contraste con los pliegues regulares y consistentes que se presentan en *T. pilosula*. Dado que el tamaño y la ornamentación tan diversa de las esporas fueron caracteres que se presentaron de manera constante en las especies estudiadas, estos rasgos pueden ser de gran utilidad para diferenciar a las especies circunscritas en el género *Thelypteris*, y podrían ser utilizados como caracteres para reconocerlas (Tabla 5). Esto concuerda con lo señalado por Wood (1973) quien menciona que existe una gran variabilidad morfológica en las esporas de Thelypteridaceae y que estos rasgos taxonómicos son útiles para delimitar a las especies circunscritas en la familia.

El porcentaje de germinación de las esporas fué del 90 %. Esta es asincrónica; en la mayoría de las especies inicia entre los 5-7 días posteriores a la siembra, tanto para las sembradas en medio de cultivo como en las que se sembraron en tierra negra. En *Thelypteris puberula* var. *puberula* las esporas comienzan a germinar a los 8 días y en *T. concinna*, del subg. *Amauropelta*, que iniciaron a partir de los 11 días posteriores a la siembra (Tabla 6). Estos resultados concuerdan con las observaciones realizadas por Huckaby & Raghavan (1981) para otras especies de Thelypteridaceae. El patrón de germinación en todas las especies correspondió al tipo *Vittaria* descrito por Nayar & Kaur (1971). Observaciones semejantes fueron realizadas por Kachroo (1963), Mitra & Sen (1969), Pérez-García & Mendoza (2005) y Reyes Jaramillo & Pérez-García (1991). En la célula rizoidal de la mayoría de las especies

se observaron cloroplastos en las primeras etapas de desarrollo, los cuales posteriormente se pierden, por otro lado en la célula protálica se presentan de una a dos gotas de aceite y cloroplastos discoidales de gran tamaño. Estos rasgos pueden utilizarse como criterios para unificar el género y la familia pero no para utilizarse en la identificación o determinación de las especies.

En todas las especies bajo estudio, las divisiones paralelas subsecuentes de célula protálica dan origen a filamentos germinales uniseriados. En *Thelypteris concinna* (subg. *Amauropelta*), *T. dentata*, *T. hispidula*, *T. kunthii*, *T. ovata* var. *lindheimeri*, *T. pilosula*, *T. puberula* var. *puberula* y *T. interrupta*, los filamentos constan de 4-6 células (Tabla 6). Esto concuerda con las observaciones hechas por Atkinson (1971) para *T. erubescens*, sin embargo en éste la germinación de las esporas se realiza dentro del esporangio. Esta condición no se observó en las especies estudiadas. Por otro lado los filamentos de *Macrothelypteris torresiana* están constituidos de manera constante por 8-10 células por lo que puede utilizarse como carácter con valor taxonómico a este nivel combinado con otros rasgos.

El desarrollo protálico observado correspondió al tipo *Aspidium* (Tabla 6) para las especies circunscritas en los subgéneros *Cyclosorus* y *Amauropelta*. Este tipo de desarrollo ha sido reportado por Pérez-García & Mendoza (2005) para especies de *Thelypteris* oriundas de Santiago de Cuba. Nayar & Kaur (1969) definen este tipo como la formación temprana de un tricoma en la célula apical del filamento, aunque consideran una ruta alternativa, en la cual los tricomas se comienzan a formar en etapas tempranas de la fase bidimensional. El desarrollo protálico para las especies estudiadas se presentó de acuerdo a esta vía alterna, en la cual la

formación de la lámina y los tricomas comienza a partir de los 11 días, en la mayoría de las especies, por divisiones longitudinales de la célula o células intercalares del filamento, incluyendo a la célula apical. Atkinson (1975) menciona que en otras especies de *Thelypteris* la formación de la lámina inicia a partir de divisiones anticlinales de la célula terminal, sin embargo, indica que en *Coryphopteris* sp. inéd (cercano a *T. viscosa*), se forma un tricoma inicial en la célula terminal del filamento y la lámina se expande a partir de una célula o más células subterminales. El desarrollo de la lámina da origen a protalos espatulados. En esta etapa se diferencia una célula meristemática obcónica apical que rápidamente se establece en un meristemo pluricelular de posición apical en la mayoría de las especies. Los gametófitos jóvenes presentan una etapa muy corta de asimetría, la cual se observa como la diferencia en tamaño de las alas, mientras que la muesca en esta etapa es poco profunda.

En *Macrothelypteris torresiana* se presenta un desarrollo protálico tipo *Drynaria* (Tabla 6), en el cuál el establecimiento de la célula meristemática apical es retardado, de tal forma que se forman tricomas en el margen y la superficie del gametófito adulto, así como un meristemo pluricelular; los protalos jóvenes son espatulados, desnudos y sin una muesca definida. Esto lo diferencia claramente del resto de las especies estudiadas.

Los gametófitos de todos los taxa estudiados presentan únicamente tricomas unicelulares capitados, lo que contrasta con lo observado por Nayar & Chandra (1963), Nayar & Kaur (1971) y Tigerschiöld (1989a, 1990) quienes mencionan la presencia de dos tipos de tricomas en especies de *Thelypteris*: glandulosos y aciculares. Atkinson & Stokey (1964) también han encontrado tricomas aciculares en algunas especies de Thelypteridaceae, aunque

los consideran inusuales en la familia. En los gametófitos de las especies circunscritas en el subg. *Cyclosorus* y *Amauropelta*, los tricomas se desarrollan en etapas tempranas de la formación de la lámina y la diferencia entre las especies estudiadas radica en el tiempo de formación y en el número de éstos (Tabla 6). En *Thelypteris dentata*, *T. hispidula*, *T. interrupta*, *T. ovata*, *T. patens* y *T. puberula* var. *puberula*, los tricomas se formaron en etapas tempranas del desarrollo de la lámina, entre los 12-22 días después de sembradas las esporas. En *T. concinna* se desarrollaron a partir de los 22 días, mientras que en *T. pilosula* aparecen a los 16 días. Por otro lado, en *Macrothelypteris torresiana* la formación de tricomas marginales se presentó en las etapas adultas, de acuerdo con el desarrollo tipo *Drynaria*.

En la fase laminar de todas las especies estudiadas, se desarrollaron tricomas en ambas superficies de los gametófitos, aunque siempre en menor número que los marginales.

Los tricomas en todos los taxa son unicelulares, inicialmente presentan abundantes cloroplastos, los cuales degeneran en la fase madura de los gametófitos transformándose en glandulosos, ya que se observa que secretan grasa (reacción positiva al Sudán III) que se aprecia como un capuchón, esta característica ha sido observada por otros autores en especies de Thelypteridaceae (Nayar & Chandra, 1963; Chandra & Nayar, 1968; Momose, 1968; Nayar & Kaur, 1971; Atkinson, 1971, 1975; Atkinson & Stokey, 1973, Pérez-García *et. al*, 1995 y Reyes Jaramillo & Pérez-García, 1991). Por otro lado, el número de tricomas marginales y superficiales que se forman en los gametófitos es diverso en las especies bajo estudio. El análisis estadístico mostró que existe una variación evidente en el largo y el ancho de los tricomas de las diez especies estudiadas, lo que significa que existen diferencias

significativas en los tricomas de los gametófitos adultos (Fig. D1 y D2). Esta característica es constante para las especies estudiadas por lo que se puede considerar como un carácter con valor taxonómico.

La morfología observada en los gametófitos adultos apoya lo citado por Atkinson (1975), quien menciona que éstos son espatulados alargados, con el margen ondulado a cordiformes. En los gametófitos dioicos de *Thelypteris hipidula*, *T. interrupta* y *T. pilosula*, los talos femeninos presentan alas amplias y la muesca más o menos profunda, mientras que los masculinos en general son más pequeños, espatulados alargados, con las alas angostas y la muesca poco profunda. En las especies monoicas, invariablemente los gametófitos son cordiformes, con amplias alas y una muesca profunda. La forma espatulada o cordiforme, según el caso, de los gametófitos adultos se presentó de manera consistente entre las especies estudiadas (Tabla 7), lo cual se puede considerar como un carácter que puede ayudar a definir el género. Estos resultados concuerdan con los que refieren Atkinson y Stokey (1964) para especies de Thelypteridaceae.

En todas las especies del subg. *Cyclosorus*, se diferenció en etapas tempranas un meristemo pluricelular en la zona de la muesca en posición apical, a partir de la célula meristemática inicial. Este patrón también se observó en las especies del subg. *Amauropelta*, sin embargo, en *Macrothelypteris torresiana* el meristemo pluricelular se establece en el gametófito adulto. Los rizoides, en todas las especies, se desarrollan sobre el cojinete y son más largos que los protalos; inicialmente son incoloros, con cloroplastos y posteriormente se

tornan pardos en los protalos maduros y viejos, lo que concuerda con observaciones realizadas por Atkinson & Stokey (1969) y Reyes Jaramillo & Pérez-García (1991). Se forman en la superficie ventral de la lámina en todas las especies, estos son de muy abundantes a escasos, largos, generalmente hialinos en la mayoría de las especies y en algunos casos ligeramente pardos. Estos rasgos se presentaron en las especies de manera variable, ya que el número y la longitud fueron diferentes en cada taxa. El cojinete está constituido por varias capas de células, el grosor se presentó de forma diversa en las diferentes especies, siendo más evidente en *Thelypteris hispidula* y en *T. interrupta*. La propagación vegetativa se da en los talos viejos, entre los 60-100 días después de sembradas las esporas. En los márgenes de las alas y en la superficie ventral, a partir de células del cojinete o del margen del gametófito, se desarrollan yemas que posteriormente dan origen a nuevos gametófitos.

Los anteridios que desarrollan las especies estudiadas, son característicos de los helechos leptosporangiados, semejantes a los observados por Atkinson (1975) y Tigerschiöld (1989a,b; 1990). Estos se forman sobre el cojinete de los gametófitos adultos, aunque pueden extenderse hacia el margen o presentarse en la superficie dorsal como en *Macrothelypteris torresiana*, *Thelypteris hispidula* y *T. pilosula*. Atkinson & Stokey (1964) mencionan que, siempre, los anteridios aparecen antes que los arquegonios, lo cual no coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo, ya que aunque la mayoría de las especies presentan gametófitos protándricos, en algunas especies, como *Thelypteris pilosula* (subg. *Amauropelta*), los arquegonios se formaron antes que los anteridios (protogíneos). La forma de los gametófitos masculinos es espatulada, sin embargo se observa una diferencia clara en la ondulación del margen de la lámina a nivel de especie. Los anteridios en todas las especies,

están conformados por tres células: una opercular, una media o anular y una basal, se observó cierta variación en la morfología de los anteridios que consiste en el tamaño y forma de la células anteridiales. Tigerschiöld (1990) menciona para algunas especies de Thelypteridaceae que la célula opercular en ocasiones está dividida en dos en talos viejos, característica que no se observó en las especies estudiadas en el presente trabajo. Se determinaron tres mecanismos de apertura de los anteridios para la dispersión de los anterozoides (Tabla 7), estas observaciones coinciden con tres de las realizadas por Tigerschiöld (1989a,b) para especies de helechos de Thelypteridaceae, sin embargo el mecanismo por ruptura irregular de la pared no se observó en las especies estudiadas. En algunas especies se presentó más de una forma de liberación de los anterozoides, pero de manera constante la más común en todas fue por desprendimiento total o parcial del opérculo.

Los arquegonios en las especies estudiadas son de la forma típica que presentan los helechos leptosporangiados. A diferencia de los anteridios, siempre se desarrollan en la superficie ventral del gametófito, muy cercanos a la muesca. El cuello del arquegonio en todas las especies está marcadamente curvado hacia la parte proximal del gametófito. Esta característica hace pensar que la fecundación intragametofítica es más frecuente que la intergametofítica en estas especies. El cuello es corto en todas las especies, lo que concuerda con observaciones realizadas por Atkinson (1975) y Tigerschiöld (1989a,b, 1990). Se han observado en diferentes especies de *Thelypteris* de 4-7 células del cuello (Tigerschiöld, 1989a; 1990), esta condición no se observó en este estudio.

La primera hoja del esporófito, en la mayoría de las especies estudiadas, se formó entre los 70-120 días después de sembradas las esporas, a excepción de *Thelypteris concinna* la cual no formó esporófitos; tal vez porque la germinación se presentó en un porcentaje demasiado bajo, por la poca viabilidad de las esporas, de tal forma que, los pocos gametófitos laminares que se formaron realizaron intensa propagación vegetativa por medio de yemas para aumentar la densidad de población. Iwatsuki (1962) menciona que en el esporófito de algunas especies de la familia Thelypteridaceae se presentan tricomas aciculares; la presencia de este tipo de tricomas es un carácter de utilidad a nivel de subgénero. En la primera hoja de las especies los tres subgéneros, se observó invariablemente la formación de tricomas unicelulares capitados en el margen, en la superficie de la hoja y en el pecíolo, similares a los que se presentan en el gametófito. Los tricomas capitados presentes en el esporófito joven son paulatinamente sustituidos por tricomas unicelulares aciculares, característicos del esporófito adulto (Tabla 7), en las especies de los subgéneros *Cyclosorus*, *Amauropelta* y *Macrothelypteris*. La primera hoja es bilobada, con nervadura dicotómica abierta en todas las especies y conforme se desarrolla presenta lóbulos en número variable en las diferentes especies, pero son tres en la mayoría de las especies. Los estomas en todas las especies son anomocíticos (Van Cotthem, 1973), este carácter podría ser utilizado para unificar a la familia si se presenta en todas las especies.

CONCLUSIONES

1.- Algunos de los caracteres distintivos de la fase sexual de las especies estudiadas el tipo de germinación, el tipo de desarrollo protálico, la presencia de tricomas unicelulares capitados y la morfología de los gametófitos adultos, son típicas del subgénero *Cyclosorus*. Sin embargo, el tamaño y la ornamentación de las esporas, el número y el tamaño de los tricomas y los tiempos en que éstos aparecen, en combinación con otras características pueden ayudarnos a delimitar a las diferentes especies que se encuentran circunscritas en el subgénero.

2.- Otras características como la morfología del gametófito sexualmente maduro, el tiempo en que aparecen los anteridios y los arquegonios, así como la morfología y el tipo de dehiscencia de los anteridios, son caracteres útiles para reconocer a las especies que conforman el subgénero.

3.- El patrón de germinación de tipo *Vittaria* se presenta en todas las especies estudiadas, por lo cual no es útil para delimitar a las especies, aunque sí para definir a la familia. Por otro lado el desarrollo protálico de tipo *Aspidium* y la formación de tricomas unicelulares glandulosos son caracteres que pueden ser útiles para definir al subgénero.

4.- Al comparar, a nivel de subgénero, los resultados obtenidos, se observa que las especies circunscritas en *Amauropelta*, no presentan diferencias tan evidentes con respecto a las especies del subgénero *Cyclosorus*; el tipo de germinación y el tipo de desarrollo protálico

fueron los mismos, por lo que estas características podrían considerarse diagnósticas del género *Thelypteris*.

5.- La morfología y los mecanismos de dispersión de los anterozoides, son caracteres muy útiles para delimitar a los subgéneros y a las especies, conjuntamente con otras características como el tipo de desarrollo protálico, el tipo y talla de los tricomas, así como la condición protándrica o protogínea observadas en la morfogénesis de las especies estudiadas para definir el grupo.

6.- Los caracteres que se presentan, de manera constante, en las especies de los tres subgéneros estudiados son: el tamaño de las esporas, el tiempo de aparición y tamaño de los tricomas del gametófito adulto, los cuales en combinación con otras características como los mecanismos de apertura de los anteridios, pueden ser utilizados como rasgos taxonómicos para diferenciar a las especies circunscritas en los Subgs. *Cyclosorus*, *Amauropelta* y *Macrothelypteris*.

LITERATURA CITADA

- Arreguín-Sánchez, M. L., R. Fernández-Nava, R. Palacios-Chávez & D. L. Quiroz-García. 2001. Pteridoflora Ilustrada del Estado de Querétaro, México. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. 1-470 pp.
- Atkinson, L. R. 1971. The gametophyte of *Thelypteris erubescens*. *Amer. Fern J.* **61**: 183-186.
- Atkinson, L. R. 1973. The gametophyte and family relationships In A. C. Jeremy, J. A. Crabbe & B. A. Thomas (Eds.). *The Phylogeny and Classification of the ferns*. Suppl. 1. *Bot. J. Linn. Soc.* **67** (1): 73-90.
- Atkinson, L. R. 1975. The gametophyte of five old world Thelypteroid Ferns. *Phytomorphology* **25** (1): 38-53.
- Atkinson, L. R. & A. G. Stokey. 1964. Comparative Morphology of the gametophyte of homosporous ferns. *Phytomorphology* **14** (1): 51-70.
- Atkinson, L. R. & A. G. Stokey. 1973. The gametophyte of some Jamaican thelypteroid ferns. *Bot. J. Linn. Soc. Bot.* **66**: 23-26.
- Bischoff, G. W. 1828. *Die Rhizocarpen und Lycopoden*. Lief Sci., 2, Numberg.
- Bower, F. O. 1928. *The Ferns*. Vol. III. University Press, Cambridge. 1-306 pp.
- Chandra, P. & B. K. Nayar. 1968. Morphology of the edible fern *Ampelopteris* Kunze. *Proc. Indian Acad. Sci.* **68B**: 25-36.

- Ching, R. C. 1963. A reclassification of the family Thelypteridaceae from the mainland of Asia. *Acta Phytotax. Sin.* **8**: 289-335.
- Christensen, C. 1911. On a natural classification of the species of *Dryopteris*. Biol. Arb. Til. Eug. Warming. 73-85 pp.
- Christensen, C. 1938. Filicinae. *In*: F. Verdorn (ed.), Manual of Pteridology. The Hague, Nijhoff. 522-550 pp.
- Conover, W. J. 1999. Practical nonparametric statistics. Tercera ed. New. York. 584 pp.
- Copeland, E. B. 1947. Genera Filicum. Chronica Co., Watham, Mass. 1-247 pp.
- Dyer, A. F. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigations. *In*: A. F. Dyer (Ed.). The Experimental Biology of Ferns, Academic Press, London, 253-305 pp.
- Fée, A. L. A. 1852. Genera Filicum. Berger-Levrault, Strasbourg. 1-138 pp.
- Holtum, R. E. 1969. Studies in the family Thelypteridaceae. The genero *Phegopteris*, *Pseudophegopteris* and *Macrothelypteris*. *Blumea*. **17** (1): 5-32.
- Holtum, R. E. 1971. Studies in the family Thelypteridaceae. III. A new system of genera in the old world. *Blumea* **19**: 17-52.
- Huckaby, C. S. & V. Raghavan. 1981a. The spore-germination patterns of thelypteroid ferns. *Amer. J. Bot.* **68**: 517-523.
- Huckaby, C. S. & V. Raghavan. 1981b. Photocontrol of spore germination in the fern *Thelypteris kunthii*. *Physiol. Pl. (Copenhagen)* **51**: 19-22.

- Iwatsuki, K. 1962. The trichomes of the thelypteroid ferns. *Memoirs of Botanical Institute the College of Science, University of Kyoto, Series B. XXIX. (1).* 103-110.
- Iwatsuki, K. 1963. Taxonomic studies of pteridophyta VII.9. A revision of the genus *Stegnogramma* emend. *Acta Phytotax. Geobot.* **19** (4-6): 112-126.
- Iwatsuki, K. 1964. Taxonomy of the Thelypteroid ferns, with special reference to the species of Japan and Adjacent regions. III. Classification. *Mem. Coll. Sc. Univ. Kyoto, Series B*, 31-40 pp.
- Kachroo, P. 1963. Observations on certain aspects of the development of the gametophyte of *Cyclosorus molliusculus* (Wall.) Ching. *J. Indian Bot. Soc.* **42**: 190-194.
- Kaulfuss, G. F. 1827. Das Wesen der Farne, besonders ihrer Fruchtheile, zugleich mit Rücksicht auf systematische Anordnung betrachtet, Erste Hälfte, Leipzig. 1-229 pp.
- Kny, L. 1869. Über den Bau und die Entwicklung des Farn-Antheridiums. *Monatsber. Königl. Preuss. Acad. Wiss. Berlin*: 416-431 p.
- Klekowski, E. J. Jr. 1969. Reproductive Biology of the pteridophyta III. A Study of the Blechnaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* **62**: 360-377.
- Knobloch, I. W. & D. S. Correll. 1962. Ferns and Ferns allies of Chihuahua, Mexico. Texas Research Foundation, Renner, Texas, USA. 198 p.
- Korpelainen, H. 1997. Comparison of gametophyte growth, sex determination and reproduction in three fern species from the tropics. *Nord. J. Bot. Copenhagen* **17**: 133-142.

- Kramer, K. U. & P. S. Green. 1990. Pteridophytes and Gymnosperms. Vol. 1. *In*: K. Kubitzki (ed). The families and genera of vascular plants. Berlin. 263-271pp.
- Lindsay, J. 1794. Account on the germination an raising of ferns from the seed. *Trans. Bot. J. Linn. Soc. London* **2**: 93-100.
- López, C. M., L. G. Márquez & S. Murguía. 1998. Técnicas para el desarrollo en Angiospermas. Laboratorio de Citología Vegetal, Depto. de Biología Facultad de Ciencias, UNAM. 116 pp.
- Lorea, F. & R. Riba. 1990. Guía para la Recolección y Preparación de ejemplares para Herbario de Pteridofitas. Consejo Nacional de la Flora de México. A.C., México. 1-18 pp.
- Magaña, A. M. A. 1992. Helechos de Tabasco: Univ. Aut. de Juárez. Centro de Investigaciones de Ciencias Biológicas Unidad Sierra, Univ. Aut. de Tabasco, Villahermosa, Tabasco.
- Mendoza, A., B. Pérez-García, I. Reyes Jaramillo & M. Ricci. 1996-1997. Desarrollo del gametófito de *Pteris berteriana* (Pteridaceae: Pterideae). *Rev. Biol. Trop.* **44**: 51-57.
- Mendoza, A., B. Pérez-García & R. Riba. 1999. Morfogénesis de la fase sexual del helecho *Arachniodes denticulata* (Dryopteridaceae). *Rev. Biol. Trop.* **47**: 791-797.
- Mendoza, A. 2001. Morfogénesis de la fase sexual de pteridofitas mexicanas familia Dryopteridaceae. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. 87 pp.
- Metsger, D. A. & S. C. Byers. 1999. Managing the modern herbarium, an interdisciplinary approach. Society for the Preservation of Natural History Collections, The Royal Ontario Museum, Centre for Biodiversity and Conservation Biology,

1-384 pp.

- Mickel, J. T. & J. Beitel. 1988. Pteridophyte flora of Oaxaca, Mexico. *Mem. New York Bot. Gard.* **46**: 1-568.
- Mickel, J. T. 1992. Pteridophytes. *In*: R. McVaugh (Ed.), *Flora Novo-Galiciana* **17**: 120-431.
- Miller, 1968. Fern gametophytes as experimental material. *Bot. Rev. (Lancaster)* **34**: 361-440.
- Mittra, D. & U. Sen, 1969. The gametophyte and young sporophyte of *Ampelopteris prolifera*. *Can. J. Bot.* **47**: 1953-1959.
- Momose, S. 1940. Studies on the gametophyte of ferns (XXV). On the characteristics of spores of ferns and their systematic merits. *J. Jap. Bot.* **16**: 139-162.
- Momose, S. 1941. Studies on the gametophyte of ferns XVI. On the prothallium of Thelypteroid ferns. *J. Jap. Bot.* **17**: 31-55.
- Momose, S. 1968. Prothallia of the ferns from Thailand. *South-east Asian Stud.* **6**: 73-167.
- Moran, R. C. & R. Riba. 1995. *Flora Mesoamericana, Psilotaceae a Salviniaceae*, Inst. de Biología, UNAM. México, D. F. **1**: 1-470.
- Morison, R. 1699. *Plantarum historiae universalis Oxoniensis pars tertia, post auctoris Mortem expleta et absoluta a Jacobo Bobartio*. Oxford: Theatro Scheldoniano.
- Morton, C. V. 1963. The classification of *Thelypteris*. *Amer. Fern J.* **53**: 149-154.

- Nayar, B. K. & P. Chandra. 1963. Observations on the morphology of the gametophyte of *Cyclosorus*. *J. Indian Bot. Soc.* **42**: 392-400.
- Nayar, B. K. & S. Kaur. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. *Phytomorphology* **19** (2): 179-188.
- Nayar, B. K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *Bot. Rev. (Lancaster)* **37**(3): 295-396.
- Nishida, M. 1965. Types of spore germination in the ferns. *J. Jap. Bot.* **40**(6): 161-171.
- Pacheco, L. & F. G. Lorea-Hernández. 1985. Claves para la identificación de los géneros de pteridophyta de Veracruz, México. *Biotica* **1** (2): 157-173.
- Palacios-Rios, M. 1992. Las Pteridofitas del estado de Veracruz, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 165-167, 307-320.
- Pérez-García, B. 1989. Morfogénesis de gametófitos de Cyatheaceae (Pteridophyta: Filicales). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 1-244 pp.
- Pérez-García, B., R. Riba & A. Mendoza. 1994. Observaciones del gametófito de *Thelypteris rhachiflexuosa* Riba (Thelypteridaceae). *Acta Bot. Mex.* **28**: 63-69.
- Pérez-García, B., Riba, R & A. R. Smith. 1999. Familia Thelypteridaceae. Flora del Bajío y regiones adyacentes. Instituto de Ecología A. C. México. 35 pp.
- Pérez-García & A. Mendoza. 2005. A Contribution to the Gametophyte Morphology and Development in Several Species of *Thelypteris*, Thelypteridaceae. *Amer. Fern. J.* **94**: 143-154.

- Pichi Sermolli, R. E. G. 1977. Tentamen pteridophytorum genera in taxonomicum ordinem redigendi. *Webbia* **31** (2): 313-512.
- Raghavan, V. 1989. Developmental biology of fern gametophytes. Cambridge University Press Cambridge, 361 pp.
- Reyes Jaramillo, I. & B. Pérez-García. 1991. Desarrollo de los gametófitos de *Thelypteris patens* (Sw.) Small y de *T. puberula* (Bak.) Morton var. *puberula*. *Acta Bot. Mex.* **28**: 63-69.
- Reyes Jaramillo, I., B. Pérez-García & A. Mendoza. 2003. Morfogénesis de los gametófitos de especies mexicanas de *Pleopeltis* (Polypodiaceae, subfamilia Pleopeltoideae). *Rev. Biol. Trop.* **51** (2): 321-322.
- Riba, R., L. Pacheco, A. Valdéz & Y. Sandoval. 1996. Pteridoflora del Estado de Morelos, México. Lista de familias, géneros y especies. *Acta Bot. Mex.* **37**: 45-65.
- Smith, A. R. 1971. Systematics of the neotropical species of *Thelypteris* section *Cyclosorus*. *Univ. Cal. Publ. Bot.* **59**: 1-143.
- Smith, A. R. 1973. The mexican species of *Thelypteris* subgenero *Amauropelta* and *Goniopteris*. *Amer. Fern J.* **63** (3): 116-127.
- Smith, A. R. 1980a. New taxa and combinations of pteridophytes from Chiapas, Mexico. *Amer. Fern J.* **70** (1): 15-27.
- Smith, A. R. 1980b. Taxonomy of *Thelypteris* subgenus *Steiropteris*, including *Glaphyopteris* (Pteridophyta). *Univ. Calif. Publ. Bot.* **76**: 1-38, t. 1-4.

- Smith, A. R. 1981. Pteridofites *In*: D. E. Breedlove (Ed.). Flora of Chiapas. Par. 2. California Acad. Sci. San Francisco California. 1-370 pp.
- Smith, A. R. 1995. Non-molecular phylogenetic hypotheses for ferns. *Amer. Fern J.* **85** (4): 101-122.
- Sousa, S. M. & E. F. Cabrera. 1983. Flora de Quintana Roo. Listados Florísticos de México Instituto de Biología. UNAM, México. 2: 1-100.
- Stokey, A. G. 1950. The contribution by the gametophyte to classification of the homosporous ferns. *Phytomorphology* **1**: 1-20.
- Stolze, R. G. 1981. Ferns and Fern Allies of Guatemala. Part II. Polypodiaceae. *Fieldiana Bot.* **6**: 1-522.
- Tigerschiöld, 1989a. Dehiscence of antheridia in thelypteroid ferns. *Nordic J. Bot.* **9**: 407-412.
- Tigerschiöld, E. 1989b. Scanning electron microscopy of gametophyte characters and antheridial opening in some Ceylonese species of Thelypteridaceae. *Nordic J. Bot.* **8**: 639-648.
- Tigerschiöld, E. 1990. Gametophytes of some Ceylonese species of Thelypteridaceae. *Nordic J. Bot.* **9**: 657-664.
- Tryon, R. M. & A. F. Tryon. 1982. Ferns and allied Plants, with special reference to Tropical America: Springer-Verlag. New York. i-xii, 1-857.
- Tryon, A. F. & B. Lugardon. 1991. Spores of the Pteridophyta: surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies; Springer-Verlag, New York. 1-

648 pp.

Van Cotthem, W. R. J. 1973. Stomatal types and systematic. *In*: A. C. Jeremy, J. A. Crabbe & Thomas (Edrs.). *The Phylogeny and classification of the ferns*. Academic. Nueva York. 59-71 pp.

Weinberg, R. S. & B. R. Voeller. 1969. Induction of fern spore germination, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **64**: 835-842.

Wood, C. C.F. L. S. 1973. Spore Variation in Thelypteridaceae. *In*: A. C. Jeremy & Crabbe, J. A. *Department of Botany, British Museum (Natural History), London*. Koeltz Scientific Books P. O. Box. **67**: 191-202.