

DESARROLLO DEL ESPORANGIO EN *Pecluma eurybasis* var. *villosa* (POLYPODIACEAE)*

*Luz Amparo Triana-Moreno*¹

Resumen

Con el propósito de explorar caracteres micromorfológicos en *Pecluma eurybasis* var. *villosa* (Polypodiaceae) se observó el desarrollo del esporangio y de sus estructuras acompañantes, haciendo uso de las técnicas de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de transmisión (MET). Se identificó la formación de un tapete uniestratificado y de parafisos obtusos no claviformes como caracteres potencialmente importantes en la sistemática del género.

Palabras clave: esporangio, microscopía electrónica de transmisión (MET), microscopía óptica (MO), *Pecluma*, Polypodiaceae.

SPORANGIUM DEVELOPMENT IN *Pecluma eurybasis* var. *villosa* (POLYPODIACEAE)

Abstract

In order to explore micromorphologic characters in *Pecluma eurybasis* var. *villosa* (Polypodiaceae), the sporangium development and its accompanying structures were observed, using optical microscopy (OM) and transmission electron microscopy (TEM). The formation of a tapetum with a single layer of cells and non-clavate paraphyses with obtuse tips were identified as potentially important characters in the systematics of the genus.

Key words: sporangium, transmission electron microscopy (TEM), optical microscopy (OM), *Pecluma*, Polypodiaceae.

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de microscopía electrónica de transmisión (MET) han sido aplicadas exitosamente en el estudio de varios aspectos de la biología de los helechos, como el desarrollo de tejidos (EVERT *et al.*, 1989), el desarrollo del gametofito (MAKGOMOL & SHEFFIELD, 2001), la morfogénesis del esporofito, tanto de estructuras vegetativas (APOSTOLAKOS & GALATIS, 1999) como reproductivas (BILDERBACK, 1978), la asociación con micorrizas (SCHMID & OBERWINKLER, 1995) y la palinología (GIUDICE *et al.*, 2000), estudios en los que la información obtenida resulta novedosa y útil, ya que ponen de manifiesto el alto potencial de resolución de conflictos de diversa índole por la aplicación de esta técnica, entre ellos, posibles problemas taxonómicos y sistemáticos.

* FR: 12-IV-2011. FA: 14-III-2012.

¹ Universidad de Caldas, Departamento de Ciencias Biológicas, Manizales, Colombia. luz.triana@ucaldas.edu.co

El género *Pecluma* M.G Price (Polypodiaceae) está compuesto por 37 especies exclusivamente neotropicales, de las cuales 17 están presentes en Colombia (TRIANA-MORENO, 2009; 2011). En trabajos clásicos sus especies se encontraban circunscritas dentro del género *Polypodium*, conformando el complejo *pectinatum-plumula*, ampliamente revisado por EVANS (1968), quien, entre otros aspectos, exploró la morfología externa y algunos caracteres micromorfológicos de las especies. El género presenta una combinación de caracteres que lo diferencian fácilmente de los demás géneros de la familia, sin embargo, su posición sistemática es poco precisa (HENNIPMAN *et al.*, 1990) y las relaciones interespecíficas sólo han sido establecidas de manera preliminar con base en caracteres morfológicos externos del esporofito de las especies que crecen en Colombia (TRIANA-MORENO, 2009).

Las especies de *Pecluma* son plantas generalmente epífitas o rupícolas, con frondas pectinadas, rizomas escamosos y soros en posición abaxial, redondos y sin indusio, conformados por esporangios de tipo polipodiáceo, caracteres por los cuales suele confundirse con los helechos grammitoides; WILSON (1959a) estableció que, una diferencia fundamental entre estas dos entidades radica en la presencia de dos filas de células en los pedicelos de los esporangios de *Pecluma*, mientras que los esporangios de los helechos grammitoides presentan pedicelos uniseriados; otros caracteres sorales que contribuyen a la diferenciación del género *Pecluma* son la presencia de parafisos receptaculares claviformes y de esporas elipsoides, monoletes, blanquecinas o amarillas.

Pecluma eurybasis (C. Chr.) M.G. Price es una especie muy variable morfológicamente, pues en ella es posible encontrar diferencias en la densidad del indumento y en algunos aspectos de la arquitectura foliar, como la margen y la venación, así como la forma, la disposición y el número de pinnas. Esta variabilidad ha derivado en la descripción de taxones infraespecíficos, de modo tal que la especie actualmente cuenta con tres variedades ampliamente distribuidas, entre ellas *P. eurybasis* var. *villosa* (A.M. Evans) Lellinger, que se caracteriza por presentar lámina glabra, raquis cubierto con pelos simples, y segmentos crenados con ápice agudo.

Pecluma eurybasis var. *villosa* es muy similar a *P. perpinnata* M. Kessler & A.R. Sm., que se distribuye en Bolivia (KESSLER & SMITH, 2005). También se asemeja a *P. paradiseae* (Langsd. & Fisch.) M.G. Price, a *P. robusta* (Fée) M. Kessler & A.R. Sm. y a *P. divaricata* (E. Fourn) Mickel & Beitel. *P. paradiseae* se diferencia por la abundante pubescencia de la lámina, *P. robusta* por la presencia de pelos circunsores y abundantes pelos ctenoides en el raquis, y *P. divaricata* se diferencia porque sus láminas nunca tienen margen crenada (TRIANA-MORENO, 2009).

En un análisis filogenético preliminar para *Pecluma*, basado en caracteres morfológicos de las 17 especies colombianas (TRIANA-MORENO, 2009), se encontró un parentesco cercano entre *P. eurybasis* var. *villosa* y *P. curvans* (Mett.) M.G. Price; no obstante, esta relación está definida por caracteres homoplásicos, y obtuvo un bajo valor de soporte.

Debido a que se requiere mejorar la resolución en la sistemática del género por medio de la inclusión de las especies restantes y de caracteres adicionales, se desarrolló este estudio con el propósito de explorar caracteres micromorfológicos, no convencionales en el género *Pecluma*, para aportar información adicional que en

el futuro contribuya a aclarar las diferencias con los grupos afines y a establecer las relaciones filogenéticas intra e intergenéricas.

MÉTODOS

Un ejemplar de *Pecluma eurybasis* var. *villosa* fue colectado en el cerro de Monserrate, en los alrededores de Bogotá a 3100 m de altitud, bajo el número *Triana-Moreno* 247, depositado en el Herbario Nacional Colombiano (COL). En este espécimen se seleccionaron soros en diferentes estados de desarrollo, los cuales se trataron tomando como base el protocolo de fijación descrito por ROMERO DE PÉREZ (2003); inicialmente el material fresco fue fijado al vacío en glutaraldehído al 2.5% en amortiguador de Millonig pH 7.2; posteriormente fue lavado en amortiguador y postfijado con tetróxido de osmio al 1%; seguido de un lavado en la misma solución amortiguadora, deshidratado en concentraciones ascendentes de etanol y preembibido en una mezcla de epón-araldita-óxido de propileno; finalmente fue embebido en una mezcla de epón-araldita y polimerizado a 60°C durante 48 horas.

Las secciones semifinas de ca. 0.2 μm fueron cortadas en un ultramicrotomo, y se colorearon con azul de toluidina; estas secciones se observaron y se fotografiaron con un aumento de 200X, 400X Y 1000X en un microscopio óptico. Se identificaron y se describieron algunas etapas del desarrollo de los esporangios según la secuencia ontogenética descrita por WILSON (1958).

RESULTADOS

Los soros de *P. eurybasis* var. *villosa* presentan un desarrollo mixto de los esporangios, es decir, en un soro se encuentran esporangios en diferentes etapas de desarrollo. En la primera etapa de formación de los esporangios, una célula del receptáculo se segmenta por la formación de una pared inclinada (Fig. 1, A) y por la formación de una pared transversal (Fig. 1, B); estas divisiones dan lugar a la polarización del primordio del esporangio, en el cual es posible reconocer el “segmento 0”, que corresponde a la célula basal, y la resultante en la porción distal será la “célula madre”, a partir de la cual las siguientes divisiones dan lugar a los segmentos capsulares; el “segmento I” ocurre por la formación de una pared oblicua (Fig. 1, C) y el “segmento II” por la formación de otra pared casi perpendicular a la anterior (Fig. 1, D). En esta etapa la célula madre ocupa la posición apical del primordio esporangial y tiene forma convexa (Fig. 1, m); dos nuevas divisiones en ella dan lugar a la formación del “segmento III” y del “segmento IV”, con lo cual la célula madre queda encerrada por sus células hijas.

El desarrollo del esporangio continúa con nuevas divisiones de las células del segmento I para formar el pedicelo, de los segmentos II, III y IV para formar la cápsula esporangial y las células de anillo (Fig. 2), y de la célula madre para formar el tapete uniestratificado que reviste internamente la cápsula y que rodea la célula esporógena; esta relación estrecha entre las células de la cápsula, el tapete y las esporas en formación se observa en la Fig. 3.

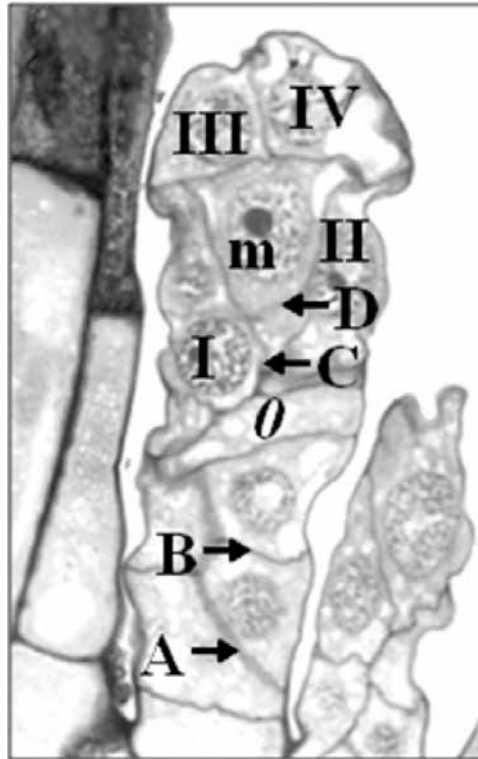


Figura 1. Formación de los segmentos capsulares. 400X.

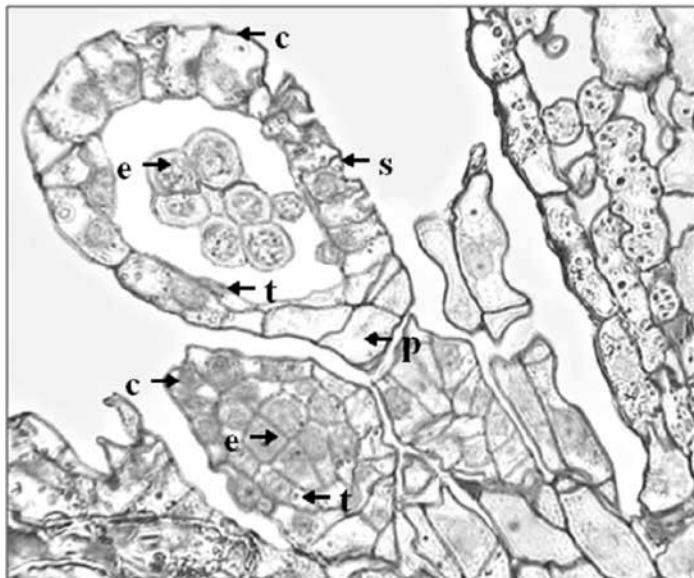


Figura 2. Diferenciación del pedicelo (p), la cápsula (c), las región estomial (s) y el tapete (t), e inicio de la formación de esporas (e). 400X.

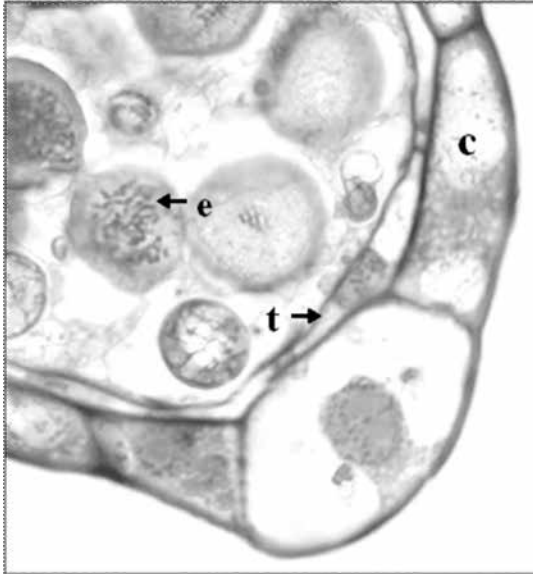


Figura 3. Observación de las células de la cápsula (c), el tapete uniestratificado (t) y las esporas en formación (e). 1000X.

Antes del engrosamiento diferencial característico del anillo es posible reconocer la región estomial por la presencia de un continuo de células más pequeñas. Los esporangios fértiles se encuentran en ocasiones entremezclados con esporangios abortados y con parafisos uniseriados de ápice obtuso, formados a partir de divisiones transversales (Fig. 4).

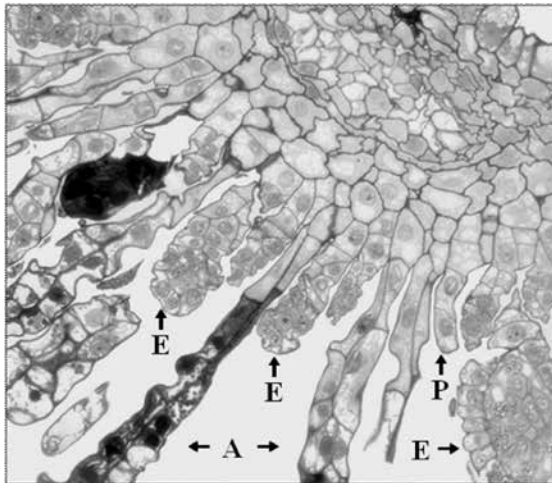


Figura 4. Esporangios fértiles en diferentes etapas de desarrollo (E), entremezclados con esporangios abortados (A) y con parafisos uniseriados de ápice obtuso (P). 200X.

DISCUSIÓN

WILSON (1959b) enfatiza en la importancia taxonómica del pedicelo formado por dos filas de células para reconocer a la familia Polypodiaceae; en particular, establece esta diferencia por la comparación de dos especies de *Pecluma* con una especie grammitidoide (WILSON, 1959a), en lo cual EVANS (1968) y PRICE (1983) se apoyan para establecer los caracteres distintivos del género. Los resultados obtenidos por TRIANA-MORENO (2009) son coherentes con lo anterior, al sustentar la monofilia de las especies grammitidoideas incluidas en su estudio por medio del número de filas de células del pedicelo esporangial, entre otros caracteres.

Si bien las células del anillo en esporangios polipodiáceos no adquieren el característico engrosamiento diferencial de sus paredes sino hasta cuando las esporas han alcanzado su madurez (WILSON, 1958), en los esporangios en formación de *P. eurybasis* var. *villosa* es fácil reconocer la región estomial por la presencia de células de menor tamaño.

Según EVANS (1968), *Pecluma eurybasis* var. *villosa* presenta parafisos claviformes, sin embargo, en este estudio se encontró que los parafisos no presentan el engrosamiento apical de una estructura estrictamente claviforme, a pesar de presentar ápice obtuso. Este carácter merece estudiarse con mayor atención, a fin de verificar si el tipo de ápice de los parafisos contribuiría a sustentar relaciones evolutivas dentro del género.

La formación de los segmentos 0 a IV en las etapas iniciales del desarrollo esporangial de *P. eurybasis* var. *villosa* concuerda con el esquema presentado por WILSON (1958) para el género *Phlebodium*, excepto en la formación de un tapete uniestratificado en *Pecluma*. De este modo, el número de estratos celulares que conforman el tapete se perfila como un carácter potencialmente informativo, que contribuiría a esclarecer relaciones intergenéricas en posteriores análisis filogenéticos.

AGRADECIMIENTOS

A Gloria Romero de Pérez, por brindar la orientación necesaria con respecto a las técnicas de microscopía, y por facilitar el acceso a los laboratorios de Microscopía Electrónica de Transmisión y de Microscopía Óptica de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. A José Murillo por su asesoría en materia pteridológica. A Simón Vieira por la edición de las imágenes. A Aniceto Mendoza por sus acertados comentarios para mejorar el manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- APOSTOLAKOS, P. & B. GALATIS. 1999. - Microtubule and actin filament organization during stomatal morphogenesis in the fern *Asplenium nidus*. II. Guard cells. *New Phytologist* 141: 209-223.
- BILDERBACK, D.E. 1978. - The ultrastructure of the developing sorophore of *Marsilea vestita*. *American Journal of Botany* 65: 638-645.
- EVANS, A.M. 1968. - Interspecific relationships in the *Polypodium pectinatum-plumula* complex. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 55: 193-293.

- EVERT, R.F., R.D. WARMBRODT & S.E. EICHHORN. 1989. - Sieve-pore development in some leptosporangiate ferns. *American Journal of Botany* 76: 1404-1413.
- GIUDICE, G.E., M.A. MORBELLI & M.R. PIÑEIRO. 2000. - Palynological analysis of *Doryopteris* species (Pteridaceae/Pteridophyta) from north-west Argentina. *Grana* 39: 279-287.
- HENNIPMAN, E., P. VELDHOEN, K.U. KRAMER & M.G. PRICE. 1990. - Polypodiaceae. pp. 203-230. En: KRAMER, K.U. & P.S. GREEN (Eds. vol.) Pteridophytes and Gymnosperms. En: KUBITZKI, K. (Ed. gral.) The families and genera of vascular plants. Vol 1. Springer-Verlag. Berlin.
- KESSLER, M. & A.R. SMITH. 2005. - Seven new species, 13 new combinations, and one new name of Polypodiaceae from Bolivia. *Candollea* 60: 271-288.
- MAKGOMOL, K. & E. SHEFFIELD. 2001. - Gametophyte morphology and ultrastructure of the extremely deep shade fern, *Trichomanes speciosum*. *New Phytologist* 151: 243-255.
- PRICE, M.G. 1983. - *Pecluma*, a new tropical American fern genus. *American Fern Journal* 73:109-116.
- ROMERO DE PÉREZ, G. 2003. - Microscopía electrónica de transmisión (MET) área biomédica: teoría y práctica. Academia colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales. Colección Julio Carrizosa Valenzuela N° 12. Bogotá.
- SCHMID, E. & F. OBERWINKLER. 1995. - A light- and electron-microscopic study on a vesicular-arbuscular host-fungus interaction in gametophytes and young sporophytes of the Gleicheniaceae (Filicales). *New Phytologist* 129: 317-324.
- TRIANA-MORENO, L.A. 2009. - El género *Pecluma* (Polypodiaceae) en Colombia. Aproximación filogenética y revisión taxonómica. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- TRIANA-MORENO, L.A. 2011. - Novedades en *Pecluma* (Polypodiaceae). *Brittonia* 63: 62-65.
- WILSON, K.A. 1958. - Ontogeny of the sporangium of *Phlebodium* (*Polypodium*) *aureum*. *American Journal of Botany* 45: 483-491.
- WILSON, K.A. 1959a. - The sporangia of three problematic species of *Polypodium*. *American Fern Journal* 49:147-151.
- WILSON, K.A. 1959b. - Sporangia of the fern genera allied with *Polypodium* and *Vittaria*. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University* 185: 97-127.