



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS**



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**MORFOGÉNESIS DE CUATRO ESPECIES DEL COMPLEJO CHEILANTHOIDE EN
RESPUESTA A DIFERENTES CALIDADES DE LUZ**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

ALEXA PÉREZ VITAL

CODIRECTORAS

DRA. KARLA MARÍA AGUILAR DORANTES

DRA. MARIANA ROJAS ARÉCHIGA

CUERNAVACA, MORELOS

NOVIEMBRE, 2023

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Karla María Aguilar Dorantes por confiar en mi para realizar este proyecto, por sus enseñanzas, por su apoyo incondicional, por la paciencia, por la dedicación y por siempre motivarme a seguir adelante.

A la Dra. Mariana Rojas Aréchiga por recibirme de la mejor manera en su laboratorio, por guiarme en la elaboración del experimento, por la paciencia y por el apoyo incondicional que siempre me brindó.

A mi comité de sínodos, M. en C. Alejandro Flores Morales, Dra. Sandra Milena Ospina Garcés y M. en C. Elda Catalina Flores Galván gracias por su tiempo, por su compromiso, por su apoyo, por sus comentarios y sugerencias para la mejora de este proyecto.

Al Dr. Leopoldo Gómez Caudillo por su tiempo, por apoyarme y orientarme en la parte estadística de este proyecto.

Al Dr. Luis Vidal Pedrero López por su apoyo y orientación en la toma de fotografías para este proyecto.

A la Biól. Evelin Betsabet Castrejón Alfaro por la orientación y el apoyo brindado en campo, siempre de la mejor manera.

A mi amiga Dulce Solano Abarca por brindarme su apoyo y motivación para seguir adelante en este proyecto.

Al Laboratorio de Genética y Ecología del Instituto de Ecología de la UNAM por permitirme llevar a cabo este proyecto en sus instalaciones bajo la asesoría de la Dra. Mariana Rojas Aréchiga.

Al Laboratorio de Ecología Fisiológica del Instituto de Ecología de la UNAM a cargo de la Dra. Alma Orozco Segovia y de la M. en C. María Esther Sánchez Coronado por permitirme usar el microscopio para la toma de fotografías de este proyecto.

Al comisariado de San Andrés de la Cal, Mtro. Elfego Miranda Desaida por permitirme el acceso a la comunidad para llevar a cabo este proyecto.

DEDICATORIA

Especialmente a mi madre Verónica Vital Diaz por ser ese pilar tan importante en mi vida, por la confianza y apoyo incondicional que me ha brindado siempre, por motivarme a seguir adelante y por enseñarme a ser fuerte y no rendirme.

A mis hermanos Barbara y Rodrigo por su cariño, apoyo y motivación.

A mi amiga Lupita Sánchez por estar conmigo siempre brindándome su apoyo y cariño.

A David Valencia por apoyarme y motivarme siempre.

A toda mi familia, gracias por brindarme su apoyo incondicional, por motivarme a seguir adelante y por siempre estar ahí en los buenos y malos momentos.

ÍNDICE

Índice de cuadros	V
Índice de figuras	VI
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Género <i>Cheilanthes</i>	3
2.2. Ciclo de vida de los helechos	8
2.3. Estructuras reproductoras de los helechos	9
2.4. Morfogénesis de la fase gametofítica	10
2.4.1. Espora germinada	10
2.4.2. Patrones de germinación de las esporas	11
2.4.3. Filamento germinal	12
2.4.4. Desarrollo protálico	13
2.5. Factores ambientales implicados en la germinación de esporas	14
2.5.1. Luz	14
2.5.2. Temperatura	16
3. JUSTIFICACIÓN	16
4. HIPÓTESIS	17
5. OBJETIVO GENERAL	17
6. MATERIALES Y MÉTODOS	17
6.1. Área de estudio	17
6.2. Descripción de las especies	19
6.2.1. <i>Gaga kaulfussii</i> (Kunze) Fay W. Li & Windham	19
6.2.2. <i>Myriopteris aurea</i> (Poir.) Grusz & Windham	20
6.2.3. <i>Myriopteris cucullans</i> (Fée) Grusz & Windham	20
6.2.4. <i>Notholaena brachypus</i> (Kunze) J.Sm	21
6.3. Colecta de material biológico	22
6.4. Desinfección de las esporas	22
6.5. Cultivo de las esporas	23
6.6. Toma de datos	23
	III

6.7. Análisis estadístico	24
7. RESULTADOS	25
7.1. Descripción de las esporas	25
7.2. Efecto de los tratamientos de luz (blanca/rojo lejano) y oscuridad en la germinación de esporas	26
7.3. Morfogénesis de la fase gametofítica bajo luz blanca	29
7.3.1. <i>Gaga kaulfussii</i> (Figura 13)	29
7.3.2. <i>Myriopteris aurea</i> (Figura 14)	31
7.3.3. <i>Myriopteris cucullans</i> (Figura 15)	33
7.3.4. <i>Notholaena brachypus</i> (Figura 16)	35
7.4. Morfogénesis de la fase gametofítica bajo el tratamiento de luz rojo lejano	40
8. DISCUSIÓN	42
8.1. Descripción de las esporas y germinación	42
8.2. Morfogénesis de la fase gametofítica	44
9. CONCLUSIONES	47
10. PERSPECTIVAS	48
12. LITERATURA CITADA	49

Índice de cuadros

Cuadro 1. Características de las esporas de las especies (*Gaga kaulfussii*, *Myriopteris aurea*, *Myriopteris cucullans* y *Notholaena brachypus*). 25

Cuadro 2. Coeficientes estimados del modelo GLM para cada factor del modelo con errores estándar y comparaciones de medias. 27

Cuadro 3. Porcentaje de germinación de esporas de las especies (*Gaga kaulfussii*, *Myriopteris aurea*, *Myriopteris cucullans* y *Notholaena brachypus*) bajo los tratamientos de luz (blanca/rojo lejano) y oscuridad. 29

Cuadro 4. Etapas de desarrollo de las especies (*Gaga kaulfussii*, *Myriopteris aurea*, *Myriopteris cucullans* y *Notholaena brachypus*). 39

Índice de figuras

Figura 1. Ciclo de vida de un helecho homosporico leptosporangiado	9
Figura 2. Espora de helecho recién germinada	11
Figura 3. Diferentes patrones de germinación de las esporas en helechos homósporos	12
Figura 4. Representación esquemática del tipo <i>Adiantum</i>	14
Figura 5. Ubicación de San Andrés de la Cal en Tepoztlán, Morelos	18
Figura 6. <i>Gaga kaulfussii</i> (Kunze) Fay W. Li & Windham	19
Figura 7. <i>Myriopteris aurea</i> (Poir.) Grusz & Windham	20
Figura 8. <i>Myriopteris cucullans</i> (Fée) Grusz & Windham	21
Figura 9. <i>Notholaena brachypus</i> (Kunze) J.Sm	22
Figura 10. División de las cajas Petri para el conteo de esporas germinadas	24
Figura 11. Esporas de las especies	26
Figura 12. Respuesta germinativa de las especies bajo los tratamientos de luz blanca y rojo lejano	28
Figura 13. Morfogénesis de la fase gametofítica de <i>Gaga kaulfussii</i>	30
Figura 14. Morfogénesis de la fase gametofítica de <i>Myriopteris aurea</i>	32
Figura 15. Morfogénesis de la fase gametofítica de <i>Myriopteris cucullans</i>	34
Figura 16. Morfogénesis de la fase gametofítica de <i>Notholaena brachypus</i>	36
Figura 17. Desarrollo del filamento germinativo bajo el tratamiento de luz rojo lejano en las cuatro especies estudiadas	41

RESUMEN

El ciclo de vida de los helechos presenta alternancia de generaciones con una fase haploide (gametofítica) y una fase diploide (esporofítica), la fase gametofítica es clorofítica y de vida independiente con una duración relativamente corta, no resiste periodos largos de desecación, además es una fase crucial ya que da origen al esporófito. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la luz blanca, rojo lejano y oscuridad sobre la germinación de esporas y morfogénesis del gametófito de cuatro especies del complejo Cheilanthe (*Gaga kaulfussii* (Kunze) Fay W. Li & Windham, *Myriopteris aurea* (Poir.) Grusz & Windham, *Myriopteris cucullans* (Fée) Grusz & Windham y *Notholaena brachypus* (Kunze) J.Sm). La germinación de esporas se llevó a cabo en condiciones de laboratorio, las esporas se colocaron en medio de cultivo Murashige & Skoog, con una temperatura constante de 25°C y un fotoperiodo 12:12 h luz: oscuridad. Encontramos que las esporas de las cuatro especies son de tipo trilete, con variación en el color y en la forma, no clorofíticas. Con respecto a la germinación, las cuatro especies son fotoblásticas positivas debido a que ninguna de las esporas germinó en oscuridad. La germinación en los tratamientos de luz blanca y rojo lejano fue del 80% y 90% respectivamente. El patrón de germinación corresponde al tipo Vittaria para todas las especies; en cuanto al desarrollo protálico, se observó el tipo Adiantum (cordiforme) en *Notholaena brachypus* y tipo Atípico (asimétrico) en *Myriopteris cucullans*. Mientras que para las especies *Myriopteris aurea* y *Gaga kaulfussii* no se logró el desarrollo del gametófito y únicamente se observó la fase filamentosa. En cuanto a la expresión sexual sólo se observó en *Notholaena brachypus*, además de una yema apogámica. Por lo tanto, las especies del complejo Cheilanthe necesitan de la luz solar directa para germinar y poder establecerse en un ambiente altamente estacional como lo es el Bosque Tropical Caducifolio.

1.INTRODUCCIÓN

En el mundo existen 10,578 especies de helechos (PPG I 2016), en México se estiman cerca de 1043 especies (Tejero-Díez *et al.* 2016 y Contreras-Medina *et al.* 2022). Particularmente para el estado de Morelos se reportan 165 especies, pertenecientes a 53 géneros y 21 familias (Riba *et al.* 1996; Hernández *et al.* 2014; Sánchez-Popoca 2016). Una de las familias más diversas dentro de los helechos es Pteridaceae, la cual está representada con 53 géneros y aproximadamente 1,211 especies en el mundo (PPG I 2016). La familia *Pteridaceae* presenta una distribución cosmopolita concentrada en regiones tropicales y áridas, además ocupa una gama inusualmente amplia de nichos ecológicos (Schuettpelz *et al.* 2007).

Como parte de esta familia se encuentra el género *Cheilanthes*, el cual está representado con aproximadamente 100 especies en el mundo (PPG I 2016) y para México se han registrado cerca de 60 especies (Mickel y Smith 2004). Las especies de este género tienen la característica particular de colonizar hábitats xéricos, debido a que han desarrollado diferentes características morfológicas y mecanismos reproductivos que les ayudan a la supervivencia en climas secos (Gastony y Rollo 1998; Whitney *et al.* 2011). Por ejemplo, las especies de este género presentan indumento como escamas, tricomas, cutículas gruesas y exudados de cera que les proporcionan protección contra la radiación solar intensa y la baja humedad (Hevly 1963; Wollenweber 1984; Wollenweber y Schneider 2000), lo cual les confiere la capacidad de desarrollarse en hábitats epipetricos (Schuettpelz *et al.* 2007). Por lo que, se argumenta que estas características ecológicas y especializaciones adaptativas fueron responsables de la diversificación inicial y la expansión de este grupo (Schuettpelz *et al.* 2007).

El ciclo de vida de los helechos se caracteriza por presentar una alternancia de generaciones independiente y de vida libre, una fase haploide (gametofítica), que se inicia con la formación de la espora y una fase diploide (esporofítica) que se inicia con la formación del cigoto (Riba *et al.* 2000; Raghavan 2005; Sheffield 2008). En el proceso germinativo de las esporas y de las semillas intervienen diversos factores abióticos de gran importancia, como la luz, la temperatura y la humedad (Suo *et al.* 2015). La luz es un factor determinante en el proceso de la germinación de esporas de helechos (Hiendlmeyer y Randi 2007; Pérez-García 2007; Wu *et al.* 2010; Riaño *et al.* 2015; Suo *et al.* 2015; López-Romero *et al.* 2016),

ya que no es sólo una fuente de energía para la fotosíntesis, sino también es un estímulo fotomorfogénico y una señal ambiental de gran importancia que regula la germinación, el crecimiento y el desarrollo en los helechos (Dyer 1979, 1985; Nondorf *et al.* 2003; Raghavan 2005; Wada 2007; Hua *et al.* 2010; Riaño y Briones 2013). La luz promueve la germinación de esporas a través de fotorreceptores especializados de transducción de información, como fitocromo (PHY), criptocromo (CRY) y fototropina (PHOT) (Furuya 1997; Smith 2000; Raghavan 2005; Suo *et al.* 2015; López-Romero *et al.* 2016).

Existen estudios relacionados con la biología reproductiva del género *Cheilanthes* (Nondorf *et al.* 2003; Galán y Prada 2009; Grusz *et al.* 2009; Whitney *et al.* 2011; Huerta-Zavala *et al.* 2015; Martínez *et al.* 2017), sin embargo, la biología reproductiva de muchas especies del género ha sido poco estudiada. Por lo anterior, el presente trabajo tiene como principal objetivo determinar el efecto de la luz (blanca y rojo lejano) y oscuridad en la germinación de las esporas y en el desarrollo del gametófito de cuatro especies del complejo Cheilanthoide (*Gaga kaulfussii* (Kunze) Fay W. Li & Windham, *Myriopteris aurea* (Poir.) Grusz & Windham, *Myriopteris cucullans* (Fée) Grusz & Windham y *Notholaena brachypus* (Kunze) J.Sm.

2. ANTECEDENTES

2.1. Género *Cheilanthes*

El género *Cheilanthes* pertenece a la familia Pteridaceae y es uno de los géneros más representativos y muy notorio por su falta de distinción morfológica y su circunscripción en constante cambio (Tryon y Tryon 1982; Gastony y Rollo 1998; Windham y Yatskievych 2003; Smith *et al.* 2006; Kirkpatrick 2007; Schuettpelz *et al.* 2007; Rothfels *et al.* 2008; Windham *et al.* 2009; Sigel *et al.* 2011 y Li *et al.* 2012). La primera clasificación del género fue basada en características morfológicas muy variables que se superponían con las de los géneros afines, lo cual redundó en la inclusión de más de 150 especies (Ponce *et al.* 2023). En las últimas tres décadas, con el uso de secuencias de ADN para análisis filogenéticos y las características morfológicas, se ha logrado la segregación de nuevos géneros dentro del complejo Cheilanthoide, así como la rehabilitación de otros descritos antiguamente. Por un lado, están los géneros neotropicales como son *Adiantopsis* (Link-Pérez *et al.* 2011; Ponce y Scataglini 2012), *Gaga* (Li *et al.* 2012) y *Myriopteris* (Grusz y Windham, 2013). También

los géneros paleotropicales como son *Aleuritopteris* y *Oeosporangium* (Zhang *et al.* 2013), dejando al género *Cheilanthes* con aproximadamente 100 especies a nivel mundial (PPG I 2016). El género *Cheilanthes* difiere de *Gaga* y *Myriopteris*, por datos moleculares y características morfológicas como el número de esporas por esporangio, ornamentación de esporas, ápice de las venas, forma y color del pecíolo y el raquis, entre otros (Li *et al.* 2012; Grusz y Windham 2013; Ponce *et al.* 2016).

La distribución de las especies del género *Cheilanthes* es cosmopolita, se concentran principalmente en regiones semiáridas, tropicales y subtropicales (Galán y Prada 2009). Presenta tres grandes centros de diversidad, uno en América (desde la zona EEUU-México donde son muy abundantes); otro gran centro ubicado en Australia y otro en la cuenca mediterránea (Grecia y la Península Ibérica) (Tryon y Tryon 1973).

Las especies del género *Cheilanthes* se caracterizan por presentar; rizomas compactos a rastreros largos, ocasionalmente ascendentes, escamosos; raíces lanosas; hojas monomórficas, pequeñas a medianas, de 1 a 5 veces pinnadas, esto pilosas, escamosas, farinosas o glabras abaxialmente; venas libres; soros cerca de los márgenes de la hoja, generalmente con los márgenes enrollados y diferenciados; esporas tetraédricas-globosas, de (29-30) en promedio (Mickel y Smith 2004).

Las especies del género *Cheilanthes* han desarrollado diversas características morfológicas y mecanismos de reproducción (apogamia) que les ayudan a sobrevivir en diferentes hábitats xéricos (Whitney *et al.* 2011). Por ejemplo, la presencia de numerosos tricomas para impedir la pérdida de agua (Quirk y Chambers 1981), área superficial reducida respecto al volumen de las células de las hojas (Hevly 1963 y Gratani *et al.* 1998), capacidad para tolerar la deshidratación y rehidratación (Quirk y Chambers 1981), asociación con micorrizas (Palmieri y Swatzell 2004) que les ayuda en la absorción de agua y nutrientes a cambio de fotosintatos (Al-Karaki 1998; Herley y Smith 1993).

De igual forma, los gametofitos de las especies del género *Cheilanthes* presentan adaptaciones para sobrevivir en ambientes xéricos, una de ellas es a través de las acuaporinas que le confieren resistencia a la desecación regulando el movimiento de agua a través de las membranas celulares y promoviendo la actividad fotosintética (Hussain *et al.* 2011), además de la producción de carbohidratos y lípidos, que varían según la edad y el sustrato de los gametofitos (Crowa *et al.* 2011).

Los gametofitos tienen un tiempo de desarrollo corto y la expresión sexual es variable (sexual o apogámica), pueden formar gametofitos bisexuales, femeninos, masculinos, así como vegetativos (Martínez *et al.* 2017).

Las especies del género *Cheilanthes* que se reproducen sexualmente, necesitan por lo menos una película de agua para que los gametos masculinos (anteridios) alcancen a las estructuras femeninas (arquegonios) (Raven *et al.* 2005). Algunas especies del género *Cheilanthes* evitan esta necesidad de agua a través de la apogamia (Hevly 1963; Steil 1933, 1939; Whittier 1965).

Cabe mencionar que el estudio de la germinación de esporas de este complejo ha tenido diversos objetivos, desde el entendimiento de las bases fisiológicas para la adaptación de las especies a entornos xéricos (Nordorf *et al.* 2003), el estudio de la morfogénesis de los gametofitos bajo diferentes condiciones de luz (Galán y Prada 2010) y el efecto de diferentes tipos de sustrato para su germinación y desarrollo (Farfán 2008; Gutiérrez 2012).

En este sentido, existe una diversidad de estudios que han evaluado el éxito de la morfogénesis de diferentes especies del complejo Cheilanthoide bajo el efecto de diferentes factores ambientales en condiciones de laboratorio (Nordorf *et al.* 2003; Galán y Prada 2009, 2010; Martínez *et al.* 2017; Msoumi *et al.* 2017).

Nordorf y colaboradores (2003) germinaron esporas de *Cheilanthes feei* para entender la base fisiológica de la restricción del helecho a entornos xéricos. Las esporas de *C. feei* fueron sometidas a una amplia gama de temperaturas (25°C a 33°C), diferentes pH (4.5, 5.5, 6.5 y 8.5), intensidades [0 (oscuro), 10, 50, 75, 100, 125, 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$] y de calidades de luz (azul, rojo, blanco, verde, rojo lejano y oscuro), y a diferentes niveles de humedad (0, 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{l cm}^{-2}$). Los resultados obtenidos sobre la germinación de las esporas muestran que *Cheilanthes feei* tiene el potencial de ocupar una amplia gama de entornos debido a que no existe una restricción particular para ninguna condición ambiental. Estos datos sugieren que *C. feei* es extremadamente plástico. Por lo tanto, dichos estudios muestran una germinación en condiciones muy variables lo que puede explicar su amplia distribución.

En este mismo sentido, se evaluó la germinación de las esporas, el desarrollo morfológico de los gametofitos y la expresión sexual de *Pleurosorus papaverifolius* y *Cheilanthes glauca*, utilizando como régimen lumínico un fotoperiodo de 12 h luz/oscuridad a una temperatura de 20 ± 2 °C, se obtuvieron porcentajes relativamente altos de germinación

(>70%) en menos de tres semanas. *Pleurosorus papaverifolius* presentó un desarrollo más lento que *Cheilanthes glauca*, tanto en la adquisición de la forma adulta como en la génesis de estructuras sexuales y, por lo tanto, en el desarrollo de la subsiguiente generación esporofítica. Ambas especies presentaron germinación de tipo Vittaria y difirieron en el desarrollo laminar puesto que *Pleurosorus papaverifolius* es de tipo Aspidium y en *Cheilanthes glauca* es de tipo Adiantum (Galán y Prada 2009).

También se llevó a cabo la germinación de esporas de *Cheilanthes pilosa* bajo luz fluorescente y con un ciclo de 12 h luz/oscuridad a 20 ± 2 °C, reportando que la germinación de las esporas fue de tipo Vittaria y el patrón de desarrollo fue intermedio entre los modelos Adiantum y Ceratopteris. Los gametofitos adultos fueron cordados y pilosos, con pelos unicelulares localizados en los márgenes y en las superficies ventral y dorsal de los prótalos. Además, *C. pilosa* presentó gametofitos que produjeron en primera instancia una alta proporción de gametofitos femeninos, mientras que se desarrollaron pocos gametofitos masculinos y la mayoría de los gametofitos femeninos se volvieron bisexuales con el tiempo. Por lo tanto, aunque la exogamia es posible, esta especie parece estar promoviendo la autofecundación intragametofítica como la principal estrategia reproductiva (Galán y Prada 2010).

Martínez y colaboradores (2017) estudiaron el desarrollo reproductivo de ocho especies de helechos queilantoides neotropicales (*Cheilanthes buchtienii*, *C. hieronymi*, *C. obducta*, *C. pilosa*, *C. sarmientoi*, *Gaga marginata*, *Myriopteris myriophylla* y *M. notholaenoides*). Los cultivos se mantuvieron en cámara con ocho horas de luz. Obtuvieron como resultado que la germinación en todas las especies inicio 2-3 días después de la siembra. Reportaron diferencias en el número de esporas por esporangio, forma del gametófito y expresión sexual entre las especies: (*Cheilanthes buchtienii*: 64, forma de cinta, unisexual) (*Cheilanthes hieronymi*: 32, orbiculado, alargado-cordiforme, unisexual) (*Cheilanthes obducta*: 32, alargado-cordiforme, en forma de cinta, unisexual) (*Cheilanthes pilosa*: 64, cordiforme, alargado-cordiforme, unisexual) (*Cheilanthes sarmientoi*; 32, orbicular, cordiforme, bisexual) (*Gaga marginata*: 32, cordiforme, unisexual) (*Myriopteris myriophylla*: 32, cordiforme, unisexual) (*Myriopteris notholaenoide*: 32, 64, cordiforme, vegetativo).

Masoumi y colaboradores (2017) estudiaron la morfología de las esporas y etapas de desarrollo de *Cheilanthes pérsica*, un helecho poiquilohídrico. El cultivo de las esporas se llevó a cabo en ambiente controlado a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, bajo condiciones de luz blanca fría (fotoperíodo de 16 h, intensidad de luz de $25 \mu\text{l m}^2\text{s}^{-1}$). Obteniendo como resultado que las esporas son triletes, el gametófito es de tipo *Adiantum* y el tipo de reproducción es sexual.

Aunado a lo anterior, también se han realizado estudios en condiciones no controladas, por ejemplo, en invernadero, para especies de este complejo. Farfán (2008) llevó a cabo el estudio del ciclo de vida de *Cheilanthes pyramidalis*. La germinación de esporas se realizó con dos soportes: maquiue y tierra de hoja, bajo una temperatura de 25 a 30°C . Encontró que ambos soportes fueron favorables para el desarrollo de esta especie, aunque el ciclo de vida fue ligeramente más rápido en maquiue. El ciclo de vida fue de tipo isospórico, con esporas subesféricas de tipo trilete y de color café claro, y con germinación de tipo *Vittaria*, mientras que el desarrollo del gametófito fue de tipo *Adiantum* y la reproducción es apogámica.

Asimismo, Gutiérrez-Caballero (2012) estudió el ciclo de vida de *Cheilanthes lendigera*. Evaluó la germinación de las esporas en tres sustratos naturales como soporte (musgo, maquiue y tierra de hoja) con luz solar directa y bajo una temperatura que osciló entre 15 y 20°C . Reportó que las esporas son triletes de color ámbar oscuro, con rangos de variación en el tamaño y la germinación de tipo *Vittaria*. El ciclo de vida de esta especie se completó de manera más rápida en tierra de hoja (143 días) mientras que en musgo y maquiue fue más lenta (458 días). El desarrollo de los gametofitos fue tipo *Adiantum*. Se observaron características en *C. lendigera* que no han sido mencionadas para otras especies del mismo género como: cuatro tipos de gametofitos, dioicos masculinos o femeninos, gametofitos deformados bisexuados y gametofitos secundarios masculinos.

Huerta-Zavala y colaboradores (2015) realizaron un estudio de morfogénesis en los gametofitos y morfología de los esporofitos jóvenes de *Myriopteris aurea* utilizando dos tipos de sustratos (maquiue y tierra de hoja). Reportando que las esporas son triletes de color castaño oscuras, germinación de tipo *Vittaria* y el desarrollo del prótalo es de tipo *Adiantum*. El desarrollo de *Myriopteris aurea* fue estrictamente apogámico y precoz al desarrollarse el esporófito a partir de los 53 días en tierra de hoja y 93 en maquiue, siendo hasta ahora el desarrollo más rápido que se ha citado para una especie de este género.

2.2. Ciclo de vida de los helechos

El ciclo de vida de los helechos está constituido por dos fases con número cromosómico diferente, en una de ellas se forman los gametos, por lo tanto, se le conoce como fase gametofítica (haploide); a la otra, donde se forman las esporas, se le conoce como fase esporofítica (diploide) (Mendoza y Pérez-García 2009: Figura 1).

El gametófito es una planta pequeña de unos cuantos milímetros de longitud y poco evidente, pasa por distintos estados de desarrollo, no presenta tejido vascular, algunas veces no sobrevive más allá de un año y desde el punto de vista nutricional es independiente del esporófito (Mendoza y Pérez-García 2009). Durante el periodo de crecimiento del gametófito, que puede tomar de una a varias semanas, los gametangios se desarrollan en la parte inferior del prótalo (Mendoza y Pérez-García 2009).

Los gametangios masculinos llamados anteridios, son estructuras ovales simples que producen los gametos denominados anterozoides. Los gametangios femeninos denominados arquegonios, tienen forma de botella y contienen el gameto femenino conocido como ovocélula. Cuando ambos órganos sexuales están presentes y maduran simultáneamente, los anterozoides del anteridio fertilizan la ovocélula en el arquegonio. Para ello los anterozoides requieren de la presencia de una película de agua que les permita viajar a la boca del arquegonio y entrar en su cuello para alcanzar la ovocélula y llevarse a cabo la fecundación (Mendoza y Pérez-García 2009).

Una vez que el anterozoide fertiliza la ovocélula, se desarrolla un embrión que a su vez da lugar a un esporófito joven. La primera hoja del esporófito es una estructura simple, estrecha, muy diferente de la hoja de una planta adulta. Continuamente se desarrollan más hojas hasta alcanzar la estructura final de una planta adulta, el helecho que comúnmente conocemos. El esporófito desarrolla sus propias raíces y se hace independiente del gametófito después de que este muere. El esporófito o el helecho joven representa la fase prominente o asexual del ciclo de vida del helecho y su morfología puede ser muy variada. Con la madurez, en la planta se desarrollan las esporas asexuales que a su vez germinan para empezar nuevamente la fase sexual (Mendoza y Pérez-García 2009).

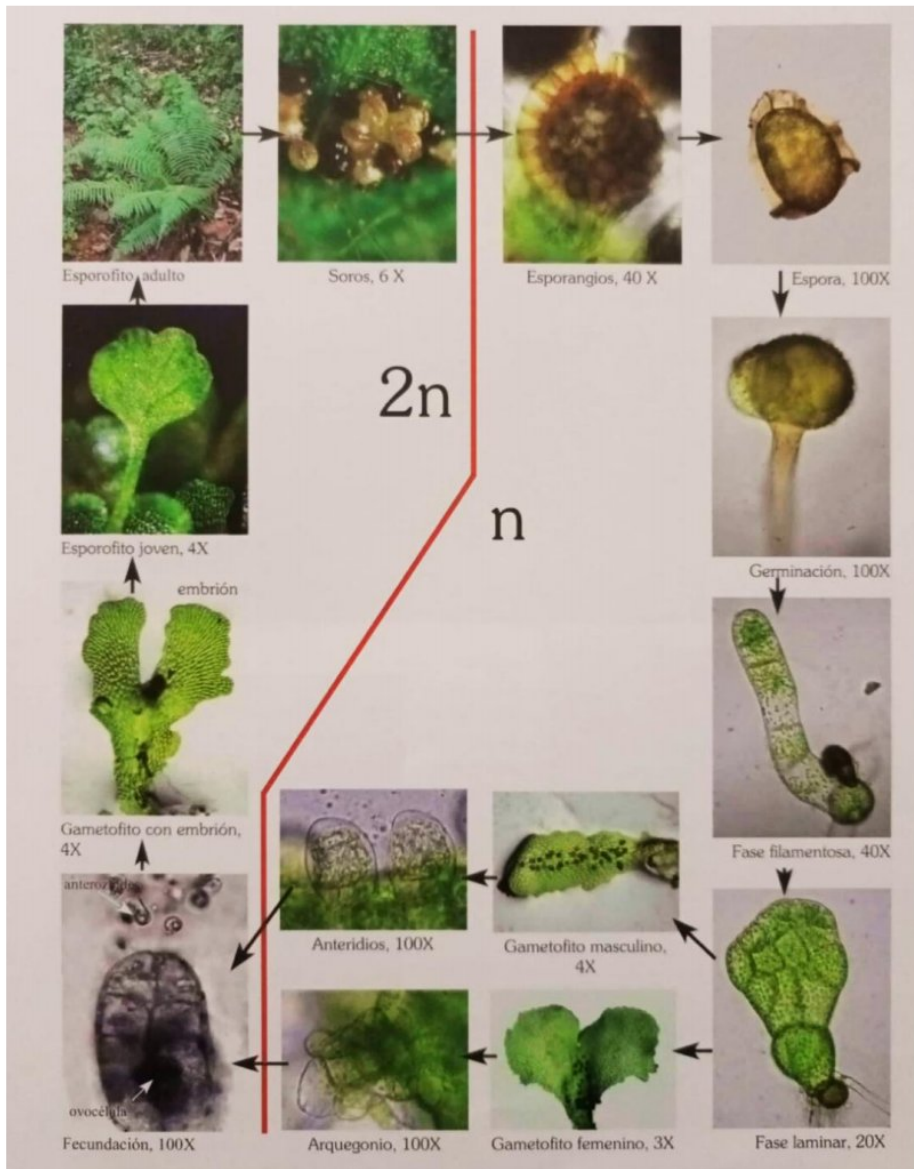


Figura 1. Ciclo de vida de un helecho homosporico leptosporangiado (Tomado de Mendoza y Pérez-García 2009).

2.3. Estructuras reproductoras de los helechos

Los esporangios son pequeñas cápsulas que contiene a las esporas y generalmente se agrupan en pequeños racimos formando los soros, estos presentan distintas formas y pueden ser redondeados, elípticos, arriñonados, alargados, se disponen generalmente en el envés de la lámina (Mendoza y Pérez-García 2009). De acuerdo con su ontogenia y morfología, los esporangios son de dos tipos: eusporangios y leptosporangios, los primeros se forman a partir de divisiones periclinales de un pequeño grupo de células epidérmicas sobre la superficie

abaxial de la hoja o en el esporangióforo, lo que da como resultado un cumulo pluriestratificado de células. Los leptosporangios, por su parte, se forman a partir de las divisiones pluricelulares de una sola célula, lo que produce una protuberancia en la superficie de la esporofila (Mendoza y Pérez-García 2009).

Las esporas que se producen en cada esporangio en la mayoría de los helechos son todas de un tamaño, por lo que se dice que los taxa son homospóricos (Mendoza y Pérez-García 2009), sin embargo, algunos helechos producen esporas morfológicamente distintas: megasporas, de talla mayor y número reducido, y microsporas, de menor tamaño que las primeras y en gran número, condición que corresponde a la heterosporia.

Adicionalmente, las esporas pueden ser clasificadas morfológicamente de acuerdo con la presencia o ausencia de una cicatriz o lesura que es un adelgazamiento del perisporio: monoletes, con una lesura; triletes, con tres lesuras; o aletes sin lesura (Muñiz y Eslava 2014). Las esporas son estructuras unicelulares haploides y en su mayoría miden entre 20 a 60 micras de diámetro (Mendoza y Pérez-García 2009). Estas pueden presentar colores que varían de verde a blanco, crema, amarillo, naranja, gris y marrón a negro. Una espора es una estructura de dispersión y puede ser transportada por el viento a largas distancias, sin embargo, las esporas son vulnerables a las condiciones ambientales (Mendoza y Pérez-García 2009), por lo que la habilidad de un helecho para colonizar y crecer en nuevos hábitats, depende de que sobreviva al período de transporte y exposición, a su posterior germinación y al crecimiento y establecimiento del gametófito en el que se formarán los gametos que al unirse originarán una nueva planta (esporófito) (Mendoza y Pérez-García 2009).

2.4. Morfogénesis de la fase gametofítica

2.4.1. Espora germinada

La manifestación visible de la germinación es la formación de dos tipos de células: protálicas y rizoidales. La célula protálica inicial tiene una gran importancia debido a que es el progenitor del prótalo, la característica distintiva de esta es la abundancia de los cloroplastos (Figura 2). Por otra parte, la célula rizoidal inicial carece de cloroplastos, y su función es similar a la de una raíz, proporcionan a la diminuta planta sostén, agua y minerales (Reyes *et al.* 1995). También tiene las características de ser una célula que normalmente se alarga por

extensión apical como los tubos de polen y está programado para la diferenciación terminal (Raghavan 2005).

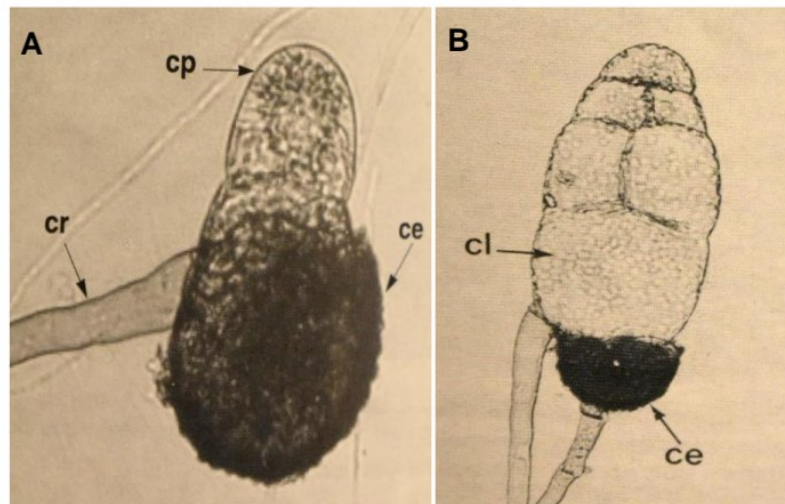


Figura 2. A). Espora de helecho recién germinada. Células protálicas (**cp**); célula rizoidal (**cr**); cubierta de la espora (**ce**). **B)** Desarrollo del gametófito. Cloroplastos (**cl**), cubierta de la espora (**ce**) (Tomado de Reyes *et al.* 1995).

2.4.2. Patrones de germinación de las esporas

Los patrones de germinación que producen los rizoides y el protonema inicial se han descrito en esporas de una serie de helechos homospóricos. La primera división celular se produce cuando el protoplasma todavía está encerrado dentro de las capas de la espora y antes de que las evidencias de la germinación aparezcan (Raghavan 2005). Existen diferentes patrones de la germinación de las esporas de helechos homospóricos. Sobre la base de los planos de la división celular en relación con la polaridad de la espora, y la dirección del crecimiento de los rizoides y protonema inicial, Nayar y Kaur (196) han clasificado los patrones de germinación en 'Osmunda', 'Vittaria', 'Anemia', 'Gleichenia', 'Cyathea', 'Hymenophyllum', 'Trichomanes' y 'Mecodium' (Raghavan 2005).

Cabe destacar que se ha reportado para especies del complejo Cheilantheoide que el tipo de germinación más común es Vittaria. Por ejemplo, para *Cheilanthes glauca*, *Cheilanthes pilosa* y *Miriopteris aurea* se ha reportado tipo de germinación Vittaria (Galán y Prada 2009, 2010 y Huerta-Zavala *et al.* 2015)

La germinación de tipo Vittaria se refiere a la primera división de la espora que da lugar a la célula rizoidal inicial, es perpendicular al eje polar de la espora en ambos 'Osmunda' y 'Vittaria', y la segunda división da lugar a la célula protonémica inicial que los distingue (Raghavan 2005; Figura 3).

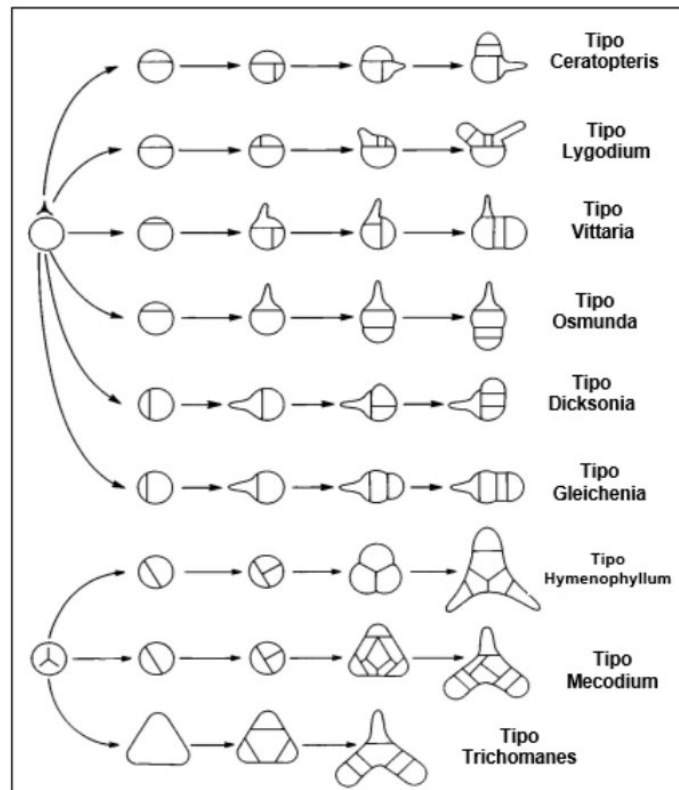


Figura 3. Diferentes patrones de germinación de las esporas en helechos homósporos. La marca trirradiada en las esporas de la izquierda indica la posición del polo proximal en todas las esporas de ese grupo. Las flechas muestran el progreso de la germinación (Tomado de Raghavan 2005).

2.4.3. Filamento germinal

En todos los helechos homóspóricos, excepto los incluidos en la familia Marattiaceae y Osmundaceae, el protonema inicial genera un uniseriado y alargado filamento compuesto por un número variable de células clorofílicas. Todos los planos de división que conducen a la formación del filamento se orientan perpendicular al eje largo de la celda y por lo tanto se encuentran en paralelo entre sí. En cada división, las paredes nuevas se establecen entre las células para mantenerlos unidos como un filamento de alargamiento.

Cuando el filamento ha producido un cierto número de células, la célula terminal o subterminal se divide por una pared oblicua, para dar lugar a una placa bidireccional dividida por las células. Esto marca el comienzo del crecimiento plano o protálico. Por la actividad meristemática de esta célula posteriormente se establecerá un meristemo pluricelular, que dará lugar al crecimiento planar del gametófito (Raghavan 2005).

2.4.4. Desarrollo protálico

La característica principal del desarrollo del prótalo es la estricta polaridad de las divisiones celulares y los cambios definidos y repentinos que experimenta durante este proceso (Nayar y Kaur 1969). Dependiendo de las secuencias de las divisiones celulares durante la ontogenia del prótalo, en los helechos homosporicos se han reconocido diferentes tipos principales de desarrollo de la forma taloide del prótalo (Nayar y Kaur 1969).

En el crecimiento del prótalo de tipo *Adiantum*, la germinación de la espóra da como resultado un filamento germinal uniseriado delgado, generalmente de 3 a 8 células de largo (Figura 4). En la parte de atrás de la célula terminal se dividen 1 ó 2 células longitudinalmente, iniciando la formación de la lámina protálica, la división de la célula terminal es frecuentemente mediante una pared al eje mayor del filamento germinal y en forma inmediata, una segunda pared oblicua delimita una célula meristemática central obcónica. La célula terminal puede también dividirse mediante una pared vertical, seguida inmediatamente por una pared oblicua a ella en una de las células hijas, delimitando una célula meristemática (Riba *et al.* 2000).

Por la actividad de esta célula, se forma una lámina protálica espatulada, en la cual el ápice se va modificando y forma una escotadura, y finalmente se hace cordiforme. La célula meristemática apical es remplazada por un meristema pluricelular. Inmediatamente, se forma una costilla media y resulta un prótalo cordiforme simétrico. Este tipo de desarrollo del prótalo es característico de las familias Dennstaedtiaceae, Grammitidaceae, Hypolepidaceae, Lindsaceae, Lydiaceae y Plagiogyriaceae. Además, se encuentra también en algunos géneros de Adiantaceae (*Adiantum*, *Coniogramme*) y ocasionalmente de Dryopteridaceae (*Didymochlaena*), Aspleniaceae (Algunas especies de *Asplenium*), Blechnaceae (algunas especies de *Blechnum*) y Cheilantaceae (*Doryopteris*, *Cheilanthes*) (Riba *et al.*, 2000).

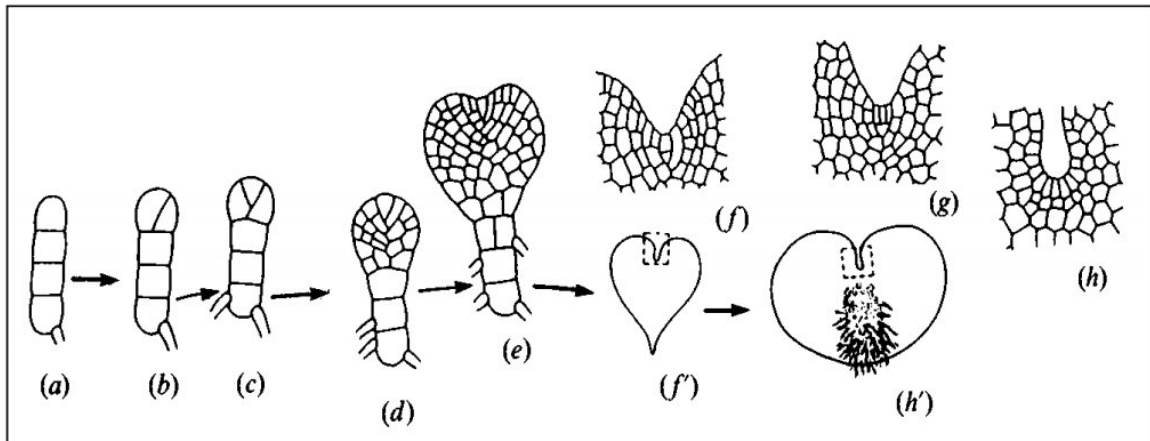


Figura 4. Representación esquemática del tipo *Adiantum*, desarrollo del gametófito, (a) filamento germinal, (b) primera división longitudinal de la célula terminal del filamento germinal, (c) formación de una pared en ángulo recto con la primera división de la pared, (d) placa espatulada, (e) prótalo cordado, (f) vista ampliada del cuadrado sombreado que muestra la división transversal del meristemo marginal en la muesca, (g) formación del meristemo pluricelular, (h) muesca apical que se muestra en el dibujo (h') (Nayar y Kaur, 1971, tomado de Raghavan, 2005).

2.5. Factores ambientales implicados en la germinación de esporas

Los factores ambientales más importantes que condicionan la fisionomía de la vegetación de un lugar determinado son la humedad, la luz, la temperatura y constitución del suelo; estas variables inciden de manera diversa sobre las distintas fases de la vida de un individuo (Pérez-García y Riba 1982). Los requerimientos ambientales para iniciar la germinación pueden ser diferentes entre las especies y ayudan a explicar la coexistencia de éstas, que a su vez favorecen la diversidad en los ecosistemas (Pérez-García y Riba 1982; Orozco-Segovia y Vázquez-Yanes 1989, 1990; Riaño *et al.* 2015).

2.5.1. Luz

La luz es una de las principales variables abióticas que afectan a las plantas en su ambiente natural, la calidad, la intensidad y la duración de la luz influye en numerosos procesos fisiológicos, morfológicos y reproductivos de las plantas y también de forma muy significativa al funcionamiento general del ecosistema (Kohen *et al.*, 1995 y Kami *et al.*, 2010).

Diversos estudios han demostrado que la luz es un factor determinante en la germinación de las esporas de helechos (Pérez *et al.*, 1994, 1995, 2007; Colli, *et al.*, 1998; Hiendlmeyer y Randi, 2007; Alarcón y Peláez, 2008; Hua *et al.*, 2010; López *et al.*, 2016).

La germinación de las esporas de los helechos está regulada por los diferentes tipos de fitocromos (Tsuboi *et al.*, 2012). El fitocromo es un pigmento que es una proteína soluble que aparece en dos configuraciones intercambiables: una forma inactiva denominada fitocromo rojo (Pr) que se aloja en el citoplasma, y una forma activa denominada fitocromo rojo lejano (Pfr) que se desplaza hacia el núcleo (Rensing *et al.*, 2016). Tienen distinto espectro de absorción y por lo tanto la calidad de la luz determina el equilibrio entre ellos (Rensing *et al.*, 2016).

Mediante el fitocromo, la espora puede percibir los cambios espectrales de la luz dentro de la comunidad vegetal y evitar micrositios adversos para su germinación y supervivencia de tal manera que la función principal del fitocromo es percibir el balance de la luz roja/rojo lejano de la radiación natural (Smith, 2000). Además de la calidad de la luz, el efecto de ésta en la germinación de las esporas depende de la densidad de flujo fotónico (Rahghavan 1989; Pérez-García *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2010; Riaño *et al.*, 2015).

El fitocromo tiene dos estados que son interconvertibles, lo que se conoce como forreversibilidad y puede expresarse de la siguiente manera:



El estado denominado Fr es fisiológicamente inactivo y el otro estado denominado Frl es la forma fisiológicamente activa. De esta manera, la forma inactiva al ser irradiada con luz roja (630 nm) se activa y la forma activa se inactiva al ser irradiada con luz rojo lejano (730 nm). En las células vegetales, la cantidad de ambas formas dependerá de la relación R/RL que llegue al embrión para dar una respuesta (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia 1993 y Taiz y Zeiger 2006).

2.5.2. Temperatura

Los cambios que ocurren durante la germinación comprenden procesos metabólicos que se producen en estrecha relación con la temperatura, su efecto se expresa en la capacidad germinativa o en la velocidad de la germinación (Vázquez-Yanes *et al.* 2005). Las temperaturas cardinales de la germinación son óptima, máxima y mínima, y el intervalo térmico en el que las esporas germinan son características sujetas a la selección natural. Por esto, con frecuencia se presentan como adaptaciones muy claras al hábitat en los que las plantas se desarrollan, y hay diferencia entre las especies, incluso entre distintas poblaciones de la misma especie de acuerdo con su distribución geográfica (Vázquez-Yanes *et al.* 2005).

En general para las esporas de los helechos, el intervalo tolerado de temperaturas para una germinación máxima fluctúa entre 20 y 25 °C. La sensibilidad precisa de las esporas a la temperatura varía con la especie y está invariablemente relacionada con los requerimientos de temperatura para el crecimiento posterior de las esporas germinadas (Raghavan 2005), algunos trabajos han relacionado el efecto combinado de la luz y la temperatura (Brum y Randi 2002; Juárez-Orozco *et al.* 2013), reportando que la alta irradiación y temperatura inhiben la germinación de las esporas.

3. JUSTIFICACIÓN

El ciclo de vida de los helechos presenta alternancia de generaciones independientes: una fase esporofítica y una fase gametofítica. Como parte de la fase gametofítica se encuentra la germinación de esporas, la cual es crucial para la alternancia de generaciones en los helechos (Suo *et al.* 2015). En este proceso intervienen diversos factores ambientales de gran importancia, como la luz, la temperatura, la humedad y características del suelo (Pérez-García y Riba 1982).

De entre todos estos factores ambientales la luz es uno de los principales factores que afectan a las plantas en su ambiente natural, el tipo y la cantidad de radiación disponible influye en diferentes procesos fisiológicos, morfogenéticos y reproductivos de las plantas y también afecta de forma muy significativa al funcionamiento general del ecosistema (Kohen *et al.* 1995). La foto-inducción o foto-inhibición de la germinación es uno de los casos más claros del control de un proceso fisiológico por un factor ambiental (Vázquez-Yanes *et al.* 2005). Por lo tanto, es importante estudiar el efecto que los factores ambientales tienen sobre

la regulación del proceso germinativo, para así tener mayor conocimiento de los procesos fisiológicos en las plantas, de su biología reproductiva, así como de sus estrategias adaptativas y rasgos de historia de vida (Baskin y Baskin 2001).

A la fecha existen algunos trabajos sobre la fase gametofítica de algunas especies del complejo Cheilanthoide, sin embargo, muchas especies han sido poco estudiadas, tal es el caso de tres de las especies de estudio (*Gaga kaulfussii* (Kunze) Fay W. Li & Windham, *Myriopteris cucullans* (Fée) Grusz & Windham y *Notholaena brachypus* (Kunze) J.Sm.

Por lo anterior, determinar del efecto que la calidad de luz sobre la germinación y desarrollo de las esporas de cuatro especies del complejo Cheilanthoide (*Gaga kaulfussii* (Kunze) Fay W. Li & Windham, *Myriopteris aurea* (Poir.) Grusz & Windham, *Myriopteris cucullans* (Fée) Grusz & Windham y *Notholaena brachypus* (Kunze) J. Sm contribuirá al conocimiento de su ciclo de vida.

4. HIPÓTESIS

1. La respuesta germinativa entre las especies estudiadas bajo los diferentes tratamientos de calidad de luz utilizados (blanca, rojo lejano y oscuridad) mostrarán diferencias significativas.
2. El desarrollo del gametófito entre las especies estudiadas será diferente bajo los distintos tratamientos de calidad de luz utilizados (blanca, rojo lejano y oscuridad).

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la luz blanca, rojo lejano y oscuridad sobre la germinación de esporas y morfogénesis del gametófito de cuatro especies del complejo Cheilanthoide: *Gaga kaulfussii* (Kunze) Fay W. Li & Windham, *Myriopteris aurea* (Poir.) Grusz & Windham, *Myriopteris cucullans* (Fée) Grusz & Windham y *Notholaena brachypus* (Kunze) J.Sm.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Área de estudio

Las esporas fueron colectadas del poblado de San Andrés de la Cal, Tepoztlán, Morelos que se localiza a los 18° 57' 22.22'' de latitud norte y a los 99° 06' 50.2'' de longitud oeste (Ruiz-

Rivera 2001; Figura 5). El clima predominante es semicálido (A) C (w₂) (w)_{ig}, con lluvias durante el verano e invierno (mayo a octubre). La precipitación media anual es de unos 1200 mm y 20°C de temperatura media anual. La vegetación predominante es bosque tropical caducifolio (Ruiz-Rivera 2001).

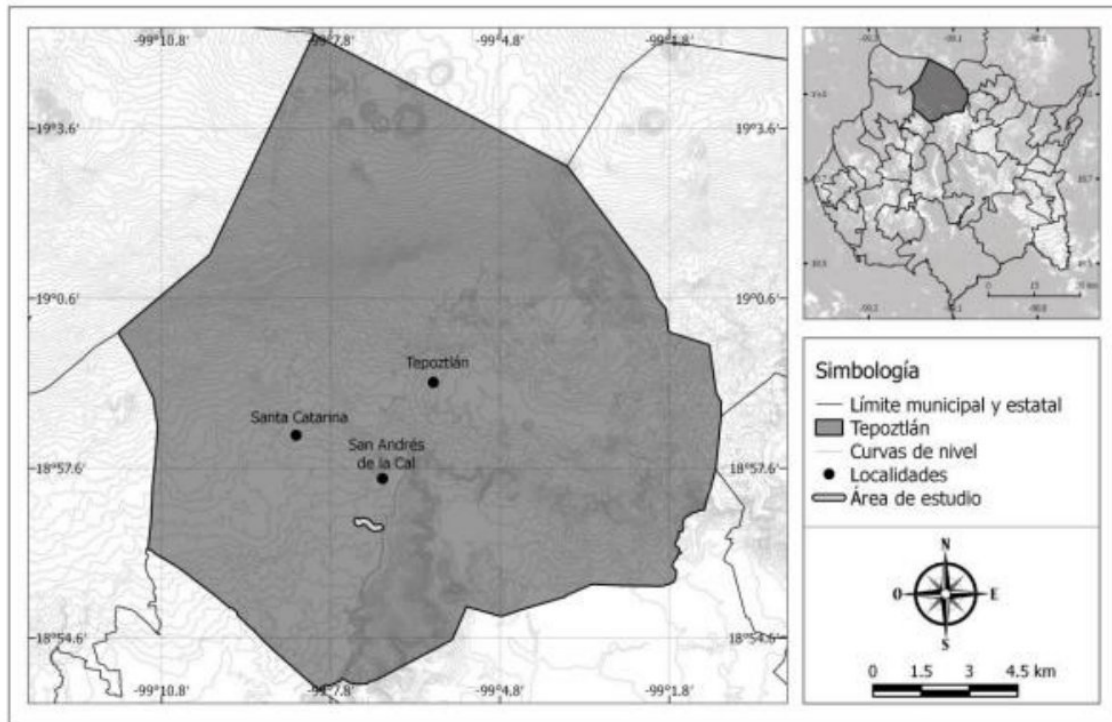


Figura 5. Ubicación de San Andrés de la Cal en Tepoztlán, Morelos (Tomado de Castrejón-Alfaro 2017).

6.2. Descripción de las especies

6.2.1. *Gaga kaulfussii* (Kunze) Fay W. Li & Windham.

Helecho terrestre, *rizoma* cortamente rastrero, con escamas lineares atropurpúreas a negruzcas, enteras y lustrosas; *hojas* monomorfas de 15 a 45 cm de alto; *pecíolo* de color castaño a atropurpúreo, lustroso, densamente glandular-piloso; *lámina* anchamente pentagonal, 3-pinnada a 3-pinnado-pinatífida, ambas superficies cubierto densamente con pelos glandulosos, hialinos; *pinnas* de 6 a 8 pares, la basal deltada e inequilátera con los últimos segmentos ovados; *raquis* y costas pilosos; nervaduras no visibles; *soros* con el indusio eroso a subentero; *esporas* triletas y de color pardo (Mendoza-Ruíz y Pérez-García 2009; Figura 6). **Hábitat:** crece entre las grietas de rocas, acantilados, bordes de caminos, en bosque de coníferas, bosque tropical caducifolio; entre 600 y 2700 m snm. **Distribución:** Ags, Chih, Chis, Col, DF, Dgo, Gro, Gto, Hgo, Jal, Mex, Mich, Mor, Nay, NL, Oax, Pue, Qro, SLP, Sin, Son, Tam, Tlax, Ver. y Zac (Mickel y Smith 2004).



Figura 6. *Gaga kaulfussii* (Kunze) Fay W. Li & Windham. Foto: Aguilar-Dorantes, K. M

6.2.2. *Myriopteris aurea* (Poir.) Grusz & Windham

Planta terrestre; *rizoma* cortamente rastrero, cubierto por escamas lineares, bicoloras; *pecíolo* terete, castaño o negro, lustroso, piloso; hojas de 10 a 40 cm de longitud; *lámina* 1-pinnado-pinnatifida: *pinnas* cerca de 40 pares, el haz peloso y el envés tomentoso y oculto por tricomas; nervaduras no visibles; *soros* marginales con indusio verde, no escarioso, entero, escasamente reflexo; *esporas* triletas de color pardo oscuro a negras (Mendoza-Ruíz y Pérez-García 2009; Figura 7). **Hábitat:** se encuentran en laderas secas y arboladas entre las grietas de rocas expuestas, en bosques de pino-encino y en bosque tropical caducifolio; entre 600 y 320 m snm. **Distribución:** Ags, BCS, Chih, Chis, Coah, Col, DF, Dgo, Gro, Gto, Hgo, Jal, Mex, Mich, Mor, NL, Nay. Oax, Pue, Qro, SLP, Sin, Son, Tam, Tlax, Ver y Zac (Mickel y Smith 2004).



Figura 7. *Myriopteris aurea* (Poir.) Grusz & Windham. Foto: Cástrejon-Alfaro E.

6.2.3. *Myriopteris cucullans* (Fée) Grusz & Windham

Helecho terrestre; *rizoma* largamente rastrero, con escamas linear-lanceoladas, color pardo - anaranjado, márgenes ciliados; *hojas* de 15 a 40 cm de longitud, distantes; *pecíolo* de color castaño a negro, lustroso, con escamas filiformes pardo-anaranjadas; *lámina* 2 pinnado-pinatífida a 3-pinnada, oblongo-lanceolada, corácea, envés de la lámina densamente escamosa y con pelos catenados de color pardo-anaranjados; *raquis* y costas con densas

escamas filiformes adpresas; *soros* cubiertos por los márgenes de los segmentos; *esporas* triletes de color pardo (Mendoza-Ruíz y Pérez-García 2009; Figura 8). **Hábitat:** crece en laderas rocosas, acantilados, riberas sombreadas, bordes de camino, en bosque tropical caducifolio; entre 500 y 2350 m snm. **Distribución:** Ags, Chih, Chis, Coah, DF, Gro, Gto, Hgo, Jal, Méx, Mich, Mor, NL, Oax, Pue, Qro. y Ver, (Mickel y Smith 2004).



Figura 8. *Myriopteris cucullans* (Fée) Grusz & Windham. Foto: Castrejón-Alfaro, E.

6.2.4. *Notholaena brachypus* (Kunze) J.Sm.

Helecho terrestre; *rizoma* compacto, ascendente, con un diámetro de 3 mm; *escamas* del rizoma lineares-lanceoladas de 6-12 mm de largo, de color naranja a ligeramente bicoloras con un centro castaño/oscuro y margen entero, con dientes ocasionales color claro brillante; *fronda* de hasta 30 cm de altura. Estípite 1 a 10 mm de longitud, de 2-3 cm de largo, marrón oscuro, terete, con escamas lineales de 2-3 mm de largo, eroso, de color marrón claro con márgenes blanquecinos, mezclados con pelos finos de 2 mm o más de largo; *lámina* oblongo-lanceoladas, pinnas más largas de 1,2 - 3,5 cm de largo justo por encima de la mitad de la hoja, estrechándose proximalmente, pinnadas-pinnatifidas; *pinnas* 9-20 pares; superficie adaxial de color verde oscuro con tomento de pelos rizados dispersos a densos (1 mm de largo); superficies abaxiales densamente cubiertas de escamas lanceoladas, erosas en la base,

que recubren un denso tomento rojo de finos pelos; Márgenes laminares recurvados y fuertemente modificados en falsa indusio de 0,5 mm de ancho; *esporas* de color negro (Mickel y Smith 2004; Figura 9). **Hábitat:** se encuentran en laderas rocosas y riberas de ríos; 50-1950 m snm. **Distribución:** Ags, Chis, Col, Gro, Gto, Jal, Mex, Mich, Mor, Nay, Oax, SLP, Sin y Ver. (Mickel y Smith 2004).



Figura 9. *Notholaena brachypus* (Kunze) J.Sm. Foto: Castrejón-Alfaro, E.

6.3. Colecta de material biológico

Se colectaron hojas fértiles de al menos 10 individuos diferentes por especie en noviembre del año 2017 en el sitio de estudio, al momento de la colecta cada hoja fue colocada en un sobre de papel de 21 x 30 cm. Las hojas se dejaron secar durante 3 semanas a temperatura ambiente en condiciones de laboratorio y posteriormente se realizó una revisión cada semana para corroborar que las hojas ya estuvieran totalmente secas.

6.4. Desinfección de las esporas

Las esporas colectadas de las cuatro especies de estudio (*Gaga kaulfussii*, *Myriopteris aurea*, *Myriopteris cucullans* y *Notholaena brachypus*) se tamizaron para eliminar restos de soros u otros restos vegetales, con ayuda de un tamiz de 0.18 mm y posteriormente se guardaron en frascos de vidrio hasta su desinfección. Para la desinfección de las esporas, se siguió la

técnica descrita por Menéndez *et al.* (2011), en donde se añadió una gota de hipoclorito de sodio al 2% y dos gotas de Tween 80 en 100 ml de agua destilada. Con esta solución se llenaron cuatro tubos Eppendorf de 1.5 ml, uno para cada especie. A cada uno de los cuales se le agregó 0.01 g de las esporas de cada especie y se centrifugaron en una microcentrífuga (Vortex Genie 2, Scientific Industrie) a 1400 revoluciones durante 5 minutos. Posteriormente se realizaron dos lavados con agua destilada y estéril y las esporas se dejaron secar sobre papel filtro en una caja *Petri*, ambos previamente pasados por rayos ultravioleta.

6.5. Cultivo de las esporas

Para evaluar el efecto de la calidad de luz en la germinación de las esporas, se utilizaron los siguientes tratamientos; luz blanca (foco fluorescente de 20 W), luz rojo lejano (una caja con acrílico rojo y azul, Rohm & Hass, serie 2423; R:FR = 0.05, bajo un foco de luz incandescente) y oscuridad (doble capa de papel estaño). Se utilizó como medio de cultivo Murashige & Skoog (MS). Se sembraron tres cajas de *Petri* de 6 cm de diámetro por especie para cada tratamiento de luz. En cada caja de *Petri* se sembraron 100 µl de la solución de agua con esporas desinfectadas con la ayuda de una micropipeta de 1000 µl. Al finalizar se sellaron con parafilm y se guardaron en bolsas ziploc. Posteriormente se colocaron dentro de una cámara ambiental (Lab-Line 844L) del Instituto de Ecología de la UNAM bajo una temperatura constante de 25°C y un fotoperiodo 12:12 h luz: oscuridad, bajo focos de 20 W de luz fluorescente e incandescente.

6.6. Toma de datos

Para poder realizar el conteo de las esporas germinadas cada caja de *Petri* se dividió en cuatro partes iguales con un plumón indeleble por la parte de abajo y a cada cuarto de cada caja se le colocó 3 cm² de hoja milimétrica (Figura 10). El conteo se realizó en cada uno de los cm² marcados con la ayuda de un contador manual. A partir de la siembra de esporas, se realizaron observaciones diarias durante las primeras tres semanas utilizando como indicador de la germinación la observación de la primera célula protálica con ayuda de un microscopio estereoscópico Leica (ZOOM 2000). Posteriormente, se realizaron observaciones cada 5 días durante 3 meses para observar el desarrollo del gametófito.



Figura 10. División de las cajas *Petri* para el conteo de esporas germinadas.

6.7. Análisis estadístico

Para determinar el efecto de los tratamientos de luz sobre el porcentaje de germinación de esporas realizamos un Modelo Lineal Generalizado (GLM) en el paquete lme4 (Bates *et al.* 2015) en el programa estadístico R versión 4.2.2 (R Core Team 2022). Teniendo en cuenta la distribución no normal de la variable de respuesta, transformamos el porcentaje de germinación al arcoseno cuadrado (Crawley 2002) y utilizamos el modelo con mejor ajuste residual mediante la inspección de los valores esperados y la gráfica de residuos observados en el paquete R DHARMA (Harting 2017). Seleccionamos una función gaussiana como función de enlace para probar el efecto de las especies anidadas dentro de los tratamientos y la réplica sobre el porcentaje de germinación. Posteriormente, evaluamos las diferencias de desviación explicadas en el modelo por una distribución de chi-cuadrada y el valor P asociado, mediante los resultados del modelo GLM y usando la función ANOVA para visualizar los efectos observados. La significancia de los coeficientes del modelo se obtuvo directamente de los resultados del modelo, donde se presentan comparaciones pareadas de los coeficientes estimados para cada factor a través de la prueba *t*. Se describió el comportamiento de la varianza en cada porcentaje de germinación y especie utilizando un gráfico de cajas y alambres.

7. RESULTADOS

7.1. Descripción de las esporas.

Las esporas de las cuatro especies estudiadas son de tipo trilete, con variación en el color y en la forma, no clorofílicas (Cuadro 1; Figura 11).

Cuadro 1. Características de las esporas de las especies (*Gaga kaulfussii*, *Myriopteris aurea*, *Myriopteris cucullans* y *Notholaena brachypus*).

Especie	Tipo	Color	Forma	Presencia de clorofila
<i>Gaga kaulfussii</i>	Trilete	Marrón	Esféricas-globosas	No
<i>Myriopteris aurea</i>	Trilete	Marrón	Esféricas a ovaladas	No
<i>Myriopteris cucullans</i>	Trilete	Ámbar	Esféricas-globosas	No
<i>Notholaena brachypus</i>	Trilete	pardo a ámbar	Esféricas-globosas	No

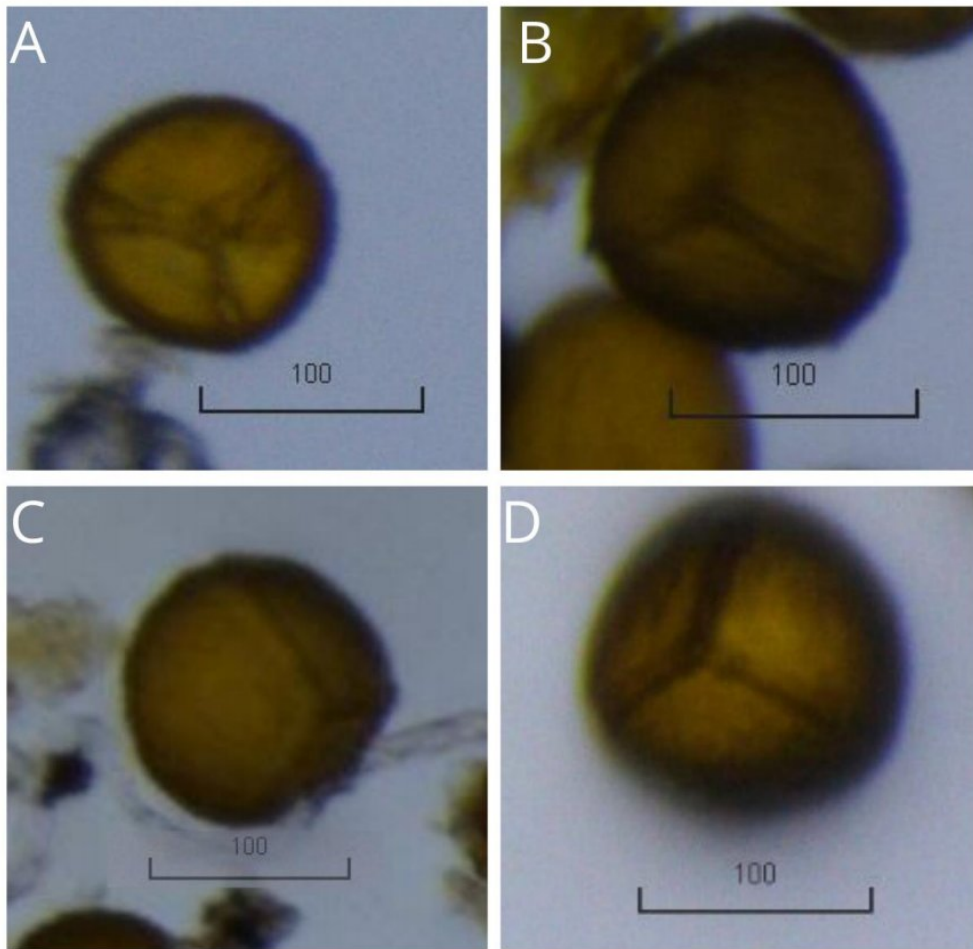


Figura 11. Esporas de las especies. **A)** *Gaga kaulfussii*, **B)** *Myriopteris aurea*, **C)** *Myriopteris cucullans* y **D)** *Notholaena brachypus*.

7.2. Efecto de los tratamientos de luz (blanca/rojo lejano) y oscuridad en la germinación de esporas

Las cuatro especies estudiadas germinaron bajo los tratamientos de luz blanca y rojo lejano, no así en la oscuridad, lo que nos indica que son fotoblásticas positivas (Cuadro 3). Se encontró un efecto significativo del tratamiento de luz y la especie en los porcentajes de germinación (Devianza explicada: 0.543), lo que representa el 50% de la desviación nula, que es la variabilidad global en la variable de respuesta.

Bajo el tratamiento de luz blanca se presentó el mayor porcentaje de germinación en todas las especies estudiadas en comparación con el tratamiento de rojo lejano. El tratamiento

de luz rojo lejano fue el que menor porcentaje de germinación presentó en al menos tres especies (*Gaga kaulfussii*, *Myriopteris aurea*, *Notholaena brachypus*), siendo *Myriopteris cucullans* la especie que mayor porcentaje presentó. Sin embargo, la respuesta germinativa bajo este tratamiento fue diferente entre las especies *N. brachypus* y *M. cucullans* en comparación con *M. aurea*. El menor porcentaje de germinación se obtuvo en *M. aurea* y *G. kaulfussii* (Figura 12; Cuadro 2).

Cuadro 2. Coeficientes estimados del modelo GLM para cada factor del modelo con errores estándar y comparaciones de medias. *Medias de diferencias significativas. Luz blanca (LB) y Rojo lejano (RL).

Tratamiento/Especie	Estimado	Error estándar	Valor de T	Pr (>t)
LB: <i>G. kaulfussii</i>	-0.014722	0.029924	-0.492	0.623
RL: <i>G. kaulfussii</i>	-0.005856	0.028198	-0.208	0.836
LB: <i>M. aurea</i>	1.361061	0.026461	51.437	<0.001*
RL: <i>M. aurea</i>	-0.316294	0.028198	-11.217	<0.001*
LB: <i>M. cucullans</i>	-0.026779	0.027063	-0.99	0.323
RL: <i>M. cucullans</i>	0.266795	0.028198	9.462	<0.001*
LB: <i>N. brachypus</i>	0.003639	0.028198	0.129	0.897
RL: <i>N. brachypus</i>	0.209029	0.028198	7.413	<0.001*

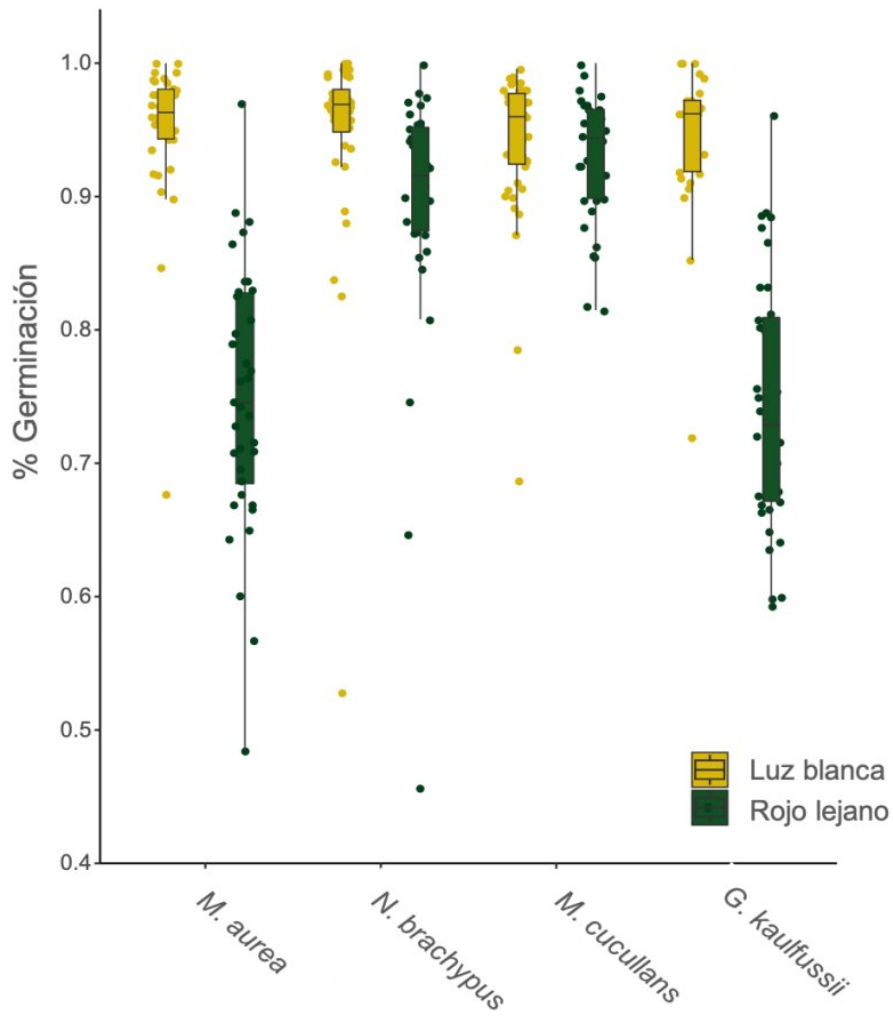


Figura 12. Respuesta germinativa de las especies (*Gaga kaulfussii*, *Myriopteris aurea*, *Myriopteris cucullans* y *Notholaena brachypus*) bajo los tratamientos de luz blanca y rojo lejano.

Cuadro 3. Porcentaje de germinación de esporas de las especies (*Gaga kaulfussii*, *Myriopteris aurea*, *Myriopteris cucullans* y *Notholaena brachypus*) bajo los tratamientos de luz (blanca/rojo lejano) y oscuridad.

Especie	Porcentaje de germinación bajo los tratamientos utilizados			Tipo de fotoblastismo
	Luz blanca	Rojo Lejano	Oscuridad	
<i>Gaga kaulfussii</i>	95 %	74 %	0%	+
<i>Myriopteris aurea</i>	94 %	75 %	0%	+
<i>Myriopteris cucullans</i>	94 %	94 %	0%	+
<i>Notholaena brachypus</i>	94 %	91 %	0%	+

7.3. Morfogénesis de la fase gametofítica bajo luz blanca

7.3.1. *Gaga kaulfussii* (Figura 13)

La germinación para esta especie inicio entre los 7 y 12 días en promedio después de la siembra (Cuadro 4). La germinación es de tipo Vittaria. La célula rizoidal se originó a partir de una división perpendicular al eje polar de la espora y la formación de la primera célula protálica se define por una división perpendicular a la anterior originando dos células, una de ellas permanece en reposo y la otra se parte dando inicio al desarrollo del filamento germinativo. Se pudo observar que la célula rizoidal no se divide y es hialina, mientras que las células protálicas presentan abundantes cloroplastos (A). Posterior a la germinación se presentó la fase filamentosa por divisiones transversales dando origen a un filamento delgado y uniseriado de 5 a 8 células protálicas cortas globosas (B y C), esta fase es efímera, ocurre entre los 15 días en promedio. Posterior se forma la primera división longitudinal de la célula terminal del filamento germinal por medio de una pared oblicua (D), dando origen a una placa bidireccional dividida por las células (E). Entre los 20 y 40 días en promedio se forma la fase espatulada (F). Esta especie únicamente se desarrolló hasta la fase espatulada.

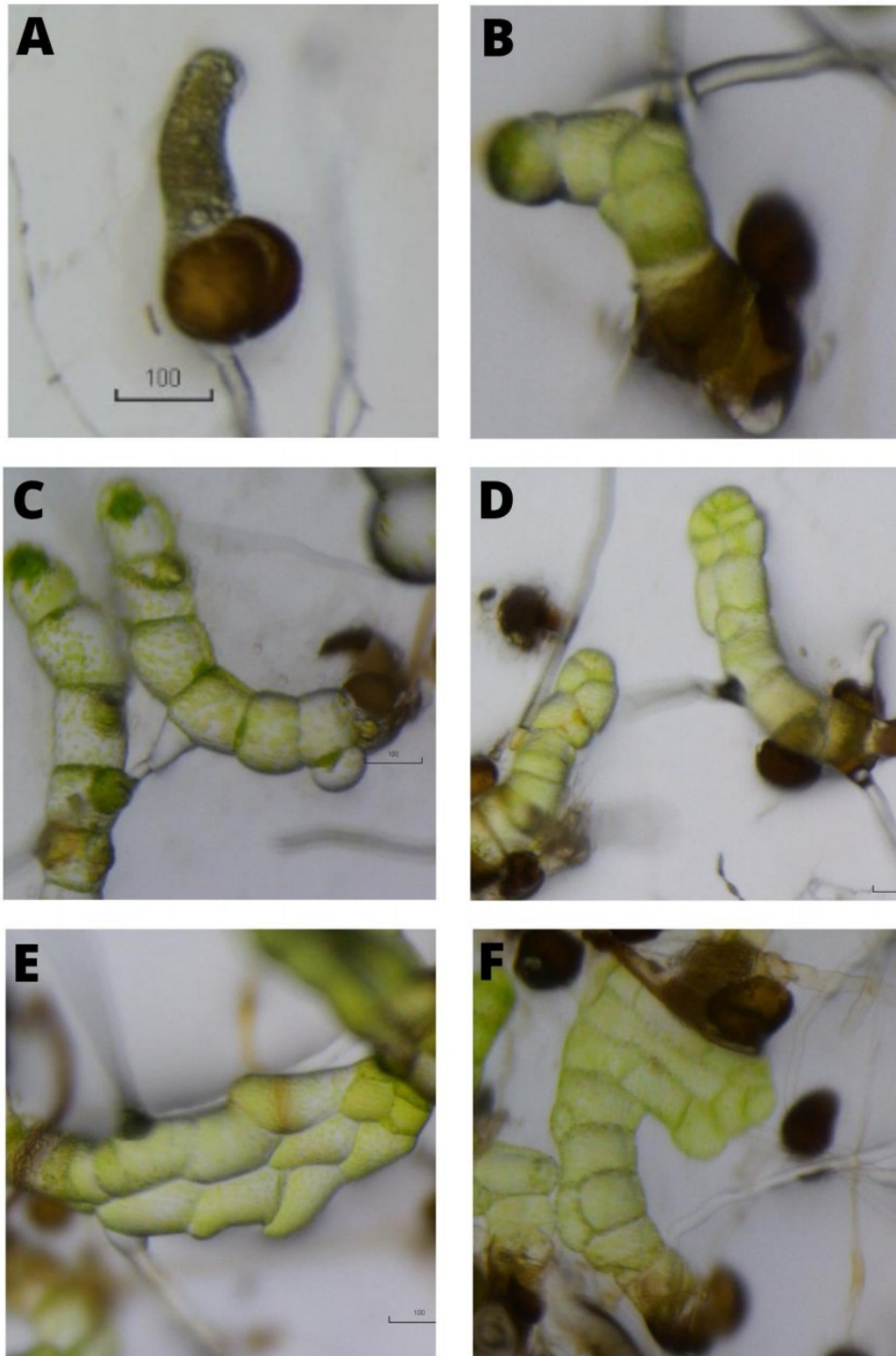


Figura 13. Morfogénesis de la fase gametofítica de *Gaga kaulfussii*. Espora germinada con presencia de cloroplastos y rizoides (A), filamentos germinales uniseriados de 5 a 8 células protálicas de longitud (B y C), división longitudinal de la célula terminal del filamento

germinal por medio de una pared oblicua (**D**), placa bidireccional dividida por las células protálicas (**E**) y fase espatulada (**F**).

7.3.2. *Myriopteris aurea* (Figura 14)

La germinación en *Myriopteris aurea* inició entre los 10 y 15 días en promedio después de la siembra (Cuadro 4), fue la especie que más tardó en germinar en comparación con las otras especies estudiadas. La germinación es de tipo Vittaria. La célula rizoidal se originó a partir de una división perpendicular al eje polar de la espora y la formación de la primera célula protálica se define por una división perpendicular a la anterior originando dos células, una de ellas permanece en reposo y la otra se parte dando inicio al desarrollo del filamento germinativo. Se pudo observar que la célula rizoidal no se divide y es hialina, mientras que las células protálicas presentan abundantes cloroplastos (A, B y C). Posterior a la germinación por divisiones transversales se originó un filamento delgado y uniseriado de 3 a 4 células protálicas cortas y posterior de 8 a 15 células protálicas (D y E), lo que ocurre entre los 20 y 30 días en promedio (Cuadro 4). Esta especie únicamente se desarrolló hasta la fase filamentosa.

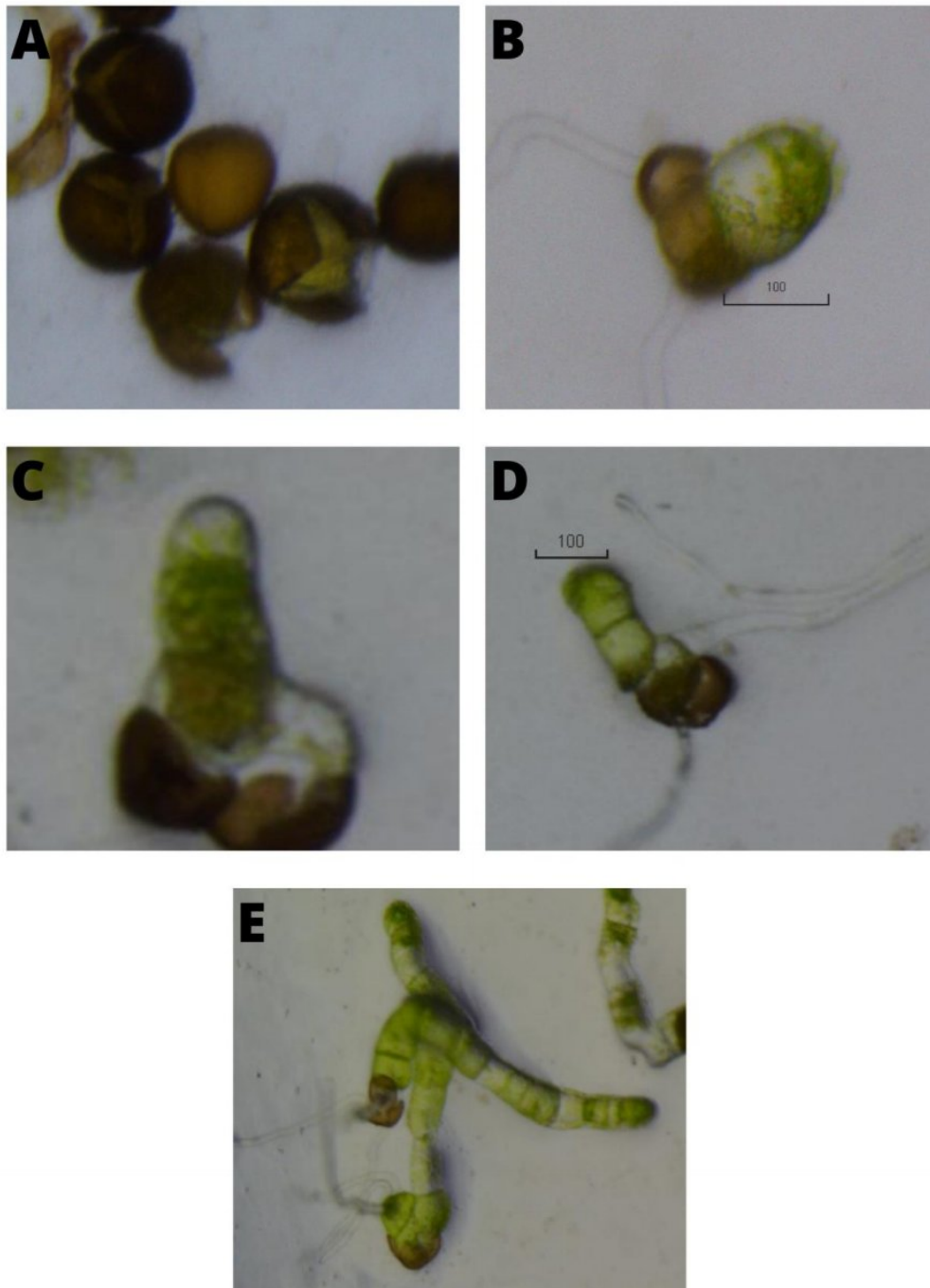


Figura 14. Morfogénesis de la fase gametofítica de *Myriopteris aurea*. Apertura de la espora (A), espora germinada con presencia de cloroplastos y rizoides (B), fase filamentosa uniseriada de 2 a 4 células protálicas de longitud (C y D) y fase filamentosa uniseriada de 8 a 15 células protálicas de longitud (E).

7.3.3. *Myriopteris cucullans* (Figura 15)

La germinación para esta especie inicio entre los 5 y 10 días en promedio después de la siembra (Cuadro 4). La germinación es de tipo Vittaria. La célula rizoidal se originó a partir de una división perpendicular al eje polar de la espora y la formación de la primera célula protálica se define por una división perpendicular a la anterior originando dos células, una de ellas permanece en reposo y la otra se parte dando inicio al desarrollo del filamento germinativo. Se pudo observar que la célula rizoidal no se divide y es hialina, mientras que las células protálicas presentan abundantes cloroplastos (A). Posterior a la germinación se presentó la fase filamentosa por divisiones transversales dando origen a un filamento delgado y uniseriado de 3 a 6 células protálicas cortas globosas, esta fase es efímera, ocurre entre los 15 días en promedio (B y C). Entre los 20 y 30 días en promedio se forma la fase espatulada ramificada (D y E), que posteriormente dio origen a la formación del gametófito joven entre los 35 y 40 días en promedio, con forma laminar ovada, diferenciándose una célula meristemática a partir de la cual se define un meristemo pluricelular alargado en la parte superior del gametófito (F). Entre los 50 y 65 días en promedio se desarrolló el gametófito maduro presentando forma atípica (asimétrica) (G).

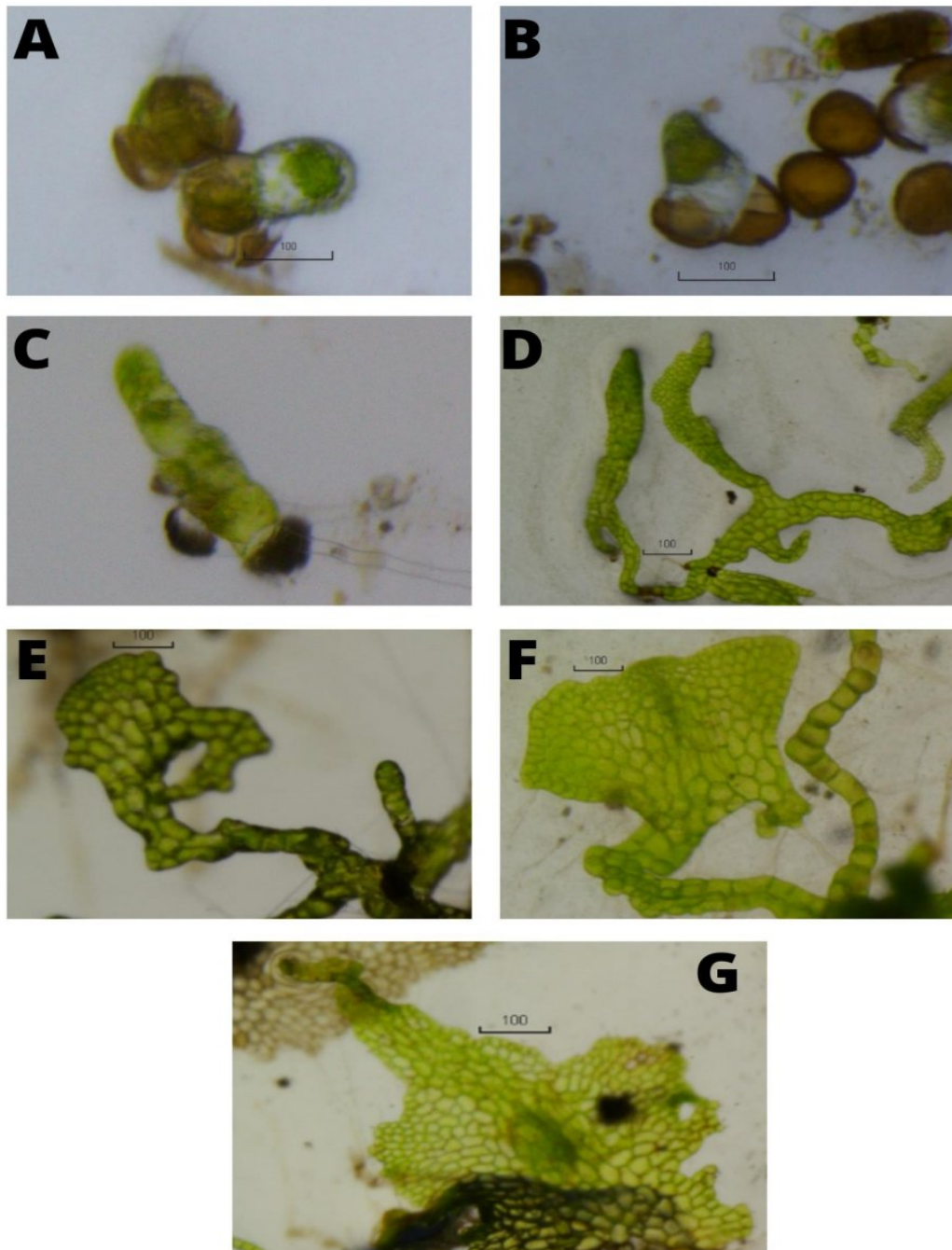
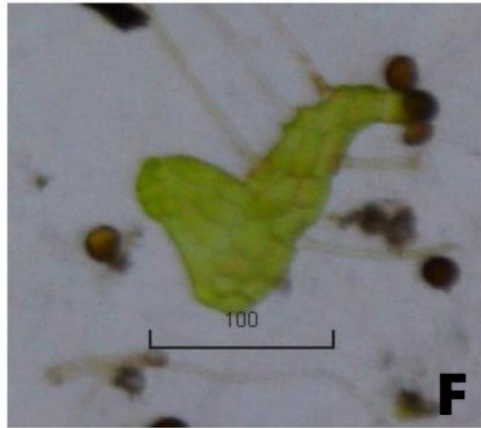
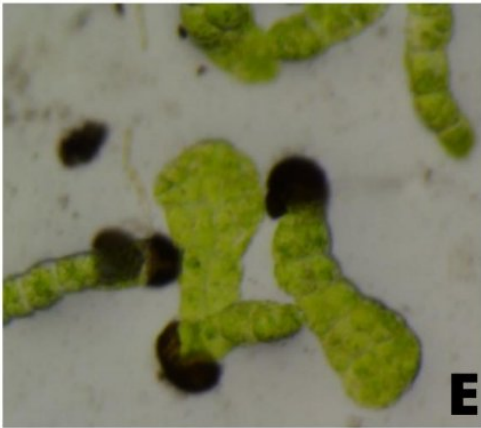
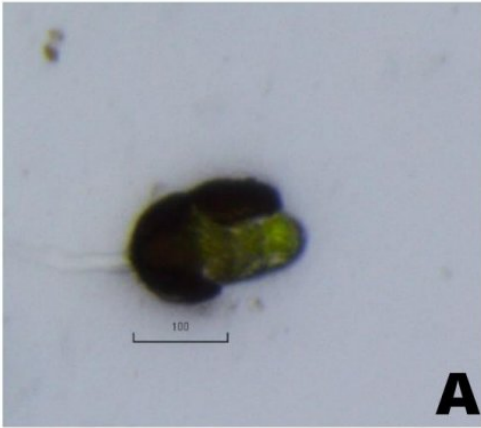


Figura 15. Morfogénesis de la fase gametofítica de *Myriopteris cucullans*. Espora germinada con presencia de cloroplastos y rizoides (A), filamentos germinales uniseriados de 3 a 6 células protálicas de longitud (B y C), fase espatulada ramificada (D y E), gametófito joven con forma ovada, presencia de una célula meristemática en la parte superior (F) y gametófito maduro con forma atípica (asimétrica) (G).

7.3.4. *Notholaena brachypus* (Figura 16)

La germinación para esta especie inicio entre los 4 y 8 días en promedio después de la siembra, fue la especie que más rápido germinó en comparación con las otras especies estudiadas (Cuadro 4). La germinación es de tipo Vittaria. La célula rizoidal se originó a partir de una división perpendicular al eje polar de la espora y la formación de la primera célula protálica se define por una división perpendicular a la anterior originando dos células, una de ellas permanece en reposo y la otra se parte dando inicio al desarrollo del filamento germinativo. Se pudo observar que la célula rizoidal no se divide y es hialina, mientras que las células protálicas presentan abundantes cloroplastos (A). Posterior a la germinación por divisiones transversales se originó un filamento delgado y uniseriado de 4 a 5 células protálicas largas (B), esta fase es efímera, ocurre entre los 10 días en promedio (Cuadro 4). Por medio de una pared oblicua se forma la primera división longitudinal de la célula terminal del filamento germinal que posteriormente dio origen una placa bidireccional dividida por las células (C, D), esto marcó el comienzo del crecimiento plano o protálico. Primero se desarrolla la fase espatulada (E y F) entre los 15 y 20 días en promedio. Esto da origen a la formación de los primeros gametofitos jóvenes adquirido una forma cordiforme entre los 30 y 40 días en promedio (G), este se sigue desarrollando hasta formar alas simétricas y una zona meristemática central bien definida formando finalmente una escotadura (H). En esta etapa se forma una yema apogámica en la parte posterior del gametófito (I). Finalmente se forma el gametófito maduro entre los 50 y 60 días en promedio (J y K), en esta etapa se observó una diferenciación de órganos sexuales en la parte media del gametófito (L).



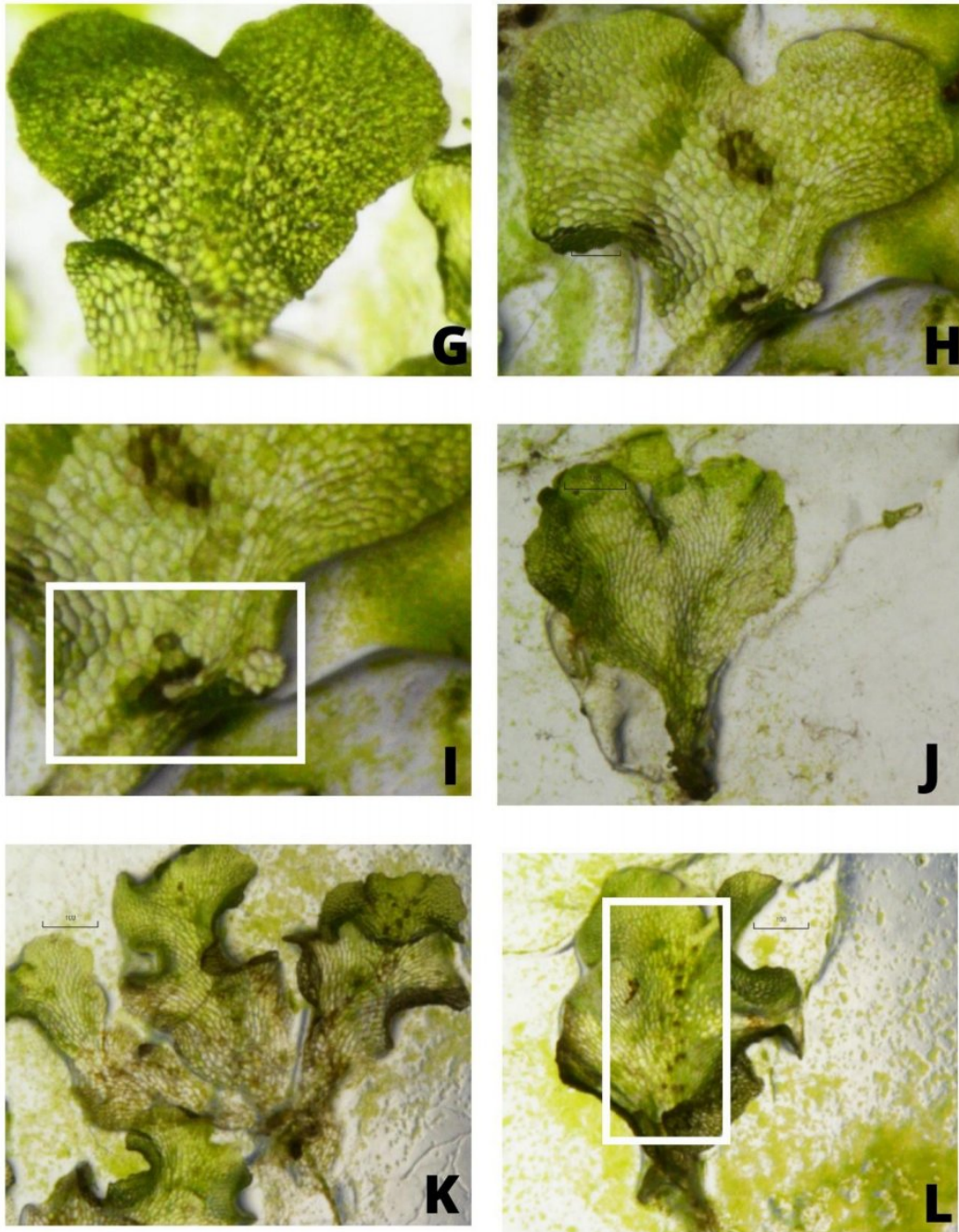


Figura 16. Morfogénesis de la fase gametofítica de *Notholaena brachypus*. Espora germinada con presencia de cloroplastos y rizoides (A), filamento uniseriado de 4 a 5 células protálicas de longitud (B), división longitudinal de la célula terminal del filamento germinal por medio de una pared oblicua (C), placa bidireccional dividida por las células protálicas (D), fase espatulada (E y F), gametófito joven cordiforme (G), gametófito maduro con presencia de yema apogámica en la parte posterior (H), acercamiento de la yema apogámica

(**I**), desarrollo de gametofitos maduros (**J** y **K**) y gametófito maduro con diferenciación de órganos sexuales en la parte media (**L**).

Cuadro 4. Etapas de desarrollo de las especies (*Gaga kaulfussii*, *Myriopteris aurea*, *Myriopteris cucullans* y *Notholaena brachypus*).

Especie	Días en las etapas de desarrollo						
	Tipo de germinación	Germinación	Fase Filamentosa	Fase espatulada	Gametófito joven	Gametófito maduro	Tipo de gametófito
<i>Gaga kaulfussii</i>	Vittaria	7 a 12	15	20 a 40	No	No	No
<i>Myriopteris aurea</i>	Vittaria	10 a 15	20-30	No	No	No	No
<i>Myriopteris cucullans</i>	Vittaria	5 a 10	15	20 a 30	35 a 40	50 a 65	Atípico (Asimétrico)
<i>Notholaena brachypus</i>	Vittaria	4 a 8	10	15 a 25	30 a 40	50 a 60	Adiantum (Cordiforme)

7.4. Morfogénesis de la fase gametofítica bajo el tratamiento de luz rojo lejano (Figura 17).

Bajo este tratamiento de luz las esporas de las cuatro especies germinaron de 3 a 5 días más en comparación con el tratamiento de luz blanca. Se presentaron diferencias en el tiempo de germinación entre las especies. *Myriopteris aurea* y *Gaga kaulfusii* germinaron entre 10 y 15 días en promedio. *Notholaena brachypus* germinó entre los 6 y 10 días en promedio y *Myriopteris cucullans* entre 8 y 12 días en promedio.

La respuesta de las cuatro especies bajo este tratamiento de luz fue característica, ya que únicamente llegaron a la fase filamentosa presentando un crecimiento anormal, las células protálicas del filamento germinal se van elongando a través del tiempo y son hialinas. Presentan poca presencia de cloroplastos y la mayoría se encuentra en la célula terminal del filamento germinativo.

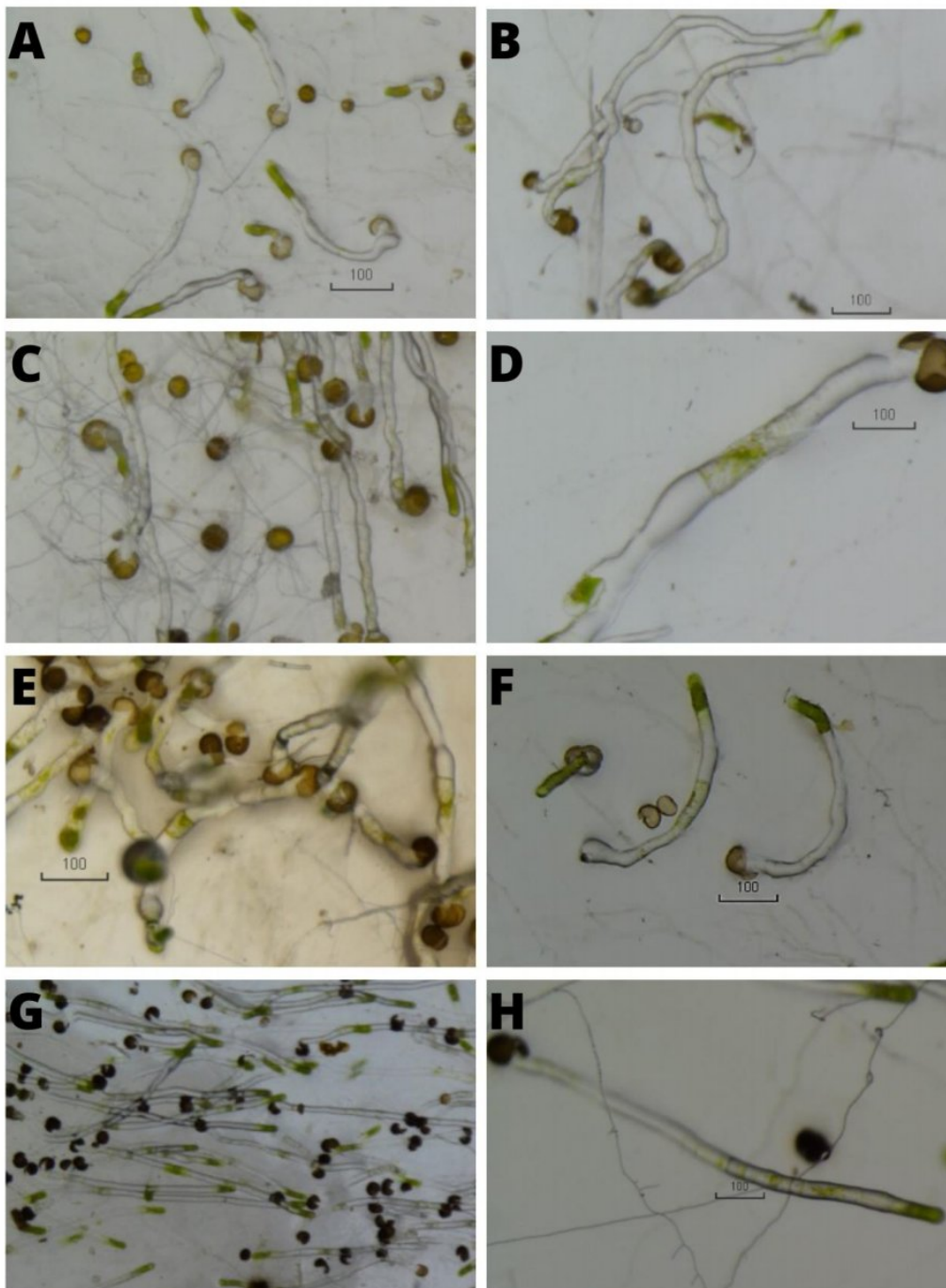


Figura 17. Desarrollo del filamento germinativo bajo el tratamiento de luz rojo lejano en las cuatro especies estudiadas entre los 8 y 15 días en promedio. *Gaga kaulfussii* (A y B), *Myriopteris aurea* (C y D), *Myriopteris cucullans* (E y F) y *Notholaena brachypus* (G y H).

8. DISCUSIÓN

8.1. Descripción de las esporas y germinación

Las cuatro especies estudiadas en el presente trabajo, corresponden a helechos homosporicos, presentan esporas triletes, de forma esférica-globosa, con colores de (ámbar- marrón), lo cual coincide con lo reportado por otros autores para algunas especies del complejo *Cheilanthe* (Nodfor *et al.* 2003; Mickel y Smith 2004; Farfán 2008; Pérez-García y Mendoza 2009; Galán y Prada 2009, 2010; Gutierrez 2012; Huerta-Zavala *et al.* 2015; Martínez *et al.* 2017; Masoumi *et al.* 2017). En lo que se refiere al patrón de germinación, las cuatro especies presentaron el tipo *Vittaria*, lo que coincide con Nayar y Kaur (1979) quienes reportan que este tipo de germinación es característico de especies del complejo *Cheilanthe*.

Se obtuvo como resultado que las esporas de las cuatro especies son fotoblásticas positivas debido a que ninguna de estas germinó en oscuridad, en cambio, en los tratamientos de luz blanca (94% respectivamente) y rojo lejano (83% respectivamente) si se presentó germinación de esporas, por lo que podemos deducir que la luz es un factor ambiental esencial tanto para la germinación de esporas como para el crecimiento del gametófito. Se ha reportado que los factores ambientales como (pH del suelo, humedad, temperatura y luz) juegan un papel de gran importancia en la germinación, desarrollo y reproducción de los helechos (Raghavan 1889; Pérez-García y Reyes-Jaramillo 1993; Kami *et al.* 2010; Suo 2015). Pero también cabe destacar que se ha reportado que de entre todos estos factores ambientales la luz es uno de los factores más importantes para que se lleve a cabo la germinación de esporas de helechos homosporicos, clasificación a la cual pertenecen las especies estudiadas (Raghavan (1989), Quail *et al.* (1995), Furuya *et al.* (1997), Pérez-García *et al.* (2007), Wada (2007) y Tsuboi *et al.* (2012), cuya función esta mediada por un sistema de fitocromos que le permite a la espora detectar la luz en los claros del bosque y la proximidad a la superficie del suelo, lo cual permite que las esporas germinen en condiciones favorables para el crecimiento del gametófito y el esporófito (Pérez-García *et al.* 2007).

Adicionalmente, Pérez-García y Riba (1882) reportan para cinco especies de *Cyatheaceae* que se puede establecer una correlación aproximada entre las temperaturas donde las especies crecen mejor y su distribución general en América, Wu *et al.* (2010) reporto que la germinación de esporas y el desarrollo del gametófito de *Adiantum reniforme* var. *Sinense* no puede suceder sin luz, López-Romero *et al.* (2016) reportan que *Blechnum*

appendiculatum y *Blechnum schiedeanum* necesitan estrictamente de la luz para germinar y que la humedad del sustrato puede limitar la germinación de las dos especies a ambientes húmedos del bosque, concluyen que los requerimientos para la germinación de la espora se relacionaron parcialmente con la preferencia del hábitat de las especies. Haciendo una comparación entre los diferentes estudios antes mencionados podemos decir que los diferentes factores ambientales van incidir de manera diversa sobre las distintas fases del ciclo de vida de los helechos.

Por otra parte, es importante mencionar que las características fisiológicas de las esporas, como sería el caso de la presencia o ausencia de clorofila, repercuten en el tiempo de germinación y en el desarrollo de las primeras células de los gametofitos jóvenes (Raghavan, 1889; Pérez y Jaramillo, 1993). Las esporas clorofílicas presentan cortos periodos de viabilidad (48 días en promedio), mientras que en las no clorofílicas es mayor (3 años en promedio) (Lloyd y Klekowski 1970; Raghavan, 1989; Pérez y Reyes, 1993).

En el presente trabajo se encontró que las esporas de los cuatro taxa son no clorofílicas, lo cual tiene una importante relación con el hábitat donde estas se encuentran, ya que este es un bosque tropical caducifolio con un clima altamente estacional (semicálido). Esto se puede contrastar con lo reportado por Pérez y Reyes (1993) donde mencionan que los helechos que producen esporas clorofílicas se correlacionan con el hábitat húmedo mesofítico, así como los helechos con esporas no clorofílicas, son característicos de regiones tropicales y subtropicales húmedas. Dyer (1992) y Hamilton (1988) mencionan que las esporas no clorofílicas son útiles para el establecimiento de bancos naturales de esporas de helechos como un enfoque de conservación y regeneración *in situ* de las especies. Con relación a lo anterior es probable que las especies estudiadas en el presente trabajo formen bancos de esporas para hacer frente a la limitación ambiental provocada por la alta estacionalidad de su hábitat. Los bancos de esporas y semillas son definidos como reservorios formados por (semillas o esporas) que permanecen latentes por meses o incluso años, ya sea enterradas, depositadas en la superficie o mezcladas en la capa de hojarasca y humus hasta que las condiciones ambientales sean favorables para su germinación y desarrollo (Pérez-García *et al.*, 1982; Vázquez *et al.*, 1997; Mehlreter, 2010; Gupta *et al.*, 2014), que para climas semicálidos como es el caso del presente trabajo es la temporada de lluvias entre junio a octubre (Rivera, 2001; Castrejón *et al.*, 2022).

8.2. Morfogénesis de la fase gametofítica

Con lo que respecta a la morfogénesis de los gametofitos de las cuatro especies, fue en el tratamiento de luz rojo lejano que sólo se logró desarrollar hasta la fase filamentosa en las cuatro especies, presentando un desarrollo anormal con presencia de 3-6 células elongadas incoloras, este patrón de crecimiento para esta calidad de luz se puede contrastar con lo reportado por Raghavan (2005) y López *et al.* (2016) donde mencionan que bajo este tipo de luz no se logra el desarrollo del gametofito si no únicamente hasta la fase filamentosa y esta presenta un desarrollo poco común con elongación de las células protálicas incoloras.

Cabe resaltar que la luz rojo lejano, es la luz que llega a la superficie del suelo del bosque después de haber sido filtrada por la vegetación circundante y la hojarasca (Smith, 2000), lo que causa una gran heterogeneidad en el ambiente lumínico en los bosques tropicales y las plantas que crecen en el sotobosque pueden cambiar su fisiología y crecimiento en respuesta a cambios espaciales y temporales en la disponibilidad de luz (Chazdon y Fetcher 1984). Si bien, lo anterior nos indica que las esporas de estos helechos pueden germinar bajo este tipo de luz (rojo lejano) en su hábitat natural, sin embargo, no logran su desarrollo completo. De esta manera, la germinación y desarrollo de las esporas se verían limitados si se encuentran bajo el dosel u hojarasca o en los primeros milímetros del suelo donde predomina la luz rojo lejano.

Contrariamente, con el tratamiento de luz blanca, se presentó desarrollo de la fase gametofítica normal en las cuatro especies estudiadas, esta calidad de luz en su medio natural la reciben las esporas si se encuentran en la superficie del suelo sin filtros de vegetación. Sin embargo, únicamente se obtuvo el gametofito en *Notholaena brachypus* (50 a 60 días) y en *Myriopteris cucullans* (50 a 65 días) desarrollándose de manera rápida. Cabe destacar que se ha reportado para especies del complejo Cheilanthe el rápido desarrollo de los gametofitos representa una respuesta a ambientes secos y una ventaja durante los cortos periodos donde hay cierta disponibilidad de agua (Martínez *et al.* 2017). De estos resultados obtenidos podemos deducir que las especies estudiadas prefieren hábitats abiertos donde reciben primordialmente luz blanca, estos resultados se pueden contrastar con lo reportado para especies del complejo Cheilanthe, donde se menciona que estas especies son típicas de ambientes xéricos, que pueden crecer directamente en fisuras en las rocas, con sustrato escaso (Nondorf *et al.* 2003; Mickel y Smith 2004; Schuettpelz *et al.* 2007; Whitney *et al.* 2011), la

capacidad que tiene este grupo para prosperar en estos hábitats se debe, en parte, a características morfológicas que posee el esporófito como por ejemplo, cutículas gruesas, escamas, exudados cerosos, pelos que les dan protección contra la luz solar intensa y poca humedad (Hevly 1963; Wollenweber, 1984; Koch et al., 2009) y también a características que posee el gametófito como la presencia de acuaporinas en las células protonemales que le permite prevenir la desecación inmediata al interrumpir el flujo de agua (Diamond *et al.* 2012).

Con respecto al tipo de gametófito se presentaron diferencias entre especies, lo cual es taxonómicamente significativo, para *Notholaena brachypus* el gametófito fue de tipo *Adiantum*, lo anterior, coincide con la clasificación de desarrollo protálico para especies del género *Cheilanthes* (Nayar y Kaur 1969) y con lo reportado para *Cheilanthes pyramidalis* (Farfán 2008), *Cheilanthes glauca* (Galán y Prada 2009), *Cheilanthes pilosa* (Galán y Prada 2010), *Cheilanthes lendigera* (Arreguín 2012) y *Myriopteris aurea* (Huerta-Zavala *et al.* 2015), mientras que en *Myriopteris cucullans* se obtuvo un gametófito atípico (asimétrico), poco común en el género según la bibliografía reportada por (Nayar y Kaur 1969), cabe señalar que para esta especie no se encontró bibliografía sobre la fase gametofítica para poder contrastar los resultados obtenidos en este estudio. Sin embargo, se ha reportado que el desarrollo protálico entre especies del complejo *Cheilantheoide* puede variar en su forma, desde cinta, orbicular, alargado-cordiforme y cordiforme (Martínez *et al.* 2017). Por ejemplo, en *C. pilosa*, *C. hieronymi*, *C. buchtienii* y *C. obducta* se registraron gametofitos filamentosos, largos y ramificados, algo que no había sido reportado para especies de este género (Martínez *et al.* 2017). Se atribuye que la variación de la forma del gametófito, depende en gran medida de la disponibilidad del agua en el sustrato y a la baja intensidad lumínica del hábitat (Pickett 1923), sin embargo, también se ha reportado que cuanto se lleva a cabo la reproducción de helechos en medios de cultivos artificiales las condiciones de este, como el sustrato y la luz pueden generar modificaciones en el desarrollo de la fase gametofítica (Hagemann 1997), asimismo Pérez- García y Jaramillo (1993) reportan que bajo estas condiciones de cultivo se obtiene una gran cantidad de gametofitos, pero no siempre se producen esporofitos debido a que con frecuencia no se forman órganos sexuales.

En lo que respecta a la especie *Myriopteris aurea* no se obtuvo el gametófito y únicamente se desarrolló hasta la fase filamentosa, posterior a este tiempo, se observó la desecación de

los mismos, en contraste, Huerta-Zavala *et al.* (2015) lograron obtener todo el ciclo de vida de esta especie bajo el sustrato de maqui que y tierra de hoja. Son varios los factores que pudieron influir en esta diferencia de resultados, y uno de ellos pudo ser el medio de cultivo en donde se llevaron a cabo los experimentos, ya que, como lo mencionan algunos autores, el medio donde se depositan las esporas juega un papel importante en el proceso de la germinación (Pérez-García y Reyes-Jaramillo 1993).

En la especie *Gaga kaulfussii* sólo se obtuvo la fase espatulada (20 a 40 días), posterior a este tiempo se observó desecación de los mismos, cabe señalar que de igual manera para esta especie no se encontró bibliografía sobre la fase gametofítica para poder contrastar los resultados obtenidos en este estudio, sin embargo, Pérez-García y Reyes-Jaramillo (1993) reportan que en el caso de obtener gametofitos bajo medios artificiales estos se deben trasplantar a macetas con suelo para protegerse de la desecación.

Es importante señalar que se ha reportado que el desarrollo gametofítico es importante en la delimitación de grupos de taxa (Atkinson y Stokey 1964; Atkinson 1973), por lo que sería importante estudiar la morfogénesis de otras especies que pertenezcan al complejo Cheilantheoide, para conocer si en este caso existe una relación entre la circunscripción infragénica y el desarrollo protálico.

En cuanto a la expresión sexual solo se observó en *Notholaena brachypus*, además de una yema pogámica, por lo que podemos asumir que esta especie puede presentar dos tipos de reproducción (sexual y asexual). En este sentido, sólo en *Gaga marginata* y *Myriopteris aurea* se ha reportado la presencia de los dos tipos de reproducción, sin embargo, únicamente se presenta apogamia cuando estos helechos se desarrollan en sitios alterados (erosión, desmonte, incendios, escasa cobertura de dosel o inexistente), lo que hace que la alternancia de generaciones se realice en menos tiempo comparado con un ecosistema conservado. Por el contrario, cuando estos helechos crecen en sitios conservados la formación de esporofitos se lleva a cabo por vía sexual (Rodríguez-Romero *et al.* 2011). Diversos autores han reportado la presencia de apogamia en especies del complejo Cheilantheoide (Knobloch 1966; Whittier 1970; Nondorf *et al.* 2003; Farfán, 2008; Rodríguez-Romero *et al.* 2011; Martínez *et al.* 2017). Se ha sugerido que la apogamia puede ser una adaptación a ambientes xéricos, porque los espermatozoides requieren de agua libre para acceder a los arquegonios (Whittier 1965; Grusz 2016).

9. CONCLUSIONES

1. En este estudio se comprobó que la luz es un factor ambiental necesario para que se inicie el proceso germinativo en las especies estudiadas (*Myriopteris aurea*, *Notholaena brachypus*, *Gaga kaulfussii* y *Myriopteris cucullans*), por lo cual podemos concluir que son fotoblásticas positivas.
2. Los requerimientos para la germinación de la espora se relacionaron parcialmente con la preferencia del hábitat de las especies.
3. Las especies estudiadas germinan bajo luz blanca y rojo lejano. Sin embargo, bajo luz rojo lejano no se puede desarrollar completamente la fase gametofítica, únicamente hasta la fase filamentosa y en luz blanca si se logra el desarrollo de la fase gametofítica por lo que podemos concluir que estas especies crecen estrictamente en lugares abiertos de luz solar directa.
4. El estudio de la morfogénesis del gametófito es necesario para comprender el establecimiento de las especies en un ecosistema altamente estacional como lo es el bosque tropical caducifolio.
5. El rápido desarrollo del gametófito observado para las especies *Notholaena brachypus* y *Myriopteris cucullans* es una estrategia de sobrevivencia a ambientes secos donde hay poca disponibilidad de agua
6. El tipo de sustrato o medio de cultivo es clave para el desarrollo de la morfogénesis del gametófito y su posterior establecimiento.

10. PERSPECTIVAS

- 1.-** Probar el efecto de diferentes factores ambientales (humedad, pH, luz, temperatura) y diferentes medios de cultivo en la germinación de esporas de las especies estudiadas.
- 2.-** Medir la radiación fotosintética activa que llega a las especies en su medio natural en diferentes épocas del año y probar si existe una relación del establecimiento de las especies con el ambiente lumínico.
- 3.-** Realizar la morfometría de los gametofitos de las cuatro especies estudiadas para establecer si en este caso hay una relación entre la circunscripción infra genérica y el desarrollo protálico.
- 4.-** Llevar a cabo un estudio de banco de esporas en el bosque tropical caducifolio de San Andrés de cal, Tepoztlán Morelos.

12. LITERATURA CITADA

- Alarcón N y Peláez F. (2008). Efecto de la luz y la temperatura en la germinación de esporas de *Pteris vittata* (Pteridaceae). *Rebiol* 28(2): 1-2.
- Al Karaki G.N. (1998). Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. *Mycorrhiza* 8: 41-45.
- Atkinson L.R y Stokey A.G. (1964). Comparative morphology of the gametophyte of homosporous ferns. *Phytomorphology* 14: 51-70.
- Atkinson L.R. (1973). The gametophyte and family relationships. *Botanical Journal of the Linnaean Society* 67: 73-90.
- Baskin C y Baskin J. (2001). *Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, San Diego, USA.
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015). "Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4." *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1–48.
- Brum F.R y Randi A.M. (2002). High irradiance and temperature inhibit the germination of spores of the fern *Rumohra adiantiformis* (Forst.) Ching (Dryopteridaceae). *Brazilian Journal of Botany* 25(4): 391-396.
- Castrejon-Alfaro, E. B. 2017. Estudio comparativo de la fenología de helechos terrestres del bosque tropical caducifolio en San Andrés de la Cal, Tepoztlán, Morelos. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México.
- Chazdon R.L y Fetcher N. (1984). Photosynthetic light environmental in a lowland tropical rain forest in Costa Rica. *Journal of Ecology* 72: 553-564.
- Colli Á.M.T y Pérez S.C.J. (1999). The effect of red light on the germination of a Brazilian pteridophyte. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 42(2).
- Contreras-Medina, R., García-Martínez, A.I., Ramírez-Martínez, J.C., Espinosa, D., Balam-Narváez, R. y Luna-Vega, I. (2022) Biogeographic analysis of ferns and lycophytes in Oaxaca: A Mexican beta-diverse area. *Botanical Sciences* 100: 204–222.
- Crawley, M.J. 2002. *Statistical Computing: An Introduction to Data Analysis using S Plus*. John Wiley & Sons, Nueva York. 761 págs.

- Crowa W.E., Macka M.R., Diamond H.L y Swartzell L.J. (2011). Narrow substrate niche of *Cheilanthes lanosa*, the hairy lip fern, is determined by carbohydrate and lipid contents in gametophytes. *American Fern Journal* 101: 57-69.
- Diamond, H. L., Jones, H. R. y Swartzell, L. J. (2012). The role of aquaporins in water balance in *Cheilanthes lanosa* (Adiantaceae) gametophytes. *American Fern Journal*, 102(1), 11-31.
- Dyer A.F. (1979). *The Experimental Biology of Ferns*. London: Academic Press.
- Farfán R.I. (2008). Ciclo de vida de *Cheilanthes pyramidalis* Feé (Pteridaceae-Pteridofita). Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional.
- Florian Hartig (2017). DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.1.5. <http://florianhartig.github.io/DHARMA/>
- Furuya M., Kanno M., Okamoto H., Fukuda S y Wada M. (1997). Control of mitosis by phytochrome and a blue-light receptor in fern spores. *Plant Physiology* 113: 677-683.
- Gálan J.M y Prada C. (2009). Gametófitos de *Pleurosorus papaverifolius* (Kunze) Fée (Aspleniaceae) y *Cheilanthes glauca* (Cav.) Mett. (Pteridaceae), dos helechos rupícolas sudamericanos. *Acta Botanica Brasilica* 23(3): 805-811.
- Gálan J.M y Prada C. (2010). Gametophyte of the Andean fern *Cheilanthes pilosa* Goldm. (Pteridaceae). *American Fern Journal*. 100(1): 32-38.
- Gastony G.J y Rollo D.R. (1998). Cheilanthoid ferns (Pteridaceae: Cheilanthoideae) in the southwestern United States and adjacent Mexico a molecular phylogenetic reassessment of generic lines. *A Journal of Systematic and Evolutionary Botany* 17: 131-144.
- Gratani L., Crescente M.F y Rossi G. (1998). Photosynthetic performance and water use efficiency of the fern *Cheilanthes persica*. *Photosynthetica* 35(4): 507-516.
- Grusz A.L., Windham M.D y Pryer K.M. (2009). Deciphering the origins of apomictic polyploids in the *Cheilanthes yavapensis* complex (Pteridaceae). *American Journal of Botany* 96(9): 1636-1645.
- Grusz A.L y Windham M. D. (2013). Toward a monophyletic *Cheilanthes*: The resurrection and recircumscription of *Myriopteris* (Pteridaceae). *Phytokeys* 32: 49-64.

- Grusz A.L. (2016). Una perspectiva actual sobre la apomixis en helechos. *Revista de Sistemática y Evolución* 54(6): 656-665.
- Gupta S., Hore M y Biswas S. (2014). An overview of the study of soil spore bank of ferns: need for suitable exploitation in India. *The Proceedings of the National Academy of Sciences* 84: 779-798.
- Gutiérrez-Caballero J.A. (2012). Seguimiento del ciclo de vida de *Cheilanthes lendigera* (Cav.) Sw. Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional.
- Hagemann, W. (1997). Über die Knöllchenbildung an den Gametophyten der Farngattung. *Anogramma*. *Stapfia* 50: 375–391.
- Hamilton D.R. (1988). The significance of spore banks in natural populations of *Athyrium pycnocarpon*, *A. thelypteroides*. *American Fern Journal* 78: 96-104.
- Harley J.L y Smith S.E. (1983). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, New York.
- Hernández C.R.A., Cerros T.R y Flores M.A. (2014). Las plantas vasculares de la barranca Tepecapa en el municipio de Tlayacapan Morelos, México. *Acta Botánica Mexicana* 108: 11-38.
- Hevly R.H. (1963). Adaptations of Cheilanthoid ferns to desert environments. *Journal of the Arizona Academy of Science* 2: 164-175.
- Hiendlmeyer R y Randi A.M. (2007). Response of spores and young gametophytes of *Cyathea delgadii* Sternb. (Cyatheaceae) and *Blechnum brasiliense* Desv. (Blechnaceae) to different light levels. *Acta Botanica Brasilica* 21: 909-915.
- Huerta-Zavala J., Arreguín S.M., Quiroz G.D.L y Fernández N.R. (2015). Morfogénesis de los gametofitos y morfología de los esporofitos jóvenes de *Cheilanthes bonariensis* (Wild) Proctor (Pteridaceae-Helechos). *Polibotánica* 40: 45-58.
- Hussain S.S., Iqbal M.T., Arif M.A y Amjad M. (2011). Beyond osmolytes and transcription factors: drought tolerance in plants via protective proteins and aquaporins. *Biologia Plantarum* 55(3): 401-413.
- Jaramillo I.R., Pérez-García B y Mendoza A. (1995). Plantas miniatura de la naturaleza: gametofitos de helechos. *Contactos* 12: 5-10.

- Juárez-Orozco S., Orozco-Segovia A., Mendoza-Ruiz A y Pérez-García B. (2013). Spore germination of eight homosporous ferns in a temperature gradient. *South African Journal of Botany* 87: 112-117.
- Kami C., Lorrain S., Hornitschek P y Fankhauser C. (2010). Light-regulated plant growth and development. *Current Topics in Developmental Biology* 91: 29-66.
- Kirkpatrick R.E.B. (2007). Investigating the monophyly of *Pellaea* (Pteridaceae) in the context of a phylogenetic analysis of Cheilanthoid ferns. *Systematic Botany* 32: 504-518.
- Knobloch I.W. (1966). A preliminary review of spore number and apogamy within the genus *Cheilanthes*. *American Fern Journal* 56: 163-167.
- Kohen E., Santus R y Hirschberg J.G. (1995). *Photobiology*. United states. Academic Press, London.
- Lloyd R.M y Klekowski Jr. E.J. (1970). Spore germination and viability in Pteridophyta: evolutionary significance of chlorophyllous spores. *Biotropica* 2(2): 129-137.
- Li F.W., Pryer K.M y Windham M.D. (2012). *Gaga*, a new fern genus segregated from *Cheilanthes* (Pteridaceae). *Systematic Botany* 37: 845-860.
- Link-Pérez M.A., Watson L.E y Hickey R.J. (2011). Redefinition of *Adiantopsis* Fée (Pteridaceae): Systematics, diversification, and biogeography. *Taxón* 60(5): 1255-1268.
- López-Romero J.M., Riaño K y Briones O. (2016). Germinación y frecuencia de esporofitos de dos especies simpátricas de *Blechnum* (Blechnaceae). *Acta Botánica Mexicana* 117: 47-58.
- Martínez-Salas y Ramos, C.H. (2014). Biodiversidad de Pteridophyta en México. *Revista mexicana de biodiversidad* 85:110-113.
- Martínez O., Hernández M y Ponce M. (2017). Reproductive expression of Cheilanthoid ferns (Pteridaceae) from South America. *Flora* 236-237: 126-131.
- Mehltreter K., Walker L.R y Sharpe J.M. (2010). *Fern Ecology*. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Menéndez V., Arbesú R., Somer M., Revilla A., Fernández H. (2011). From spore to sporophyte: how to proceed in vitro. En: *Working with Ferns: Issues and applications*.

- Eds H.Fernandez, A. Kumar, A. Revilla. New York, Dordrecht; Heidelberg; London:Springer, pp.97-110.
- Mickel J.T y Smith A.R. (2004). The Pteridophytes of Mexico. Memoirs of the New York Botanical Garden.
- Mohammad Masoumi S., Ghasempour H.R y Sobhi J. (2017). Spore morphology of *Cheilanthes persica* (Bory) Mett. ex Kuhn and its developmental stages. The Iranian Journal of Botany 23(2): 130-135.
- Muñiz D.M y Eslava S.F. (2014). Monilophyta. En: Valencia, A.S. 2014. Introducción a las embriofitas. México. UNAM.
- Nayar B.K y Kaur S. (1968). Spore germination in homosporous fern. Journal Palynol 4: 1-14.
- Nayar B.K y Kaur S. (1969). Types of prothallial development in homosporous ferns. Phytomorphology 19: 171-188.
- Nayar B.K y Kaur S. (1971). Gametophytes of homosporous ferns. The Botanical Review 37: 295-396.
- Nondorf S.L., Dooley M.A., Palmieri M y Swartzell L.J. (2003). The effects of pH, temperature, light intensity, light quality, and moisture levels on spore germination in *Cheilanthes feei* of Southeast Missouri. American Fern Journal 93: 56-69.
- Orozco-Segovia A y Vázquez-Yanes C. (1989). Light effect on seed germination in *Piper* L. Oecologia Plantarum 10: 123-146.
- Palmieri M y Swartzell L. J. (2004). Mycorrhizal fungi associated with the fern *Cheilanthes lanosa* in southeast Missouri and southern Illinois. Northeastern Naturalist 11(1): 57-66.
- Pérez-García B y Riba R. (1982). Germinación de esporas de Cyatheaceae bajo diversas temperaturas. Biotropica 14: 281-287.
- Pérez-García B., Orozco-Segovia A y Riba R. (1982). El banco de esporas de helechos en el suelo de Los Tuxtlas, Ver. Boletín de la Sociedad Botánica de México 43: 89-92.
- Pérez-García B y Reyes-Jaramillo I. (1993). Helechos: Propagación y Conservación. Ciencias. 11-17
- Pérez-García B., Riba R. y Mendoza A. (1994). Observaciones del gametófito de *Thelypteris rhachiflexuosa* Riba (Thelypteridaceae). Acta Botánica Mexicana 28: 63-69.

- Pérez-García B., Mendoza R.A., Sánchez M.E y Orozco S.A. (2007). Effect of light and temperature on germination of spores of four tropical fern species. *Acta Oecologica* 32: 72-179.
- Pérez-García B y Mendoza R.A. (2009). *Helechos y Lycopodios de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México, DF, México.
- Pickett F.L. (1923). An ecological study of *Cheilanthes gracillima*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 50: 329-338.
- PPG I (2016). A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal of systematics and evolution*. 54(6):563-603.
- Ponce M.M y Scataglini M.A. (2012). Nuevas combinaciones en *Adiantopsis* (Cheilantheae, Pteridaceae) de América del Sur. *Novon* 22: 62-66.
- Ponce M.M y Scataglini M.A. (2018). Further progress towards the delimitation of *Cheilanthes* (Cheilanthoideae, Pteridaceae), with emphasis on South American species. *Organisms, Diversity and Evolution* 18: 175-186.
- Quail P.H., Boylan M.T., Parks B.M., Short T.W., Xu Y y Wagner D. (1995). Phytochromes: photosensory perception and signal transduction. *Science* 268: 675-680.
- Quirk H y Chambers T.C. (1981). Drought tolerance in *Cheilanthes* with special reference to the gametophyte. *Fern Gazette* 12(3): 121-129.
- R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Raghavan V. (1989). *Developmental Biology of Fern Gametophytes*. Cambridge University Press, New York, NY.
- Raghavan V. (2005). *Developmental biology of fern gametophytes*. United States. Cambridge University Press.
- Raven P.H., Evert R.F y Eichhorn S.E. (2005). *The Biology of Plants*, Ed 6. WH Freeman and Company, New York, NY.
- Rensing S.A., Sheerin D.J y Hiltbrunner A. (2016). Phytochromes: More than meets the eye. *Trends in Plant Sciences* 21(7): 543-546.
- Riaño K y Briones O. (2013). Leaf physiological response to light environment of three tree fern species in a Mexican cloud forest. *Journal of Tropical Ecology* 29(3): 217-228.

- Riaño K, Briones O y Pérez-García B. (2015). Spore germination of three tree fern species in response to light, water potential, and canopy openness. *American Fern Journal* 105: 59-72.
- Riba R., Pacheco L., Valdez A y Sandoval Y. (1996). Pteridoflora del Estado de Morelos, México, lista de familias, géneros y especies. *Acta Botánica Mexicana* 37: 45-65.
- Riba R., Pérez-García B., Mendoza A y Reyes J.I. (2000). Morfología de gametofitos de helechos. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D. F.
- Rodríguez-Romero M.L., Zavala Hurtado J.A y Pacheco L. (2011). Presencia, abundancia y estrategias reproductivas de helechos en áreas alteradas de la Sierra Nevada, México. *Revista de Biología Tropical* 59(1): 417-433.
- Rothfels C.J., Windham M.D., Grusz A.L., Gastony G.J y Pryer K.M. (2008). Toward a monophyletic *Notholaena* (Pteridaceae): resolving patterns of evolutionary convergence in xeric-adapted ferns. *Taxon* 57: 712-724.
- Ruiz- Rivera C.A. (2001). San Andrés de la Cal: Localización, medio ambiente y su relación socioeconómica. En Ruiz-Rivera, C. A. (Ed.). *San Andrés de la Cal, Culto a los Señores del Tiempo en Rituales Agrarios*. SUR Comunicación y Medios, UAEM. México.
- Sánchez-Popoca A.D. (2016). La familia Pteridaceae (Pteridophyta) en la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México.
- Schuettpelz E., Schneider H., Huiet L., Windham M.D y Pryer K.M. (2007). A molecular phylogeny of the fern family Pteridaceae: assessing overall relationships and the affinities of previously unsampled genera. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 1172-1185.
- Sheffield E. (2008). Alternation of generations. En *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes*, ed. T. A. Ranker y Haufler, C. H. Cambridge, UK: Cambridge. University Press. 49-74.
- Sigel E.M., Windham M.D., Huiet L., Yatskievych G y Pryer K.M. (2011). Species relationships and farina evolution in the Cheilanthoid fern genus *Argyroschisma* (Pteridaceae). *Systematic Botany* 36: 554-564.

- Smith H. (2000). Phytochromes and light signal perception by plants-an emerging synthesis. *Nature* 407: 585-591.
- Smith A.R., Pryer K.M., Schuettpelz E., Korall P., Schneider H y Wolf P. G. (2006). A classification for extant ferns. *Taxon* 55: 705-731.
- Steil W.N. (1939). Apogamy, apospory and parthenogenesis in the pteridophytes. *The Botanical Review* 8: 433-453.
- Steil W.N. (1933). New cases of apogamy in certain homosporous leptosporangiate ferns. *Botanical Gazette* 95: 164-167.
- Suo, J., Chen, S., Zhao, Q., Shi, L. y Dai, S. (2015). Fern spore germination in response to environmental factors. *Frontiers in Biology* 10, 358-376.
- Taiz L y Zeiger E. (2006). *Plant Physiology*. 4th Edition. Sinauer Associates, Inc.,Sunderland, Massachusetts.
- Tejero-Díez, J.D., Torres-Díaz, A.N y Sánchez-González, A. Helechos de la Sierra Madre del Sur. En: Biodiversidad de la Sierra Madre del Sur: Una Síntesis Preliminar; Luna-Vega, I., Espinosa, D., Contreras-Medina, R., Eds.; Universidad Nacional Autónoma de México: Mexico City, México, 2016; pp. 121–155.
- Tryon R.M y Tryon A.F. (1973). Geography, spores and evolutionary relations in the Cheilantoid ferns. *Botanical Journal of the Linnean Society* 67(1): 145-153.
- Tsuboi H., Nakamura S., Schäfer, E y Wada M. (2012). Red light-induced phytochrome relocation into the nucleus in *Adiantum capillus-veneris*. *Molecular Plant* 5: 85-92.
- Vázquez-Yanes C y Toledo J.R. (1989). El almacenamiento de semillas en la conservación de especies vegetales. *Problemas y aplicaciones*. *Botanical Sciences* 49: 61-69.
- Vázquez-Yanes C y Orozco-Segovia, A. (1990). Ecological significance of light-controlled germination of seeds in plants from two contrasting tropical habitats. *Oecologia* 83: 171.
- Vázquez-Yanes C y Orozco-Segovia, A. (1993). Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of ecology and Systematics* 24: 69-87.
- Vázquez-Yanes C., Orozco A., Rojas M., Sánchez M.E y Cervantes V. (2005). *La reproducción de las plantas semillas y meristemas*. México. La ciencia para todos.
- Wada M. (2007). The fern as a model system to study photomorphogenesis. *The Botanical Society of Japan and Springer*. 120: 3-16.

- Whittier D.P. (1965). Obligate apogamy in *Cheilanthes tomentosa* and *C. alabamensis*. *Botanical Gazette* 126: 275-281.
- Whittier D.P. (1970). The initiation of sporophytes by obligate apogamy in *Cheilanthes castanea*. *American Journal of Botany* 57: 1249-1254.
- Whitney E y Mack R. (2011). Narrow Substrate Niche of *Cheilanthes lanosa*, the Hairy Lip Fern, is Determined by Carbohydrate and Lipid Contents in Gametophytes. *American Fern Journal*. 101(2):57-69.
- Whitney E., Crow, Melissa R. Mack, Hope L. Diamond y Lucinda J. Swatzell. (2011). Narrow substrate niche of *Cheilanthes lanosa*, the hairy lip fern, is determined by carbohydrate and lipid contents in gametophytes. *American Fern Journal* 101(2): 57-69.
- Windham M.D., Huiet L., Schuettpelz E., Grusz A.L., Rothfels C.J., Beck J.B., Yatskievych G y Pryer K.M. (2009). Using plastid and nuclear DNA sequences to redraw generic boundaries and demystify species complexes in Cheilanthoid ferns. *American Fern Journal* 99: 128-132.
- Windham M.D y Yatskievych G. (2003). Chromosome studies of Cheilanthoid ferns (Pteridaceae: Cheilanthoideae) from the western United States and Mexico. *American Journal of Botany* 90(12): 1788-1800.
- Wollenweber E. (1984). Exudate flavonoids of mexican ferns as chemotaxonomic markers. *Revista Latinoamericana de Química* 15: 3-11.
- Wollenweber E y Schneider H. (2000). Lipophilic exudates of Pteridaceae - chemistry and chemotaxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology* 28: 751-777.
- Wu H., Liu X., Ji H y Chen L. (2010). Effects of light, macronutrients, and sucrose on germination and development of the endangered fern *Adiantum reniforme* var. *sinense* (Adiantaceae). *Scientia Horticulturae* 125(2): 417-421.
- Zhang G y Yatskievych G. (2013). *Cheilanthes*. En Z. Wu, P. H. Raven, & D. Hong (Eds.), *Flora of China* (Vol. 2, pp. 218–223). Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- Zhang G., Yatskievych G y Hooper E.A. (2013). *Aleuritopteris*. En Z. Wu, P. H. Raven, & D. Hong (Eds.), (Vol. 2, pp. 224–229). St. Louis: Flora de China. Beijing: Science Press.



Cuernavaca, Morelos a 19 de octubre de 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **ALEXA PÉREZ VITAL**, con el título del trabajo: **MORFOGÉNESIS DE CUATRO ESPECIES DEL COMPLEJO CHEILANTHOIDE EN RESPUESTA A DIFERENTES CALIDADES DE LUZ**. En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis como lo marca el artículo 6° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

PRESIDENTE: M. EN C. ALEJANDRO FLORES MORALES

SECRETARIO: DRA. SANDRA MILENA OSPINA GARCÉS

VOCAL: DRA. KARLA MARÍA AGUILAR DORANTES

SUPLENTE: M. EN C. CATALINA FLORES GALVÁN

SUPLENTE: DR. LUIS VIDAL PEDRERO LOPEZ

FIRMA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

KARLA MARIA AGUILAR DORANTES | Fecha:2023-11-01 08:16:40 | Firmante

o49+lgotmqAml+8LhDBQyhuXSWoENughUiu1MvAa1Ta728AXCrEyVWo1QjGL13hic1e9sCC1CipIvuf2qwFP05Me49kL2klyNL8cmfG1Z7alGPrVH8aXopT5lv3JMFBJAIR+gUB3vKcRfyNyx9L2Yuw5EbMvwuMqep61v93P1266oa3nCOGGJZ9fjiA49ZkhMBOdGaRDGDNJ4TAfyoFUUebFFCqmPBVpSn6J4FTK1VLiSHNjLbLU0m4Bvi/usYLFKFRaqhdVpmgE8Mhzb1OH0x8dPP9jGIFC/htGKmlVtmjzhBbqLftJd8fGF0xT4vJYWficanUNX8jY89JCSShw==

ELDA CATALINA FLORES GALVÁN | Fecha:2023-11-01 11:15:57 | Firmante

YSowAOF6UVdhUtZRRyk87IROVG/LCcWtNpgcGe8lwDAqCLpgQmCajM6VGIBX0iZL1JjPqlu3qXXY7ADkWhRfRCrHnSNUAFIVixY4ugvicbangg4vzRq/BqKAEZplMqLOmezFPbSsxY+GjGu6/Pq3O5o03uU9ZzTk3iEKMg7K1yPmzflkBRv9h4/Ox6XHW7eu70PYDpgTKyMRdBv++/dj6HrEGLBqtF+jOWDFEoYEBFLINifQZ6g+m/Qcq/ndHfhrRf6OMID6x7iQs6BQpd925bJYgE/7ImYksU6aQNMIXGhWHgbckriLCgNmLH5B1bYkDBn/gARjYybgwicjGHw==

ALEJANDRO FLORES MORALES | Fecha:2023-11-02 16:10:25 | Firmante

nshN6qyTbj8n/w7vUtipCAUyq7dyCmmGOGi/Uq+aS2kfw/lloLqFPBf8l9dLsOK3CB+tv4/RV1b05PitAF0HN1HbC3OCg6rFQKozOE7+M3hhr7Jy1yRODJqVNWiu3A3aF+WAYupQs75UilkiG5aQrFANWfsbmKEaFAUetu7g7xv764emnarEdVRRRiDfplUgFnpg06vnppi6l1cGJfA6YV5pY3hVONI1zs5l3wXLUPUYrFEUCU53aOM44TwiXBTzJNoXuwY71nSe+Bi7QavudNTwZnJnmO5uXbD47BK/l8xMHYgZzrnrVrpyGwCwfwQOFaJi1SINaH8v6cT+pl/zzw==

SANDRA MILENA OSPINA GARCÉS | Fecha:2023-11-02 18:03:00 | Firmante

JDIAhRkBmuYN4V1GWEbuEsx0zk7RX7+kQXfau4cuHfd/seXcA/uSXUBGO1V+7CmXxtNrAB59BT9i4GA5bhRkvAo1milOpJW/DyrwRndbyNHIs9kblw2RwS5D33Vstq7meC6w55HpYAtNt/749EntKf3F9mUtvSiyKhFnWSWUBC+45SZwLRdSt+qQxNNN8u2L5Bx8tuhDgflrfpekgOHD9pezFBCtPLDABzEm+2iD1uPtWCB4cCentinat5LJjd1M99uvEbkuchFgMsyq5ijOADa5FQOI8TqxyKJdG9MXgd3GLBDy/N0h1AoIRPfls9U84demA/rKgTWX/5dQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[cw3bSjft6](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/klxlTKfQAzrVK0K4dU6MdwzX7ZMhTOa>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023