# Polib@tánica

Núm. 26, pp. 101-111, ISSN 1405-2768; México, 2008

# CICLOS BIOLÓGICOS DE *ANEMIA MUENCHII* CHRIST (SCHIZAECEAE-PTERIDOPHYTA) Y *PITYROGRAMMA CALOMELANOS* (L.) LINK (ADIANTA CEAE-PTERIDOPHYTA)\*

# Ana María Escamilla-Aquino, Ma. de la Luz Arreguín-Sánchez\*\* y Rafael Fernández-Nava\*\*

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

#### **R**ESUMEN

Se describen los ciclos de vida de *Anemia* muenchii Christ y Pityrogramma calomelanos (L.) Link. El material fue colectado en un bosque mesófilo de montaña en Calintla, San Bartolo Tutotepec, estado de Hidalgo, México. Las esporas fueron sembradas en frascos de vidrio con cerámica (barro molido), piedra de río, tela de mosquitero y dos medios de cultivo (tierra y maquique) todo previamente esterilizado y cerrados con plástico y alambre de cobre. Ambos ciclos fueron típicamente isospóricos, con desarrollo del protalo tipo Ceratopterís en A. muenchii, el gametofito maduro fue de forma cordada con tricomas marginales unicelulares. En P. calomelanos el gametofito maduro también fue cordado, pero glabro, y ésta es la primera aportación que se tiene para el conocimiento de la biología del género. Así también, se recomienda esta especie para una posible explotación comercial, pues el desarrollo del ciclo y el crecimiento del esporofito fue rápido (142-168 días),

situación que no se presentó en *A. muenchii*, cuyo ciclo tardó casi un año y el crecimiento del esporofito fue muy lento.

**Palabras clave:** ciclo de vida, *Anemia*, *Pityrogramma*, desarrollo del gametofito, desarrollo del esporofito.

#### **A**BSTRACT

We describe the life cycles of Anemia muenchii Christ and Pityrogramma calomelanos (L.) Link. Study material was collected from montane rain forest in Calintla, San Bartolo Tutotepec, Hidalgo, Mexico. Spores were sown in glass flasks prepared in the following manner: the flasks were layered with ceramic, river stone, mosquito net and two culture media (soil and maquique), all previously sterilized and enclosed in plastic bags tied with copper wire.

Both cycles were typically isosporic, with prothallial development of the *Ceratopteris* type. In *A. muenchii* the mature

<sup>\*</sup>Proyecto parcialmente subsidiado por la dirección de estudios de Posgrado del Instituto Politécnico Nacional. CGPI 20071073.

<sup>\*\*</sup>Becarios de COFAA del Instituto Politécnico Nacional.

gametophyte was cordate with marginal unicellular tricomes. In *P. calomelanos* the mature gametophyte was also cordate but glabrous. This is the first contribution to the knowledge of the biology of this genus. We recommend this species for potential commercial exploitation, because life cycle development and sporophyte growth were rapid (142-168 days), whereas in *A. muenchii* life cycle development took almost one year, and sporophyte growth was very slow.

**Key words:** life cycle, *Anemia*, *Pityrogramma*, gametophyte development, sporophyte development.

#### INTRODUCCIÓN

En cuanto a los géneros estudiados en este trabajo, encontramos que el género *Anemia* cuenta con alrededor de 100 especies, la mayoría de Latinoamérica, diez de África y una del sudeste de la India. El género es más abundante en Brasil con 70 especies y un centro secundario en México con veinte especies. *A. muenchii* se distribuye en México (Veracruz, Oaxaca, Chiapas), y ahora también colectado en Hidalgo, lo que resultó ser un nuevo registro en cuanto a su distribución en el país. Hasta el momento no se le atribuye ningún uso (Mickel y Smith, 2004).

Pityrogramma es un género de aproximadamente 17 especies, la mayoría de América tropical, doce especies son americanas. En México prosperan cuatro especies, *P. calomelanos* es una especie terrestre que se distribuye en Chiapas, Colima, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz (Mickel y Smith,

2004). Hasta el momento no se encuentra en la literatura ningún uso, sin embargo, es frecuente apreciarlas como plantas de ornato en jardines familiares.

#### **O**BJETIVOS

Describir los ciclos de vida de *Anemia* muenchii y *Pityrogramma calomelanos* como una aportación al conocimiento de la biología de estos helechos y su posible cultivo.

Describir cada una de las fases del ciclo de *Anemia muenchii* y *Pityrogramma calomelanos* 

Comparar del desarrollo de los ciclos en dos medios de soporte.

#### **A**NTECEDENTES

Dentro de los trabajos que aportan datos sobre la biología de los géneros Anemia y Pityrogramma, tenemos para Anemia los artículos de Voeller y Weinberg (1969), en donde mencionan los factores externos que inducen la germinación de esporas de helechos, y presentan los resultados obtenidos sobre la influencia de la luz en la germinación de especies de ocho familias de helechos y la habilidad de las giberelinas para reemplazar el requerimiento de luz así como el efecto de varias condiciones externas en la germinación de Anemia phyllitidis (L.) Sw. Nester y Schedlbauer (1981) describen el desarrollo del gametofito en Anemia mexicana Klotzsch. Gemmrich (1981) realizó el estudio enzimático y el desarrollo de microcuerpos en la germinación de esporas de A. phyllitidis. Gemmrich (1982) estudió el contenido de lípidos, efectos de la luz v ácido giberílico en esporas de A. phyllitidis. Fechner y Schraudolf (1984) estudiaron el contenido

de polimerasa A, RNA, y la germinación inducida por luz roja en A. phyllitidis. Nester y Coolbaugh (1986) mencionaron algunos factores que influyen en la germinación y desarrollo de los gametofitos en A. phyllitidis y A. mexicana Klotzsch. Grill (1988, 1990, 1991) centra su atención en la inducción del anteridio por medio de hormonas y otras sustancias químicas como KNO, NO2, en luz azul, también describieron el desarrollo bidimensional de los gametofitos de A. phyllitidis. Grill y Schraudolf (1993) observaron la inducción en la actividad mitótica en el crecimiento del gametofito de A. phyllitidis. Hernández-Solano (2004) describió las fases del ciclo de vida de Adiantum concinnum Humb. et Bonpl. ex Willd. (Adiantaceae-Pteridophyta) y Anemia adiantifolia (L.) Sw. (Schizaeceae-Pteridophyta).

En cuanto a *Pityrogramma*, se tienen muy pocos trabajos como los de Davie (1951), quien estudió el desarrollo del anteridio en las Polypodiaceae donde se describe el desarrollo del anteridio de *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link, *Athyrium filix foemina* (L.) Roth, *Cyclosorus parasiticus* Farwell, *Cyathea medularis* (Forst.)Sw., *Dicksonia antarctica* Lab. y *Woodwardia radicans* (L.) E. Smith.

## **M**ETODOLOGÍA

Trabajo de campo. La colecta se realizó en Calintla, San Bartolo Tutotepec, estado de Hidalgo el 17 de septiembre de 2001.

Trabajo de laboratorio. La siembra de esporas y el seguimiento de los ciclos de vida se llevaron a cabo de acuerdo a la técnica de Montoya-Casimiro *et al.* (2000), en dos medios de cultivo, maquique y tierra de hoja.

En las descripciones se mencionan las medidas máximas y mínimas y entre paréntesis las medias. Las fotomicrografías se tomaron en un microscopio estereoscópico marca STEMI SV 11 ZEISS, cámara digital SONY DXC 151 (640 x 480 líneas) y en un microscopio compuesto AXIOPHOT 1 ZEISS con cámara digital ZUS-47. El programa para procesarla corresponde a K5-400 ZEISS.

#### RESULTADOS

Descripción del ciclo de vida de *Anemia muenchii* Christ (lámina 1 A-K).

ESPORAS. Son de tipo trilete, de color amarillo claro, ornamentación estriada de forma triangular, en vista proximal de 71.1 (75.4) 81.2 μm de largo por 70.2 (73.7) 78.7 μm de ancho; exina de 11.2 μm de grosor, nexina de 5.3 μm de grosor, sexina de 5.9 μm de grosor (lámina 1, A). Las esporas se sembraron el 4 de marzo de 2002.

GERMINACIÓN. Se inició a los 30 días después de la siembra, siguiendo el patrón tipo Anemia (Lámina 1, B).

FASE FILAMENTOSA. A los 30 días también se observaron filamentos formados de nueve a 13 células, los filamentos miden de 314 (556.7) 637.5 μm de largo por 76.5 (89.2) 110.5 μm de ancho, se observaron rizoides unicelulares de 127 (180.5) 255 μm de largo. En la fotomicrografía se aprecia parte de la espora, lo que indica un desarrollo exospórico del gametofito. También a los 51 días se apreciaron filamentos de 16 a 20 células (lámina 1, C).

FASE LAMINAR. A los 51 días se observaron gametofitos laminares en forma

espatulada de 637.5  $\mu$ m de largo, 255  $\mu$ m de ancho, constituido por 23 células y un rizoide de 255  $\mu$ m de largo (lámina 1, D). A los 97 días se observaron gametofitos con escotadura lateral tipo *Ceratopteris* (lámina 1,E) y tricomas marginales unicelulares de 36  $\mu$ m de largo (lámina 1, F), los gametofitos tuvieron las siguientes dimensiones 1.2 (1.7) 2 mm de largo por 1 (1.5) 2 mm y rizoides de 1 (1.4) 2 mm de largo (lámina 1, E).

FASE CORDADA. A los 182 días (lámina 1, G) se observó que continúa el desarrollo del protalo de tipo Ceratopteris en donde el gametofito maduro ya toma una forma cordado-alada, presenta dos alas simétricas, la escotadura se observa en la parte media; sus medidas son 2.6 (3.2) 4 mm de largo por 3 (4.5) 5.4 mm de ancho, los rizoides miden 1 (2.1) 4 mm de largo, la escotadura es de 0.2 (0.3) 0.4mm de largo y de la parte basal de la escotadura a la parte basal del protalo mide 1 (1.5) 2 mm de largo, los tricomas aún se observan alrededor del gametofito. A los 253 días se observan anteridios y arquegonios maduros, los anteridios son estructuras esféricas abultadas que miden de 38 a 55 µm de diámetro (lámina 1, H), y los arquegonios son alargados de 147 a 168 µm de largo por 7 a 8.4 µm en la parte más ancha y con seis células del canal del cuello (lámina 1, I).

FASE ESPOROFÍTICA. A los 323 días se apreciaron dos esporofitos jóvenes sobre un gametofito adulto que empieza a reabsorberse. El esporofito joven presenta una hoja flabelada con tricomas poco visibles, se aprecia la nervación dicotómica (lámina 1, J).

El esporofito adulto presenta un rizoma horizontal de 3 a 5 mm de diámetro, fron-

des erectos de 7 a 23 cm de altura; hoja de contorno deltado oblongo, pinnada corácea, glabra; pinna 2 a 7 pares opuestos o subopuestos; frondes fértiles más grandes en relación a las estériles de 11 a 37 cm de largo (lámina 1, K). Es la primera vez que esta planta se colecta en el estado de Hidalgo, por lo que es un nuevo registro para México.

Descripción del ciclo de vida de *Pityro-gramma calomelanos* (L.) Link (lámina 2 A-L).

ESPORA. Con ornamentación estriadareticulada de color café rojizo, sus medidas en vista proximal son 42.3 (50.5) 55 μm de largo por 38 (42.7) 47.3 μm de ancho, exina de 3.3 μm (lámina 2, A). Las esporas se sembraron el 4 de marzo del 2002.

GERMINACIÓN. Se observó entre los nueve y 16 días después de la siembra, siguiendo el patrón tipo *Vittaria* (lámina 2, B).

FASE FILAMENTOSA. A los 16 días se observaron filamentos formados por nueve a 12 células de 197 (225) 255  $\mu$ m largo, por 76.5 (85) 93.5  $\mu$ m de ancho, se aprecia un rizoide unicelular de 255  $\mu$ m de largo (lámina 2, C).

FASE LAMINAR. Comenzó a los 30 días, se observó un gametofito en forma espatulada que midió 595  $\mu$ m largo por 297  $\mu$ m con 46 células y con rizoides de 680  $\mu$ m de largo (lámina 2, D). A los 42 días se observaron gametofitos laminares con escotadura lateral lo que indica desarrollo tipo *Ceratopteris* con anteridios inmaduros, estos gametofitos midieron 1 (1.4) 1.8 mm de largo, por 1 (1.4) 1.8 mm de ancho, los rizoides de 1.5 (1.75) 2 mm de largo (lámina 2, E).

En la fotomicrografía de la lámina 2, F, se observa el meristemo que origina las células que forman la escotadura.

FASE CORDADA. A los 63 días se apreciaron protalos maduros cordados (lámina 2, G) donde se encontraron anteridios maduros, el gametofito midió 1.5 (2.2) 3 mm de largo por 1 (2.2) 3 mm de ancho, los rizoides de 1.5 (2.5) 4 mm de largo, la escotadura de 0.3 (0.6) 1 mm de ancho y de la parte basal de la escotadura a la parte basal del protalo mide 1 (1.4) 1.8 mm de largo. Se observaron anteridios de forma esférica que miden de 46.5 a 55 μm de diámetro con 18 a 19 anterozoides (lámina 2, H) los arquegonios maduros se observaron a los 105 días, son de forma alargada de 55 a 93 μm largo por 25 a 42 μm de ancho (lámina 2, I).

FASE ESPOROFÍTICA. Se observó a los 142 días un esporofito joven, desarrollándose sobre un gametofito maduro. El esporofito es de forma linear con nervadura dicotómica (lámina 2, J). A los 168 días se observaron dos esporofitos jóvenes, desarrollándose sobre un gametofito maduro (lámina 2, K).

El esporofito adulto tiene un rizoma erecto, cubierto por escamas lanceoladas, de 2 a 5 mm de largo por 0.3 a 0.8 mm de ancho, de color castaño claro a oscuro, pinnas 30 a 40 pares por lámina, de contorno lanceolar, de 4 a 15 cm de largo por 1.5 a 6 cm de ancho, esporangios alargados a lo largo de las venas que aparecen como gotas negras entre la farina blanca. (lámina 2, L).

#### **D**ISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Al comparar los datos obtenidos en este trabajo con los de otros autores que han estudiado al género *Anemia*, encontramos lo siguiente (tabla 1):

Se han estudiado los ciclos de vida de A. mexicana, A. phyllitidis y A. adiantifolia; los tiempos de germinación varían de tres a 52 días, la fase filamentosa se presentó entre los seis a 63 días, la fase espatulada tuvo lugar de los nueve a los 105 días, la fase cordada de los 15 a los 182 días. En todas las especies hasta ahora estudiadas se presentaron tricomas en el gametofito. Los gametangios masculinos se desarrollaron entre los ocho a los 253 días. Los gametangios femeninos entre 18 y 253 días, los medios de cultivo fueron los de Thompson's, inducidos por giberelinas y soportes naturales como maquique y tierra de hoja. Los esporofitos se desarrollaron entre los 120 a 323 días.

De la comparación que se realizó en la tabla 1, podemos inferir lo siguiente: en medios naturales el desarrollo de todas las fases fue más lento. En el medio inducido por giberelinas no se obtuvo esporofito. En el trabajo de A. adiantifolia elaborado por Hernández-Solano (2004), cita la presencia de diferentes formas de gametofitos y dependiendo de la misma son unisexuados o bisexuados; también obtuvo apogamia en el ciclo de esta especie. Lo descrito por Hernández-Solano (2004) no se ha encontrado en otras especies de Anemia hasta ahora estudiadas. Esta autora menciona que el desarrollo del ciclo en tierra fue más rápido que en maquique. En A. muenchii donde se utilizó como soporte el maquique, no se produjo la fase cordada, y ahí se detuvo el ciclo de vida, y después de año y medio no se desarrolló el esporofito.

En la tabla 2 se muestra la comparación del desarrollo del ciclo de *A. muenchii* en tierra

y en maquique; en este último se detuvo el ciclo a los 105 días y no se desarrollaron las fases siguientes, en cambio en tierra se obtuvieron todas las fases.

En cuanto a *Pityrogramma calomelanos*, no se tiene información sobre el seguimiento del ciclo de vida del género, de tal forma que ésta sería la primera aportación al respecto.

En la tabla 3 se muestran los tiempos de desarrollo de cada fase en los dos tipos de soporte, en el caso donde se utilizó tierra el ciclo fue más rápido y un poco más lento en maquique. El ciclo de vida resultó ser el típico isospórico.

Esta especie, por tener un desarrollo rápido y desarrollarse en los dos soportes, se recomienda para un posible cultivo en invernadero, además que el crecimiento del esporofito adulto fue rápido.

## **A**GRADECIMIENTOS

Se agradece al departamento de Microscopía de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas por la ayuda en las fotomicrografías.

## LITERATURA CITADA

- Davie, J.H., 1951. "The development of the antheridium in the Polypodiaceae". *Amer. J. Bot.*, **38**: 621-628.
- Fechner, A & H. Schraudo1f, 1984. "Translation and transcription in imbibed and germination spores of *Anemia phyllitidis* (L) Sw". *J. Pl. Physiol.*, **161**: 451-458.

- Gemmrich, A.R., 1981. "Ultrastructural and enzymatic studies on the development of microbodies in germinating spores of the *Anemia phyllitidis*". *J. Pl. Physio1.*, **102**: 69-80.
- Gernmrich, A.R., 1982. "Effect of red light and giberellic acid on lipid metabolism in germinating spores of the fern *Anemia phyllitidis*". *J. Pl. Physiol.*, **54**: 58-62.
- Grill, R. 1988. "Photocontrol of gibberellininduced precocious antheridium fonnation in the fern *Anemia phyllitidis* (L.) Sw.". *J. Pl. Physiol.*, **133**: 381-384.
- 1990. "Effects of nitrate on precocious anteridium formation in blue light in the fern *Anemia phyllitidis* (L.) Sw.". *J. Pl. Physiol.*, **136**: 710-715.
- , 1991. "Connection between abscissic acid and nitrate-induced inhibition of blue light-mediated antheridiogenesis in the fern *Anemia phyllitidis* (L.) Sw.". *J. Pl. Physiol.*, **138**: 629-633.
- Grill, R. & H. Schraudolf, 1993. "Phytochrome medianted mitotic activity an induction of two-dimensional growth in gametophytes of *Anemia phyllitidis* (L.) Sw.". *J. Pl. Physiol.*, **141**: 457-462.
- Hernández-Solano J., 2004. Descripción de las fases del ciclo de vida de Adiantum concinnum Humb. et Blonpl. ex Willd. (Adiantaceae-Pteridophyta y Anemia adiantifolia (Schizaceae-Pterido-

- *phyta*). Tesis profesional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. 52 pp.
- Mickel, J.T. & A.R. Smith, 2004. "The pteridophytes of Mexico". Mem. N.Y. *Bot. Gard.*, **88**: 48-60; 463-466.
- Montoya-Casimiro, M.C., R. Varela-Álvarez, S, Pérez-Hernández y M. L. Arreguín-Sánchez, 2000. "Ciclos biológicos de *Blechnum occidentale* L. var. *occidentale* (Blechnaceae-Pteridophyta) y *Thelypteris resinifera* (Desv.) Proctor (Thelypteridaceae-Pteridophyta)". *An. esc. Nal. Cienc. biol.*, **46**(3): 317-339.
- Nester, J.E. & R. Coolbaugh, 1986. "Factors influencing spore germination and early gametophyte development in *Anemia mexicana* and *Anemia phyllitidis*". *J. Pl. Physiol.*, **82**: 230-235.
- Nester J.E. & M.D. Schedlbauer, 1981. "Gametophyte development in *Anemia mexicana* Klotzsch". *Bot. Gaz.*, **142**(2): 242-250.
- Voller, B.R. & Weinberg, E.S., 1969. "External factors inducing germination of fern spores". *Amer. Fern J.*, **59**(4): 153-167.

Tabla 1. Comparación del desarrollo del gametofito de diferentes especies de Anemia.

Autor	Nester y Schebl- bauer (1981)	Grill (1988)	Hemández- Solano (2004)	Hernández- Solano (2004)	Escamilla (2008)	Escamilla (2008)
Otras características	Tricomas margen del gametofito	Presencia tricomas en gametofito	Presencia tricomas en gametofito	Presencia tricomas en gametofito	Presencia tricomas en gametofito y esporofito	N.d
Apoga- mia	N.m.	N.m.	En un tipo de gameto- fito	En un tipo de gameto- fito	No presenta	N.d
Gametofitos uni o bise- xuados	Dos gametofitos unisexuados y un bisexuado	N.m.	Cuatro gametofitos unisexuados y un bisexuado	Cuatro gametofitos unisexuados y un bisexuado	Gametofitos bisexuados	N.d
Formas del gametofito	cordados	N.m.	Cordado (masc.) Oblongo-alargado- semicordado (bisexuado) Ovado-cordado (fem.) y cordado apogámico (masc.)	Los 5 anteriores	Cordados	N.d
Medio de cultivo	Micro- elemen- tos de Tomp- son	Gibere- linas	Тієтта	Maqui- que	Тієта	Maqui- que
Esporo- fitos (días)	120	N.m.	210	260	323	p.N
Game- tangios Ant/Arq	18/18	35/N.m.	0L/0L	08/08	253/253	p.N
Presencia cia trico- mas	Sí en el margen	N.m.	Sí, margen gameto- fíto	Sí, margen gameto- fito	Si	p.N
Fase corda- dada (días)	15 a 18	N.m.	09	110	182	p.N
Fase espatu- lada (días)	6	N.m.	48	98	51	105
Fase fila- mentosa (días)	9	N.m.	27	54	30	63
Tiem- po de germi- nación (días)	3 a 4	5	27	52	30	51
Esporas	47 a 71	N.m.	63 X 62	63 X 62	75 X 74	75 X 74
Especie	A. mexi- cana	A. phylli- tidis	A. adianti- folia	A. adianti- folia	A. muen- chii	A. muen- chii

**Tabla 2.** Desarrollo de *Anemia muenchii* en diferentes sustratos.

Tierra		Maquique		
Días	Fase	Días	Fase	
30	Germinación	51	Germinación	
30	Filamentosa	63	Filamentosa	
51	Espatulada	105	Espatulada	
182	Gametofítica	No se obtuvieron	Gametofitica	
323	Esporofitica	No se obtuvieron	Esporofitica	

**Tabla 3.** Desarrollo de *Pityrogramma calomelanos* en diferentes sustratos.

Tierra		Maquique		
Días	Fase	Días	Fase	
16	Germinación	20	Germinación	
16	Filamentosa	30	Filamentosa	
30	Espatulada	63	Espatulada	
63	Gametofitica	77	Gametofitica	
142	Esporofitica	168	Esporofítica	

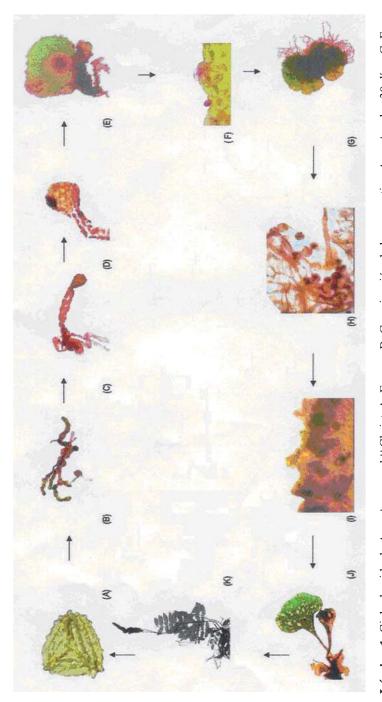
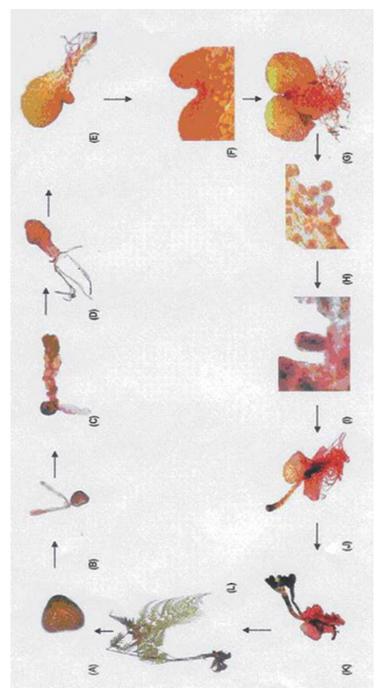


Lámina 1. Ciclo de vida de Anemia muenchii Christ. A. Espora, B. Germinación de la espora tipo Anemia a los 30 días, C. Fase filamentosa a los 51 días, D. Fase laminar espatulada a los 51 días, E. Fase laminar con escotadura lateral lo que muestra el desarrollo del gametofito tipo Ceratopteris a los 97 días, F. Tricomas marginales a los 97 días, G. Fase cordada-alada a los 182 días, H. Anteridios maduros a los 253 días, I. Arquegonios maduros a los 253 días, J. Esporofito joven a los 323 días, K. Esporofito.



16 días, C. Fase filamentosa a los 16 días, D. Fase espatulada a los 30 días, E. Fase laminar con escotadura lateral a los 42 días, F. Detalle del meristemo que origina las células de la escotadura, G. Fase cordada a los 63 días, H. Anteridios a los 63 días, I. Arquegonios a los 105 días, J. Esporofito inmaduro a los 142 días, K. Esporofito joven a los 168 días, L. Esporofito maduro. Lámina 2. Ciclo de vida de Pityrogramma calomelanos (L.) Link. A. Espora, B. Germinación de la espora tipo Vittaria a los