



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO  
BOTÁNICA**

**“ONTOGENIA, ORIGEN, COMPOSICIÓN Y FUNCIÓN  
DE LA BANDA CIRCUNENDODERMAL EN  
PTERIDOFITAS”**

**VICTORIA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTORA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2007**

La presente tesis titulada: "Ontogenia, origen, composición y función de la banda circunendodermal en Pteridofitas", realizada por la alumna: Victoria Hernández Hernández, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS  
BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

Consejero



---

Dra. Adriana Delgado Alvarado

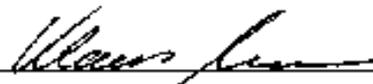
Director de tesis



---

Dra. Teresa Terrazas Salgado

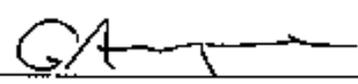
Asesor



---

Dr. Klaus Mehtreter

Asesor



---

Dr. Guillermo Angeles Álvarez

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por las becas otorgadas (No. 162688) y Apoyos integrales para la formación de doctores en Ciencias 2006, para realizar mis estudios de doctorado. Y al Colegio de Postgraduados por todas las facilidades brindadas para el desarrollo del trabajo.

A la Dra. Teresa Terrazas Salgado por su importante contribución durante mi formación académica y su dirección de ésta investigación. Y su valioso conocimiento, sugerencias y tiempo para la realización, revisión, conclusión y publicación del trabajo de investigación.

Al Dr. Klaus Mehltreter por sus valiosos comentarios, sugerencias y revisión exhaustiva durante la elaboración del presente estudio.

A los Drs. Adriana Delgado Alvarado y Guillermo Angeles Álvarez por la asesoría del presente trabajo y la revisión de la tesis.

A José Luis González Gálvez y Adriana Hernández-Rojas por su ayuda en la recolecta del material de campo.

Al personal de la Biblioteca central del Colegio de Postgraduados, a Mario Espejel Miranda, Maria de la Luz Irigoyen M., Antonio Reyes D. e Irene Espinoza G., por su valiosa ayuda en la disponibilidad del acervo bibliográfico.

A mis amigas Doris y Eva por su amistad, apoyo y compañía en todo momento. Y a Laura y Raymunda por su hospitalidad y amistad.

A toda aquella persona, que de alguna manera intervinieron en este trabajo.

## DEDICATORIA

*Para mí, ¡Cuán preciosos son tus pensamientos! Oh Jehová Dios, ¡hasta cuánto llega la gran suma de ellos! (Salmo 139:17).*

A mis padres por su amor y fortaleza para alcanzar mis metas profesionales.

Nicolás y Reina

A mis hermanas, hermanos y sobrinos Karla, Aldahir y Felipe.

# ÍNDICE

	Página
.....	
ÍNDICE DE CUADROS .....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iv
RESUMEN .....	vi
ABSTRACT .....	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
I. SISTEMÁTICA DE LA BANDA CIRCUNENDODERMAL Y SU RELACIÓN CON LA CONFIGURACIÓN DE LAS TRAZAS FOLIARES EN EL PECÍOLO DE PTERIDOFITAS.	
Resumen .....	5
Abstract.....	5
Introducción.....	6
Materiales y método .....	7
Resultados .....	8
Discusión .....	18
Apéndice 1.....	23
II. ANATOMÍA VEGETATIVA DE <i>CTENITIS MELANOSTICTA</i> (DRYOPTERIDACEAE, PTERIDOPHYTA).	
Resumen .....	29
Abstract.....	29
Introducción.....	30
Materiales y método .....	32
Resultados .....	33
Discusión .....	42
III. ONTOGENIA DE LA FRONDA DE <i>CTENITIS MELANOSTICTA</i> Y <i>DIPLAZIUM EXPANSUM</i> : CON ÉNFASIS EN LA BANDA CIRCUNENDODERMAL.	

Resumen .....	53
Abstract.....	53
Introducción.....	54
Materiales y método .....	55
Resultados .....	56
Discusión .....	79
IV. ¿SE MODIFICA LA BANDA CIRCUNENDODERMAL EN HELECHOS LEPTOSPORANGIADOS CON EL CAMBIO DE INCLINACIÓN DE LA FRONDA?	
Resumen .....	82
Abstract.....	82
Introducción.....	83
Materiales y método .....	84
Resultados .....	88
Discusión .....	99
CONCLUSIONES.....	104
LITERATURA CITADA .....	106

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro .....	Página
1. Comparación de la anatomía de la raíz, rizoma, pecíolo y lámina en diferentes géneros y especies de helechos. ....	47
2. Talla de los individuos y fenología de la fronda de los individuos de <i>Ctenitis melanosticta</i> recolectados de prefoliación a fronda expandida y fértil.....	58
3. Talla de los individuos y fenología de la fronda de los individuos de <i>Diplazium expansum</i> recolectados de prefoliación a fronda expandida. ....	70
4. Media y desviación estándar para el tamaño de la fronda y número de pinnas por condición de la fronda en <i>Ctenitis melanosticta</i> y <i>Diplazium expansum</i> . ....	89
5. Número de estratos de células de esclerénquima en la base del pecíolo y el raquis en las dos especies de helechos. ....	93
6. Área del xilema (mm <sup>2</sup> ) desde la base del pecíolo al raquis en <i>Ctenitis melanosticta</i> . ....	94
7. Área del xilema (mm <sup>2</sup> ) desde la base del pecíolo al raquis en <i>Diplazium expansum</i> .....	99

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura .....	Página
1. Especies con traza foliar sin banda .....	10
2. Porcentaje de las 76 especies de helechos eusporangiados y leptosporangiados, con y sin banda relacionados con la forma de vida y la morfología de la fronda.....	11
3. Especies con traza foliar múltiple y con banda.....	13
4. Porcentaje de especies con diferente proporción del engrosamiento de la pared de las células de la banda en leptosporangiados.....	14
5. Especies con inclusiones asociadas con la banda y su distribución en pecíolo y especies sin banda y el tejido asociado .....	15
6. Forma de las trazas foliares .....	16
7. Ocurrencia de la banda y configuración de la traza foliar optimizada en el cladograma de consenso estricto modificada de Hasebe et al. (1995).....	17
8. Planta de <i>Ctenitis melanosticta</i> .....	31
9. Descripción del tejido de la raíz de <i>Ctenitis melanosticta</i> .....	34
10. Descripción del tejido del rizoma de <i>Ctenitis melanosticta</i> .....	36
11. Descripción del tejido del pecíolo de <i>Ctenitis melanosticta</i> . .....	39
12. Descripción del tejido de la lámina foliar de <i>Ctenitis melanosticta</i> . .....	41
13. Planta de <i>Ctenitis melanosticta</i> y <i>Diplazium expansum</i> desde prefoliación a la fronda totalmente expandida .....	57
14. Descripción del tejido en la prefoliación de <i>Ctenitis melanosticta</i> , .....	62
15. Descripción del tejido de la prefoliación, fronda de cuatro a ocho pares de pinnas desarrolladas y fronda totalmente expandida de <i>Ctenitis melanosticta</i> .....	65
16. Descripción del tejido de la lámina foliar de <i>Ctenitis melanosticta</i> . .....	67
17. Diferentes etapas de desarrollo de la lámina foliar de <i>Ctenitis melanosticta</i> .....	69
18. Descripción del tejido de la prefoliación de <i>Diplazium expansum</i> .....	73
19. Diferentes etapas del desarrollo del pecíolo de <i>Diplazium expansum</i> .....	76
20. Diferentes etapas del desarrollo de la lámina foliar de <i>Diplazium expansum</i> .....	78
21. Diagrama que muestra el ángulo de la planta control, recta y planta inclinada .....	86

22. Características morfológicas de <i>Ctenitis melanosticta</i> y <i>Diplazium expansum</i> .....	87
23. Diagrama de la traza foliar que muestra los cordones vasculares cuantificados de <i>Ctenitis melanosticta</i> y <i>Diplazium expansum</i> .....	88
24. Características anatómicas similares del pecíolo de <i>Ctenitis melanosticta</i> creciendo bajo tres condiciones de inclinación de la fronda.....	90
25. Características anatómicas disímiles del pecíolo de <i>Ctenitis melanosticta</i> creciendo bajo tres condiciones de inclinación de la fronda.....	92
26. Características anatómicas similares del pecíolo de <i>Diplazium expansum</i> creciendo bajo tres condiciones de inclinación de la fronda.....	97
27. Características anatómicas disímiles del pecíolo de <i>Diplazium expansum</i> creciendo bajo tres condiciones de inclinación de la fronda.....	98

## RESUMEN

Se describe y caracteriza la banda de células que rodea la endodermis y el tejido vascular en el pecíolo y la lámina de los helechos (eusporangiados y leptosporangiados) con el objetivo de 1) explorar su origen, 2) correlacionar su presencia con la forma de vida y disección de la fronda, 3) identificar su diferenciación durante el desarrollo de la fronda, 4) determinar el origen de sus células y determinar las diferencias entre especies con banda continua (*Ctenitis melanosticta*) y discontinua (*Diplazium expansum*), y 5) evaluar el efecto de la modificación de la inclinación de la fronda sobre los engrosamientos de las paredes de la banda. La banda está generalmente constituida por uno o dos estratos de células isodiamétricas, con paredes gruesas de naturaleza celulósica, e impregnadas de taninos. Se presentó una gran variación en la continuidad, proporción y arreglo del engrosamiento en la pared de las células. Su exclusiva presencia en seis de las 20 familias examinadas, sugiere que la banda surge como un evento evolutivo único a partir de las familias con la traza foliar con dos cordones vasculares (Dryopteridaceae, Thelypteridaceae) y que se conserva en familias con trazas foliares múltiples. La banda se encontró en un mayor número de especies epífitas y hemiepífitas, y especies con frondas simples y pinnadas que sugiere que la banda tenga una función biomecánica o que proteja al tejido vascular. El origen de la banda es tejido fundamental y se diferencia durante la prefoliación a unos centímetros de la base del pecíolo. Por su origen y posición la banda se denomina circunendodermal. No se observaron diferencias en el origen de las células de la banda circunendodermal entre las especies con la banda continua y discontinua. Además, la modificación del ángulo de inclinación de la fronda no tuvo los efectos esperados sobre la banda circunendodermal, pero generó algunas otras diferencias en la anatomía y morfología de la fronda.

## ABSTRACT

The cells conforming a band which surrounds the endodermis and the vascular tissue in the petiole and lamina of ferns (eusporangiate and leptosporangiate) is described and characterized with the main purpose (1) to explore its origin, (2) to correlate its occurrence with plant life form and frond morphology, (3) to identify its establishment during the frond ontogeny, (4) to determine its origin in species with continuous (*Ctenitis melanosticta*) or discontinuous (*Diplazium expansum*) band, and 5) to evaluate if there is an effect in the cells wall thickening with a change in frond angle. The band is composed of one or two rows of isodiametric cells, with cellulosic thick walls impregnated with tannins. There is variation in its continuity, proportion and arrangement of wall thickening. The unique occurrence of this band in six of the 20 families examined suggest that the band arose as a unique evolutionary event in those families with two vascular strands in the leaf trace (Dryopteridaceae, Thelypteridaceae) and is shared with those families that possesses multiple leaf traces. There is a tendency that families with a band have simple or pinnate fronds and to be epiphytes or hemi-epiphytes plants, suggesting that the band has a biomechanical function or it is protecting the vascular tissue. The cells of the band originate from fundamental tissue and starts its differentiation during crozier (fiddle head) few centimeters from the petiole base. Based on its origin and position the band is named circunendodermal. No differences in the origin of the band exist between species with continuous or discontinuous band. In addition, no effect in the circunendodermal band was present with modifications in the frond angle as expected, however, differences exist in the sclerenchyma and vascular tissue as well as in frond morphology.

## INTRODUCCIÓN

Los estudios anatómicos en las pteridofitas se iniciaron en el siglo XIX, con Presl en 1836, quién usa caracteres de venación de la fronda y la traza foliar del pecíolo para elaborar un sistema de clasificación. En 1852, Feé con base en características morfológicas y anatómicas de más de 2,100 especies apoya la identificación de diez familias y 188 géneros (Pichi-Sermolli, 1973). En el siglo XX, destacan los trabajos sintéticos de Bower (1923-1928), quién en los tres volúmenes de su libro "The ferns", presenta información de la anatomía, morfología y morfogenética de los helechos; Bierhorst (1971) en su publicación "Morphology of vascular plants" incluye caracteres morfológicos y anatómicos desde las familias afines a los helechos hasta las familias derivadas de este grupo de plantas. Ogura (1972) presenta en la edición revisada de "Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Pteridophyten" de 1938, la anatomía comparativa de los órganos vegetativos de las pteridofitas, tanto de especies vivas como de fósiles con un enfoque sistemático y evolutivo.

Los estudios anatómicos de pteridofitas se centran en la descripción de los órganos desde la raíz a la fronda, y en aspectos de la anatomía comparativa en la organización del meristemo del vástago, de la ontogenia y del patrón de distribución del tejido vascular y de los estomas. Otros estudios se refieren a la ontogenia de los esporangios y soros; así como el desarrollo de gametofito e indumento como herramientas en la sistemática de los helechos (White, 1974).

En los helechos eusporangiados, que incluyen a las familias Marattiaceae y Ophioglossaceae, también se han realizado estudios comparativos de los órganos de varias especies, así como la revisión del tejido vascular en la fronda y su relación con la filotaxia (Charles, 1911; Velasco, 1971; Webb, 1975; Kato, 1978; Warmbrodt y Evert, 1979a; Rolleri et al., 2003). En el grupo de los helechos leptosporangiados predominan los estudios de anatomía descriptiva y comparativa para las familias: Aspleniaceae, Athyriaceae (Umikalsom, 1992), Osmundaceae (Faull, 1901) y Polypodiaceae (Zlotnik, 1991) y los géneros: *Asplenium* (Chaerle y Viane, 2004), *Cheilanthes* (Williams, 1924; Herrera, 1993), *Cyathea* (Godwin, 1932), *Dryopteris* (Hernández et al., 2006), *Diplazium*

(Pacheco et al., 2003), *Elaphoglossum* (Guantay y Hernández, 1990), *Lygodium* (Clarke, 1936), *Nephrolepis* (Sahni, 1915; Lin y DeVol, 1977), *Platynerium* (Chapple y Peterson, 1987), *Tectaria* (Velásquez, 1983), *Thelypteris* (Zavaro et al., 1995) y *Woodwardia* (Lucansky, 1981); y del complejo de especies de *Polypodium plesiosorum* (Tejero, 2005). En revisiones taxonómicas de la familia Plagiogyriaceae (Zhang y Nooteboom, 1998) y de los géneros *Polybotrya* (Moran, 1987) y *Callipteris* (Pacheco y Moran, 1999) se describe la anatomía de los órganos vegetativos.

Anatómicamente los helechos se diferencian de las angiospermas por la presencia exclusiva de tejido primario. Alrededor de los haces vasculares generalmente se conserva la endodermis desde la raíz hasta la lámina (Ogura, 1972). En las angiospermas y gimnospermas, la endodermis caracteriza las raíces y sólo se ha registrado su presencia en el tallo de algunas monocotiledóneas y dicotiledóneas (Barratt, 1916) y en la hoja de coníferas (Soar, 1922). Sin embargo, en los helechos puede faltar la endodermis en algunos órganos, como por ejemplo en la traza vascular de la lámina de los helechos eusporangiados (Chrysler, 1908; Warmbrodt y Evert, 1979a, b).

En la raíz, la endodermis se clasifica por las características de la pared celular como:

- primaria, por presentar la banda de Caspari en la pared radial;
- secundaria, cuando además de la banda de Caspari hay depósito de suberina en la pared interna de la célula, y
- terciaria, cuando se presentan engrosamientos de celulosa en la pared tangencial interna (Chrysler, 1908; Priestley y Radcliffe, 1924).

De acuerdo con Priestley y Radcliffe (1924) en las pteridofitas sólo se presentan los dos primeros estados.

Varios autores han postulado que el origen de la endodermis en las pteridofitas es diferente (Chang, 1927; Skutch, 1928; Bartoo, 1930; Chapple y Peterson, 1987). Para Chang (1927) surgen la endodermis y el periciclo del rizoma de la misma célula madre del tejido vascular, esta célula presenta división mitótica y hacia el lado externo da origen a la endodermis y en la parte interna al periciclo; ambos tipos de

células se distinguen en su estado joven por su tamaño pequeño y citoplasma denso. De acuerdo con Skutch (1928) se diferencia la endodermis de la raíz de células corticales, pero en el rizoma de células del tejido vascular. Bartoo (1929) menciona que el origen de la endodermis en la raíz es cortical, y tanto la endodermis como el estrato más interno del córtex se diferencian de la misma célula y el origen del periciclo, floema y xilema es estelar. Sin embargo, Bartoo (1930) considera que el origen de la endodermis y del periciclo es cortical en el rizoma, pero estelar en la hoja. Al contrario, Chapple y Peterson (1987) consideran que la endodermis y las células internas del córtex no proceden de la misma célula madre, porque las células del córtex, son células de forma alargadas, con núcleo y vacuola mientras las células de la endodermis son pequeñas con citoplasma en las etapas tempranas de diferenciación. Existe aun discrepancia entre autores sobre el origen de la endodermis. Sin embargo, en la mayoría de los libros de texto se menciona su origen cortical (Esau, 1976, Fahn, 1979, Dickison 2000).

Alrededor de la endodermis y el tejido vascular de rizoma, pecíolo y lámina de algunos helechos se presenta una banda de células, la cual ha sido denominada por algunos autores como banda esclerosada o esclerótica. La banda forma parte del tejido fundamental interno y sus células tienen paredes engrosadas y están impregnadas de contenido químico de diferente naturaleza (Ogura, 1972; Lin y DeVol, 1977, 1978; Velásquez, 1983; Zlotnik, 1991; Hernández et al., 2006). La banda ha sido reportada en las familias Blechnaceae (Lucansky, 1981), Dryopteridaceae (Lin y DeVol, 1977; Moran, 1987; Hernández et al., 2006), Lomariopsidaceae (Guantay y Hernández, 1990), Nephrolepidaceae (Sen y Sen, 1973) y Polypodiaceae (Zlotnik, 1991). A la fecha se desconoce de otras familias de helechos y si la banda es en todos los casos continua y lignificada. También se desconoce si la banda se desarrolla al mismo tiempo que la endodermis y si tienen un origen común. Además, surgen otras preguntas como: si la banda tiene alguna función biomecánica o de protección, y si la banda se modifica como una respuesta al cambio experimental del ángulo de inclinación de la fronda. En función de las preguntas antes planteadas, este trabajo de investigación establece las siguientes hipótesis:

1. La banda se encuentra en un mayor número de familias de helechos relacionadas filogenéticamente,
2. el engrosamiento de las paredes de las células de la banda está en función con la disección de la fronda y el hábito de la planta, y
3. al cambiar el grado de inclinación de la fronda la banda se modifica, por no ser un carácter fijado genéticamente.

En la presente investigación se responde a estas preguntas en los siguientes cuatro capítulos. En el capítulo I se corroboran e identifican las familias que presentan la banda, se indica su origen filogenético, se estudia la correlación con la forma de vida y la división de la fronda y su variación del engrosamiento de la pared de sus células. En el capítulo II se presenta la anatomía descriptiva de raíz, rizoma, pecíolo y lámina de *Ctenitis melanosticta* con el propósito de describir los tejidos de los diferentes órganos como un modelo para la descripción de otros helechos tanto en organización como en terminología. En el capítulo III se investiga la ontogenia de la fronda de dos especies, *Ctenitis melanosticta* con banda continua y *Diplazium expansum* con banda discontinua con los objetivos de comparar el origen y momento de diferenciación de la banda entre ambas especies, así como su relación con la endodermis y otros tejidos en la fronda. Finalmente el capítulo IV se investiga el efecto de la modificación de la inclinación de la fronda sobre el desarrollo, la composición, distribución y forma de las células de la banda y los otros tejidos de la fronda.

# I. SISTEMÁTICA DE LA BANDA CIRCUNENDODERMAL Y SU RELACIÓN CON LA CONFIGURACIÓN DE LAS TRAZAS FOLIARES EN EL PECÍOLO DE PTERIDOFITAS

## **Resumen**

Se estudiaron 76 especies de 44 géneros y 20 familias de helechos eusporangiados y leptosporangiados con el objetivo de describir y caracterizar la banda alrededor de la traza foliar, explorar su posible origen e investigar su correlación con la forma de vida y disección de la fronda. La banda se encontró en seis de las 20 familias estudiadas. La banda está constituida por células isodiamétricas, con paredes gruesas de naturaleza celulósica y con taninos en el lumen celular y paredes. Hay una amplia variación en las células de la banda, en la continuidad, proporción y arreglo de los engrosamientos en sus paredes, reconociendo cuatro categorías. Se encontró que las especies con traza foliar múltiple se originaron a partir de una traza en forma "V". Las trazas foliares en forma de hipocampo, "V" y "X" presentan la banda como una novedad evolutiva única en las Pteridofitas. Las familias primitivas con la traza foliar simple o múltiple en forma de "C" no presentan banda. En familias más derivadas con la traza foliar múltiple, como Polypodiaceae algunas de las especies tiene traza foliar simple sin banda, hecho que se interpreta como una reversión.

## **Abstract**

Seventy-six representative species from 44 genera and 20 families of eusporangiate and leptosporangiate ferns were studied with the prime objective of describing and characterizing the band surrounding the leaf traces. In addition, the possible origin of the band and its correlation with species life form and frond morphology were explored. The circunendodermal band was found in six of the 20 families investigated. It was distinguished by its isodiametric cells with thick cellulosic walls as well as tannins in the lumina and walls. A high degree of variation in continuity, proportion, and arrangement of wall thickenings was found in the circunendodermal band cells, and four categories were recognized. In species with the circunendodermal band, there is a tendency for them to have simple or pinnate

fronds and to be hemi-epiphytes or epipetric plants. The coexistence of xylem hippocampus-shaped or V-X-shaped multiple leaf traces together with the circunendodermal band seems to be a unique evolutionary novelty in pteridophytes. Primitive families with C-shaped single- or multiple leaf traces lack the circunendodermal band. More derived families with multiple leaf traces, such as Dryopteridaceae and Polypodiaceae, have a continuous circunendodermal band (CB), although some of their species display a single leaf trace and lack a CB; these may be interpreted as reversions.

## **Introducción**

Las Pteridofitas presentan una anatomía muy similar en el rizoma y pecíolo, compuesta por tejido dérmico, fundamental y vascular (Ogura, 1972). La variación en el sistema vascular, en especial en el número de cordones vasculares de la traza foliar, arreglo y configuración del xilema, se considera como una herramienta útil para la sistemática de los helechos (White, 1974; Lin y DeVol, 1977). Recientemente, la microscopía electrónica de barrido ha permitido reconocer la presencia de elementos de vaso en varias especies de familias de helechos (Carlquist y Schneider 1997, 1999, 2000, 2001; Schneider y Carlquist 1998 a, b, c, 1999 a, b, 2000).

A pesar de su similitud anatómica algunas familias de helechos, se caracterizan por presentar, contigua a la endodermis del lado externo, un conjunto de células distintivas con paredes engrosadas, de una hilera de espesor. Ogura (1972) y Sen y Sen (1973) denominan esta hilera de células como “banda esclerosada” o “esclerótica”. De acuerdo con varios autores (Ogura, 1972; Sen y Sen, 1973; Lin y DeVol 1977, 1978; Lucansky, 1981, Velásquez, 1983; Guantay y Hernández, 1990; Zlotnik, 1991; Hernández et al., 2006) esta banda forma parte del tejido fundamental interno en rizoma, pecíolo y lámina y ha sido reportada en las familias Blechnaceae (Lucansky, 1981), Dryopteridaceae (Lin y DeVol; 1977; Moran, 1987; Hernández et al., 2006), Lomariopsidaceae (Bell, 1951; Guantay y Hernández, 1990), Nephrolepidaceae (Sen y Sen, 1973) y Polypodiaceae (Zlotink, 1991). Sin embargo, se desconoce si otras familias tienen esta banda, si tuvo más de un origen independiente dentro de las

pteridofitas, y si está relacionada con la forma de vida y el tamaño de la fronda. Por esta razón se estudiaron varias especies, representantes de los clados principales de helechos de Hasebe et al. (1995) con la finalidad de identificar la banda, caracterizar y describir su variación a nivel de familias y géneros para enfatizar su valor diagnóstico en la sistemática. Además se explora su función biomecánica investigando la correlación entre la presencia de la banda y 1) el número de cordones vasculares y la configuración de la traza foliar, 2) la forma de vida y 3) el tamaño y la morfología de la fronda.

### **Materiales y métodos**

Con base en la propuesta filogenética de pteridofitas de Hasebe et al. (1995) se recolectó material de 20 familias representativas, desde las más ancestrales (Ophioglossaceae) a las más derivadas (Polypodiaceae). Se recolectaron 42 especies para el estudio anatómico en cuatro sitios del centro del estado de Veracruz, México: el Parque Francisco Javier Clavijero, el Parque Ecológico Macuiltépetl, la reserva Las Cañadas y Tlacolulán. Los ejemplares herborizados fueron determinados con ayuda de las claves de Mickel y Smith (2004) y depositados en el herbario CHAPA. La clasificación de las especies se basó en Kramer y Green (1990, Apéndice 1).

El material del pecíolo se fragmentó en tres partes (basal, media y apical) y se fijó en formaldehído - ácido acético glacial - alcohol etílico - agua (10:5:50:35). Los cortes transversales de pecíolos con diámetro > 2 mm, se realizaron a mano. La mitad de los cortes se aclararon con hipoclorito de sodio (cloro comercial 50%) por varios minutos y se lavaron dos veces con agua. Enseguida todos los cortes se deshidrataron en concentraciones de alcohol etílico (50, 70, 95%), se tiñeron con safranina y verde fijo y se montaron en resina sintética Euparal. Las muestras de los pecíolos con diámetro de < 2 mm se deshidrataron en un cambiador automático Leica TP1020 y se incluyeron en parafina. Una vez incluidos en parafina se hicieron cortes transversales y longitudinales en un micrótopo rotatorio a 14  $\mu$ m de grosor, se tiñeron con safranina y verde fijo y se montaron en resina sintética Euparal (Johansen, 1940).

Aunque la terminología de la estela es usada para describir el tejido vascular del pecíolo en helechos (Ogura, 1972); en esta investigación coincido con Schmid (1982), quien señala que la terminología estelar únicamente debe emplearse para raíz, rizoma, rizóforo y ejes reproductivos con tejido vascular primario. Usar los mismos términos para describir los apéndices podría favorecer la interpretación de falsas homologías; por ello, aquí se emplean los términos traza foliar simple cuando hay un sólo cordón vascular en el pecíolo y traza foliar múltiple para cuando hay dos o más cordones vasculares. En las trazas foliares, el número y la forma de los cordones vasculares se modifican a lo largo del pecíolo antes de entrar a la lámina (Howard, 1979). Con la finalidad de reducir la variación por posición, en este estudio únicamente se comparó la traza foliar presente en la base del pecíolo de las 76 especies.

Se realizaron pruebas histoquímicas para la identificación de la lignina en cortes no aclarados con floroglucinol y ácido clorhídrico. Para la identificación de celulosa se empleó yodo en cloruro de zinc en cortes aclarados, y para la identificación de taninos en cortes no aclarados se usó vanillina (Curtis, 1986; Ruzin, 1999).

Además de las laminillas elaboradas en esta investigación se revisaron las laminillas de las colecciones de los herbarios INB, IZTA, MEXU, SI y UAMIZ con el propósito de caracterizar el tejido del pecíolo en los géneros *Blechnum*, *Bolbitis*, *Cheilanthes*, *Elaphoglossum*, *Melpomene*, *Olfersia*, *Pellaea*, *Polybotrya*, *Polypodium* y *Rumohra*. Se tomaron las fotografías utilizando el programa Image Pro-Plus® versión 3.1, usando una cámara de vídeo Hitachi KP-D51 con un microscopio Olympus BX50.

## Resultados

Se estudió un total de 20 familias, 44 géneros y 76 especies que representan los 16 clados monofiléticos de la propuesta filogenética de Hasebe et al. (1995). En los helechos eusporangiados, las especies representantes de las familias Ophioglossaceae y Marattiaceae no presentan banda (Fig. 1a, b), al igual que los taxones estudiados de los helechos leptosporangiados de las familias Osmundaceae, Cyatheaceae,

Gleicheniaceae, Hymenophyllaceae, Lophosoriaceae, Plagiogyriaceae, Pteridaceae, Dennstaedtiaceae, Schizaeaceae y Vittariaceae (Apéndice 1, Fig. 1c-f). Sin embargo, la banda se encontró en seis (Blechnaceae, Dryopteridaceae, Lomariopsidaceae, Nephrolepidaceae, Polypodiaceae, Thelypteridaceae) de las ocho familias más derivadas (Apéndice 1), aunque no se observó en algunas especies de estas familias como en *Blechnum australe* (Blechnaceae), *Olfersia cervina* y *Woodsia mollis* (Dryopteridaceae), *Pecluma plumula* (Polypodiaceae) y *Thelypteris linkiana* (Thelypteridaceae, Apéndice 1).

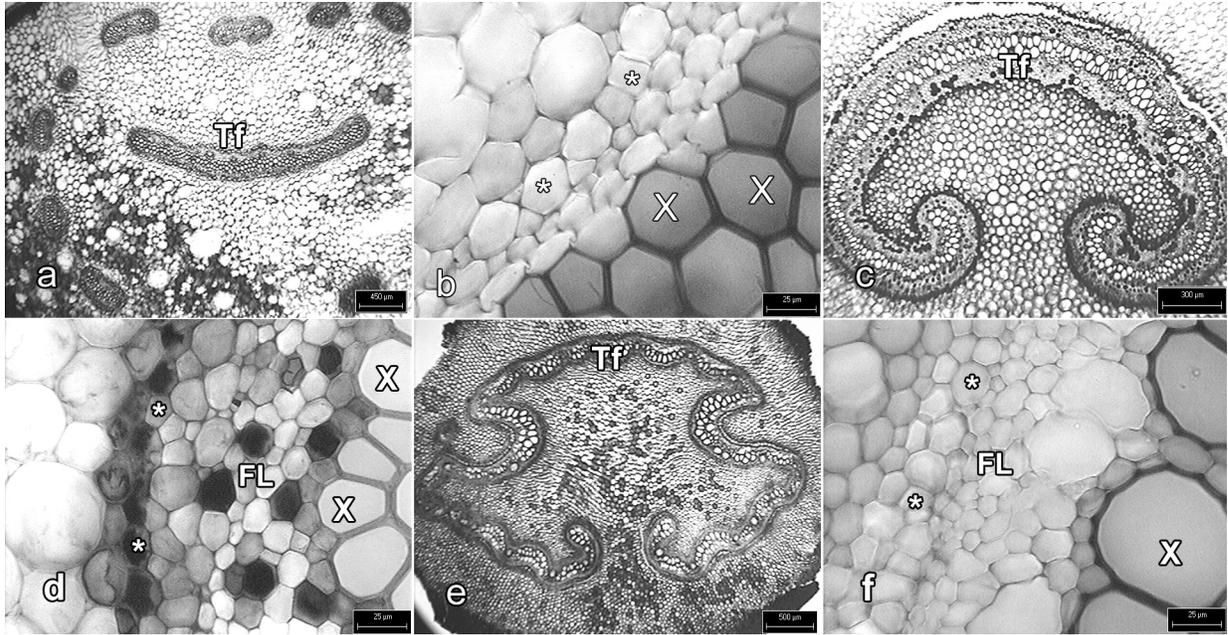


Figura 1. Especies con traza foliar sin banda. **a**. Corte en posición ventral y **c**, **e**. Corte en posición dorsal. **a**, **b**. *Marattia laxa* (Marattiaceae) traza foliar múltiple. **c**, **d**. *Osmunda regalis* (Osmundaceae) traza foliar simple. **e**, **f**. *Lophosoria quadripinnata* (Lophosoriaceae) traza foliar simple. Escala: **a** = 450  $\mu\text{m}$ ; **b**, **d**, **f** = 25  $\mu\text{m}$ ; **c** = 300  $\mu\text{m}$ ; **e** = 500  $\mu\text{m}$ . \* = endodermis, FL = floema, TF = traza foliar, X = xilema.

La presencia de la banda fue relacionada con la forma de vida y morfología de la fronda (Fig. 2a, b). Hay casi el mismo número de especies terrestres con y sin banda (Fig. 2a); sin embargo, en los taxones hemiepífitos, epipétricos o epífitos la banda esta presente en las familias Lomariopsidaceae y Polypodiaceae (Apéndice 1). La banda se encontró en pocas especies con fronda 2-pinnada o más disecta (Fig. 2b), de un largo de 8 a 300 cm, pero predomina en especies con fronda simple a pinnada (Fig. 2b). La variación de la disección de la fronda fue similar en familias de los eusporangiados y leptosporangiados sin banda (Apéndice 1).

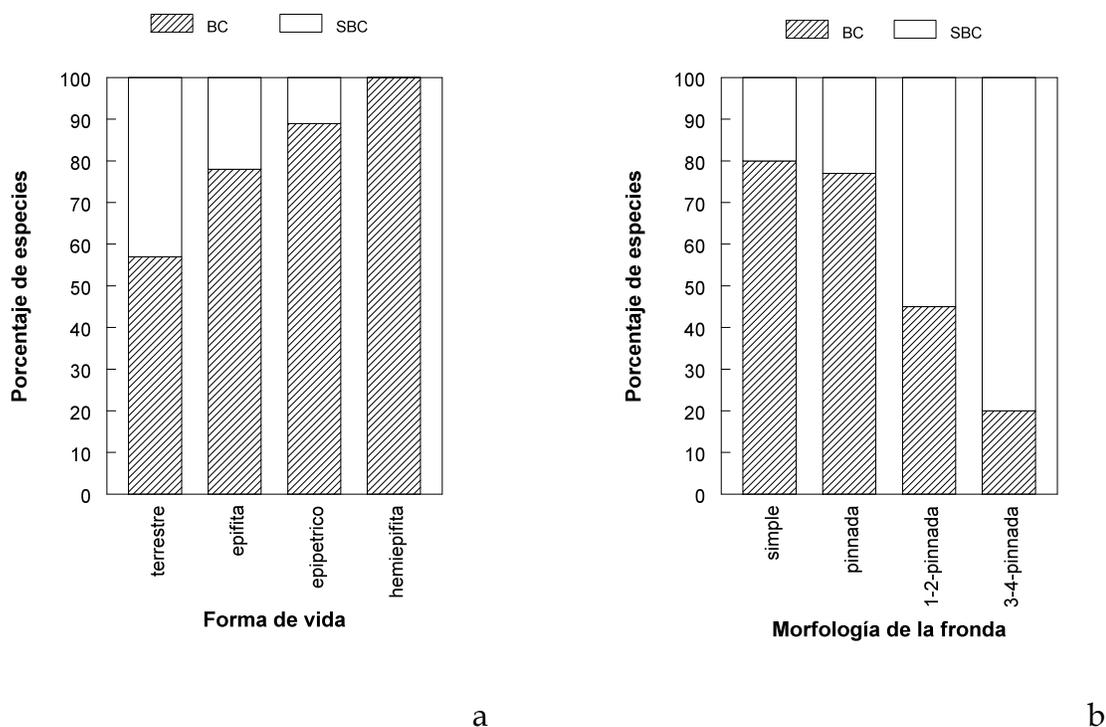


Figura 2. Porcentaje de las 76 especies de los helechos eusporangiados y leptosporangiados con y sin banda, relacionada con la forma de vida (a) y la morfología de la fronda (b). BC = banda circunendodermal, SBC = sin banda circunendodermal.

La banda está constituida por células isodiamétricas, las cuales se originan de las células internas del tejido fundamental, por su posición siempre se ubica externa a la endodermis y se diferencia de ésta por el mayor tamaño de sus células y el contenido obscuro. La continuidad de la banda tiene amplia variación, así como en la proporción y disposición del engrosamiento de sus paredes (Apéndice 1). De las 76 especies estudiadas 43 tienen banda, el 84% de estos con banda continua (Fig. 3a-h, 4) y el 16% con banda discontinua. En cuanto a la proporción de los engrosamientos se distinguen cuatro categorías, abarcando desde  $\frac{1}{4}$  del lumen, la mitad del lumen,  $\frac{3}{4}$  del lumen, hasta la oclusión total del lumen (Fig. 4, 3c-f). El engrosamiento de un cuarto de la pared de las células es la categoría más común, mientras las otras tres categorías se representan en un número menor de especies (Apéndice 1, Fig. 4).

En muchas de las especies examinadas, el engrosamiento de la pared se encontró sólo en la pared periclinal, adyacente a la endodermis, formando un casquete (Fig. 3g). En otras especies, el engrosamiento se extiende hacia la pared anticlinal en forma de "U" (Figs. 3c, d) o bien ocupa totalmente el lumen de la célula (Fig. 3f). En las especies con la banda, el contenido color café oscuro se deposita en el lumen y la pared de las células de la banda (Figs. 3f, 5b, c, d, f). Cristales se asociaron únicamente en *Tectaria heracleifolia* a las células de esta banda (Fig. 5a, b).

Las pruebas histoquímicas fueron positivas para celulosa en los engrosamientos de la pared de las células que conforma la banda, por la coloración azul o violeta. La reacción positiva a lignina se manifestó exclusivamente en los elementos del xilema de todas las especies y en las células adyacentes a la epidermis sólo en algunas especies. Para taninos, la prueba fue positiva en el contenido que se acumula en el lumen y la pared celular de las células de la banda y, ocasionalmente, en algunas células subyacentes a la epidermis.

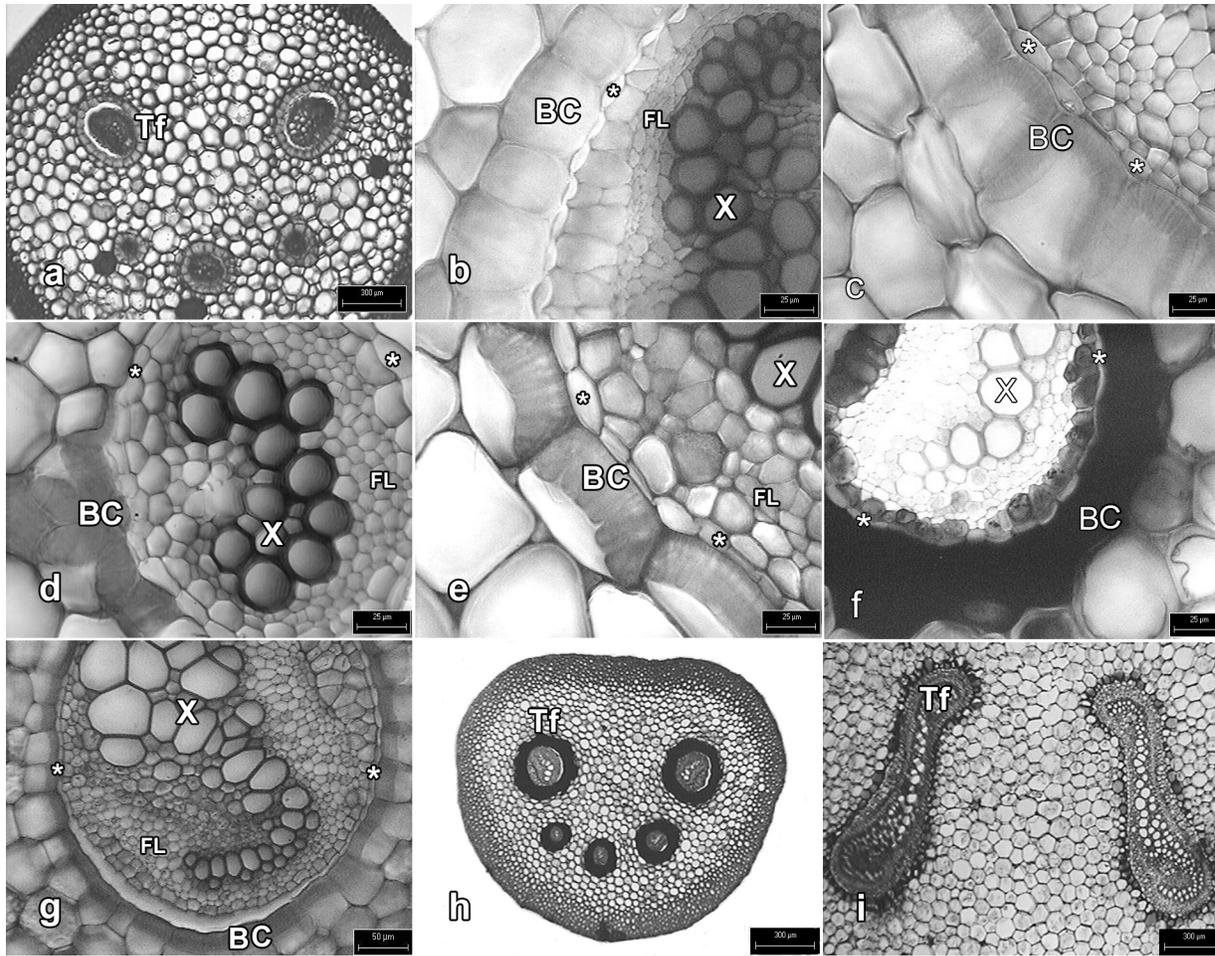


Figura 3. Especies con traza foliar múltiple y con banda. **a, b.** *Elaphoglossum sartorii* (Lomariopsidaceae). **c.** Banda con engrosamiento de la pared que ocupa un cuarto de la célula y en forma de en “U”, *Ctenitis melanosticta* (Dryopteridaceae). **d.** Engrosamiento ocluye la mitad del lumen de la célula, *Blechnum appendiculatum* (Blechnaceae). **e.** Engrosamiento que ocupa tres cuartas partes de la célula, *Blechnum schiedeanaum* (Blechnaceae). **f.** Engrosamiento que ocluye todo el lumen de la célula, *Niphidium crassifolium* (Polypodiaceae). **g.** Banda en forma de casquete, *Dryopteris patula* (Dryopteridaceae). **h.** Traza foliar múltiple con banda, *Campyloneurum angustifolium* (Polypodiaceae). **i.** Traza foliar con dos cordones vasculares, *Diplazium expansum* (Dryopteridaceae). Escala: a = 300 µm; b-f= 25 µm; g = 50 µm; h, i = 300 µm. B = banda circunendodermal, \* = endodermis, FL = floema, TF = traza foliar, X = xilema.

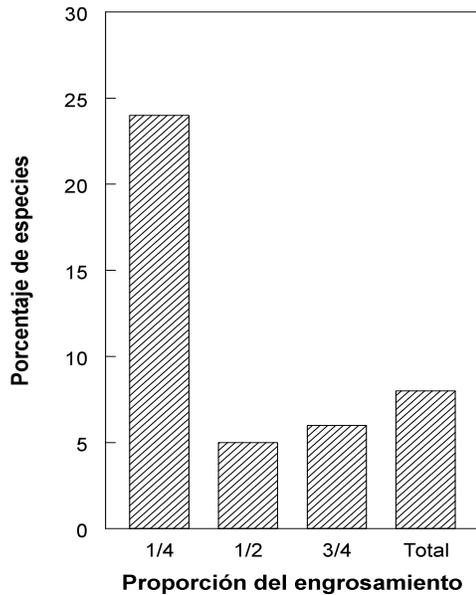


Figura 4. Porcentaje de especies con diferente proporción del engrosamiento de la pared de las células de la banda en 43 especies de helechos leptosporangiados.

La banda se observó discontinua en siete especies de diferentes familias. Por ejemplo, se presenta en el lado interior de la traza foliar y sólo en la parte superior del pecíolo (*Blechnum appendiculatum*, Blechnaceae), se puede localizar en la traza foliar hacia la cara adaxial del pecíolo y sólo en menos de tres células (*Cystopteris fragilis*, Dryopteridaceae, Fig. 5d), o se encuentra en la parte curvada interna del cordón vascular en forma de hipocampo (*Diplazium expansum*, *D. franconis* Dryopteridaceae, Fig. 3i). En *Elaphoglossum eximium* (Lomariopsidaceae), las células de la banda cubren tres cuartas partes de la traza foliar, mientras que en *Pleopeltis crassinervata* (Polypodiaceae) se observan tres o cuatro células en la traza foliar hacia el lado adaxial del pecíolo y en *Thelypteris rudis* (Thelypteridaceae) se encuentran en pocas células esparcidas a lo largo de la traza foliar (Fig. 5e, f).

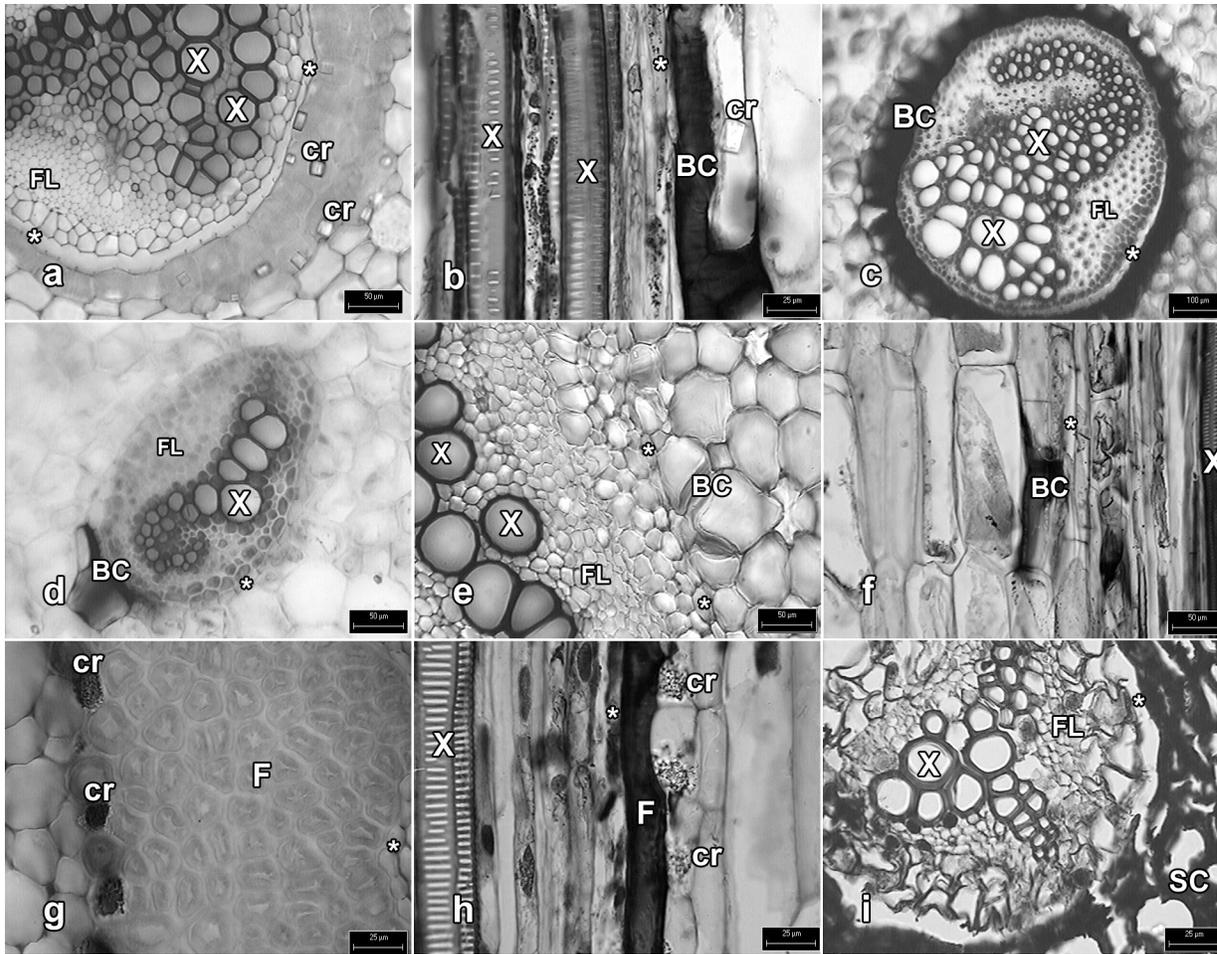


Figura 5. Especies con inclusiones asociadas con la banda y su distribución en pecíolo. Corte transversal (CT) y corte longitudinal (CL). **a.** (CT), **b.** (CL). Cristales en la banda, *Tectaria heracleifolia* (Dryopteridaceae). **c.** (CT). Taninos en la banda, *Ctenitis melanosticta* (Dryopteridaceae). **d-e.** Banda discontinua. **d** (CT). *Cystopteris fragilis* (Dryopteridaceae). **e, f.** Engrosamiento en la pared anticlinal y sección longitudinal, *Thelypteris rudis* (Thelypteridaceae). **g.** (CT), **h.** (CL). Fibras y cristales en *Plagiogyria pectinata* (Plagiogyriaceae). **i.** (CT). Esclerenquima, *Terpsichore asplenifolia* (Grammitidaceae). Escala: a, d, e, f = 50 μm; b, g, h, i = 25 μm, c = 100 μm. B = banda, \* = endodermis, cr = cristales, F = fibras, FL = floema, ES = esclerenquima, T = taninos, X = xilema.

El número de los cordones vasculares y la configuración del xilema en la traza foliar de las especies estudiadas se sintetizan en el Apéndice 1. Las especies con una traza foliar simple pueden tener la forma "C" con las terminaciones ligeramente curvadas. Cuando se presentaron dos cordones vasculares en la traza foliar, la configuración del xilema corresponde a la forma "X" o "hipocampo" con las terminaciones curvadas. Especies con más de tres cordones vasculares en la traza foliar generalmente presentan la forma hipocampo con las terminaciones curvadas o no, además de otros cordones vasculares circulares y más pequeños (Apéndice 1, Fig. 6). Las diferencias morfológicas de la traza foliar y la presencia de la banda se superpusieron en el cladograma de Hasebe et al. (1995, Fig. 7). De esta manera se tiene como hipótesis que la traza foliar en forma de "C" da origen a trazas foliares simples o múltiples sin banda circunendodermal, mientras que la forma "V" da origen a trazas foliares simples sin banda y a trazas foliares múltiples con banda. La presencia y ausencia de la banda parece ser polimórfico en algunos géneros con dos cordones vasculares en la traza foliar.

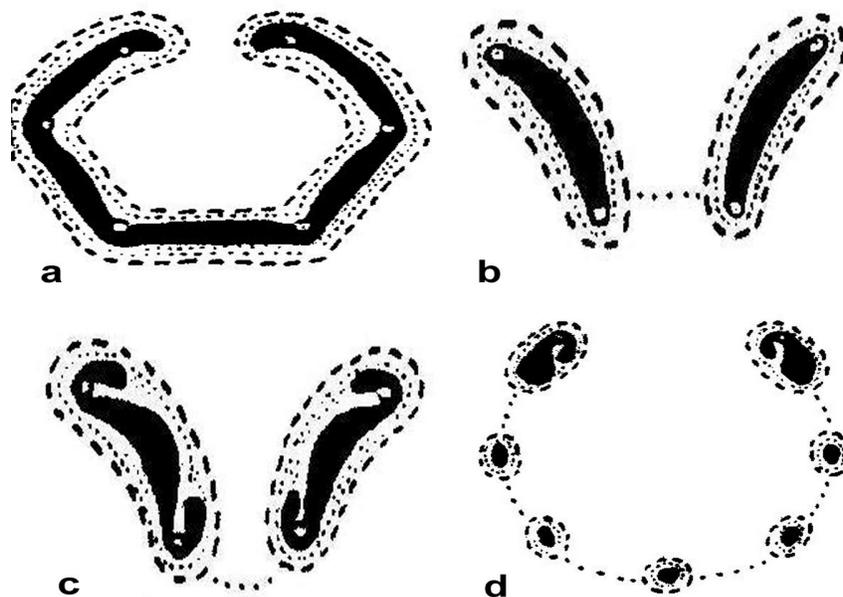


Figura 6. Forma de las trazas foliares. a. "C", b. "X", c. Hipocampo, d. con más de 3 cordones vasculares.

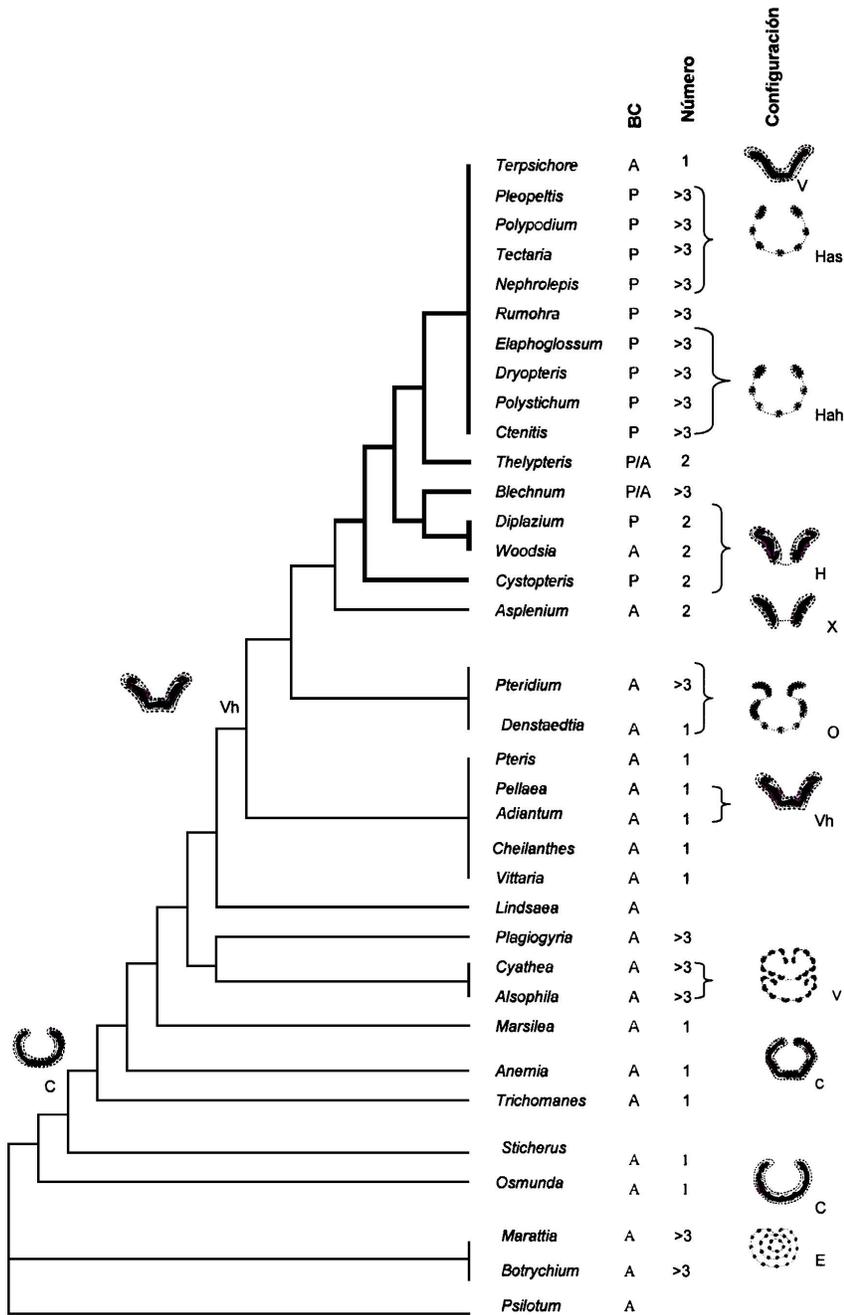


Figura 7. Ocurrencia de la banda y configuración de la traza foliar optimizada en el cladograma de consenso estricto modificado de Hasebe et al. (1995). Las líneas oscuras de mayor grosor indican las familias con banda. Las formas "C" y "V" de la izquierda dieron origen a la configuración de las trazas foliares de la derecha. Banda: P = presente, A = ausente. Número = número de cordones vasculares en la traza foliar. Configuración = configuración de cordón vascular.

## Discusión

Se reporta por primera vez la presencia de la banda en la familia Thelypteridaceae y se corroboró en las cinco familias: Blechnaceae, Dryopteridaceae, Lomariopsidaceae, Nephrolepidaceae y Polypodiaceae (Sen y Sen, 1973; Lin y DeVol, 1977; Lucansky, 1981, Velásquez, 1983; Moran, 1987, Guantay y Hernández, 1990; Zlotnik, 1991; Hernández et al., 2006).

Comúnmente se ha llamado a la banda esclerosada o esclerótica (Ogura, 1972; Lin y DeVol, 1977; Velásquez, 1983; Moran, 1987; Zlotnik, 1991; Zhang y Nootboom, 1998). De acuerdo con el estudio anatómico de seis especies de *Dryopteris* (Hernández et al., 2006), la pared de las células de la banda es celulósica. Guantay y Hernández (1990) también mencionan que las células adyacentes a la endodermis tienen paredes asimétricas y engrosamientos de celulosa en seis especies argentinas de *Elaphoglossum*. Las pruebas histoquímicas realizadas en las especies recolectadas mostraron que las paredes engrosadas de la banda son de naturaleza celulósica. Por lo anterior, se confirmó que las células que constituyen la banda no están lignificadas y no debe emplearse el término esclerosada para su caracterización. Una posible explicación a esta interpretación errónea es la presencia de contenido obscuro que no permite ver la naturaleza celulósica del engrosamiento de la pared de las células. La banda esclerosada que Zhang y Nootboom (1998) describen en Plagiogyriaceae no es homóloga a la banda reportada en las otras familias. En *Plagiogyria pectinata* observamos una acumulación de fibras de 7 a 8 hileras en el surco de la traza foliar y de 1-3 hileras alrededor de éste. Además se presentan areniscas depositada en el parénquima (Fig. 5g, h).

Las células de la banda son isodiamétricas y parenquimatosas (Fig. 5b, d, f), por lo tanto se propone, que esta estructura se llame “banda circunendodermal (BC)” con base en su posición, siempre externa a la endodermis, por su origen de células del tejido fundamental, y por la composición de la pared.

Algunos autores reconocen la presencia de abundantes taninos en las células de la BC, que ocluyen parcial o totalmente el lumen celular (Lin y DeVol, 1977, 1978; Zlotnik, 1991). Los resultados de la prueba histoquímica con vanilina apoyan esta

aseveración, los taninos tienen un color café a rojo. Esau (1976) menciona que los taninos protegen el protoplasma contra la desecación y destrucción por microorganismos, por lo tanto la presencia de los taninos en las células de la BC protege las células del floema y el parénquima, y además, ayuda a los elementos de vaso a mantener el flujo de agua en los helechos. Bell (1951) reconoce que las células de la BC del género *Elaphoglossum* tienen paredes gruesas impregnadas de flobafeno, los cuales son taninos condensados, que se oxidan y polimerizan dando un color rojo oscuro o café en cortes frescos y visibles bajo el microscopio (Reeve, 1951; Yeap Foo y Karchesy, 1989). El flobafeno es la misma sustancia que Khare y Shankar (1989) encontraron en las células de la endodermis de *Asplenium dalhousiae*. En los 76 taxones revisados no se observó este contenido en las células de la endodermis.

Las especies con BC generalmente tienen fronda simple o pinnada y son plantas epífitas, hemiepífitas y epipétricas que pertenecen en su mayoría a las familias Lomariopsidaceae y Polypodiaceae, con excepción de los Dryopteridaceae que son en su mayoría terrestres y tienen frondas más disectas. Esta correlación se interpreta como función biomecánica, consideramos que la banda protege y da flexibilidad a la fronda simple. Sin embargo, esto no se detectó en Dryopteridaceae, por lo tanto se debería estudiar un mayor número de especies de otras familias derivadas para confirmar esta afirmación.

Los autores que han descrito la BC se refieren a una banda continua (Lin y DeVol, 1977; Lucansky, 1981; Velásquez, 1983; Moran, 1987; Zlotnik, 1991; Hernández et al., 2006). Sin embargo, se observó que existe variación en la continuidad y la proporción de los engrosamientos en las paredes de las células. Se considera que la BC discontinua, exclusivamente encontrada en siete especies, no se relaciona con el estado de desarrollo del pecíolo, por que todas las muestras estudiadas fueron frondas adultas y fértiles. Con respecto al engrosamiento de la pared celular de la BC se distinguen cuatro categorías. La mayor variación se encuentra en diez especies estudiadas de *Elaphoglossum* y *Polypodium*, para las cuales sería recomendable revisar su valor taxonómico.

Ogura (1972) propone como hipótesis que la traza foliar simple es primitiva y la traza foliar múltiple es derivada. Al optimizar la ocurrencia de la banda y al sobreponer los tipos de trazas foliares a la filogenia de las pteridofitas (Hasebe et al., 1995), se confirma en parte la propuesta de Ogura. Las especies de leptosporangiados con uno o más cordones vasculares en las trazas foliares que se originaron de una configuración en forma de "C" no disponen de la BC. Solamente los taxones con traza foliar múltiple que evolucionaron de la forma "V" tienen BC, mientras es ausente de los taxones con una traza. Estos resultados sugieren que la BC tuvo un sólo origen en la evolución de los helechos (Fig. 6), en aquellos taxones con traza foliar múltiple donde el cordón vascular puede tener la forma de hipocampo con las terminaciones arqueadas o tener la forma de "V-X".

Ogura (1972) también propone que las formas "V" con terminaciones no curvadas o ligeramente curvadas son derivados de una forma curvada adaxialmente con una sola traza foliar en forma de "C" (Ogura, 1972; fig. 113). Esta aseveración no es apoyada con los resultados. Las formas "V" con terminaciones curvadas dan origen a la configuración no curvada de dos o más cordones vasculares en la traza foliar y la forma hipocampo y "V-X" con más de tres cordones vasculares en la traza foliar. Las especies más ancestrales con uno o más cordones vasculares en la traza foliar originadas de la forma "V" no presentan banda. Esta condición se encontró en la familia Vittariaceae que tiene especies típicamente epifitas y, en la familia Pteridaceae con hábito terrestre o epipétrica y una amplia variación de la división de la fronda. La comparación entre estos grupos es difícil por la escasez de estudios anatómicos del pecíolo. No obstante, Knobloch y Volz (1968) estudiaron otras especies de *Cheilanthes* y tampoco observaron la banda, pero concuerdan con la presencia de la traza foliar en forma de "V".

Los miembros de Thelypteridaceae tienen la traza foliar con dos cordones vasculares y con la BC discontinua (*Thelypteris rudis*), BC continua (*Macrothelypteris torresiana*) o sin BC (*Thelypteris linkiana*). Esta variación debe evaluarse en un mayor número de especies en la familia, para confirmar si hay correlación entre la mayor división de la fronda y la continuación de la banda, porque en *Macrothelypteris*

*torresiana* es 2-pinnada-pinnatífida y tiene banda continua, mientras que en *Thelypteris rudis* y *T. linkiana* la lámina es pinnada-pinnatífida y la banda puede ser discontinua o estar ausente.

Las especies de las familias más derivadas Nephrolepidaceae, Lomariopsidaceae, Polypodiaceae comparten trazas foliares múltiples con banda circunendodermal. De acuerdo a varios autores, la familia Polypodiaceae es uno de los grupos más derivados en Pteridofitas (Hasebe et al., 1995; Pryer et al., 1995; Smith, 1995; Schneider et al., 2004). Sin considerar el hábito o división de la fronda, hay modificaciones asociadas con la especialización de la banda circunendodermal o el tejido fundamental. Por ejemplo, en *Pleopeltis crassinervata* con pecíolo delgado, la BC es discontinua y reducida a un extremo de la traza foliar con engrosamiento en sólo tres o cuatro células, mientras *Pecluma plumula* con frondas colgantes, mayores de 20 cm y pecíolo con esclerénquima, este tejido da soporte y puede sustituir la función mecánica de la BC ausente. Varias especies de Grammitidaceae con pecíolos menores de 2 mm de diámetro y 1 ó 2 trazas foliares (Moran y Riba, 1995) también perdieron la BC. Esta reversión está asociada a la presencia de esclerénquima alrededor de la traza foliar (Fig. 5i).

En Dryopteridaceae la disposición de las trazas foliares y las características de la BC son variables, y posiblemente algunas de estas modificaciones se deben a reversiones. Por ejemplo, la BC es continua en el 84% de las especies estudiadas y es discontinua en el 16% restante. La mayoría de los taxones revisados son de hábito terrestre y porte herbáceo de 40-100 cm de alto con frondas pinnadas a tripinnadas-pinnatífidas, y pecíolos con trazas foliares múltiples. Umikalsom (1992) reconoce la traza foliar múltiple con dos cordones vasculares en la mayoría de las especies de *Diplazium*; sin embargo, reporta la traza foliar simple en *D. kunstleri*. Coincido con Umikalsom (1992) quién explica que un mayor número de cordones vasculares en la traza foliar puede incrementar la resistencia mecánica. Según la propuesta filogenética de Hasebe et al. (1995) establece que la familia Dryopteridaceae es polifilética. En el clado más derivado se agrupan los representantes de cuatro géneros *Dryopteris*, *Polystichum*, *Rumohra* y *Nephrolepis*, que comparten la traza foliar múltiple

con BC continua, mientras en el clado hermano están los géneros *Diplazium* y *Woodsia* con dos cordones vasculares en la traza foliar con banda discontinua o ausente, cuya inclusión en la familia Dryopteridaceae ha sido cuestionado por varios autores (Pichi Sermolli, 1973; Crabbe et al., 1975). Más aún, *Cystopteris* se agrupa como la especie hermana de los clados anteriores, y tiene la traza foliar con dos cordones vasculares y la BC discontinua. El estudio anatómico de un mayor número de especies puede contribuir a la mejor delimitación de esta familia.

En Blechnaceae, las especies de mayor tamaño tienen una BC continua (*Blechnum schiedeanum* y *Woodwardia X semicordata*), mientras en la especie más pequeña es discontinua (*Blechnum appendiculatum*). La reducción en el tamaño del pecíolo y la disección de fronda está relacionada con la discontinuidad de BC, lo cual sugiere una función biomecánica.

En conclusión, la BC que rodea los cordones vasculares en la traza foliar surgió como un único evento evolutivo que está relacionado con la aparición de la traza foliar múltiple, la cual derivó de una traza foliar en forma de "V". Los engrosamientos celulósicos de las paredes de las células de la BC contribuyen no sólo a la biomecánica del pecíolo, sino también a la protección de las células vivas de la traza foliar. Para muchas de las especies estudiadas, se determinó que no hay correlación entre la forma de vida, la presencia de la BC y el engrosamiento de la pared celular, excepto para algunas especies de las familias Grammitidaceae y Polypodiaceae. Sin embargo, la continuidad de la banda circunendodermal debería ser estudiada en relación al tamaño y morfología de la fronda. Debido a la variabilidad del engrosamiento de las células de la BC en varias especies de *Elaphoglossum* y Dryopteridaceae, se sugiere que esta tiene valor sistemático dentro de estos taxa.

Apéndice 1. Hábito, disección de la fronda y número de cordones y forma de la traza foliar y banda del pecíolo de 76 especies de pteridofitas. La lista de especies ésta ordenada alfabéticamente por familia. Formas: C = "C" con terminación no curvada, E = elíptica, H = hipocampo con terminación curvada y sin trazas pequeños circulares; Hah= hipocampo con terminación curvada adaxial y acompañado por pequeños trazas foliares, Has = hipocampo con terminación no curvada y trazas foliares circulares pequeños, O = omega con la terminación hacia el lado adaxial del pecíolo, V = "V", Vh = "V" con terminaciones curvadas, X = "X". Hábito: Epi = epífito, T = terrestre, He= hemiepífito, Ep = epipétrico. Banda: P = presente, A = ausente, Co = continua, D = discontinua. Proporción del engrosamiento de la células de la banda:  $\frac{1}{4}$  = un cuarto,  $\frac{1}{2}$  = mitad,  $\frac{3}{4}$  = tres cuartos, y total = oclusión completa del lumen de la células, respectivamente. Disección de la fronda: P-P= pinnada-pinnatífida. El superíndice indica el herbario al que pertenece la colección de la laminilla: 1 = INB, 2 = IZTA, 3 = MEXU, 4 = UAMIZ, 5 = SI.

Familia	Especie	Hábito	Dissección de la fronda fértil	Número de cordones vasculares	Configuración	Banda		
						Ocurrencia	Continuidad	Proporción engrosamiento pared celular
<b>Aspleniaceae</b>								
	<i>Asplenium sphaerosporum</i> A.R. Sm.	Epi	2-pinnada	2	X	A	-	-
<b>Blechnaceae</b>								
	<i>Blechnum australe</i> L. <sup>5</sup>	-	-	-	-	A	-	-
	<i>B. appendiculatum</i> Willd.	T	Pinnada	>3	Hah	P	D	$\frac{1}{2}$
	<i>B. schiedeannum</i> (Schltdl. Ex C. Presl) Hieron.	T	Pinnada	>3	Hah	P	C	$\frac{3}{4}$
	<i>Woodwardia X semicordata</i> Mickel & Beitel	T	P-P	>3	Hah	P	C	$\frac{1}{4}$
<b>Cyatheaceae</b>								
	<i>Alsophila firma</i> (Baker) D.S. Conant	T	2-P-P	>3	V	A	-	-

### Dennstaedtiaceae

*Dennstaedtia cicutaria* (Sw.) T. Moore T 3-4-P-P 1 O A - -

*Pteridium feei* (W. Schaffn. ex Fée) Faull T 2-4 pinnada >3 O A - -

### Dryopteridaceae

*Ctenitis melanosticta* (Kunze) Copel. T 2-3-P-P >3 Hah C P ¼

*C. submarginalis* (Langsd. & Fisch.) Ching T P-P >3 Hah C P ¼

*Cystopteris fragilis* (L.) Bernh. T 2-3-pinnada 2 H D P ¼

*Diplazium expansum* Willd. T 2-P-P 2 H D P ¼

*D. franconis* Liebm. T 2-pinnada, 2- P-P 2 H D P ¼

*Dryopteris cinnamomea* (Cav.) C. Chr. T, Ep 2-3-P-P >3 Hah C P ¼

*D. maxonii* Underw. & C. Chr. T 2-P-P >3 Hah C P ¼

*D. patula* (Sw.) Underw. T 3-P-P >3 Hah C P ¼

*D. rossii* C. Chr. T 2-3-P-P >3 Hah C P ¼

*D. wallichiana* (Spreng.) Hyl. T P-P >3 Hah C P total

*Olfersia cervina* (L.) Kunze<sup>3</sup> T 2-pinnada >3 - A - -

*Phanerophlebia remotispora* E. Fourn. T Pinnada >3 Hah C P ¼

*Polybotrya polybotryoides* (Baker) H. Christ.<sup>3</sup> T, He Pinnada >3 - C P ¼

*Polystichum hartwegii* (Klotzsch) Hieron. T P-P >3 Hah C P ¼

*Rumohra adiantiformis* (G. Forst.) Ching<sup>5</sup> T - >3 - C - -

*Tectaria heracleifolia* (Willd.) Underw. T Pinnada >3 Hah C P total

*Woodsia mollis* (Kaulf.) J. Sm. T P-P 2 H A - -

### Gleicheniaceae

<i>Sticherus bifidus</i> (Willd.) Ching	T	1-2- pseudodi.	1	C	A	-	-
<b>Grammitidaceae</b>							
<i>Melpomene peruviana</i> (Desv.) A.R. Smith & R.C. Moran <sup>5</sup>	-	-	-	-	A	-	-
<i>Terpsichore asplenifolia</i> (L.) A.R. Sm.	Epi	Pinnatisecta	1	V	A	-	-
<b>Hymenophyllaceae</b>							
<i>Trichomanes capillaceum</i> L.	Epi	3-4-pinnada	1	Vh	A	-	-
<b>Lomariopsidaceae</b>							
<i>Bolbitis bernoullii</i> (Kuhn ex H. Christ) Ching <sup>3</sup>	He	Pinnada	>3	Hah	P	C	¼
<i>B. hastata</i> (E. Fourn.) Hennipmann <sup>3</sup>	T, Ep	Pinnatifida	>3	Hah	P	C	¼
<i>E. albomarginatum</i> A.R. Sm. <sup>3</sup>	Epi, Ep,	Simple	>3	Hah	P	C	total
<i>E. biolleyi</i> H. Christ <sup>1</sup>	Epi, T	Simple	>3	Hah	P	C	½
<i>E. eximium</i> (Mett.) H. Christ <sup>1</sup>	E	Simple	>3	Hah	P	D	¾
<i>E. inaequalifolium</i> (Jenman) C. Chr. <sup>3</sup>	-	-	>3	Hah	P	C	½
<i>E. peltatum</i> (Sw.) Urb.	Epi	Flabelada	>3	Hah	P	C	¼
<i>E. proximum</i> (J. Bommer) H. Christ <sup>1</sup>	Epi	Simple	>3	Hah	P	C	½
<i>E. sartorii</i> (Liebm.) Mickel	T, Epi	Simple	>3	Hah	P	C	total
<i>Lomariopsis recurvata</i> Fée <sup>3</sup>	He	1-Pinnada	>3	Hah	P	C	½
<b>Lophosoriaceae</b>							
<i>Lophosoria quadripinnata</i> (J.F. Gmel.) C. Chr.	T	3-P-P	1	V	A	-	-
<b>Marattiaceae</b>							
<i>Marattia laxa</i> Kunze	T	2-pinnada	>3	E	A	-	-

**Nephrolepidaceae**

*Nephrolepis cordifolia* (L.) C. Presl T Pinnada >3 Has P C ¼

**Ophioglossaceae**

*Botrychium decompositum* M Martens & T Ternada >3 E A - -  
Galeotti

**Osmundaceae**

*Osmunda regalis* L. T 2-pinnada 1 C A - -

**Plagiogyriaceae**

*Plagiogyria pectinata* (Liebm.) Lellinger T Pinnatisecta >3 - A - -  
pinnada

**Polyodiaceae**

*Campyloneurum angustifolium* (Sw.) Fée Epi, Ep Simple >3 Has P C total

*Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger Epi, Ep Simple >3 Has P C total

*Pectuma plumula* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Epi Pinnatisecta 1 - A - -

M.G. Price

*Phlebodium areolatum* (Humb. & Bonpl. ex Epi Pinnatifida >3 Has P C ¼

Willd.) J. Sm.

*Pleopeltis crassinervata* (Fée) T. Moore Epi Simple >3 Has P D ¼

*Polypodium arcanum* Maxon<sup>2</sup> Epi Pinnatisecta >3 - P C ¾

*P. argentinum* Maxon<sup>5</sup>

*P. californicum* Kaulf.<sup>2</sup> Ep - - P C ¼

*P. colpodes* Kunze<sup>2</sup> Epi, Ep Pinnatisecta, >3 - P C ¾  
pinnada

<i>P. plebeium</i> Schlttdl. & Cham.	Epi	Pinnada, pectinata	>3	Has	P	C	1/4
<i>P. plesiosorum</i> Kunze <sup>2</sup>	Epi, T, Ep	Pinnatisecta	>3	Has	P	C	1/4
<i>P. rhachipterygium</i> Liebm. <sup>2</sup>	Epi	Pectinata	>3	Has	P	C	total
<i>P. rhodopleurum</i> Kunze <sup>2</sup>	Epi	Pinnatisecta	>3	Has	P	C	3/4
<i>P. subpetiolatum</i> Hook.	Epi	Pinnada	>3	Has	P	C	total
<i>P. X gilliesii</i> <sup>5</sup>	-	-	-	-	P	C	-
<b>Pteridaceae</b>							
<i>Adiantum concinnum</i> Humb. & Bonpl.	ex T	2-3-pinnada	1	Vh	A	-	-
Willd.							
<i>Cheilanthes buchtienii</i> (Rosent.) R.M. Tryon <sup>5</sup>			1	-	A	-	-
<i>C. cucullans</i> Fée	T	2-P-P	1	Vh	A	-	-
<i>C. hieronymi</i> Herter <sup>5</sup>	-	-	1	-	A	-	-
<i>C. micropteris</i> Sw. <sup>5</sup>	-	-	1	-	A	-	-
<i>C. myriophylla</i> Desv. <sup>5</sup>	T	4-pinnada	1	-	A	-	-
<i>C. squamosa</i> Hook. & Grev. <sup>5</sup>	-	-	1	-	A	-	-
<i>Pellaea ovata</i> (Desv.) Weath.	T	Deltada	2-3	Vh	A	-	-
		pinnada					
<i>P. ternifolia</i> (Cav.) Link <sup>5</sup>	T, Ep	2-pinnada	1	-	A	-	-
<i>Pteris quadriaurita</i> Retz.	T	P-P, pinnada	2-1	O	A	-	-
<b>Schizaeaceae</b>							

<i>Anemia phyllitidis</i> (L.) Sw.	T	1-pinnada	1	C	A	-	-
<b>Thelypteridaceae</b>							
<i>Macrothelypteris torresiana</i> (Gaudich.) Ching	T	2-P-P	2	H	P	C	1/4
<i>Thelypteris linkiana</i> (C. Presl) R.M. Tryon	T	P-P	2	H	A		
<i>T. rudis</i> (Kunze) Proctor	T	P-P	2	H	P	D	1/4
<b>Vittariaceae</b>							
<i>Vittaria graminifolia</i> Kaulf.	Epi	Entera	>3	Vh	A	-	-

## II. ANATOMÍA VEGETATIVA DE *CTENITIS MELANOSTICTA* (DRYOPTERIDACEAE, PTERIDOPHYTA)

### Resumen

En este estudio se investigó la anatomía de la raíz, el rizoma, el pecíolo y la lámina de *Ctenitis melanosticta* y se compararon los resultados con los rasgos registrados para otros géneros filogenéticamente cercanos. La raíz es diarca con la parte interna del córtex conformada por esclereidas y células de parénquima con hifas fungales en la parte externa. El rizoma tiene nidos de esclereidas, al igual que sucede en los géneros *Dryopteris* y *Campyloneurum*. Una banda circunendodermal se encontró en el pecíolo y la lámina, similar a lo registrado en *Dryopteris* y otros géneros de helechos avanzados. El mesofilo de la hoja es unifacial y el lado adaxial subyacente a la epidermis presenta varios estratos de fibras, al igual que en *Elaphoglossum* y *Thelypteris*, pero esto difiere de los géneros *Asplenium*, *Dryopteris* y *Polybotrya* que tienen colénquima en el mismo sitio. La realización de estudios anatómicos en más especies de Dryopteridaceae permitirá confirmar el valor diagnóstico de los rasgos anatómicos, tales como la ausencia de banda circunendodermal en el rizoma, la presencia de nidos de esclereidas, el mesofilo unifacial y la presencia de banda circunendodermal en la lámina.

### Abstract

The anatomy of root, rhizome, petiole and blade of *Ctenitis melanosticta* was studied and compared with the available data of closely related genera. Root was diarc with sclerenchyma and parenchyma cell in the cortex, with micorhiza exclusively in the latter. The occurrence of the sclereid nests in the rhizome is shared with *Dryopteris* and *Campyloneurum*. The circunendodermal band was present in petiole and blade as in *Dryopteris* and other genera of the most derived ferns. The lamina had unifacial mesophyll and under the adaxial epidermis were several layers of the fiber as were described for *Elaphoglossum* and *Thelypteris*, but were different from *Asplenium*, *Dryopteris*, and *Polybotrya* with collenchyma. The anatomy of *C. melanosticta* was

similar to that of most species studied of Dryopteridaceae with some differences. Additional anatomical studies in species of Dryopteridaceae will allow to confirm the diagnostic value of various anatomical features such as the lack of circunendodermal band in the rhizome, the sclereid nests, the unifacial mesophyll, and the circunendodermal band in lamina.

## Introducción

El género *Ctenitis* conforma junto con otros 18 géneros a la familia Dryopteridaceae, y está constituido por 150 especies cuyo centro de diversidad es la región neotropical (Crabbe et al., 1975; Mickel y Smith, 2004). La filogenia construida por medio de las secuencias *rbcL* considera que esta familia pertenece al clado de pteridofitas más avanzadas, junto con Aspleniaceae, Blechnaceae, Grammitidaceae, Lomariopsidaceae, Nephrolepidaceae, Polypodiaceae y Thelypteridaceae (Hasebe et al., 1995). En México se presentan 21 especies de *Ctenitis*, de las cuales tres son endémicas, *Ctenitis bullata* A.R. Smith, *C. chiapasensis* (H. Christ) A.R. Smith y *C. ursina* A.R. Smith. Las especies de *Ctenitis* son plantas terrestres o epipétricas que habitan bosques húmedos entre 50 y 1800 m de altitud (Tryon y Tryon, 1982).

*Ctenitis melanosticta* (Kunze) Copeland es una especie con estatus de conservación indeterminada en México. En el Parque Francisco Javier Clavijero, Xalapa, Veracruz, existen poblaciones reproductivas con individuos en todas las clases de tamaño y edades; además, es una especie longeva que durante la mayor parte del año tiene frondas fértiles (Hernández-Rojas, 2006). Estas particularidades hacen de *Ctenitis melanosticta* un objeto de estudio adecuado para realizar investigación ontogenética sobre su crecimiento y sus características anatómicas, y para utilizarlo como modelo para el estudio comparativo de otros helechos. A la fecha, los trabajos realizados con *Ctenitis melanosticta* se limitan a descripciones taxonómicas (Smith, 1981; Mickel y Beitel, 1988; Moran y Riba, 1995; Mickel y Smith, 2004). Esta especie se distribuye en el bosque mesófilo de montaña y en la selva alta perennifolia, en los estados de Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tabasco y Veracruz, y en Centroamérica desde Guatemala hasta Costa Rica. Son

plantas que tienen un rizoma suberecto con escamas café oscuras, lineares y margen entero. Sus frondas llegan a medir entre 100 y 130 cm de longitud (Fig. 8). En el pecíolo es estramíneo, con escamas en la base, y hacia el raquis está recubierto por tricomas multicelulares. La lámina es deltada, de 2 a 3 veces pinnada-pinnatífida, con 12 ó 15 pares de pinnas, de forma más o menos equilaterales (Mickel y Smith, 2004). Los estudios que abordan la anatomía comparativa de las especies de helechos avanzados son escasos y se han limitado a unas pocas especies. Por ejemplo, se ha descrito y comparado la anatomía de especies de los géneros *Dryopteris* (Hernández-Hernández et al., 2006), *Polybotrya* (Moran, 1987), *Polypodium* (Tejero, 2005), *Tectaria* (Velásquez, 1983) y *Thelypteris* (Zavaro et al., 1995), o bien se han realizado estudios comparativos de especies pertenecientes a más de dos géneros (Lucansky, 1981; Zlotnik, 1991; Umikalsom, 1992). El objetivo del presente estudio fue describir la anatomía de los órganos vegetativos de *Ctenitis melanosticta* y comparar sus rasgos anatómicos con los de otros géneros de la familia Dryopteridaceae o familias filogenéticamente cercanas.



Figura 8. Planta de *Ctenitis melanosticta*.

## **Materiales y método**

Se recolectaron tres individuos completos de *Ctenitis melanosticta* en el Parque Francisco Javier Clavijero, Xalapa, Veracruz (Hernández-Hernández 485, ejemplares depositados en CHAPA). El material fresco se separó por órgano y cada uno, raíz, rizoma, pecíolo, raquis, lámina, se cortó como se menciona a continuación. De la raíz se cortaron cilindros de 0.5 cm de largo; del rizoma se obtuvieron dos porciones de forma irregular, dependiendo del número de bases de los pecíolos que no se desprendieron; del pecíolo se tomaron segmentos (1 cm de largo) de la parte basal, media y superior, así como segmentos del raquis y de la pinna (lámina) en la parte media de la fronda. Todo el material se fijó en formaldehído - ácido acético glacial - alcohol etílico - agua (10:5:50:35) (Ruzin, 1999).

Se hicieron cortes transversales a mano del pecíolo, por ser lo suficiente rígido y no requerir inclusión de ningún tipo, y la mitad de los cortes se aclararon con hipoclorito de sodio (cloro comercial al 50%) para eliminar el contenido celular. Todos los cortes fueron deshidratados en concentraciones de alcohol etílico (50%, 70%, 95%), se tiñeron con safranina-verde rápido y se montaron en resina sintética Euparal (Ruzin, 1999). Los segmentos de raíz y lámina fueron deshidratados en un cambiador automático Leica TP1020 e incluidos en parafina por ser delgados, suaves y requerir un soporte para su corte. Una vez incluidos en parafina se hicieron cortes transversales en ambos órganos y además, cortes paradermales para la lámina, en un micrótopo rotatorio a 16-20  $\mu\text{m}$  de grosor. Los cortes transversales de rizoma se hicieron en un micrótopo de deslizamiento a 25-40  $\mu\text{m}$  de grosor; una parte de los cortes se aclararon con hipoclorito de sodio (cloro comercial al 50%) y otra parte se sumergió en ácido clorhídrico concentrado por 15-25 min para eliminar el almidón. Todos los cortes se tiñeron con safranina y verde-rápido y se montaron en resina sintética Euparal (Ruzin, 1999). Pinnas de la base y parte media de la fronda fueron diafanizadas siguiendo la técnica utilizada por Hernández-Hernández et al. (2006) para especies del género *Dryopteris*. Se agregó floroglucinol y HCl a cortes no aclarados para confirmar la presencia de lignina en rizoma y pecíolo (Ruzin, 1999). Se tomaron fotografías utilizando el programa Image Pro-Plus® versión 3.1, usando una cámara de video Hitachi KP-D51 y un microscopio Olympus BX50. La terminología

empleada se basó en la literatura especializada para pteridofitas (Ogura, 1972; Lucansky, 1981; Schmid, 1982; Moran, 1987).

## **Resultados**

*Raíz.* La epidermis es simple con células rectangulares y escasos tricomas multicelulares (Fig. 9a, b, d). El córtex está constituido por parénquima y esclerénquima; la parte externa adyacente a la epidermis presenta de 6 a 9 estratos de células de parénquima; entre 3 y 4 estratos tienen células obliteradas radialmente y subyacentes a estos estratos se observan 4 estratos de células con citoplasma denso y con hifas fungales, de forma rectangular en el corte transversal y alargadas en el corte tangencial (Fig. 9b-d). El esclerénquima se localiza entre estas células de parénquima y la estela, y se compone de 4 a 7 estratos de esclereidas. Las esclereidas más cercanas a la estela tienen las paredes secundarias con mayor grosor (Fig. 9c, e). La endodermis tiene células rectangulares y posee una banda de Caspari en sus paredes radiales, sin ningún tipo de contenido celular. La estela es diarca; el metaxilema se encuentra en su parte central, el protoxilema en sus dos polos radiales, y el floema entre estos dos polos de protoxilema, al lado del metaxilema. El periciclo está formado por 1 a 2 estratos de células (Fig. 9e, f); además, se observan algunas células de parénquima entre xilema y floema.

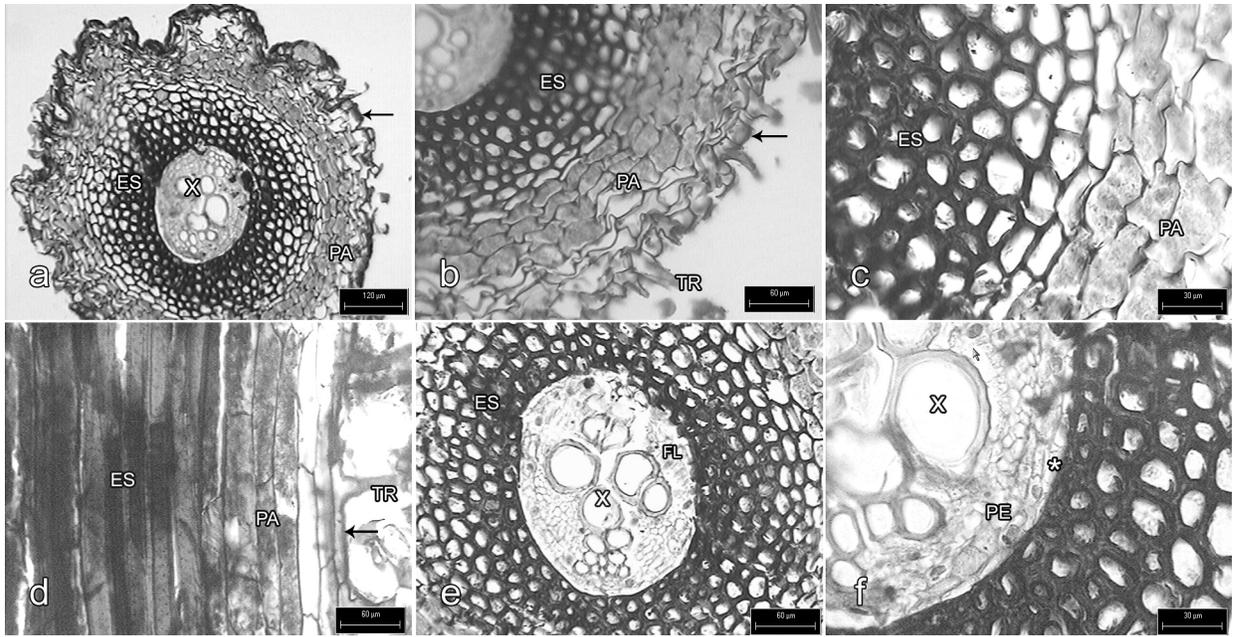


Figura 9. Descripción del tejido de la raíz de *Ctenitis melanosticta*, cortes transversales (con excepción de d). **a.** Vista general de la raíz. **b.** Células de la epidermis, tricomas, parénquima y esclerénquima. **c.** Detalle de esclerénquima y parénquima. **d.** Corte longitudinal con tricoma, epidermis, parénquima y esclereidas. **e.** Raíz diarca. **f.** Detalle de estela y endodermis. Escalas: a = 120 µm; b, d, e = 60 µm; c, f = 30 µm; \* = endodermis, flecha = epidermis, ES = esclerénquima, FL = floema, PA = parénquima, PE = periciclo, TR = tricoma, X = xilema.

*Rizoma*. La epidermis es simple con células rectangulares y cuadradas y contenido obscuro que ocluye su lumen celular (Fig. 10a, b). El córtex está constituido por esclerénquima y parénquima (Fig. 10a, b). El esclerénquima se distribuye notablemente en dos regiones, la típica subyacente a la epidermis, donde forma más de 15 estratos de células, y los denominados nidos, dispersos en el parénquima. El esclerénquima está constituido exclusivamente por esclereidas, cuyas células tienen paredes moderadamente gruesas y están impregnadas de contenido obscuro, el cual a veces ocluye totalmente su lumen celular. Los nidos de esclereidas no presentan espacios intercelulares; además, en cortes no aclarados hay abundante contenido de color café, tanto en el lumen como en sus paredes (Fig. 10c, d). Las células del parénquima son isodiamétricas y comúnmente contienen granos de almidón (Fig. 10b, c); entre sus paredes delgadas se aprecian espacios intercelulares. La estela es una dictiostela que presenta 6 a 11 haces vasculares de forma ovalada o redonda. Alrededor de cada haz vascular se presenta la endodermis, con las mismas características descritas para la raíz (Fig. 10e, f). Los haces vasculares están formados por el periciclo con 2 a 3 estratos de células, el xilema con elementos traqueales, el floema de células pequeñas, y células de parénquima entre el xilema y el floema con contenido obscuro (Fig. 10e, f).

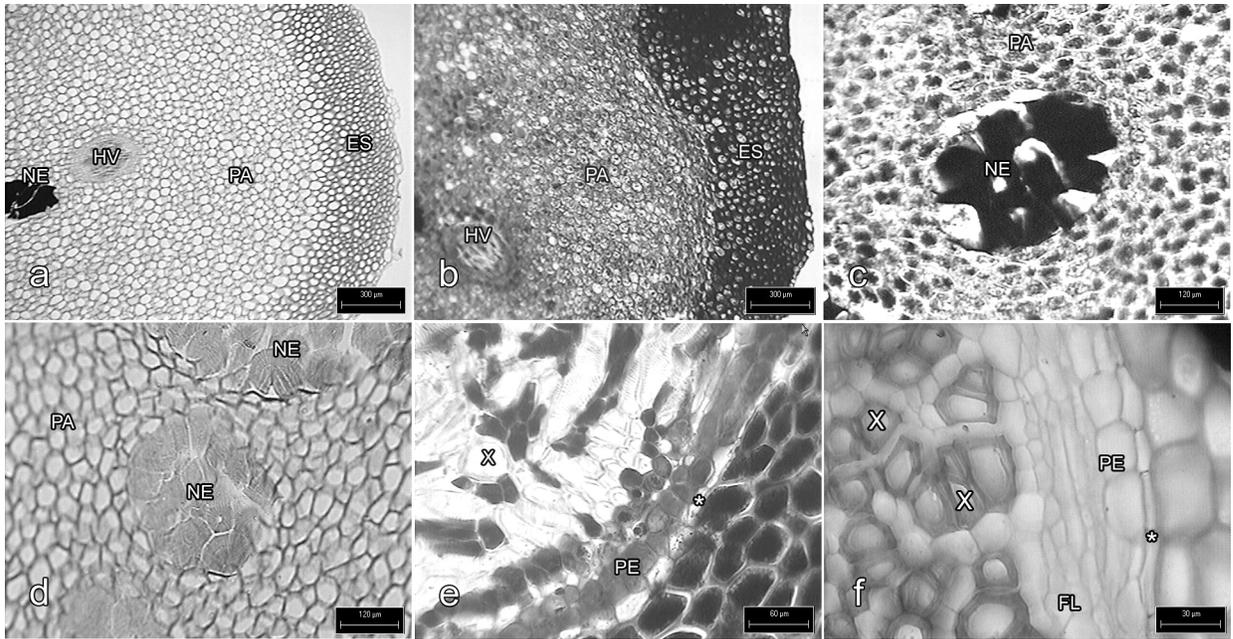


Figura 10. Descripción del tejido del rizoma de *Ctenitis melanosticta*, cortes transversales. **a.** Vista general de corte aclarado. **b.** Vista general de corte no aclarado. **c.** Nido de esclereidas no aclarado. **d.** Nido de esclereidas aclarado. **e.** Haz vascular y endodermis. **f.** Detalle del haz vascular. Escalas: a, b = 300  $\mu\text{m}$ , c, d = 120  $\mu\text{m}$ , e = 60  $\mu\text{m}$ , f = 30  $\mu\text{m}$ . \* = endodermis, ES = esclerénquima, FL = floema, HV = haz vascular, NE = nido de esclereida, PA = parénquima, PE = periciclo, X = xilema.

*Pecíolo.* En corte transversal, el pecíolo es cilíndrico con excepción de un surco en la cara adaxial que se extiende hacia el raquis (Fig. 11 a). La cutícula es delgada y lisa; la epidermis es simple, con células de pared moderadamente gruesas, de forma cuadrada a rectangular y sin inclusiones en su lumen celular. El tejido fundamental está compuesto por esclerénquima y parénquima. En la parte externa subyacente a la epidermis se observa el esclerénquima, constituido por 8 a 10 estratos de fibras en la base y por 5 a 6 estratos de fibras hacia el raquis; las fibras tienen forma poligonal o circular en corte transversal y paredes gruesas (Fig. 11b). Subyacentes al esclerénquima están las células isodiamétricas del parénquima, con paredes delgadas y algunas veces ocluidas por granos de almidón y contenido obscuro; también se observan pequeños espacios intercelulares entre ellas. Rodeando a cada cordón vascular se encuentra una banda circunendodermal, constituida por un estrato de células más largas que anchas hacia el centro de la traza foliar de la base del pecíolo y, en el resto de éste, las células son cuadradas con un tamaño similar en todas sus paredes; todas tienen engrosamientos en la pared periclinal interna en forma de “U” y abundante contenido color café (Fig. 11c-f). Junto a la banda circunendodermal se observa la endodermis, cuyas características son similares a las descritas para la raíz (Fig. 11d, e).

En la base del pecíolo la traza foliar múltiple se compone de cinco cordones vasculares y hacia la parte superior del pecíolo se encuentran cuatro. El arreglo de los cordones vasculares anficribales es en forma de arco; hacia el lado adaxial se localizan los cordones de mayor tamaño y hacia el lado abaxial los de menor tamaño. En los cordones vasculares grandes, el xilema se arregla en forma de hipocampo, con la terminación del xilema arqueada hacia adentro, mientras que en los cordones vasculares pequeños el xilema se acomoda en forma circular (Fig. 11d-f). En cada cordón vascular se observan los elementos traqueales con paredes lignificadas, el floema de células pequeñas, con paredes primarias de diferente espesor, y células de parénquima entre el floema y el xilema (Fig. 11d, e); además, el periciclo está constituido por 1 a 2 estratos de células, con paredes delgadas y algunas células ocluidas por contenido obscuro. La anatomía del raquis es similar a lo descrito para el

pecíolo, pero solamente presenta tres cordones vasculares (Fig. 11f), porque los más pequeños se fusionan a los de mayor tamaño.

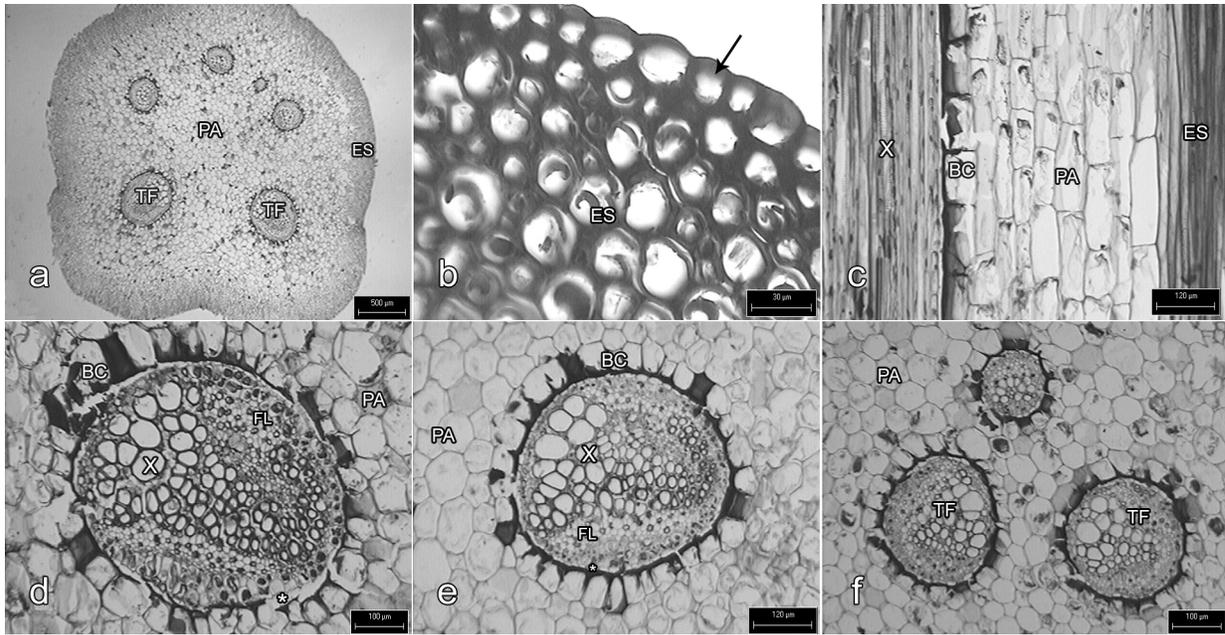


Figura 11. Descripción del tejido del pecíolo de *Ctenitis melanosticta*, cortes transversales (con excepción de c). a. Pecíolo cilíndrico con surco en la cara adaxial, b. Epidermis y esclerénquima. c. Corte longitudinal de cordón vascular de la traza foliar y tejido fundamental. d. Cordón vascular de la traza foliar en la base del pecíolo con arreglo del xilema en forma de hipocampo y banda circunendodermal. e. Parte superior del pecíolo con células de banda circunendodermal de tamaño similar. f. Traza foliar múltiple de tres cordones vasculares en el raquis. Escalas: a = 550 µm, b = 30 µm, c, d, f = 100 µm, e = 120 µm. \* = endodermis, flecha = epidermis, BC = banda circunendodermal, ES = esclerénquima, FL = floema, PA = parénquima, TF = traza foliar, X = xilema.

*Lámina.* El patrón de venación es libre (Fig. 12a), la vena media de los últimos segmentos y las venas secundarias son simples o se dividen una vez cerca del margen (Fig. 12b). Se observan tricomas multicelulares en ambos lados de la lámina, principalmente en la vena media y las secundarias (Fig. 12c). Los soros se ubican en la parte media de las venas. La lámina, en vista superficial, tiene células epidérmicas con paredes onduladas. En la cara abaxial, al mismo nivel que las otras células epidérmicas (Fig. 12e), se encuentran los estomas polocíticos, con sus células oclusivas rodeadas por una célula subsidiaria en forma de herradura (Fig. 12d). En el corte transversal, la epidermis es simple, las células de la cara abaxial son pequeñas, de forma redonda y con cutícula delgada, y en la cara adaxial son redondas de mayor tamaño, con contenido obscuro en su lumen y con una cutícula más gruesa que en la cara abaxial. El mesofilo está formado por parénquima esponjoso; sus células son de forma irregular, con espacios intercelulares amplios y abundantes cloroplastos (Fig. 12e). El tejido vascular de la vena media es similar al arreglo descrito para los cordones vasculares de menor tamaño del pecíolo; sin embargo, todas las células de la banda circunendodermal tienen un tamaño similar (Fig. 12f, g). Además, en la cara adaxial de la vena media hay de 2 a 3 estratos de fibras subyacentes a la epidermis (Fig. 12g).

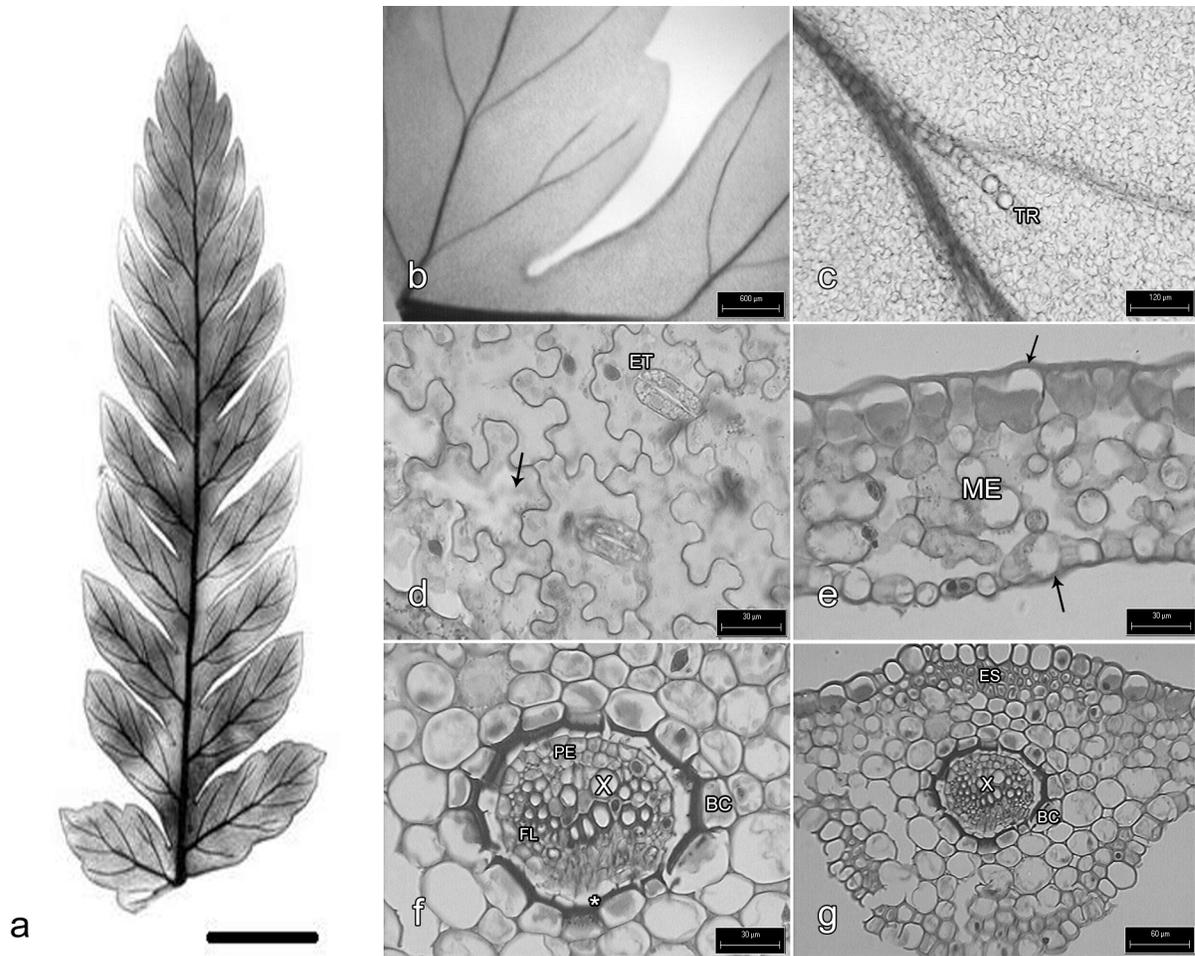


Figura 12. Descripción del tejido de la lámina foliar de *Ctenitis melanosticta*. a-c. Diafanizada. **a.** Pinnula de la fronda. **b.** Venación libre. **c.** Tricoma. **d.** Corte paradermal. Células epidérmicas con paredes onduladas (flecha) y estomas polocíticos. **e-g.** Cortes transversales. **e.** Epidermis y mesofilo. **f.** Detalle tejido vascular de la vena primaria y banda circunendodermal. **g.** Vena primaria. Escalas: a = 1 cm , b = 600 µm, c = 120 µm, d, e = 30 µm, f = 60 µm, g = 30 µm. \* = endodermis, flecha = epidermis, BC = banda circunendodermal, ES = esclerénquima, ET = estoma, FL = floema, ME = mesofilo, PE = periciclo, TR = tricoma, X = xilema.

## Discusión

La anatomía de la raíz, el rizoma, el pecíolo y la lámina de *Ctenitis melanosticta* fue muy similar a la descrita para algunos géneros de la familia Dryopteridaceae y otras familias relacionadas filogenéticamente. Ogura (1972) señala que en la raíz de los helechos, el córtex puede estar constituido sólo por parénquima o por esclerénquima, o por ambos. En *C. melanosticta* se presentan los dos tipos de tejidos como en otras especies de helechos avanzados (Cuadro 1), pero difieren de las especies de *Cheilanthes*, en las que el córtex está totalmente formado por esclerénquima (Herrera, 1993). Se ha dado una interpretación diferente a las células del córtex con paredes gruesas en *Thelypteris* (Zavaro et al., 1995), género para el que se interpretan como paredes primarias y en una transición entre parénquima y colénquima, o bien como un colénquima atípico. Los resultados de las pruebas con floroglucinol y ácido clorhídrico, mostraron que las paredes están lignificadas y por ello se interpretan como esclerénquima en *C. melanosticta*. Además, se observó en *C. melanosticta* la presencia de hifas fungales, las cuales también se han registrado en 16 especies de helechos de Paquistán (Iqbal et al., 1981). Con respecto al tejido vascular de la raíz, se ha descrito como un haz vascular central donde el protoxilema generalmente es diarco y triarco, con modificación a monarco en *Azolla* y *Ophioglossum* y a poliarco en las familias Ophioglossaceae, Hymenophyllaceae, Gleicheniaceae y Marattiaceae (Ogura, 1972). La raíz de *C. melanosticta* es diarca, similar a lo registrado en *C. ursina* (Sánchez-Morales et al., 2006), en otros Dryopteridaceae (White, 1970; Moran, 1987) y en los géneros *Diplazium* (Jarquín et al., 2006), *Lophosoria* y *Sphaeropteris* (Lucansky y White, 1976). Actualmente la poca información sobre la anatomía de la raíz no permite hacer generalizaciones; no obstante, se observa una tendencia a presentar un arreglo diarco en los helechos más avanzados.

La anatomía del rizoma de *C. melanosticta* es muy parecida a la descrita para el género *Dryopteris* y de acuerdo con Bierhorst (1971) se considera avanzada, en comparación con otros géneros. Sin embargo, los nidos de esclereidas de *C. melanosticta* difieren de los de *Dryopteris patula* por la ausencia de espacios

intercelulares, y de los de *D. rossii* y *D. maxonii* por la falta de cristales en la periferia de los nidos (Hernández-Hernández et al., 2006). También se han reportado nidos de esclereidas en otros géneros de Dryopteridaceae (Moran, 1987), en *Campyloneurum* de la familia Polypodiaceae (Zlotnik, 1991) y en algunos miembros de la familia Lomariopsidaceae (Moran, 1987). Al contrario, los nidos de esclereidas no fueron observados en *Polybotrya* (Moran, 1987), *Polypodium* (Hernández-Hernández, datos no publicados), y *Woodwardia* (Lucansky, 1981), por lo que se considera un rasgo variable a nivel de familia y su valor diagnóstico deberá usarse con precaución, hasta que un mayor número de géneros haya sido estudiado.

Algunos autores han reportado la presencia de la banda circunendodermal en el rizoma de *Microgramma nitida*, *Niphidium crassifolium* y varias especies de *Polypodium* (Zlotnik, 1991; Tejero, 2005). Sin embargo, en el rizoma de la especie en estudio, *C. melanosticta*, y de especies de los géneros *Dryopteris*, *Polybotrya*, *Campyloneurum*, *Pleopeltis* y *Polypodium*, la banda circunendodermal no se diferencia (Moran, 1987; Zlotnik, 1991; Hernández-Hernández et al., en revisión).

El número, la forma y el arreglo de los cordones vasculares de la traza foliar del pecíolo se consideran caracteres informativos para la identificación de las familias de helechos (Lin y DeVol, 1977, 1978). El pecíolo de *Ctenitis melanosticta* tiene una traza foliar múltiple con cinco cordones vasculares en la base del pecíolo y tres en el raquis, al igual que *C. ursina* (Sánchez-Morales et al., 2006). Esta variación acrópeta en el número de cordones vasculares también se presenta en otras especies de *Blechnum*, *Diplazium*, *Dryopteris*, *Elaphoglossum* y *Woodwardia* (Cuadro 1). Los géneros *Athyrium*, *Diplazium* y *Thelypteris* se caracterizan por tener dos cordones vasculares en la traza foliar en la base del pecíolo y hacia el raquis se fusionan en una; la excepción es *Diplazium kunstleri*, con una traza foliar formada por un único cordón vascular a lo largo del pecíolo (Umikalsom, 1992; Zavaro et al., 1995). La presencia de una traza foliar múltiple *C. melanosticta* es un atributo que se considera avanzado en comparación con los géneros de otras familias de helechos (Bierhorst, 1971; Ogura, 1972). Además, el arreglo de la traza foliar en *C. melanosticta* es en forma de arco, con dos cordones vasculares de mayor tamaño hacia la cara adaxial y el resto de menor

tamaño hacia la cara abaxial; esta disposición es similar a la registrada en los géneros *Bolbitis*, *Blechnum*, *Dryopteris*, *Elaphoglossum*, *Phanerophlebia*, *Polystichum*, *Tectaria* y *Woodwardia* (Ogura, 1972; Hernández-Hernández et al., en revisión). El género *Polybotrya* (Dryopteridaceae) difiere en el arreglo del xilema de la traza foliar en forma de omega (Moran, 1987), mientras que en *Diplazium* la configuración del xilema se presenta en forma de quilla o “W” (Umikalsom, 1992), en hipocampo o en bastón (Jarquín et al., 2006), o en “V” y con la terminación del xilema arqueada hacia adentro (Hernández-Hernández, datos no publicados). Aunque la banda circunendodermal no se diferencia en el rizoma, ésta se presenta en el pecíolo de *C. melanosticta*, al igual que en especies de 20 géneros de familias consideradas avanzadas (Lucansky, 1981, Guantay y Hernández, 1990; Zlotnik, 1991; Tejero, 2005; Hernández-Hernández et al., en revisión), pero está ausente en otros taxa (Cuadro 1). En *Dryopteris* se presentan los mismos engrosamientos de las paredes de la banda circunendodermal en forma de “U” y contenido obscuro en sus lúmenes celulares (Hernández et al., 2006) que en *C. melanosticta*, pero difieren por el menor tamaño de las células hacia el centro de los mayores cordones vasculares de la traza foliar múltiple. Sin embargo, observaciones preliminares de *Ctenitis submarginalis* muestran que las células de la banda circunendodermal tienen un tamaño similar a lo largo de todo el pecíolo (Hernández-Hernández, datos no publicados). La presencia de la banda circunendodermal en los cordones vasculares de la traza foliar múltiple se interpreta como un carácter avanzado en *C. melanosticta* y los miembros de las familias Blechnaceae, Dryopteridaceae, Lomariopsidaceae, Nephrolepidaceae, Polypodiaceae y Thelypteridaceae (Hernández-Hernández et al., en revisión).

La venación de *C. melanosticta* es libre, con la venas secundarias divididas una vez cerca del margen, a diferencia de *Dryopteris*, cuyas venas secundarias se bifurcan dos o tres veces (Hernández et al., 2006). En *Polybotrya* y *Polypodium* la venación puede ser libre o anastomosada (Moran, 1987); en el último género las areolas presentan una forma diferente (Tejero, 2005). De acuerdo con la propuesta de Bierhorst (1971), la venación dicotómica es un rasgo primitivo y esta interpretación se da a la venación de *C. melanosticta*. Las células del mesofilo fuertemente lobuladas de

*Ctenitis melanosticta* son similares a las descritas para especies de los géneros *Campyloneurum*, *Elaphoglossum*, *Microgramma*, *Niphidium*, *Phlebodium*, *Polybotrya*, *Polypodium* y *Tectaria* (Velásquez, 1983; Moran, 1987; Guantay y Hernández, 1990; Zlotnik, 1991; Tejero, 2005). En otros géneros (Cuadro 1) se reporta un mesofilo bifacial, con los parénquimas diferenciados en empalizada y esponjoso. En los géneros *Elaphoglossum* y *Polypodium* se han registrado especies con mesofilo uni- y bifacial. Estos géneros se distinguen por la amplia diversidad de ambientes y hábitats en los cuales se encuentran, desde selvas y bosque mesófilo de montaña hasta encinar y pinar; además las plantas pueden ser terrestres, epipébricas y epifitas (Mickel y Beitel, 1988; Moran y Riba, 1995). *Ctenitis melanosticta* presenta en el lado adaxial de la vena media del último segmento varios estratos de fibras subyacentes a la epidermis, similar a lo descrito en *Elaphoglossum* (Guantay y Hernández, 1990) y en *Thelypteris* (Zavaro et al., 1995). Para otros géneros como *Asplenium*, *Dryopteris* y *Polybotrya* se registra colénquima en la cara abaxial de la vena media (Cuadro 1). Además, Chaerle y Viane (2004) mencionan la presencia de una hipodermis colenquimatosa en ambos lados de la lámina en *Asplenium*, que se conecta con el colénquima de la costa y las cóstulas, formando las venas falsas. Es interesante notar que las fibras del esclerénquima solamente se presentan en la lámina y en el pecíolo, y seguramente tienen una función mecánica para darle rigidez -pero también flexibilidad- a la fronda, mientras que la presencia de esclereidas en la raíz y el rizoma se relaciona con una función de protección hacia el tejido vascular.

El haz vascular de la vena media está rodeado por la banda circunendodermal similar a lo descrito para *Campyloneurum*, *Dryopteris*, *Pleopeltis*, *Polypodium* y *Tectaria* (Hernández et al., 2006; Hernández-Hernández, datos no publicados), pero no ha sido observado en las especies estudiadas de *Blechnum*, *Phanerophlebia*, *Plagiogyria*, *Polybotrya* y *Thelypteris* (Moran, 1987; Hernández-Hernández, datos no publicados), por lo que podría ser un carácter con valor diagnóstico. Con la finalidad de confirmar la importancia de la banda en la lámina hay que estudiar más especies de la familia Dryopteridaceae.

En conclusión, *Ctenitis melanosticta* comparte rasgos anatómicos de sus diferentes órganos con otros helechos considerados avanzados, como los pertenecientes a su familia Dryopteridaceae. Entre los caracteres anatómicos que *C. melanosticta* comparte con este grupo de helechos están la raíz diarca, el córtex formado por parénquima y esclerénquima (esclereidas y nidos de esclereidas) en el rizoma, la presencia de banda circunendodermal en pecíolo y lámina, así como el mesofilo unifacial y las fibras subyacentes a la epidermis de la vena media en la lámina.

Cuadro 1. Comparación de la anatomía de la raíz, rizoma, pecíolo y lámina en diferentes géneros y especies de helechos.

Género o especie	Raíz	Rizoma	Pecíolo	Lámina
<i>Adiantum concinnum</i> <sup>17</sup>	Diarca Triarca	Nidos de escleridas Banda circundodermal	Número de cordones vasculares Configuración del xilema	Mesofilo unifacial Mesofilo bifacial Banda circundodermal
<i>Anemia phyllitidis</i> <sup>17, 18</sup>				A A <sup>17</sup>
<i>Alsophila firma</i> <sup>17</sup>				A
<i>Asplenium</i> <sup>12</sup>				P
<i>Asplenium sphaerosporum</i> <sup>17</sup>				A
<i>Athyrium</i> <sup>9</sup>			2	
<i>Blechnum</i> <sup>4</sup>			Arco	
<i>B. appendiculatum</i> <sup>17, 18</sup>			3 <sup>18</sup>	P <sup>17</sup> A <sup>18</sup>
<i>Blechnum schiedeanaum</i> <sup>17, 18</sup>			13 <sup>18</sup>	P <sup>17</sup> A <sup>18</sup>
<i>Bolbitis</i> <sup>4</sup>			Arco	
<i>Bolbitis bernoulli</i> <sup>17</sup>				P
				Vena media con esclerénquima Vena media con colénquima Banda circundodermal



<i>Dryopteris cinnamomea</i> <sup>14</sup>	P	A	Arco	P	P	P	P	P
<i>D. maxonii</i> <sup>14</sup>	P	A	3-4 Arco	P	P	P	P	P
<i>Dryopteris patula</i> <sup>14</sup>	P	A	Arco	P	P	P	P	P
<i>D. rosea</i> <sup>14</sup>	P	A	Arco	P	P	P	P	P
<i>D. rossii</i> <sup>14</sup>	P	A	Arco	P	P	P	P	P
<i>D. wallichiana</i> <sup>14</sup>	A	A	8-9 Arco	P	P	P	P	P
<i>Elaphoglossum</i> <sup>7, 17</sup>			2-57 Arco <sup>17</sup>					
<i>Elaphoglossum crassipes</i> <sup>7</sup>				P	P	P	P	
<i>E. gayanum</i> <sup>7</sup>				P	P	P	P	
<i>E. lindbergii</i> <sup>7</sup>				P	P	P	P	
<i>E. lorentzii</i> <sup>7</sup>				P	P	P	P	
<i>Elaphoglossum peltatum</i> <sup>17, 18</sup>				P <sup>17</sup>				
<i>E. spathulatum</i> <sup>7</sup>				P	P	P	P	
<i>E. yungense</i> <sup>7</sup>				P	P	P	P	
<i>Lomariopsis recurvata</i> <sup>17</sup>				P				
<i>Lophosoria quadripinnata</i> <sup>2, 17</sup>				A <sup>17</sup>				
<i>Macrothelypteris torresiana</i> <sup>17</sup>				P <sup>17</sup>				
<i>Marattia laxa</i> <sup>17</sup>				A				
<i>Microgramma nitida</i> <sup>8</sup>				P	P	P	P	
<i>Nephrolepis cordifolia</i> <sup>17</sup>				P				
<i>Niphidium crassifolium</i> <sup>8, 17, 18</sup>				P <sup>17</sup>	P			
<i>Olfersia cervina</i> <sup>17</sup>				A				
<i>Osmunda regalis</i> <sup>17</sup>				A				

<i>Pectuma plumula</i> <sup>17</sup>						A	
<i>Pellaea ovata</i> <sup>17</sup>						A	
<i>P. ternifolia</i> <sup>17</sup>						A	
<i>Phanerophlebia remotispora</i> <sup>17, 18</sup>				Arco <sup>17</sup>	P <sup>17</sup>		A <sup>18</sup>
<i>Phlebodium areolatum</i> <sup>17, 18</sup>					P <sup>17</sup>	P <sup>18</sup>	
<i>Plagiogyria pectinata</i> <sup>17, 18</sup>					A <sup>17</sup>		A <sup>18</sup>
<i>Pleopeltis angusta</i> <sup>8</sup>	P	P	A		P	P	
<i>P. conzattii</i> <sup>8</sup>	P	P	A		P	P	
<i>P. crassinervata</i> <sup>8</sup>	P	P	A		P	P	P
<i>P. polylepis</i> <sup>8</sup>	P	P	A		P	P	
<i>Polybotrya</i> <sup>6</sup>	P	P	A	Omega	A	P	P
<i>Polypodium</i> <sup>17</sup>				Arco			A
<i>Polypodium arcanum</i> <sup>13</sup>			P		P	P	
<i>Polypodium californicum</i> <sup>13, 17, 18</sup>			A <sup>18</sup>	P <sup>13</sup>	P <sup>17</sup>	P <sup>13</sup>	
<i>P. colpodes</i> <sup>13, 17</sup>			P <sup>13</sup>		P <sup>17</sup>	P <sup>13</sup>	
<i>Polypodium echinolepis</i> <sup>13</sup>							P
<i>P. fraternum</i> <sup>13</sup>							P
<i>P. hispidulum</i> <sup>18</sup>						P	
<i>P. loriceum</i> <sup>13</sup>						P	
<i>Polypodium plebeium</i> <sup>17, 18</sup>		P <sup>18</sup>			P <sup>17</sup>	P <sup>18</sup>	P <sup>18</sup>
<i>P. plesiosorum</i> <sup>13, 17</sup>					P <sup>17</sup>	P <sup>13</sup>	
<i>P. rhachipterygium</i> <sup>13, 17, 18</sup>			A <sup>18</sup>	A <sup>18</sup>	P <sup>17</sup>	P <sup>13</sup>	
<i>P. rhodopleurum</i> <sup>13, 18</sup>			P <sup>13</sup>		P <sup>17</sup>	P <sup>13</sup>	P <sup>18</sup>

<i>P. subpetiolatum</i> <sup>17</sup>			P	P			
<i>P. triseriale</i> <sup>13</sup>				P			
<i>Polystichum hartwegii</i> <sup>17, 18</sup>			Arco	P <sup>17</sup>	P <sup>18</sup>		
<i>Pteridium feei</i> <sup>17, 18</sup>				A <sup>17</sup>			A <sup>18</sup>
<i>Pteris quadriaurita</i> <sup>17, 18</sup>				A <sup>17</sup>			A <sup>18</sup>
<i>Sphaeropteris elongata</i> <sup>2</sup>					P		
<i>Sticherus bifidus</i> <sup>17</sup>				A <sup>17</sup>			A <sup>18</sup>
<i>Tectaria decurrens</i> <sup>1</sup>					P		
<i>T. devexa</i> <sup>1</sup>					P		
<i>T. fernandensis</i> <sup>1</sup>					P		
<i>T. heracleifolia</i> <sup>1, 5, 17, 18</sup>		6 <sup>5</sup>	Arco <sup>17</sup>	P <sup>17</sup>	P <sup>5</sup>		P <sup>18</sup>
<i>T. incisa</i> <sup>1</sup>					P		
<i>T. mexicana</i> <sup>5</sup>		8			P		
<i>T. polymorpha</i> <sup>1</sup>					P		
<i>Terpsichore asplenifolia</i> <sup>17</sup>				A			
<i>Thelypteris</i> <sup>11</sup>		2					P
<i>Thelypteris linkiana</i> <sup>17, 18</sup>		2 <sup>17</sup>		A <sup>17</sup>			A <sup>18</sup>
<i>Thelypteris rudis</i> <sup>17, 18</sup>		2 <sup>17</sup>		P <sup>17</sup>			A <sup>18</sup>
<i>Trichomanes capillaceum</i> <sup>17, 18</sup>				A <sup>17</sup>			A <sup>18</sup>
<i>Vittaria graminifolia</i> <sup>17</sup>				A			
<i>Woodsia mollis</i> <sup>17</sup>		2		A			
<i>Woodwardia areolata</i> <sup>3</sup>		6		P			P
<i>Woodwardia radicans</i> <sup>3</sup>		7		P			P

<i>W. virginica</i> <sup>3</sup>	P	P	A	7-8	P	P	P
<i>W. X semicordata</i> <sup>17, 18</sup>	P <sup>18</sup>	3 <sup>18</sup>	Arco <sup>17</sup>	P <sup>17</sup>			

---

<sup>1</sup>White, 1970; <sup>2</sup>Lucansky y White, 1976; <sup>3</sup>Lucansky, 1981; <sup>4</sup>Ogura, 1972; <sup>5</sup>Velásquez, 1983; <sup>6</sup>Moran, 1987; <sup>7</sup>Guantay y Hernández, 1990; <sup>8</sup>Zlotnik, 1991; <sup>9</sup>Umikalsom, 1992; <sup>10</sup>Herrera, 1993; <sup>11</sup>Zavaro et al., 1995; <sup>12</sup>Chaerle y Viane, 2004; <sup>13</sup>Tejero, 2005; <sup>14</sup>Hernández et al., 2006; <sup>15</sup>Jarquín et al., 2006; <sup>16</sup>Sánchez-Morales et al., 2006; <sup>17</sup>Hernández-Hernández et al., en revisión; <sup>18</sup>Hernández-Hernández, datos sin publicar. P = presencia, A = ausencia.

### III. ONTOGENIA DE LA FRONDA DE *CTENITIS MELANOSTICTA* Y *DIPLAZIUM EXPANSUM*: CON ÉNFASIS EN LA BANDA CIRCUNENDODERMAL

#### **Resumen**

La ontogenia de la fronda de *Ctenitis melanosticta* y *Diplazium expansum* fue estudiada con el objetivo de identificar el origen de las células de la banda circunendodermal y determinar si existen diferencias anatómicas entre las especies con banda circunendodermal continua y discontinua. Se siguió el desarrollo de las frondas desde la prefoliación hasta la madurez. Los resultados indican que la diferenciación de la banda circunendodermal se inicia en la prefoliación a unos cuantos centímetros de la base del pecíolo y en la lámina sólo aparece en la fronda fértil de *Ctenitis melanosticta* y en *Diplazium expansum* es ausente la banda. El origen de la banda circunendodermal fue del estrato celular más interno del tejido fundamental, adyacente a los cordones vasculares de la traza foliar múltiple. La banda circunendodermal y la endodermis se diferenciaron de la misma célula, y una vez diferenciada la endodermis hay divisiones centrípetas que dan origen al periciclo. Además no se observaron diferencias en la banda circunendodermal entre las especies con banda circunendodermal continua y discontinua.

#### **Abstract**

The ontogeny of *Ctenitis melanosticta* and *Diplazium expansum* frond was studied with the main purpose to identify the origin of the cells which conforms the band surrounding the vascular tissue and to determine if there are differences between species with a continuous or discontinuous band. Frond ontogeny was followed from crozier (fiddle head) to mature frond. The band started its differentiation during the crozier few centimeters from the petiole base and only appeared in *Ctenitis melanosticta* the fertile frond and never differentiated in *Diplazium expansum*. Band differentiation occurred in the most inner row of cells in the fundamental tissue, which surrounds the vascular strands of the multiple leaf trace. Based in its position and origin it is named circunendodermal band. The same parenchyma cell gave

origin to the cells of the circunendodermal band and the endodermis. In addition, the endodermis also showed centripetal divisions which gave origin to the pericycle. No differences in the circunendodermal band existed between species with continuous or discontinuous band.

## **Introducción**

Los estudios ontogenéticos en las pteridofitas se han enfocado principalmente a los estomas y los esporofitos, donde se incluye a los primordios de la fronda (Pray, 1960; White, 1970; Inamdar et al., 1971; Cottem, 1973; Sen y Hennipman, 1981; Zurakowski y Gifford, 1988). Imachi y Kato (1992) evaluaron la heterocronía en el desarrollo de la fronda de dos especies de *Osmunda*. Además, se ha estudiado la heteroblastia de las hojas y su relación con el patrón de venación en *Thelypteris palustris* (Korn, 1998) y la diferenciación del tejido vascular en algunos taxones como *Tectaria* (Pray, 1960) y *Nephrolepis* (White, 1970). Bierhorst (1977) estudió el desarrollo de la fronda de más de 50 especies de helechos leptosporangiados, y en todos los casos, la fronda se inicia a partir de una célula inicial del meristemo apical. En las pteridofitas hasta la fecha estudiadas, tanto la diferenciación y expansión de la fronda, como la diferenciación y maduración del tejido vascular es acrópeto.

Existe un grupo de células que rodea o envaina de forma total o parcial a los haces vasculares del rizoma, el pecíolo y la lámina. Este grupo de células se ha nombrado como banda circunendodermal y se ha registrado en especies de seis familias de helechos derivados (Blechnaceae, Dryopteridaceae, Lomariopsidaceae, Nephrolepidaceae, Polypodiaceae y Thelypteridaceae; Hernández-Hernández et al., en revisión). Sin embargo, se desconoce en que momento se diferencia esta banda circunendodermal, si su origen es de tejido fundamental y si su desarrollo es similar en especies con banda circunendodermal continua y con BC discontinua. Para responder estas preguntas se estudió la ontogenia del pecíolo y de la lámina de dos especies de helechos, con el objetivo de identificar la etapa de diferenciación de la banda circunendodermal y qué células dan origen a ésta, y evaluar las divergencias entre las especies con banda continua y discontinua al momento de su diferenciación.

## **Materiales y método**

Se recolectaron 17 individuos de *Ctenitis melanosticta* (Kunze) Copeland, especie con banda circunendodermal continua y diez individuos de *Diplazium expansum* Willdenow, especie con banda circunendodermal discontinua, en el Parque Francisco Javier Clavijero, municipio de Xalapa, Veracruz, a partir de noviembre de 2004 hasta marzo de 2005. Durante estos cinco meses se recolectaron las plantas desde la prefoliación (cayado) hasta el esporofito adulto, tomando en cuenta el número de pares de pinnas desarrolladas hasta la expansión total de la hoja. El material del pecíolo se fragmentó en tres partes (basal, media y superior); también se tomaron segmentos del raquis y la pinna (lámina) de la parte media de la fronda. Todo el material se fijó en formaldehído - ácido acético glacial - alcohol etílico - agua (10:5:50:35) (Ruzin, 1999). Las muestras fueron deshidratadas en un cambiador automático Leica TP1020 y se incluyeron en parafina. Una vez incluidas en parafina se hicieron cortes transversales y longitudinales con un micrótopo rotatorio a 14-18  $\mu\text{m}$  de grosor, se tiñeron con safranina y verde fijo y se montaron en resina sintética Euparal (Johansen, 1940).

Se revisaron las laminillas para describir los tejidos dérmico, fundamental y vascular. Finalmente, se tomaron fotografías que permitieron reconstruir el desarrollo de la fronda, utilizando el programa Image Pro-Plus® versión 3.1, usando una cámara de vídeo Hitachi KP-D51 y un microscopio Olympus BX50.

## Resultados

### *Ctenitis melanosticta*

**Morfología.** La prefoliación de *C. melanosticta* corresponde a la forma bastón y puede tener entre 1 y 11.5 cm de altura. El primer par de pinnas basales comienza su expansión a los 11 días, mientras el resto de las pinnas permanecen enrolladas y la fronda tiene una altura cercana a los 21.5 cm (Fig. 13a). Entre los 15 y 22 días, los individuos presentan cinco pares de pinnas abiertas, con una talla entre 32.5 y 38.0 cm (Fig. 13b). Se observó una amplia variación en el tamaño de los individuos y el número de pinnas abiertas; por ejemplo, el individuo C9 a los 47 días presentó seis pares de pinnas expandidas y el ápice cerrado, con una altura de 70.7 cm, mientras el individuo C12 a los 86 días tuvo ocho pares de pinnas abiertas y el ápice cerrado (Cuadro 2). La expansión total de la fronda se observó entre los 40 y 68 días, con un número total de entre 10 y 20 pares de pinnas (Fig. 13c). Las frondas comenzaron a ser fértiles entre los 90 y 98 días; sin embargo, el individuo C16 fue totalmente fértil hasta los 118 días con 11 pares de pinnas y una altura de 77 cm. Algunas de las diferencias observadas en el tamaño de la fronda y el número de días en que se alcanza la expansión total de la fronda se resumen en el Cuadro 2.



Figura 13. a-c. Planta de *Ctenitis melanosticta*. a. Prefoliación en forma de bastón. b. Fronda con cinco pares de pinnas abiertas. c. Fronda toda expandida. d-f. Planta de *Diplazium expansum*. d. Prefoliación circinada. e. Pinna basal abierta. f. Fronda toda expandida.

Cuadro 2. Talla de los individuos y fenología de la fronda de los individuos de *Ctenitis melanosticta* recolectados de la prefoliación a la fronda expandida y fértil.

Número- individuo	Tamaño (cm)	Días	Número de pares de pinnas	Categoría de la fronda
C17	1	-	Cerrado	Prefoliación
C-6	2.5	-	Cerrado	Prefoliación
C-3	6.5	-	Cerrado	Prefoliación
C-2	8.5	-	Cerrado	Prefoliación
C-1	11.5	-	Cerrado	Prefoliación
C-7	21.5	11	1 abierta	Prefoliación
C-14	67	32	4 abiertas	4 a 8 pares de pinnas
C-4	32.5	15	5 abiertas	4 a 8 pares de pinnas
C-5	38	22	5 abiertas	4 a 8 pares de pinnas
C-8	36.5	22	5 abiertas	4 a 8 pares de pinnas
C-9	70.7	47	6 abiertas	4 a 8 pares de pinnas
C-12	127.5	86	8 abiertas	4 a 8 pares de pinnas
C-11	63	40	10 todo abierto	totalmente expandida
C-10	72	50	14 todo abierto	totalmente expandida
C-15	78.8	68	10 todo abierto	totalmente expandida
C-16	77	118	11 todo abierto	totalmente expandida y fértil
C-13	119	98	20 todo abierto	totalmente expandida y fértil

**Anatomía del pecíolo.** Los cambios anatómicos en la ontogenia del pecíolo de *C. melanosticta* se sintetizan en tres categorías: prefoliación, frondas de cuatro a ocho pares de pinnas desarrolladas y frondas totalmente expandidas y fértiles.

**Prefoliación.** Se observó una epidermis simple, en la parte superior del pecíolo y el raquis, las células son más largas que anchas y de forma irregular. En su mayoría las células presentan evidencia de divisiones mitóticas porque las paredes anticlinales son muy delgadas; además el núcleo es evidente, el citoplasma es denso y la cutícula delgada (Fig. 14a). En la parte media y basal del pecíolo, estas células epidérmicas son cuadradas o rectangulares, con núcleos menos evidentes, citoplasma denso y con cloroplastos. Las células de la epidermis también se diferencian en tricomas unicelulares y multicelulares desde la parte media del pecíolo hasta el raquis (Fig. 14b).

Subyacente a la epidermis, en la parte superior del pecíolo en cayados de 1 a 6.5 cm se encontraron células de parénquima de forma variable, con paredes delgadas y divisiones mitóticas evidentes, sin ninguna diferenciación entre las células externas e internas (Fig. 14c). Además, las células presentan citoplasma denso y ausencia de cloroplastos y taninos. En cayados de 8.5 y 11.5 cm, estas células de parénquima presentan forma isodiamétrica. En el raquis, parte superior y media del pecíolo, las células del parénquima son de paredes delgadas, los núcleos son menos evidentes, el citoplasma varía de denso a poco denso, con pocos cloroplastos cerca de la epidermis a ausentes y sin taninos. Hacia la base del pecíolo, la pared de estas células se conserva delgada, pero se inicia el depósito de lignina en la lámina media y en los espacios intercelulares (Fig.14d); además, las células tienen citoplasma poco denso y cloroplastos y taninos escasos. Las células de parénquima más internas, cercanas al tejido vascular, son de mayor tamaño en cayados de 1, 2.5 y 6.5 cm (Fig. 14c). En la parte superior del pecíolo, las células de parénquima son de forma irregular, con paredes delgadas, núcleos en mayor cantidad, citoplasma denso y carecen de taninos (Fig. 14e), pero en la parte media y basal del pecíolo y el raquis, las células adquieren forma isodiamétrica, la mayoría tienen taninos y granos de almidón y se observan pequeños espacios intercelulares.

En cayados de 2.5 cm, en el raquis y hacia la parte media del pecíolo, las células de parénquima adyacentes al tejido vascular presentan abundantes divisiones anticlinales y periclinales. Aquí hay una hilera de células, distintivas por su forma rectangular o cuadrada, sus paredes delgadas, núcleos grandes, citoplasma denso y con un color obscuro, la cual corresponde a la banda circunendodermal (BC) (Fig. 14f, g). Además hacia el tejido vascular, subyacente a esta BC, hay un grupo de células de menor tamaño, arregladas también en una hilera. Las células de esta hilera presentan divisiones mitóticas, principalmente periclinales, donde las nuevas derivadas se incorporan centrípetamente hacia el tejido vascular y corresponden a las células del periciclo; mientras que las células que conservan su forma rectangular, tienen núcleos grandes, evidentes y sin contenido en su citoplasma, corresponden a la endodermis. En este estado de desarrollo aun no se ha diferenciado la banda de Caspari en sus paredes anticlinales (Fig. 14g), pero su posición y forma permite reconocerlas. Las células del periciclo son similares a las células de la endodermis en forma y tamaño en cayados de 1 y 2.5 cm, conservado sus semejanzas en la parte superior del pecíolo y raquis en cayados de 6.5 y 8.5 cm, pero se diferencian por el depósito temprano de contenido obscuro que ocluyen su lumen celular.

En la base del pecíolo también en cayados de 1 y 2.5 cm, las células de la BC son evidentes. Estas células hacia el centro de los cordones vasculares son más largas que anchas, y las restantes, son de menor tamaño y de forma isodiamétrica (Fig. 14h). Además, estas células de la BC tienen núcleo menos evidente, citoplasma poco denso y ausencia de contenido; en cayados de 1 cm no hay engrosamiento de las paredes periclinales. Sin embargo, en cayados de 2.5 se inicia el engrosamiento de la pared periclinal interna adyacente a la endodermis. Dependiendo del individuo, el engrosamiento de la pared periclinal parece un casquete o comienza su extensión hacia las paredes anticlinales en forma de "U", iniciándose también el depósito de los taninos (Fig. 14i). Por lo general, la BC es uniseriada, pero en algunos individuos, se observaron dos hileras hacia el centro de los cordones vasculares. La endodermis, en esta región del pecíolo, ya completó su diferenciación, con la banda de Caspari evidente en sus paredes anticlinales y sus típicas células rectangulares (Fig. 14i).



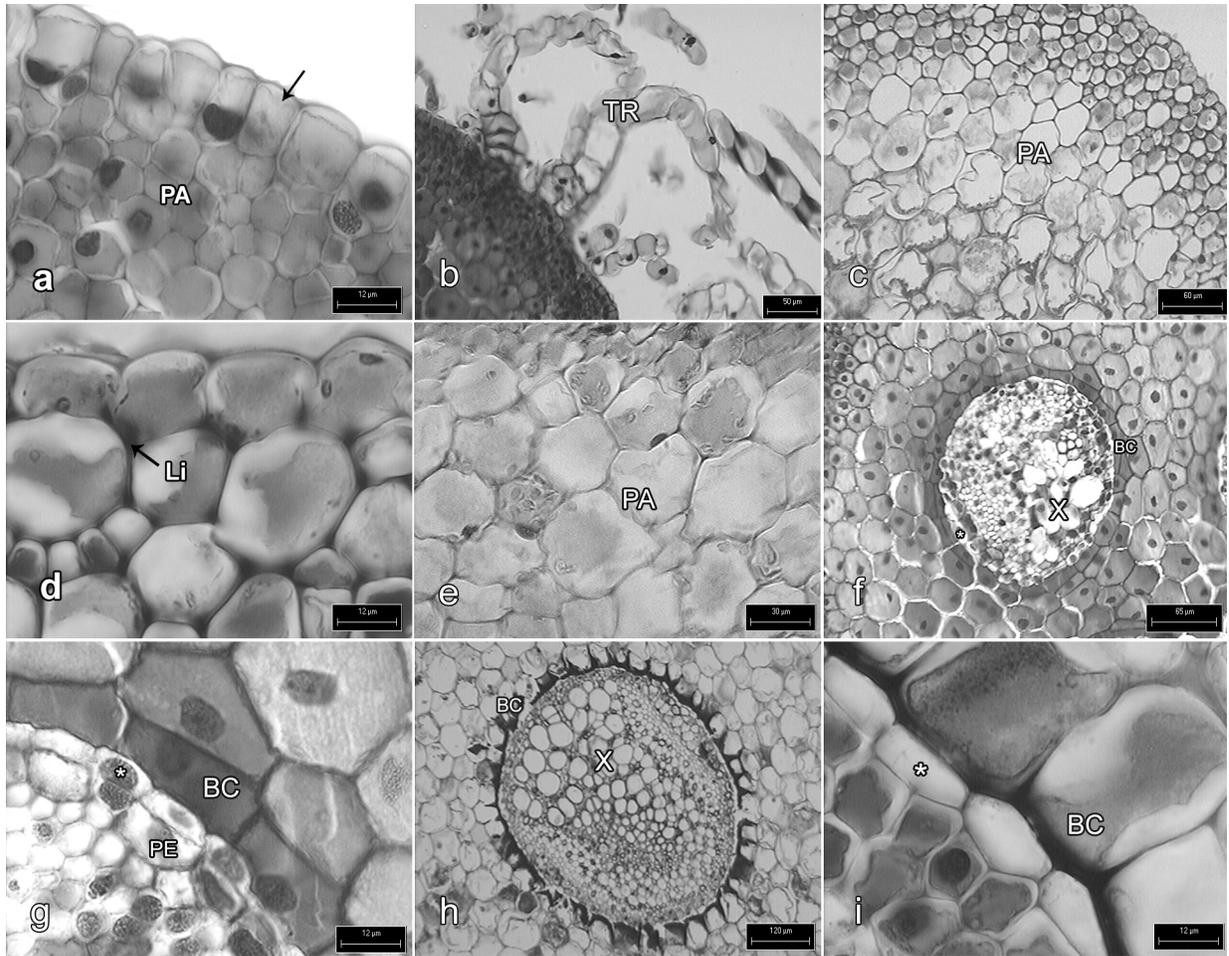


Figura 14. Descripción del tejido en la profoliación de *Ctenitis melanosticta*. **a.** Células de epidermis en la parte superior del pecíolo y raquis. **b.** Tricomas en la parte superior del pecíolo. **c.** Células de parénquima en cayados de 1 a 6.5 cm de altura. **d.** Depósito de lignina en la parte basal del pecíolo. **e.** Células de parénquima en la parte superior del pecíolo. **f.** Células en división mitótica que darán origen a la BC, endodermis y xilema. **g.** Acercamiento de las células que forman la BC y forma de las células que formaran la endodermis y periciclo. **h.** Forma de las células de la BC y xilema. **i.** Acercamiento de la BC y endodermis con banda de Caspari. Escala: a, d, g, i = 12 μm, b = 50 μm, c = 60 μm, e = 30 μm, f = 65 μm, h = 120 μm. \*= endodermis, BC = banda circunendodermal, Flecha = epidermis, Li = lignina, PA = parénquima, PE = periciclo, TR = tricoma, X = xilema.

En cayados de 2.5 cm, hay una traza foliar múltiple compuesta por tres cordones vasculares tanto en la base del pecíolo como hacia el raquis. En los cordones se reconoce el floema constituido por células pequeñas, con diferentes espesores en la pared celular y citoplasma denso, y los elementos traqueales con la pared primaria delgada, no lignificada (Fig. 15a). En cayados de 6.5 cm se observan algunos elementos traqueales con pared secundaria hacia el centro de los cordones vasculares de menor tamaño y en los de mayor tamaño en la parte interior del gancho aun sin diferenciación de la pared secundaria (Fig. 15b). En cayados de 11.5 cm se observan seis cordones vasculares en la base del pecíolo (Fig. 15c) y cinco en el raquis. En este estado del desarrollo del pecíolo, en el lado dorsal, los cordones vasculares son de mayor tamaño y tienen forma de hipocampo con la terminación del xilema arqueada hacia adentro; mientras que en el lado ventral, los cordones vasculares son más pequeños y el xilema se acomoda en forma circular. Por lo tanto, la disposición de los cordones es en arco hacia la cara ventral (Fig. 15c).

*Frondas de cuatro a ocho pares de pinnas desarrolladas.* El pecíolo es cilíndrico con un surco en la cara adaxial. Las células de la epidermis son iguales a la prefoliación en su parte media y basal del pecíolo, pero con diferencias relacionadas al crecimiento acrópeto donde en la parte superior del pecíolo y raquis se presenta un mayor número de núcleos, el citoplasma es denso, con escasos cloroplastos y taninos en comparación con las células epidérmicas de la parte media y basal del pecíolo. Además, las células de la epidermis en el pecíolo y el raquis están diferenciadas en su mayoría en tricomas multicelulares.

Las células de parénquima subyacentes a la epidermis, en el raquis y parte superior del pecíolo, son similares a lo descrito para la prefoliación; sin embargo, en las células de la parte media y basal del pecíolo, la pared es más gruesa y se inicia la acumulación de lignina en la lámina media (Fig. 15d). En el resto del tejido fundamental, las células tienen forma isodiamétrica, pero de mayor tamaño que en la prefoliación. En el raquis y parte superior del pecíolo, se observa en las células de la BC el engrosamiento en forma de casquete en la pared periclinal y en algunas células se extiende hacia la pared anticlinal formando una "U", así como la acumulación de

taninos (Fig. 15e). Mientras que en la parte basal del pecíolo, las células de la BC alcanzan su tamaño máximo y son más largas que anchas hacia el centro del cordón vascular y los engrosamientos de la pared de las células son en forma de "U" y la endodermis presenta la banda de Caspari diferenciada. El periciclo tiene de 1 a 3 hileras de células con citoplasma denso a no denso y algunas de sus células presentan taninos, mientras que el floema y xilema son similares al arreglo descrito en la prefoliación. Sin embargo, los elementos traqueales en el raquis y parte superior del pecíolo, presentan algunos elementos con pared lignificada hacia el centro del cordón vascular de menor tamaño y en los de mayor tamaño en la parte interior del arco. Hacia la parte media y basal del pecíolo la mayoría de los elementos traqueales tienen paredes secundarias que han completado su diferenciación y son gruesas (Fig. 15f).

*Frondas totalmente expandidas y fértiles.* El tamaño y disposición de los tejidos dérmico, fundamental y vascular son similares a lo descrito para las plantas con cuatro a ocho pares de pinnas desarrolladas. Sin embargo, hay ligeras modificaciones asociadas al desarrollo acrópeto de la fronda (Fig. 15g); por ejemplo, las células de la epidermis, alcanzaron en su mayoría su tamaño máximo, y en pocas células del raquis se observa el núcleo, con citoplasma no denso, los cloroplastos de escasos a ausentes y los taninos moderadamente abundantes a escasos. Las células subyacentes a la epidermis completan su lignificación tanto en la parte media y basal del pecíolo (Fig. 15h); sin embargo, en el raquis estas células apenas han iniciado el depósito de la pared secundaria y la lignina. Con respecto a las células de la BC y la endodermis son similares a lo descrito para frondas de cuatro a ocho pares de pinnas desarrolladas. En la parte basal del pecíolo, las células son más largas que anchas hacia el centro del cordón vascular. El número de cordones vasculares en la base del pecíolo es de cinco (Fig. 15i), porque uno de los circulares se fusiona con el contiguo de mayor tamaño y hacia la parte superior tiene cuatro cordones. En esta etapa de desarrollo, todos los elementos traqueales tienen las paredes lignificadas.

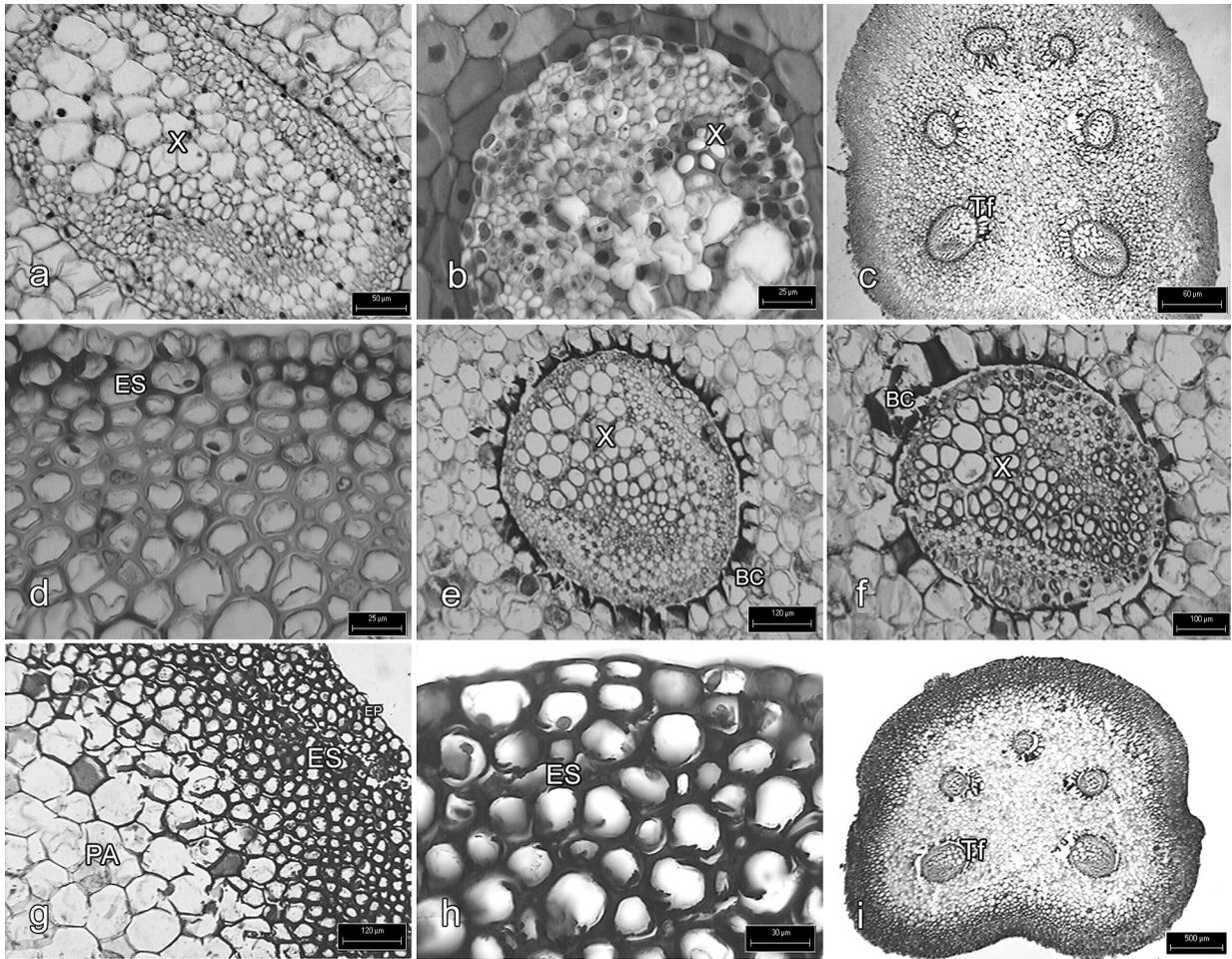


Figura 15. Descripción del tejido en diferentes estadios del desarrollo del pecíolo de *Ctenitis melanosticta*. **a-c** Prefoliación. **a**. Elementos traqueales con pared primaria delgada en cayados de 2.5 cm. **b**. Xilema con pared secundaria en el extremo superior de la traza en cayados de 6.5 cm. **c**. Número y arreglo de los cordones vasculares en la traza foliar en la base del pecíolo de cayados de 11.5 cm. **d-f**. Fronda de cuatro a ocho pares de pinnas desarrolladas. **d**. Acumulación de lignina en las células subyacentes a la epidermis, en la parte media y basal del pecíolo. **e**. BC en la parte superior del pecíolo. **f**. BC en la parte basal del pecíolo y elementos traqueales con pared secundaria, **g-i** fronda totalmente expandida. **g**. Epidermis, esclerénquima y parenquima. **h**. Esclerénquima con pared secundaria y lignina en la base del pecíolo. **i**. Número de cordones vasculares en la traza foliar en la base del pecíolo. Escala: a = 50  $\mu$ m, b, d = 25  $\mu$ m, c = 60  $\mu$ m, e, g = 120  $\mu$ m, f = 100, h = 30  $\mu$ m, i = 500  $\mu$ m. BC = banda circunendodermal, Flecha = epidermis, ES = esclerénquima, PA = parénquima, Tf = traza foliar, X = xilema.

**Anatomía de lámina.** El desarrollo de la lámina desde la prefoliación hasta la expansión total de la fronda es acrópeto y el patrón se repite desde la base al ápice de la lámina, sin importar el desarrollo de ésta. Solamente se mencionan los cambios observados en la lámina desde prefoliación a fronda totalmente expandida.

En etapas tempranas de diferenciación las células de la epidermis en ambos lados de la lámina son más largas que anchas, todas con núcleo evidente y citoplasma denso y hacia el extremo distal de la lámina se observó la célula apical (Fig. 16a, b). El mesofilo está constituido por 1 a 2 hileras de células de forma irregular, en el centro de la lámina hay células en división mitótica evidente y con núcleos grandes que forman el procambium y que dará origen al tejido vascular (Fig. 16a). En la superficie adaxial hay un mayor número de divisiones anticlinales, que provocan que la lámina comience a arquearse, y el número de hileras de mesofilo se duplica, iniciándose la diferenciación del tejido vascular (Fig. 16c). Son varios los estratos de células en la fase de división activa, observándose principalmente divisiones periclinales. La vena media empieza a diferenciarse y se observan pocos elementos traqueales con pared lignificada y el resto de las células con núcleos están en fase de diferenciación (Fig. 16c, d).

En la lámina más desarrollada, las células de la epidermis son de forma redonda con abundantes tricomas en ambas superficies (Fig. 16e); en la vena media, el xilema y el floema están diferenciados y las células de parénquima que rodean la vena media son de forma irregular, las cuales darán origen a la banda circunendodermal y las células en división mitótica más pequeñas, con núcleo, darán origen a la endodermis y al periciclo (Fig. 16d, f).

La diferenciación del tejido vascular se inicia a lo largo de la lámina (Fig. 17a, b). Asociada a la diferenciación de las venas, la lámina se expande, no se aprecian divisiones mitóticas y las células que conforman el mesofilo tienen forma irregular con paredes delgadas. La endodermis que rodea la vena media aun no presenta la banda de Caspari, mientras que en las venas secundarias aun no se ha diferenciado la endodermis.

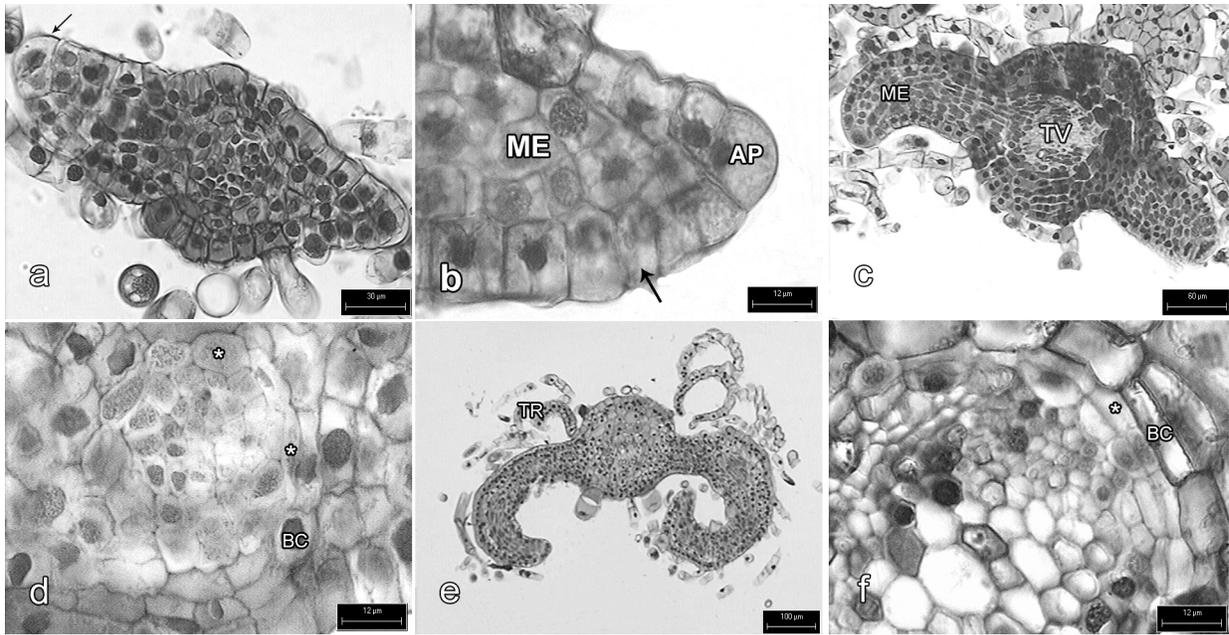


Figura 16. Descripción del tejido de lámina foliar de *Ctenitis melanosticta*. **a.** Epidermis. **b.** Epidermis, célula apical y mesofilo. **c.** Tejido vascular y mesófilo en lámina arqueada. **d.** Forma de las células de la endodermis en división mitótica y células de la BC. **e.** Lámina más desarrollada con tricomas. **f.** Células que dan origen a la BC y endodermis. Escala: a, d = 30  $\mu\text{m}$ , b, f = 12  $\mu\text{m}$ , c = 60  $\mu\text{m}$ , e = 100  $\mu\text{m}$ . \*=endodermis, BC = banda circunendodermal, AP = célula apical, Flecha = epidermis, ME = mesofilo, TR = tricoma, TV = tejido vascular, X = xilema.

Cuando la lámina alcanza su expansión, las células de la epidermis en la cara abaxial son pequeñas y con cutícula delgada y en la cara adaxial son de mayor tamaño y la cutícula más gruesa (Fig. 17c). En la vena media, la endodermis ya tiene la banda de Caspari y el periciclo está diferenciado (Fig. 17d). En la fronda fértil, se encuentran de 1 a 2 hileras de fibras en el lado adaxial subyacente a la epidermis de la vena media. La BC está completamente diferenciada con los engrosamientos en forma de casquete en sus células, muy similar a lo observado en pecíolo y raquis, pero todas sus células tienen tamaño similar (Fig. 17e, f).

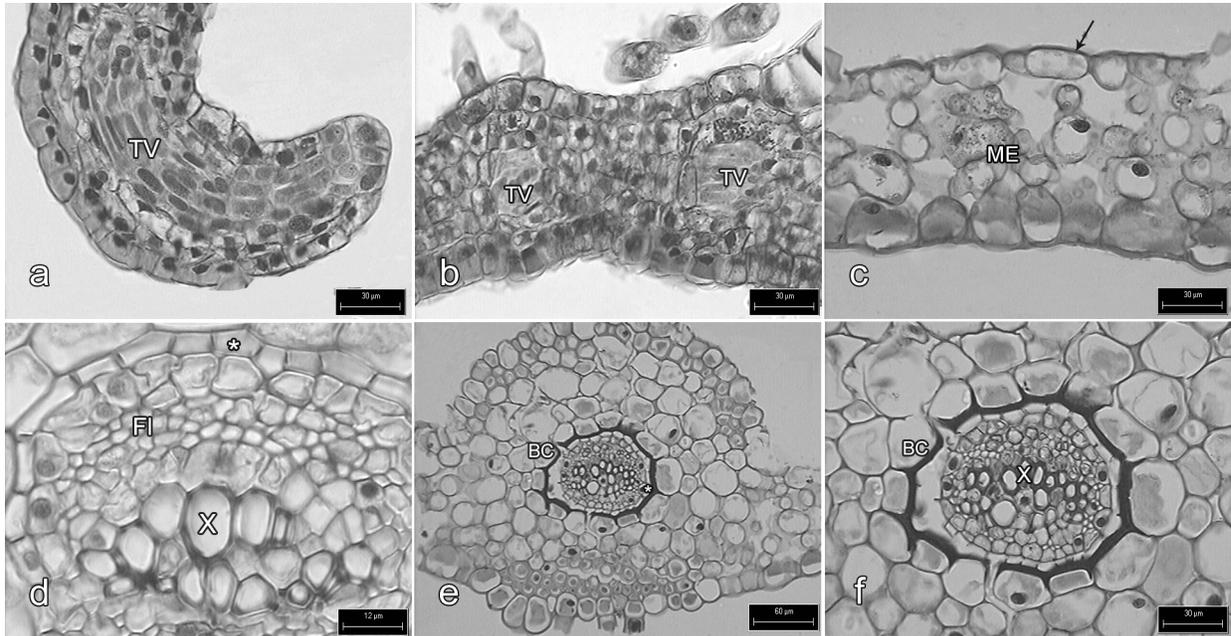


Figura 17. Diferentes etapas del desarrollo de la lámina foliar de *Ctenitis melanosticta* .

**a, b.** Diferenciación del tejido vascular a lo largo de la lámina. **c.** Mesofilo y célula de la epidermis. **d.** Vena media con endodermis con banda de Caspari, floema y xilema. **e.** Banda circunendodermal. **f.** Acercamiento de las células de la BC y xilema. Escala: a, b, c, f = 30μm, d = 12μm, e = 60μm. \*=endodermis, b= banda circunendodermal, Flecha = epidermis, Fl= floema, ME = mesofilo, TV = tejido vascular, X=xilema.

*Diplazium expansum*

**Morfología.** La prefoliación en *D. expansum* es circinada y su tamaño fue de 1 a 44 cm de alto (Fig. 13d). A los 57 cm se desarrolló el primer par de pinnas basales, a los 66 cm presentaron cinco pares de pinnas y entre los 107 y 163.5 cm, la fronda se expande totalmente con un número de entre 8 y 14 pares de pinnas.

**Anatomía del pecíolo.** Se establecieron cuatro categorías de la fronda: prefoliación, fronda con un par de pinnas desarrolladas, fronda con cinco pares de pinnas desarrolladas y fronda totalmente expandida. *Diplazium expansum* presentó frondas de mayor tamaño y se observaron diferencias en el tejido fundamental y vascular para ser comparadas con *C. melanosticta* (Fig. 13e, f; Cuadro 3).

Cuadro 3. Talla de los individuos y fenología de la fronda de los individuos de *Diplazium expansum* recolectados de prefoliación a fronda expandida.

Número-individuo	Tamaño (cm)	Número de pares de pinnas	Categoría de la fronda
D5	1	Cerrado	Prefoliación
D6	5	Cerrado	Prefoliación
D1	14	Cerrado	Prefoliación
D3	44	Cerrado	Prefoliación
D7	57	1 abierta	1 par de pinnas desarrolladas
D2	64	1 abierta	1 par de pinnas desarrolladas
D8	66	5 abiertas	5 pares de pinnas desarrolladas
D4	107	8 todo abierto	Totalmente expandida, estéril
D13	150	14 todo abierto	Totalmente expandida, estéril
D14	163.5	14 todo abierto	Totalmente expandida, estéril

*Prefoliación.* La epidermis es simple con células de forma de irregular a rectangular, algunas con divisiones anticlinales, con núcleo y citoplasma denso. En el tejido fundamental las células del parénquima son isodiamétricas, pero difieren en tamaño. En la parte externa subyacente a la epidermis las células son pequeñas, con núcleo, citoplasma denso y sin espacios intercelulares entre ellas, y forman hasta 12 estratos de células; hacia la parte interna cerca de la traza foliar las células de parénquima son de mayor tamaño, con pocos núcleos, citoplasma denso y espacios intercelulares entre las células y el número de estratos es de 12 (Fig. 18a). En las caras laterales del pecíolo cerca de la terminación dorsal del cordón vascular se reconoce la modificación que corresponde al aeróforo.

El aeróforo es un tejido de aireación formado por células de parénquima, pero más pequeñas que las otras del tejido fundamental. Este tejido se distingue porque además de las células pequeñas todas tienen un núcleo evidente, el citoplasma denso y espacios intercelulares escasos. Los aeróforos se extienden desde la epidermis al parénquima y son escasos (Fig. 18b).

En el parénquima entre los cordones vasculares de la traza foliar, las células también son de forma isodiamétrica y algunas presentan paredes ligeramente onduladas, con citoplasma denso y a veces colapsado (Fig. 18c). En cayados de 1 a 14 cm, los estratos más internos del tejido fundamental adyacente al tejido vascular son de forma semejante al parénquima, pero de menor tamaño, con núcleo y citoplasma denso. Algunas de estas células tienen divisiones periclinales, y las células que darán origen a la endodermis son de forma rectangular con divisiones anticlinales, sin banda de Caspari; las células que constituirán el periciclo son semejantes a las células que darán origen a la endodermis (Fig. 18d). En el tejido vascular, la traza foliar está formada por dos cordones vasculares, con el arreglo de xilema en forma de hipocampo y las terminaciones arqueadas (Fig. 18c).

En cayados de 44 cm, las células de la banda circunendodermal en la base y parte media del pecíolo tienen engrosamientos en las paredes anticlinales, que algunas veces se extienden a la pared periclinal abarcando dos hileras de células, y se aprecian taninos en la vacuola. La endodermis completa su diferenciación en la base

del pecíolo, pero en la parte media del pecíolo hasta el raquis, las células de la endodermis tienen forma rectangular sin banda de Caspari (Fig. 18e). Los dos cordones vasculares se fusionan en uno hacia la parte superior del pecíolo y raquis (Fig. 18f). Las células de floema son difíciles de distinguir por su tamaño y paredes delgadas. En el xilema la mayoría de los elementos traqueales no han completado su diferenciación y son pocos los que tienen pared secundaria lignificada; y además entre el floema y el xilema se presenta parénquima (Fig. 19a).

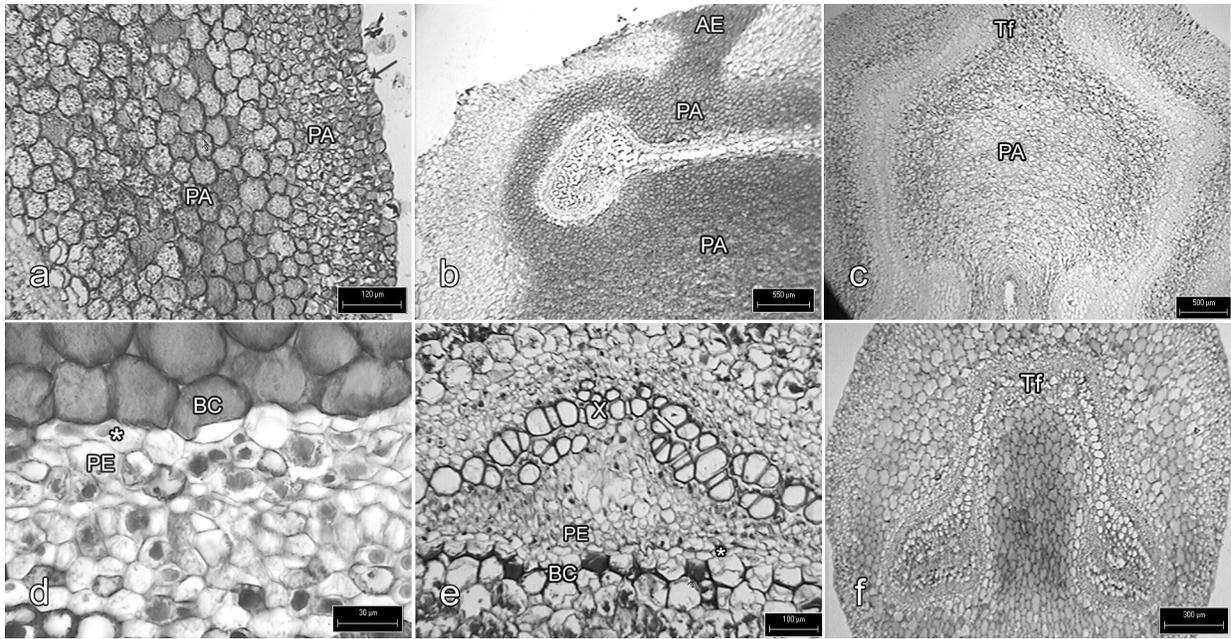


Figura 18. Descripción del tejido de la prefoliación de *Diplazium expansum*. **a.** Epidermis y parénquima en la base del pecíolo. **b.** Aeróforo y parénquima en la base del pecíolo. **c.** Número de cordones vasculares en la traza foliar y parénquima entre estas de la parte media del pecíolo. **d.** BC, endodermis y periciclo. **e.** Engrosamiento de la pared de la BC, periciclo y xilema. **f.** Una traza foliar en la parte superior del pecíolo. Escala: a = 120  $\mu\text{m}$ , b = 550  $\mu\text{m}$ , c = 500  $\mu\text{m}$ , d, f = 30  $\mu\text{m}$ , e = 100  $\mu\text{m}$ . \*= endodermis, AE = aeróforo, BC = banda circunendodermal, Flecha = epidermis, PA = parénquima, PE = periciclo, Tf = traza foliar, X = xilema.

*Fronda con un par de pinnas desarrolladas.* No se observa ningún cambio en las células de la epidermis en comparación con la prefoliación. La diferenciación del tejido fundamental se acentúa en la base del pecíolo. Subyacente a la epidermis hay de 1 a 3 estratos de células de parénquima de forma isodiamétrica, paredes delgadas con pocos núcleos y citoplasma poco denso. Enseguida de estas células se encuentran de 2 a 6 estratos de células también de forma isodiamétrica, en cuyas paredes se inicia el depósito de la pared secundaria y de la lignina en la lámina media; además dichas células tienen núcleo poco evidente y citoplasma poco denso (Fig. 19b).

A lo largo del pecíolo y raquis, el parénquima es igual a lo observado en la prefoliación. Los ároforos son diferentes porque sus células son de forma irregular, con citoplasma denso, muy parecidas al parénquima que se encuentra entre los cordones vasculares en prefoliación (Fig. 19c). Las características de la BC y el tejido vascular son semejantes a las observaciones de cayados de 44 cm de altura. La endodermis es igual a la prefoliación. El tejido vascular es similar a los cayados de 44 cm. El periciclo presenta dos estratos de células, sin núcleo aparente y citoplasma poco denso. En la parte basal del pecíolo, las células del xilema han completado su diferenciación y todas tienen pared secundaria. Además se diferencian canales de mucílago en los cordones vasculares (Fig. 19d).

*Fronda con cinco pares de pinnas desarrolladas.* En esta etapa de desarrollo, las características de la epidermis en la parte superior del pecíolo y raquis son similares a las presentes en la prefoliación, mientras que en la base y parte media del pecíolo son idénticas a las descritas en la fronda con un par de pinnas desarrolladas. También, el tejido fundamental es similar a la fronda con un par de pinnas desarrolladas, pero difiere en el número de células; por ejemplo, se incrementó el número de estratos de células de parénquima y sus paredes continúan incrementando el grosor de la pared secundaria y hay mayor depósito de lignina, mientras los núcleos son poco conspicuos o ausentes y el citoplasma no denso. Las células de parénquima ubicadas entre los cordones vasculares no presentan ningún cambio y son similares a lo descrito para la fronda con un par de pinnas desarrolladas. La BC aun no se diferencia en el raquis y a lo largo del pecíolo es similar a lo mencionado para la

prefoliación de 44 cm de altura. Mientras la endodermis ha completado su desarrollo con células de forma rectangular y la banda de Caspari. El tejido vascular es similar a lo descrito en la fronda con un par de pinnas desarrolladas.

*Fronda totalmente expandida.* Las únicas diferencias observadas durante esta etapa de desarrollo estuvieron en el tejido fundamental. Sus células subyacentes a la epidermis presentan de 2 a 3 estratos en la parte basal y media del pecíolo, en la parte superior del pecíolo sólo un estrato de células y son ausentes hacia el raquis. Las células de esclerenquima han completado su diferenciación a lo largo del pecíolo con 8 ó 9 estratos celulares, mientras en el raquis dichas células presentan exclusivamente pared primaria con siete estratos de células (Fig. 19e, f). Las características de la BC, endodermis y la traza foliar no presentan ningún cambio en comparación a la fronda con 5 pares de pinnas.

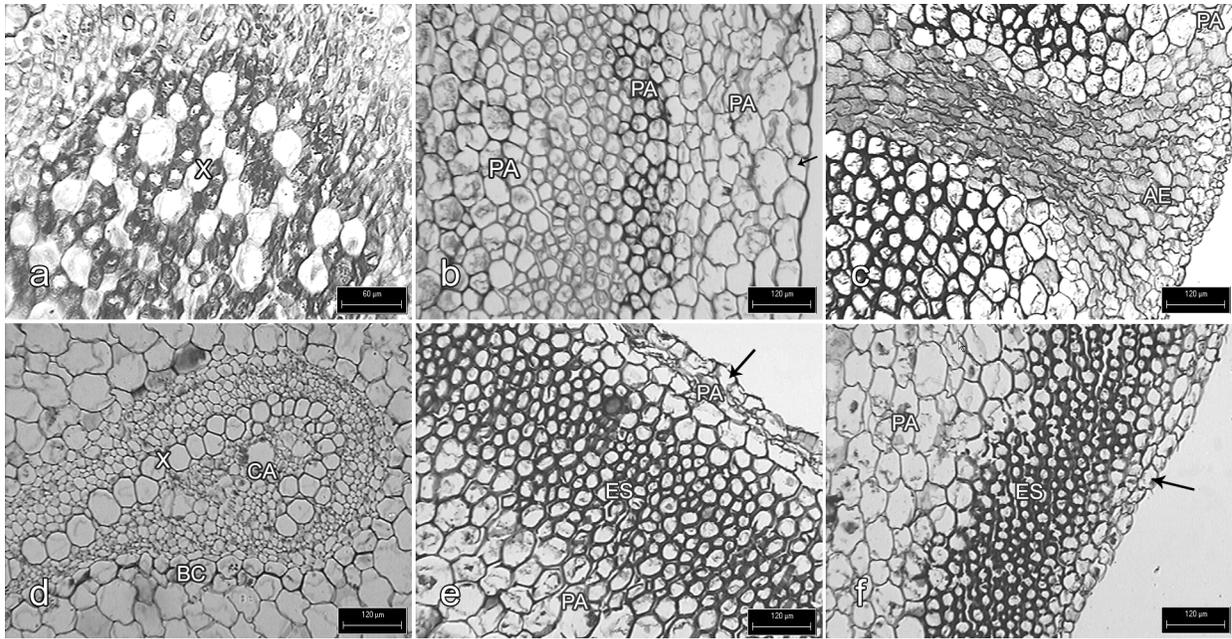


Figura 19. Diferentes etapas del desarrollo del pecíolo de *Diplazium expansum*. **a.** Xilema no diferenciado en prefoliación. **b-d.** Fronda con un par de pinnas desarrolladas. **b.** Epidermis y parénquima en la base del pecíolo. **c.** Parénquima y aeróforo. **d.** BC, xilema y canal de mucílago. **e-f.** Fronda totalmente expandida. **e.** Epidermis, parénquima y número de estratos de esclerénquima en la base del pecíolo. **f.** Epidermis, parénquima y número de estratos de esclerénquima en el raquis. Escala: a = 60  $\mu\text{m}$ , b, c, d, e, f = 120  $\mu\text{m}$ . AE = aeróforo, BC = banda circunendodermal, CA = canal de mucílago, ES = esclerénquima, Flecha = epidermis, PA = parénquima, X= xilema.

**Anatomía de la lámina.** El crecimiento y diferenciación de la lámina es acrópeto y se repite el patrón desde la base hacia al ápice de la lámina. En etapas tempranas del desarrollo de la lámina, las células de la epidermis en ambas superficies son más largas que anchas y con núcleos evidentes y, hacia el extremo distal de la lámina se encuentra la célula inicial (Fig. 20a). El mesofilo inicia su diferenciación con dos estratos celulares.

En el centro de la lámina se observaron abundantes células en división mitótica distintivas por su coloración y tamaño, que formarán el procambium y darán origen al tejido vascular de la vena media. Una vez que el número de estratos de células de mesofilo aumenta de tres a cuatro por divisiones anticlinales y periclinales, entre la vena media y la célula apical, las células de cada extremo de la lámina inician nuevas divisiones anticlinales y algunas de ellas darán origen a las venas secundarias (Fig. 20b). La lámina se arquea hacia el lado adaxial debido a un mayor número de divisiones con relación al lado abaxial (Fig. 20c).

Una vez que el tejido vascular de la vena media se ha diferenciado, los primeros elementos traqueales y las células del parénquima del lado abaxial reinician las divisiones mitóticas, desarrollándose dos extensiones con epidermis más parénquima, que en la madurez se denominan como "alas" (Fig. 20c, d). En esta etapa de desarrollo algunos elementos traqueales ya tienen pared secundaria y el floema está diferenciado, pero en la endodermis aún no se diferencia la banda de Caspari. Cuando la lámina termina de expandirse, las células de la epidermis son de forma redonda; el mesofilo únicamente tiene parénquima esponjoso; el tejido vascular ha completado la diferenciación del xilema y floema y la endodermis presenta banda de Caspari; mientras que la banda circunendodermal no se diferencia alrededor de la vena media, y subyacente a la epidermis hay dos estratos de colénquima en el lado abaxial de la lámina (Fig. 20e, f).

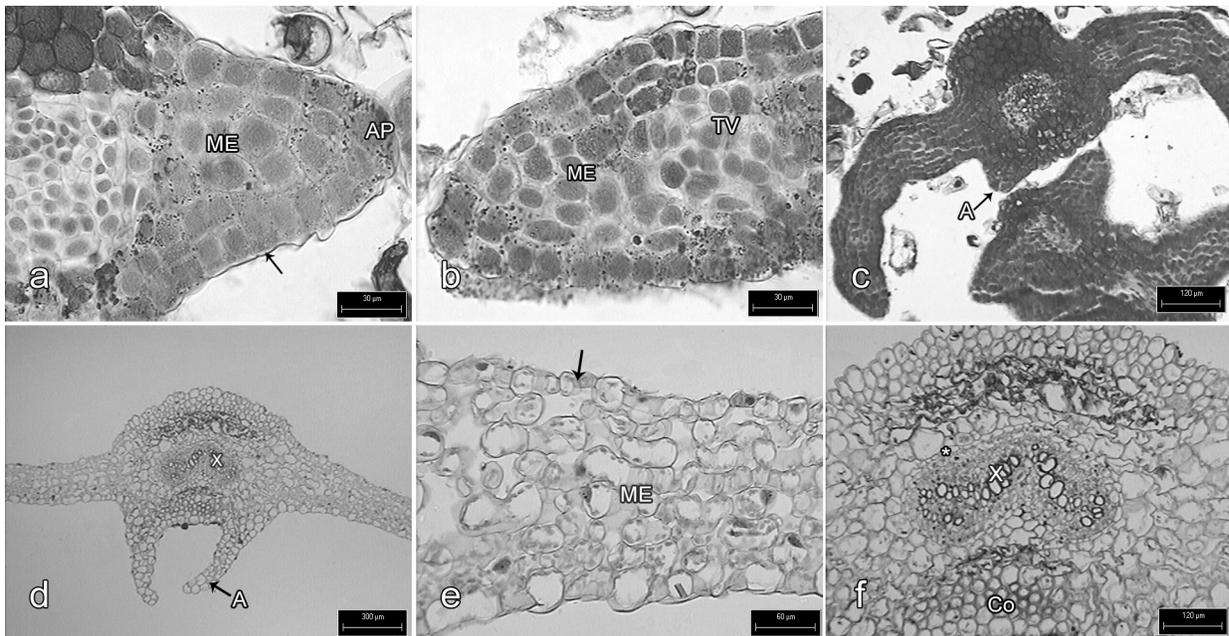


Figura 20. Diferentes estados de desarrollo de la lámina foliar de *Diplazium expansum*.  
**a.** Célula apical y mesofilo. **b.** Tejido vascular y mesofilo. **c.** Lámina arqueada y ala. **d.** Vena media, xilema y ala. **e.** Corte transversal de la lámina, epidermis y mesofilo. **f.** Endodermis, xilema y colénquima. Escala: a, b = 30  $\mu\text{m}$ , c, f = 120  $\mu\text{m}$ , d = 300  $\mu\text{m}$ , e = 60  $\mu\text{m}$ . \* = endodermis, A = ala, AP = célula apical, Co = colénquima, ME = mesofilo, TV = tejido vascular, X = xilema.

## Discusión

La banda circunendodermal (BC) aparece en la prefoliación a unos cuantos centímetros en la base del pecíolo. En *Ctenitis melanosticta* se presentó en cayados de 2.5 cm y en *Diplazium expansum* a la altura de 44 cm. Además la diferenciación fue acrópeta en ambas especies con BC continua y discontinua respectivamente.

En ambas especies el origen de las células de la BC fue a partir de las células internas del tejido fundamental. Dichas células presentaron divisiones mitóticas y se reconocieron por sus núcleos grandes y citoplasma denso y oscuro. Al madurar sus células fueron similares a las células adyacentes de parénquima. Chapple y Peterson (1987) registran en la raíz de *Platyserium bifurcatum* un desarrollo similar a esta capa de células, en la parte adyacente a la endodermis, pero la llaman “idioblasto cortical” y consideran que su origen es cortical. Estas células corresponden al tejido fundamental y en este trabajo se denominan “tejido fundamental” porque se ubicaron en el pecíolo y emplear el término “córTEX” o “cortical” crearía problemas de homología con el tallo o la raíz (Schmid, 1982).

La misma célula que dió origen a la BC se dividió varias veces de forma centripeta. La célula que dió origen a la endodermis presentó forma rectangular con divisiones mitóticas periclinales, las cuales constituyeron el periciclo. Por un tiempo, las células derivadas tuvieron la misma forma y contenido celular; posteriormente, se diferenciaron en la endodermis y las células del periciclo. Estas observaciones coinciden con los registros de Chang (1927) en tejido joven de rizoma, donde la endodermis y periciclo también surgen de una célula madre. Los resultados aquí presentados indican que la endodermis tiene un origen similar en el pecíolo y la lámina donde se diferencian de células del tejido fundamental, por ello sería importante verificar el origen en el rizoma y raíz de estas especies.

La ontogenia del pecíolo y la lámina en ambas especies fue similar, la diferenciación del tejido vascular fue acrópeta y la maduración del xilema inició tempranamente, en la prefoliación. Un comportamiento similar tuvo la maduración registrada en el género *Tectaria*, donde el tejido vascular surge a 320-340  $\mu\text{m}$  abajo de

la célula apical en la lámina (White, 1970) y en *Athyrium macra* hay protoxilema a 40-60  $\mu\text{m}$  y es maduro a los 50-70  $\mu\text{m}$  (Lucansky y White, 1969).

Las células de la epidermis fueron más largas que anchas en ambas especies en la prefoliación y se diferenciaron en la fronda de 1 a 4 pares de pinnas. El tejido fundamental en *C. melanosticta* estuvo formado por células de parénquima y esclerénquima, las primeras células alcanzaron su diferenciación en cayados de 8.5 y 11.5 cm y el esclerénquima completó la lignificación de sus células en la hoja totalmente expandida. En *D. expansum* las células del parénquima fueron de igual forma en la prefoliación, pero de diferente tamaño. En la fronda totalmente expandida de *D. expansum*, la distribución del tejido fundamental fue diferente por presentar de 1 a 3 estratos de células de parénquima y después 8 a 9 estratos de esclerénquima y células de parénquima adyacente al esclerénquima y entre los dos cordones vasculares de la traza foliar. Dicha distribución es diferente a lo observado en otros géneros como *Ctenitis*, *Dryopteris* (Hernández et al., 2006), *Polypodium* (Tejero, 2005) y *Tectaria* (Velásquez, 1983) con la traza foliar con más de tres cordones vasculares, donde el tejido fundamental está constituido sólo por esclerénquima adyacente a la epidermis y parénquima entre esclerénquima y los cordones vasculares.

Otras diferencias anatómicas en el pecíolo de *Diplazium expansum*, fueron la presencia de aeróforos, los canales de mucílago y las alas. Los aeróforos han sido descritos en especies de *Polybotrya* (Moran, 1987), *Nephrolepis* (Sen y Sen, 1973), *Plagiogyria* (Zhang y Nootboom, 1998) y *Thelypteris* (Hennipman, 1968). Varios autores consideran que su función es el intercambio de gas entre el esclerénquima y parénquima interno en el pecíolo y raquis (Hennipman, 1968; Zhang y Nootboom, 1998).

*Diplazium expansum* también presentó canales de mucílago asociados al xilema de los cordones vasculares. Canales semejantes se han registrado en cuatro especies de *Diplazium* en el pecíolo, raquis y costa de la lámina (Pacheco et al., 2003), en el tejido fundamental de *Callipteris* (Pacheco y Moran, 1999) y en el mesofilo de la lámina de Marattiaceae (Velasco, 1971; Rolleri et al., 2003) y *Lycopodium* (Chih-Yu,

1974). La lámina de *D. expansum* tiene dos alas en la cara adaxial y carece de BC alrededor de la vena media. Se mencionan estos caracteres anatómicos porque anteriormente no se habían registrado para la especie.

Con respecto a la morfología de la prefoliación, los helechos estudiados se caracterizaron por presentar vernación circinada en *Diplazium expansum* y en forma de bastón, es decir con el ápice doblado en *Ctenitis melanosticta*. En *Danaea wendlandii* se presenta la forma circinada en posición vertical en las hojas trofófilas y horizontal en las esporofilas (Sharpe y Jernstedt, 1990). Al parecer en *Ctenitis melanosticta*, la forma de prefoliación presenta desventajas. De acuerdo con Hernández-Rojas (2006) los cayados de esta especie mueren antes de alcanzar un tamaño de 25 cm; el daño se inicia en el ápice y quizás sea por hongos o el exceso de humedad en el hábitat. Un cambio en el ángulo de inclinación de la fronda también podría aumentar las probabilidades de muerte (Hernandez-Hernández, en revisión).

En conclusión, la BC surge en la fase de la prefoliación, cuando la fronda tiene unos cuantos centímetros en *Ctenitis melanosticta* a los 2.5 cm y en *Diplazium expansum* a los 44 cm de altura. El origen de la banda circunendodermal fue de las células más internas del tejido fundamental, adyacentes a la endodermis; por ello se da el nombre de "banda circunendodermal". En ambas especies, la continuidad o no de la BC se marcó desde las primeras divisiones periclinales que distinguen a las células que se diferencian en ella y parece ser un atributo fijado genéticamente. Con referencia a la endodermis, su posible actividad meristemática en sentido centrifugo y centrípeto aún debe confirmarse en el pecíolo. La diferenciación de los tejidos en el pecíolo y la lámina fue acrópeto. Las diferencias anatómicas que distinguen a *Diplazium expansum* son la distribución de la traza foliar y la presencia de aeróforos, canales de mucílago y alas.

#### IV. ¿SE MODIFICA LA BANDA CIRCUNENDODERMAL EN HELECHOS LEPTOSPORANGIADOS CON EL CAMBIO DE INCLINACIÓN DE LA FRONDA?

##### **Resumen**

En este trabajo se estudió la banda circunendodermal del pecíolo en relación al cambio del ángulo de inclinación de la fronda en tres condiciones: control (40°, 35°), recta (0°) e inclinada (10°, 20°) en *Ctenitis melanosticta* y *Diplazium expansum* con los objetivos de mostrar si al modificar la inclinación de la fronda la banda circunendodermal incrementa su continuidad, el número de estratos que la constituyen y la acumulación de lignina en los engrosamientos de la pared. Además, se compararon la morfología y la anatomía de las especies para los individuos creciendo en las tres condiciones. Los resultados mostraron que la banda circunendodermal no cambió en su continuidad, ni en el engrosamiento de su pared celular y su contenido, pero si en el tamaño de las células de la BC en las frondas inclinadas de *C. melanosticta*. Las diferencias anatómicas y morfológicas como respuesta al cambio de inclinación de la fronda fueron el número de estratos de las células de esclerénquima, el colapso y lisis celular del parénquima del tejido fundamental y el cambio en la configuración y proporción del xilema en la traza foliar. La mayor acumulación de lignina en las células de esclerénquima y el cambio del área de elementos traqueales se interpretan como una respuesta biomecánica de las frondas al cambio de su inclinación. La respuesta provocada por la modificación en la inclinación de la fronda difiere entre especies, siendo más marcada en *C. melanosticta* con banda circunendodermal continua en comparación con *D. expansum* con banda circunendodermal discontinua.

##### **Abstract**

In this study the effect of the frond angle change in the circunendodermal band of petiole was studied. Plants of *Ctenitis melanosticta* and *Diplazium expansum* growing in their natural habitat were evaluated under three conditions: control (35°, 40°), straight (0°) and tilted (10°, 20°). These conditions were maintained with the help of a support

until plants reached the reproductive maturity, and their morphology and anatomy evaluated. Results proved no change in the circunendodermal band continuity, wall thickness and contents; but a change in cell size in the circunendodermal band occurred in tilted plants of *C. melanosticta*. Anatomical and morphological differences found with the change in frond angle were the number of sclerenchyma layers, the collapse or lysis of parenchyma cells, and the change in xylem configuration and proportion in the leaf trace. The higher deposition of lignin in the sclerenchyma cells as well as the change of tracheary elements area was interpreted as biomechanical response. Moreover the effect caused by the modifications in the frond angle different between the species, in *C. melanosticta* with a continuous circunendodermal band were stronger than in *D. expansum* with a discontinuous band.

## **Introducción**

La banda circunendodermal (BC) surge como una novedad evolutiva en las especies de los helechos derivados (Hernández-Hernández et al., en revisión). En los miembros de los géneros más avanzados, la BC está presente y es continua en taxones como *Blechnum*, *Ctenitis*, *Dryopteris*, *Elaphoglossum*, *Nephrolepis*, *Tectaria* y *Polypodium*; pero es discontinua en *Pleopeltis crassinervata* de la familia Polypodiaceae. Sin embargo, cuando hay dos cordones vasculares en la traza foliar dentro de este grupo, las especies de los géneros *Cystopteris*, *Diplazium* y *Thelypteris* se caracterizan por tener la BC discontinua (Hernández-Hernández et al., en revisión). La BC se diferencia de tejido fundamental durante la prefoliación en la base del pecíolo de las especies *Ctenitis melanosticta* y *Diplazium expansum* (Hernández-Hernández, en revisión). La BC está constituida por 1 ó 2 estratos de células adyacentes a la endodermis en la parte externa; la forma continua (*C. melanosticta*) se presenta principalmente en la base del pecíolo y hacia el centro de los cordones vasculares de la traza foliar, mientras la BC discontinua (*D. expansum*) en cualquier parte de los cordones vasculares de la traza foliar. La banda circunendodermal se ha observado en un mayor número de especies con hojas simples y pinnadas y de hábito epífita, hemiepífita y epipétrico (Hernández-Hernández et al., en revisión). Estos autores

interpretan la correlación positiva entre la presencia de la BC y el hábito como evidencia de una función biomecánica, donde la BC le da flexibilidad a la fronda y también protege al tejido vascular.

Sin embargo, no se ha realizado ningún experimento que demuestre la correlación biomecánica entre la banda circunendodermal y el hábito, y una relación causal entre la BC con la inclinación o arquitectura de la fronda. Por ello, se postula que al cambiar el ángulo de inclinación de la fronda, la BC incrementará el número de estratos de células, aumentará el espesor de sus paredes celulares, y acumulará lignina en sus paredes celulares y espacios intercelulares, como una respuesta de las especies a recobrar su inclinación. Estos cambios en la BC corresponderán al tejido de reacción registrado en gimnospermas y angiospermas como una respuesta de las especies a recuperar su vertical o el ángulo de inclinación en sus ramas (Scurfield, 1973; Fisher y Stevenson 1981; Tomlinson, 2001). Para evaluar esta hipótesis, se modificó el ángulo de inclinación del pecíolo en dos especies de helechos, una con BC continua y otra con BC discontinua y se evaluó y comparó su morfología y anatomía.

### **Material y método**

En el Parque Francisco Javier Clavijero, municipio de Xalapa, Veracruz, México se seleccionaron dos especies de helechos leptosporangiados que presentaran la banda circunendodermal y fueran abundantes. Aunque la BC es más frecuente en especies de hábito epifito, se seleccionaron dos especies terrestres con alta producción de hojas y que se encontraron sobre un terreno plano, *Ctenitis melanosticta* (Kunze) Copeland y *Diplazium expansum* Willdenow, para facilitar el acceso y manejo de sus frondas.

Se marcaron 15 individuos por especie, todos ellos con frondas en estado de prefoliación o inmaduras, cinco como control (testigos), y diez para modificar el ángulo de inclinación de su fronda con ayuda de un tutor. Este tutor de madera permitió mantener un ángulo de 0° entre frondas (plantas rectas) y otro de 10 ° ó 20° entre frondas (plantas inclinadas) desde la prefoliación hasta la maduración de la fronda (Fig. 21). Cada ángulo de inclinación se consideró como tratamiento (Fig. 22c,

d, g, h). La prefoliación de *C. melanosticta* presenta forma de bastón (Fig. 22a), mientras en *D. expansum* la fronda en desarrollo es circinada (Fig. 22e). Dicha diferencia no permitió manejar el experimento en ambas especies de forma similar. En *C. melanosticta*, al modificar el ángulo de inclinación en la prefoliación, el ápice se pudrió; por esta razón se tuvieron que seleccionar otros individuos donde la fronda ya estaba completamente expandida pero no madura, evitando de esta forma la muerte de las frondas. En cambio, en *D. expansum* sí se pudo manejar la fronda desde cayado o con el primer par de pinnas basales expandidas, sin afectar las frondas.

Una vez que la fronda alcanzó la expansión total o madurez vegetativa, se recolectaron tres frondas por condición para describir y comparar la anatomía de la fronda. El pecíolo se fragmentó en tres partes (basal, media y superior); también se tomaron segmentos del raquis y de la pinna en la parte media de la fronda. Todo el material se fijó en formaldehído - ácido acético glacial - alcohol etílico - agua (10:5:50:35) (Johansen, 1940). Las muestras se deshidrataron en un cambiador automático Leica TP1020 y se incluyeron en parafina. Una vez incluidos en parafina se hicieron cortes transversales con un micrótopo rotatorio a 16-20  $\mu\text{m}$  de grosor, se tiñeron con safranina y verde fijo y montaron en resina sintética Euparal (Johansen, 1940). Se revisaron las laminillas para describir los tejidos dérmico, fundamental y vascular.

Al observar los tejidos se apreciaron diferencias en el número de estratos en las células de esclerénquima y en la proporción y disposición del xilema. Por ello, se contó el número de estratos de esclerénquima en la base del pecíolo y el raquis. Para el xilema se calculó el área de los cordones vasculares de la traza foliar múltiple en las tres posiciones del pecíolo estudiadas y el raquis para ambas especies (Fig. 23), con el programa Image Pro-Plus® versión 3.1 (Media Cybernetics, 1997). Se evaluó la existencia de diferencias significativas del área del xilema entre las tres condiciones, por medio de un análisis de varianza (SAS Institute, 1989). Finalmente se tomaron las fotografías utilizando el programa Image Pro-Plus® versión 3.1, usando una cámara de video Hitachi KP-D51 y un microscopio Olympus BX50.

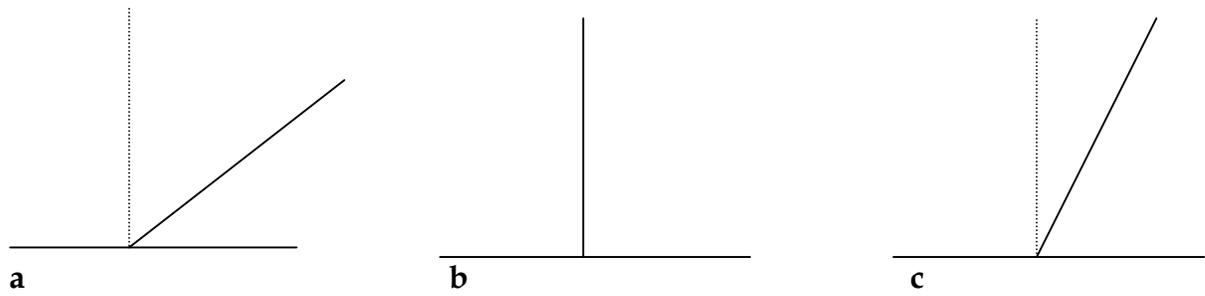


Figura 21. Diagrama que muestra el ángulo. **a.** planta control ( $35^\circ$ ,  $40^\circ$ ), **b.** planta recta ( $0^\circ$ ) y **c.** planta inclinada ( $10^\circ$  ó  $20^\circ$ ).



Figura 22. Características morfológicas de *Ctenitis melanosticta* y *Diplazium expansum*.  
**a-d.** *Ctenitis melanosticta*. **a.** Prefoliación en forma de bastón. **b.** Planta control.  
**c.** Fronda en ángulo de  $0^{\circ}$ . **d.** Fronda en ángulo de  $10^{\circ}$ . **e-h.** *Diplazium expansum*.  
**e.** Prefoliación circinada. **f.** Planta control. **g.** Fronda en ángulo de  $0^{\circ}$ . **h.** Fronda en ángulo de  $20^{\circ}$ .

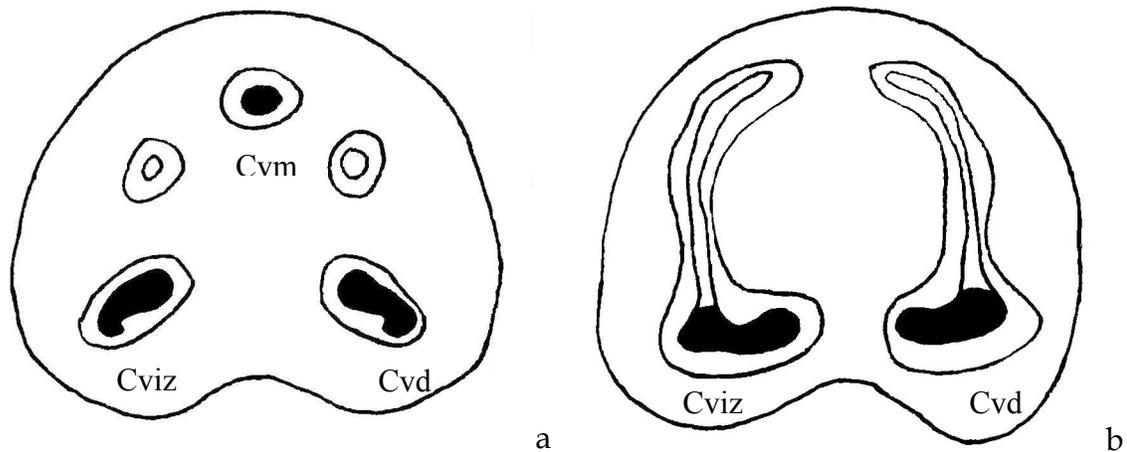


Figura 23. Diagrama de la traza foliar que muestra los cordones vasculares cuantificados. **a.** *Ctenitis melanosticta*, **b.** *Diplazium expansum*, el área del xilema medido está sombreado de negro y se marcaron los cordones vasculares. Cviz = cordón vascular izquierdo, Cvd = cordón vascular derecho y Cvm = cordón vascular medio.

## Resultados

### *Ctenitis melanosticta*

**Morfología.** En *C. melanosticta* los individuos control presentaron de 10 a 14 pares de pinnas y una altura de 63.0 a 108 cm. Los individuos que se desarrollaron con ángulos de 0° (rectas) tuvieron una menor longitud la fronda y el pecíolo (Cuadro 4, Fig. 22b-d); las plantas con ángulo de inclinación de 10° alcanzaron mayor altura que las de fronda recta (Cuadro 4).

**Anatomía.** En las tres condiciones hay semejanzas en algunos tejidos del pecíolo y raquis de *C. melanosticta*. Así se observó una epidermis simple con células cuadradas o rectangulares y la presencia de escamas en la base del pecíolo y hacia el raquis tricomas multicelulares. En el tejido fundamental la disposición del esclerénquima y parénquima (Fig. 24a-c, 25d) fue semejante. En la banda circunendodermal siempre se observó un estrato de células con engrosamientos en la

pared periclinal que se extienden hacia la pared anticlinal en forma de “U”. Los engrosamientos fueron de celulosa y tanto sus paredes como el lumen celular presentaron taninos (Fig. 24d-f). La traza foliar está formada por cinco cordones vasculares en la base del pecíolo (Fig. 23a) y tres en el raquis, donde el periciclo tiene de 1 a 2 hileras de células, algunas células con taninos. El floema se constituye de células pequeñas, los elementos traqueales se arreglan en forma de hipocampo, tienen forma circular y dos diámetros contrastantes. Entre el floema y xilema hay células de parénquima (Fig. 24g-h).

Las diferencias entre el control y los tratamientos fueron varias. En la epidermis, la abundancia de cloroplastos fue mayor en la fronda inclinada que en la fronda control; mientras que en la fronda recta fue lo más escaso.

Cuadro 4. Media y desviación estándar para el tamaño de la fronda y número de pinnas por condición de la fronda en *Ctenitis melanosticta* y *Diplazium expansum*.

Especie	Condición	Número de pares de pinnas	Largo de la fronda (cm)	Largo del pecíolo (cm)
<i>Ctenitis melanosticta</i>	40° Control	11.8 ± 1.78	84.36 ± 18.99	41.46 ± 7.35
	0° (recto)	10.33 ± 0.57	55.33 ± 4.04	27.9 ± 2.47
	10° (inclinado)	12.25 ± 2.06	77.37 ± 15.72	35.37 ± 8.34
<i>Diplazium expansum</i>	35° Control	14.25 ± 0.50	161 ± 7.51	66.75 ± 4.78
	10° (recto)	13.33 ± 0.57	124 ± 40.03	41.1 ± 19.28
	20° (inclinado)	13.8 ± 1.09	131.1 ± 19.27	49.8 ± 8.75

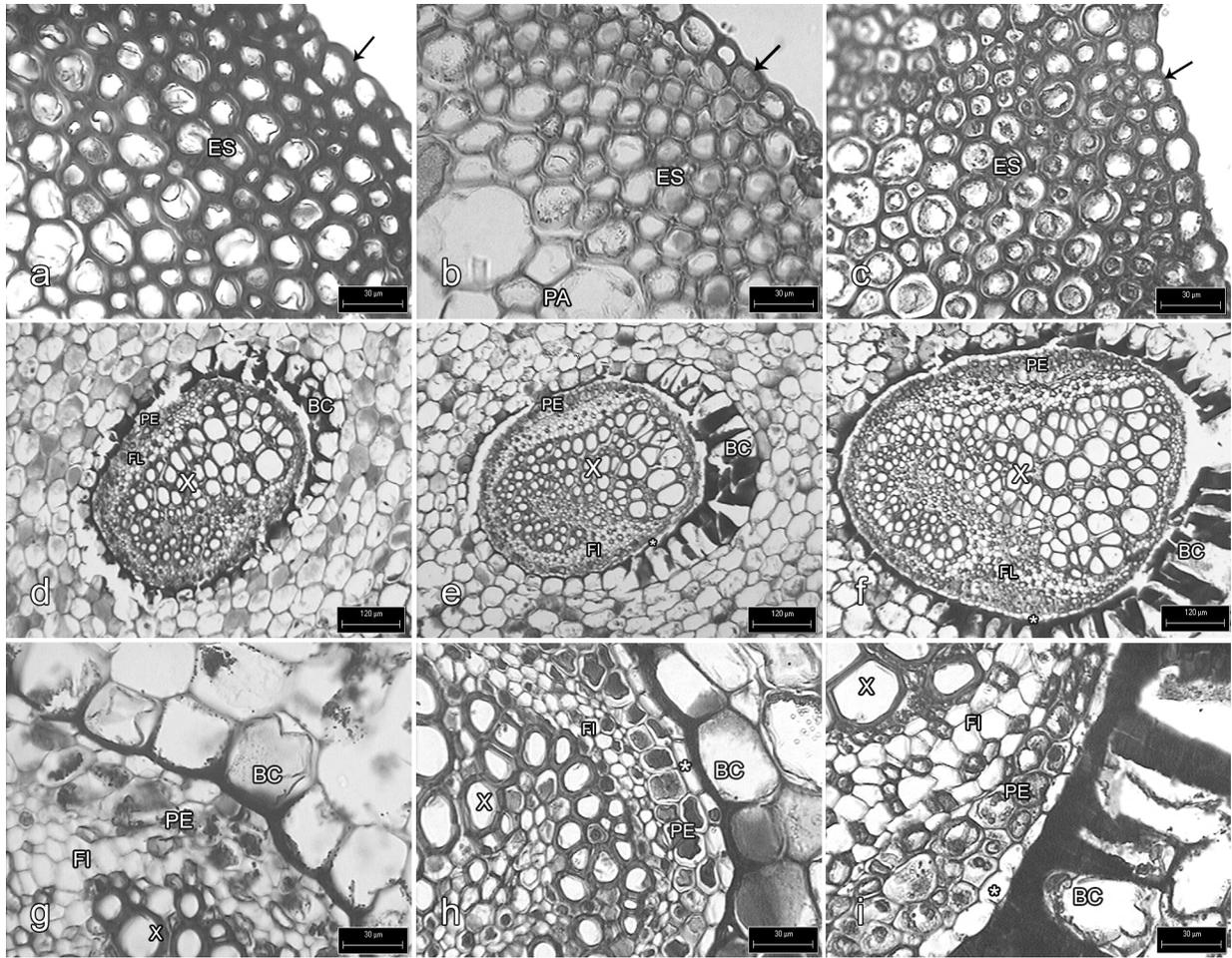


Figura 24. Características anatómicas similares del pecíolo de *Ctenitis melanosticta* creciendo bajo tres condiciones de inclinación de la fronda. **a-c.** Epidermis, esclerenquima y parénquima. **a.** Fronda control. **b.** Fronda recta. **c.** Fronda inclinada. **d-f.** BC en la base del pecíolo, endodermis, periciclo, floema, xilema. **d.** Fronda control. **e.** Recta. **f.** Inclinada. **g-i.** Acercamiento BC, endodermis, periciclo, floema y xilema. **g.** Fronda control. **h.** Fronda recta. **i.** Fronda inclinada. Escala: a-c, g-i = 30  $\mu\text{m}$ , d-f = 120  $\mu\text{m}$ . \* = endodermis, BC = banda circunendodermal, ES = esclerenquima, Flecha = epidermis, Fl = floema, PA = parénquima, PE =periciclo, X = xilema.

En el tejido fundamental, se observó un patrón común de la disminución del número de estratos de células de esclerénquima de la base del pecíolo hacia el raquis. Además, aumenta el número de estratos en frondas rectas e inclinadas en comparación con el control (Cuadro 5). Las células de parénquima en las frondas rectas e inclinadas, se encuentran colapsadas cerca del esclerénquima y los cordones vasculares y también hacia la parte dorsal y ventral del pecíolo (Fig. 25b, c), modificaciones que no se observaron en el control (Fig. 25a). También se observó lisis en algunas células de parénquima cercanas al esclerénquima en las caras laterales de pecíolo y entre los cordones laterales de la traza foliar y hacia la parte interna de éstos (Fig. 25e, f). Las células de la BC en la parte media y superior del pecíolo de las frondas inclinadas tuvieron una forma más larga que ancha, mientras fueron cuadradas en las frondas rectas y del control.

En la traza foliar, la configuración y proporción del área del xilema fueron diferentes entre las tres condiciones (Cuadro 6, Fig. 25g-i). La configuración hipocampo se modificó en la parte superior del pecíolo y raquis. En algunos cordones de la traza foliar, el arco de la terminación del xilema se fusionó con los elementos traqueales adyacentes, mientras en otros en el extremo opuesto del arco aumentó el número de elementos traqueales y se alargó; o bien, en otros se fragmentó el xilema formando dos grupos de elementos traqueales. El área del xilema fue significativamente mayor en la fronda inclinada para las regiones de la base y ápice del pecíolo; así en la parte media del pecíolo difirieron entre las tres condiciones (Cuadro 6). Con respecto al raquis únicamente se encontraron diferencias significativas entre el control y la fronda recta con la inclinada (Cuadro 6). Las frondas inclinadas tuvieron una mayor área de xilema en la base del pecíolo ( $0.13 \pm 0.03 \text{ mm}^2$ ) que el control ( $0.07 \pm 0.02 \text{ mm}^2$ ), mientras que las frondas rectas presentaron la menor área de xilema en comparación con la fronda inclinada y la control aunque con esta última no se encontraron diferencias en todas las posiciones (Cuadro 6).

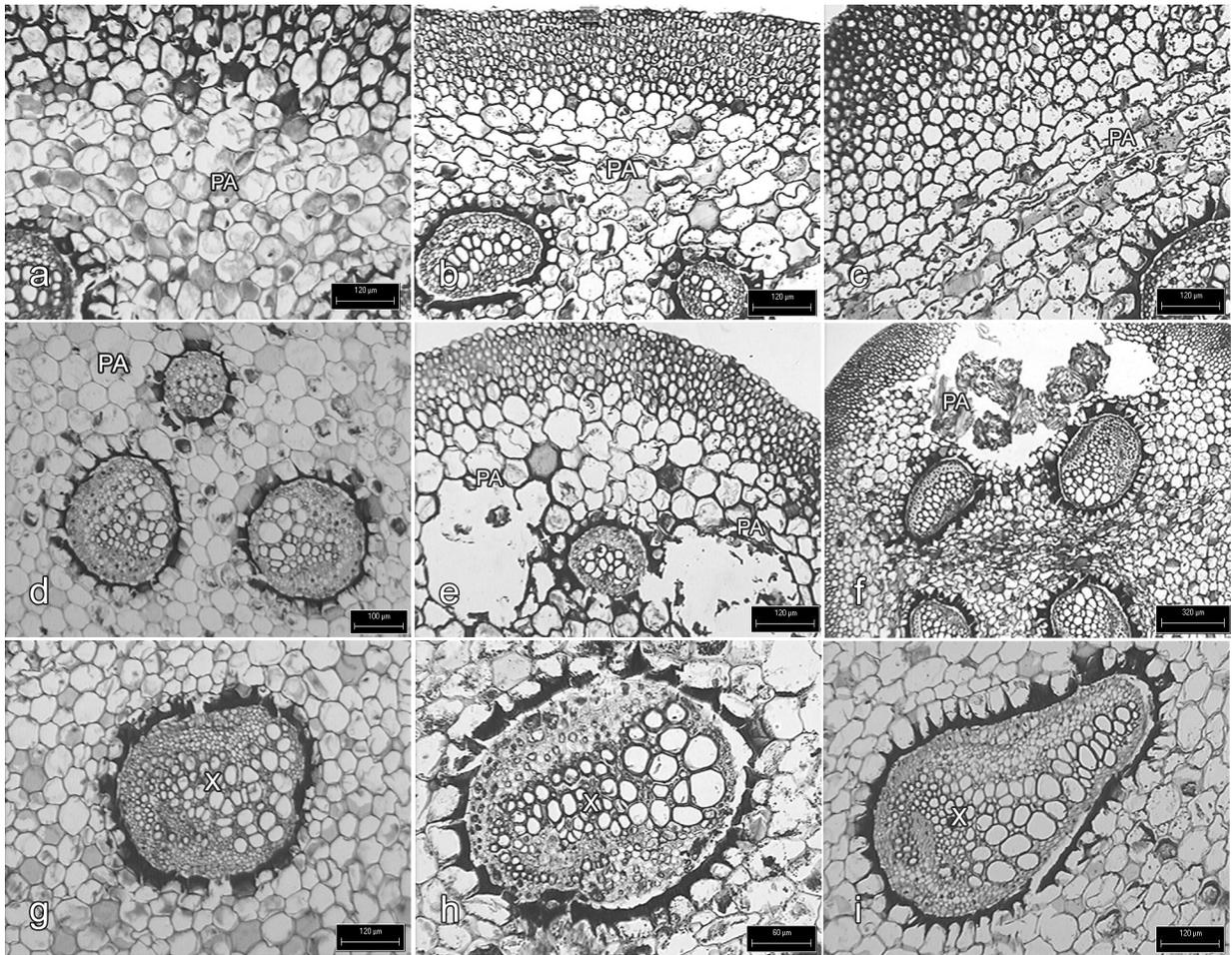


Figura 25. Características anatómicas disímiles del pecíolo de *Ctenitis melanosticta* creciendo bajo tres condiciones de inclinación de la fronda. **a.** Fronda control parénquima. **b-c.** Parénquima colapsado. **b.** Fronda recta. **c.** Fronda inclinada. **d.** Parénquima en fronda control. **e-f.** Lisis celular. **e.** Fronda recta. **f.** Fronda inclinada. **g-h.** Configuración del xilema en el raquis. **g.** Fronda control. **h.** Fronda recta. **i.** Fronda inclinada. Escala: a, b, c, e, g, i = 120  $\mu\text{m}$ , d= 100  $\mu\text{m}$ , f= 320  $\mu\text{m}$ , h = 60  $\mu\text{m}$ . PA = parénquima, X = xilema.

Cuadro 5. Número de estratos de células de esclerénquima en la base del pecíolo y el raquis en las dos especies de helechos. Distintas letras indican diferencias estadísticamente significativas (ANDEVA: gl = 2, P= 0.0001).

Especie	Carácter	Valor de F	Control	Recta	Inclinada
<i>Ctenitis melanosticta</i>	Base del pecíolo	19.32	9.2 ± 0.77 <sup>a</sup>	12.4 ± 2.00 <sup>b</sup>	13.9 ± 2.90 <sup>b</sup>
<i>Ctenitis. melanosticta</i>	Raquis	6.07	5.3 ± 0.70 <sup>a</sup>	5.0 ± 1.43 <sup>a</sup>	6.2 ± 0.60 <sup>b</sup>
<i>Diplazium expansum</i>	Base del pecíolo	1.05	9.06 ± 1.66 <sup>ns</sup>	8.8 ± 0.86 <sup>ns</sup>	8.3 ± 1.50 <sup>ns</sup>
<i>Diplazium expansum</i>	Raquis	3.77	6.73 ± 0.80 <sup>a</sup>	5.93 ± 1.16 <sup>b, a</sup>	5.7 ± 1.60 <sup>b</sup>

Cuadro 6. Área del xilema (mm<sup>2</sup>) desde la base del pecíolo al raquis en *Ctenitis melanosticta*. Distintas letras indican diferencias estadísticamente significativas (ANDEVA: gl = 2, P < 0.0001). Las claves de los caracteres se presentan en la figura 23a.

Carácter	Valor de F	Control	Recta	Inclinada
Baseizq	33.41	0.071 ± 0.022 <sup>b</sup>	0.067 ± 0.017 <sup>b</sup>	0.130 ± 0.029 <sup>a</sup>
Baseder	42.00	0.066 ± 0.012 <sup>b</sup>	0.054 ± 0.017 <sup>b</sup>	0.128 ± 0.035 <sup>a</sup>
Basemedio	7.28	0.013 ± .004 <sup>b</sup>	0.015 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.030 ± 0.021 <sup>a</sup>
Mizq	95.44	0.053 ± 0.011 <sup>b</sup>	0.041 ± 0.009 <sup>b</sup>	0.113 ± 0.022 <sup>a</sup>
Mizq	97.27	0.050 ± 0.008 <sup>b</sup>	0.031 ± 0.015 <sup>c</sup>	0.110 ± 0.021 <sup>a</sup>
Mmedio	24.37	0.005 ± 0.002 <sup>c</sup>	0.021 ± 0.018 <sup>b</sup>	0.033 ± 0.005 <sup>a</sup>
Supizq	44.75	0.052 ± 0.008 <sup>b</sup>	0.050 ± 0.015 <sup>b</sup>	0.096 ± 0.019 <sup>a</sup>
Supizq	37.65	0.056 ± 0.011 <sup>b</sup>	0.047 ± 0.012 <sup>b</sup>	0.092 ± 0.020 <sup>a</sup>
Supmedio	164.64	0.007 ± 0.005 <sup>b</sup>	0.004 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.056 ± 0.014 <sup>a</sup>
Raqizq	77.47	0.024 ± 0.004 <sup>b</sup>	0.025 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.073 ± 0.019 <sup>a</sup>
Raqder	22.08	0.023 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.026 ± 0.009 <sup>b</sup>	0.058 ± 0.025 <sup>a</sup>
Raqmedio	62.01	0.006 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.004 ± 0.003 <sup>b</sup>	0.034 ± 0.012 <sup>a</sup>

## *Diplazium expansum*

**Morfología.** Los individuos control de *D. expansum* presentaron de 14 a 15 pares de pinnas y una altura de 150 a 167 cm, mientras que los individuos creciendo en las dos condiciones de ángulos modificados presentaron una reducción en longitud tanto de la fronda como del pecíolo, pero no así en el número de pinnas que resultó ser más variable (Cuadro 4, Fig. 22f-h).

**Anatomía.** Los tejidos que no se modifican entre los individuos control y las dos condiciones de inclinación de la fronda fueron la epidermis, la cual se conservó simple con células de forma cuadrada a rectangular y sin cloroplastos.

En el tejido fundamental se conservó la disposición del parénquima y esclerénquima (Fig. 27a), el primero en dos regiones entre la epidermis y el esclerénquima y entre el esclerénquima y los dos cordones de la traza foliar. No hubo diferencias entre el número de estratos de células del esclerénquima en la base del pecíolo y el raquis entre el control y las dos condiciones de inclinación (Fig. 26a-c; Cuadro 5). La banda circunendodermal discontinua se caracterizó en plantas de todos los tratamientos, por presentarse en algunas regiones del cordón vascular de 1 a 2 estratos de células, con el engrosamiento celulósico de su pared celular a veces hacia la pared anticlinal, y en otras células, extendiéndose hacia la pared periclinal; en ambos acumularon taninos en la pared y el lumen celular.

La traza foliar siempre mostró dos cordones vasculares, en la base y parte media del pecíolo (Fig. 23b) y hacia la parte superior del pecíolo y el raquis se fusionaron en un cordón vascular. Además, se observó una configuración hipocampo y la terminación del xilema arqueada en todos los casos; el periciclo es constituido por 2 a 3 hileras de células, el floema por células pequeñas y pared primaria delgada, y el xilema por abundantes elementos traqueales circulares. Entre el floema y xilema se encuentran algunas células de parénquima (Fig. 26d-f). También se apreciaron canales de mucílago en los cordones vasculares entre las células de parénquima (Fig. 26e).

En esta especie fueron escasas las diferencias anatómicas entre el control y las dos condiciones de ángulos de inclinación. Solamente en el tejido fundamental se

detectó que las células del parénquima se colapsaron cerca de la terminación de los cordones vasculares hacia el lado dorsal del pecíolo en las frondas rectas e inclinadas (Fig. 27a-c). El colapso celular fue más pronunciado en la fronda inclinada (Fig. 27c).

El área de xilema en la terminación del xilema arqueada en ambos cordones vasculares fue superior en el control  $0.712 \pm 0.143 \text{ mm}^2$  y  $0.738 \pm 0.147 \text{ mm}^2$ , que en la fronda recta e inclinada (Cuadro 7, Fig. 27d-i).

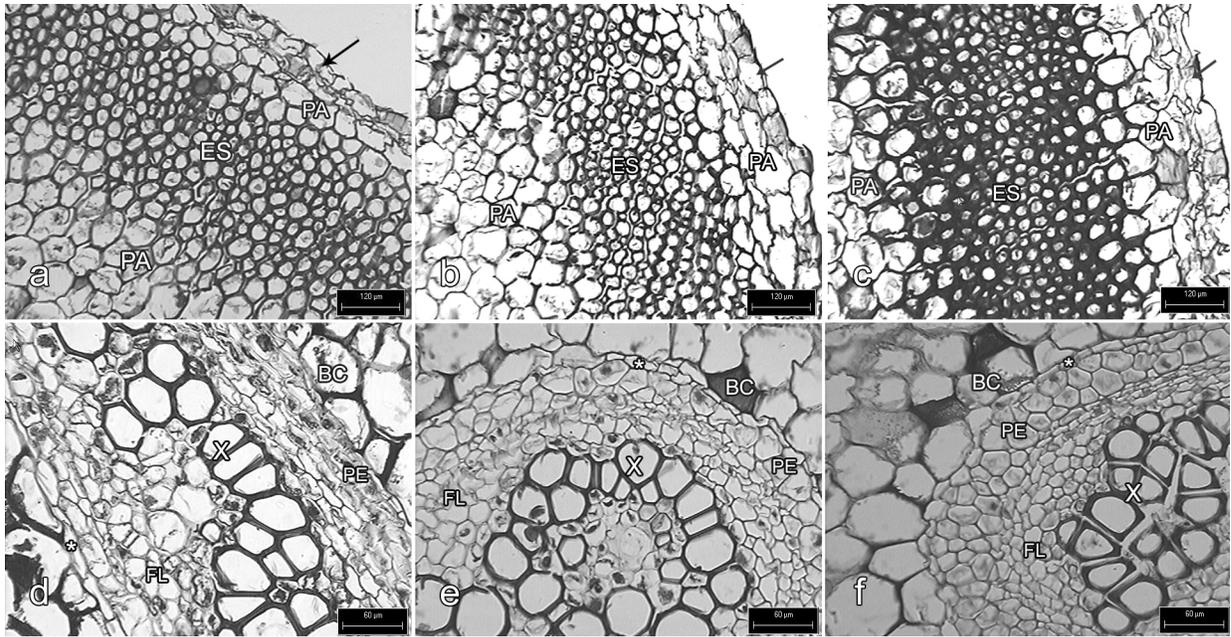


Figura 26. Características anatómicas similares del pecíolo de *Diplazium expansum* creciendo bajo tres condiciones de inclinación de la fronda. **a-c.** Esclerénquima en la base del pecíolo. **a.** Fronda control. **b.** Fronda recta. **c.** Fronda inclinada. **d-f.** Acercamiento de BC, endodermis, periciclo, floema, xilema. **d.** Fronda control. **e.** Fronda recta. **f.** Fronda inclinada. Escala: a-c = 120  $\mu\text{m}$ , d-f = 60  $\mu\text{m}$ . \* = endodermis, BC = banda circunendodermal, ES = esclerénquima, Flecha = epidermis, Fl = floema, PA = parénquima, PE = periciclo, X = xilema.

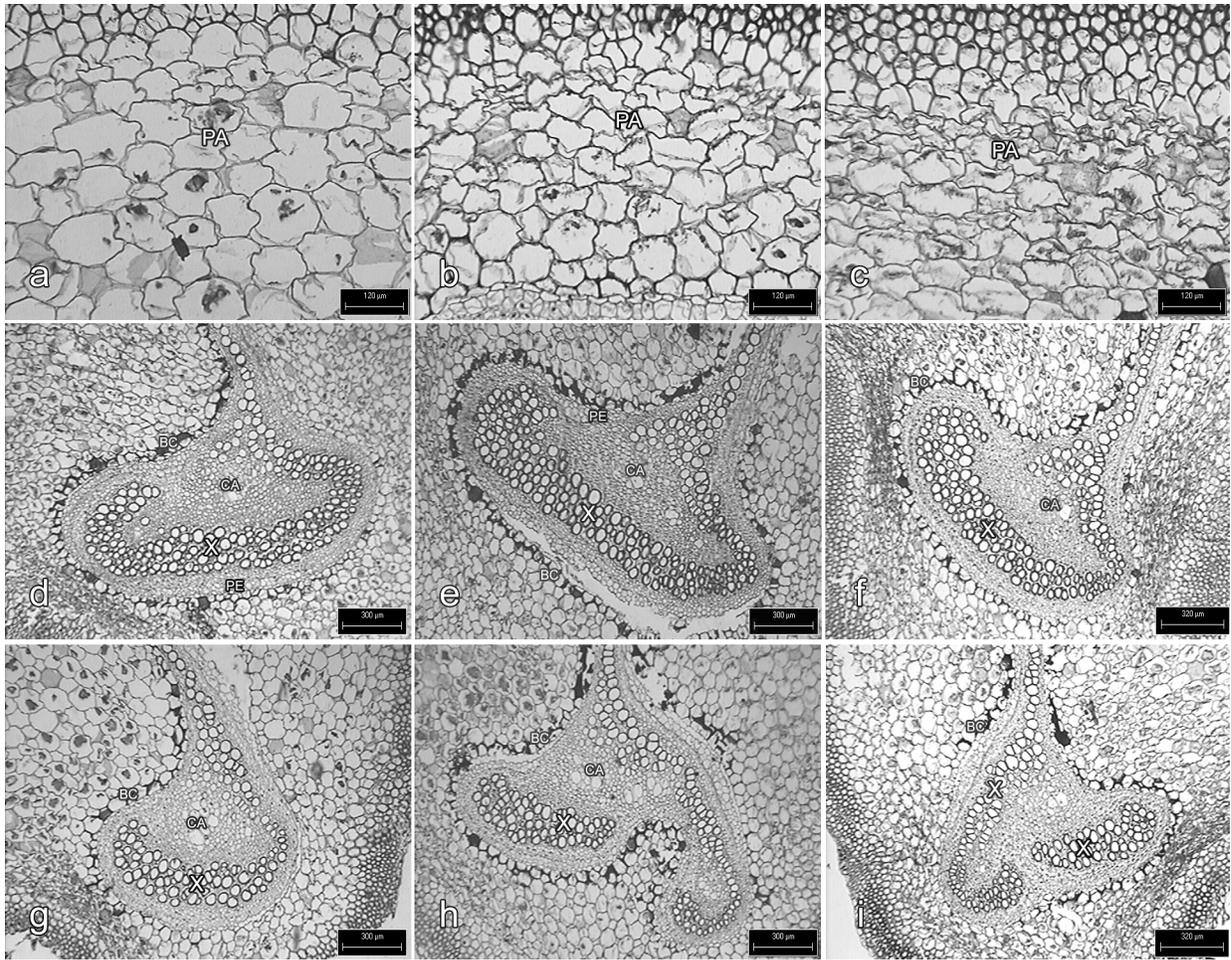


Figura 27. Características anatómicas disímiles del pecíolo de *Diplazium expansum* creciendo bajo tres condiciones de inclinación de la fronda. **a.** Parénquima en fronda control. **b-c.** Parénquima colapsado. **b.** Fronda recta. **c.** Fronda inclinada. **d-f.** Xilema en la parte media del pecíolo, BC, periciclo y canal de mucílago. **d.** Fronda control. **e.** Fronda recta. **f.** Fronda inclinada. **g-h.** Configuración de xilema en el raquis, BC y canal de mucílago. **g.** Fronda control. **h.** Fronda recta. **i.** Fronda inclinada. Escala: a, b, c = 120 µm, d, e, g, h = 300 µm, f, i = 320 µm. BC = banda circunendodermal, CA =canal de mucílago, PA = parénquima, PE = periciclo, X = xilema.

Cuadro 7. Área del xilema (mm<sup>2</sup>) desde la base del pecíolo al raquis en *Diplazium expansum*. Distintas letras indican diferencias estadísticamente significativas (ANDEVA: gl = 2, P < 0.0001). Las claves de los caracteres se presentan en la figura 23b.

Carácter	Valor de F	Control	Recta	Inclinada
Baseizq	11.41	0.712 ± 0.143 <sup>a</sup>	0.532 ± 0.174 <sup>b</sup>	0.488 ± 0.070 <sup>b</sup>
Baseder	27.29	0.738 ± 0.147 <sup>a</sup>	0.476 ± 0.089 <sup>b</sup>	0.476 ± 0.089 <sup>b</sup>
Mizq	20.51	0.521 ± 0.088 <sup>a</sup>	0.419 ± 0.112 <sup>b</sup>	0.316 ± 0.047 <sup>c</sup>
Mder	10.35	0.526 ± 0.159 <sup>a</sup>	0.422 ± 0.114 <sup>a, b</sup>	0.317 ± 0.095 <sup>b</sup>
Supizq	6.84	0.446 ± 0.059 <sup>a</sup>	0.354 ± 0.076 <sup>b</sup>	0.367 ± 0.083 <sup>b</sup>
Supder	14.05	0.452 ± 0.081 <sup>a</sup>	0.397 ± 0.073 <sup>a</sup>	0.314 ± 0.058 <sup>b</sup>
Raqizq	19.09	0.339 ± 0.076 <sup>a</sup>	0.175 ± 0.083 <sup>b</sup>	0.189 ± 0.081 <sup>b</sup>
Raqder	55.94	0.393 ± 0.079 <sup>a</sup>	0.171 ± 0.083 <sup>b</sup>	0.152 ± 0.035 <sup>b</sup>

## Discusión

**La banda circunendodermal.** La BC no se modificó en su disposición y su continuidad al cambiar la inclinación de la fronda, ni en el número de estratos de células que la componen. Tampoco hubo un aumento o disminución en los engrosamientos de la pared de las células que la componen, ni en el contenido celular de taninos, que la distinguen. Con la excepción de la fronda inclinada en *C. melanosticta*, las células de la BC fueron más largas que anchas en los cordones vasculares de mayor tamaño de la parte media del pecíolo y del raquis. Estos resultados no apoyan la hipótesis de que la BC se modificara con el grado de inclinación de la fronda. Por ello se considera que la BC es un atributo heredable con valor diagnóstico para distinguir entre diferentes taxones. Otra interpretación en *C. melanosticta* sería que se cambia el punto de equilibrio biomecánico, y por ello, se modifica la forma de las células exclusivamente en la parte media del pecíolo,

resultados que deberán confirmarse en otras especies de helechos leptosporangiados con BC continua.

Como se mostró en un estudio del desarrollo de la fronda para ambas especies, la BC se diferencia en cayados menores a 2.5 cm en *C. melanosticta* y en *Diplazium expansum* a los 44 cm de altura (Hernández-Hernández, en revisión). Estas etapas del desarrollo fueron consideradas en este estudio y aunque el ángulo de inclinación se modificó antes de la diferenciación de dicha BC, ésta no se alteró en su disposición ni en el espesor de sus paredes. Las evidencias de esta investigación no permiten apoyar la función biomecánica principal sugerida por Hernández-Hernández et al. (en revisión) para ambas especies, posiblemente esta función biomecánica la tienen el esclerénquima subyacente a la epidermis y los elementos traqueales del tejido vascular. Considero que una posible función primaria de la BC sería que protege el tejido vascular y ayuda a mantener la conducción de agua en la planta, como ocurre con la endodermis.

**Las modificaciones.** Los cambios anatómicos se observaron en el tejido fundamental y vascular. En el primero se aumentó el número de estratos de células de esclerénquima en la base del pecíolo de frondas rectas o inclinadas de *C. melanosticta* en comparación con la fronda control. De acuerdo con Niklas (1990), el esclerénquima cortical es un tejido de soporte en la ramificación basal en *Psilotum nudum*. De igual forma, Spatz et al. (1998) señalan que la presencia de fibras subyacente a la epidermis proporciona rigidez y resistencia a las plantas de *Equisetum giganteum*. Las modificaciones del tejido fundamental y vascular que se presentan en angiospermas y gimnospermas para recobrar la vertical o bien para mantener los ángulos de inclinación de las ramas típicas de sus diferentes patrones arquitectónicos se ha denominado como "tejido de reacción (Fisher y Stevenson 1981; Tomlinson, 2001). Por ello, el incremento de esclerénquima en *C. melanosticta* también se interpretó como un incremento en el tejido de soporte, en especial en las frondas con ángulo de 10°, dado que su función sería de tejido de reacción, como se ha interpretado en otros grupos de plantas. La mayor acumulación de lignina en las células del esclerénquima en *C. melanosticta* se puede interpretar como una respuesta

al cambio de inclinación de la fronda. En *Diplazium expansum* no se detectó variación en el número de estratos de esclerénquima, entre los dos tratamientos y el control.

El tejido de reacción se ha observado en otros grupos de plantas; por ejemplo, en *Gnetum gnemon* se presentan fibras gelatinosas en el córtex externo del tallo como una respuesta al gravitropismo (Tomlinson, 2003) y en especies de *Quercus* se ha observado un mayor número de fibras en la mitad superior del tallo en comparación al lado inferior en el tratamiento, con reorientación de las ramificaciones con dominancia apical, que en las plantas con tallo erecto (Hamilton et al., 1985). Algo similar ocurrió en *C. melanosticta* al cambiar el ángulo de inclinación, ya que se incrementó en el número de estratos de esclerénquima y, por lo tanto, también puede ser llamado tejido de reacción.

La presencia de lisis y de colapso celular son también modificaciones encontradas en frondas rectas e inclinadas de *C. melanosticta*, mientras que en *Diplazium expansum* sólo se observó colapso celular, y en algunas células subyacentes al esclerénquima hay depósito de lignina en la lámina media. De acuerdo con Niklas (1989), las células bajo la acción de la fuerza por tensión o compresión pueden deformarse, colapsarse y romperse. La elasticidad del tejido está en función de la presión de turgencia y grosor, forma y composición de la pared celular. Por ello, las células con pared gruesa resisten mejor la deformación que las células de pared delgada como el parénquima (Niklas, 1999). De ahí, que el parénquima en ambas especies se colapse y se presente lisis celular exclusivamente en *C. melanosticta*, como una respuesta a la tensión que se ejerció en el tejido al cambio de inclinación natural de la fronda. El no encontrar lisis celular en *D. expansum* podría relacionarse con las características de la pared celular del parénquima que se encontró con una distribución diferencial a *C. melanosticta*, en conjunto con el diámetro de sus pecíolos.

Se modificó la configuración del tejido vascular y el área del xilema en *C. melanosticta*. Las frondas inclinadas tuvieron una mayor área de xilema y las frondas rectas presentaron área de xilema menor en comparación con la fronda con inclinación natural. Al parecer las plantas reaccionaron más al ángulo de 10°, puesto que en la planta al expandirse y desarrollarse la fronda tiende a inclinarse. En *D.*

*expansum* el área de xilema se redujo en los individuos de ambos tratamientos, siendo menor el área de xilema en los individuos con ángulos de 20°. *Diplazium expansum* tiene mayor tamaño si se compara con *C. melanosticta*. Este comportamiento del xilema podría ser análogo al comportamiento del xilema secundario cuando los individuos se desarrollan en terrenos con pendiente y se produce la madera de compresión o de tensión (Scurfield, 1973).

Sólo en *C. melanosticta* la abundancia de cloroplastos en la epidermis fue variable. En las frondas inclinadas fueron más abundantes que en el control y en la fronda recta fueron escasos. La abundancia de los cloroplastos en las células epidérmicas sugiere la importancia de la inclinación de las frondas en esta especie para cumplir con su función fotosintética o bien para hacer un transporte eficiente del producto de la fotosíntesis.

Con respecto a la morfología en las frondas rectas de *C. melanosticta* hubo reducción en el tamaño de la fronda y del pecíolo, en comparación con las frondas de control e inclinadas. En *D. expansum*, las plantas control fueron de mayor altura que las frondas rectas e inclinadas. Estos resultados muestran que el cambio en el ángulo de inclinación afectó el desarrollo de las plantas. La reducción en el tamaño de las plantas y su relación con el aumento en el área del xilema y aumento o disminución de cloroplastos en la epidermis, probablemente alteró la fisiología de las plantas. Las frondas no reciben la luz necesaria para realizar el proceso de fotosíntesis y el suministro de agua no es el adecuado, y por lo tanto, se incrementó el número de elementos traqueales para el desarrollo de las frondas.

En conclusión, la BC no cambió al modificarse la inclinación de la fronda, excepto para el tamaño de algunas células de la BC en las plantas inclinadas de *C. melanosticta*. Sin embargo, hubo diferencias notables, morfológicas y anatómicas en ambas especies, en particular en *C. melanosticta*. En las células de esclerenquima la acumulación de lignina y aumento del número de estratos, y el colapso y la ruptura del parénquima. En el tejido vascular la configuración del xilema y la disminución o aumento en la proporción del mismo. Estos cambios anatómicos pueden estar relacionados con la conducción de agua por el aumento o disminución de los

elementos traqueales y también con la fotosíntesis o movilidad de sus productos por el número de cloroplastos en la epidermis en *C. melanosticta* y la arquitectura de la fronda. Cada especie tiene un ángulo idóneo para el desarrollo de su fronda y al modificarlo ocasiona diversos cambios e inclusive la muerte, siendo esto más evidentes en *C. melanosticta*.

## CONCLUSIONES

- La banda circunendodermal se presentó en seis familias consideradas como las derivadas dentro de las pteridofitas como son Blechnaceae, Dryopteridaceae, Lomariopsidaceae, Nephrolepidaceae, Polypodiaceae y Thelypteridaceae. Se reconoció que la BC puede ser continua o discontinua. Las pruebas histoquímicas confirmaron que en todas las especies estudiadas, los engrosamientos de la pared celular son de naturaleza celulósica y con depósitos de taninos en sus paredes y lumen celular. Además, se reconocieron cuatro categorías para el engrosamiento de la pared de las células de la BC, la diversidad va de un cuarto de la pared de las células hasta la oclusión total del lumen de la célula. En los géneros *Elaphoglossum* y *Polypodium* se encontró variación en el engrosamiento de la pared de las células en las especies examinadas, por lo tanto se recomienda revisar un mayor número de especies para confirmar su posible valor taxonómico.
- La BC es un carácter con información filogenética. El mapeo de este carácter en una de las filogenias moleculares sugiere que, a partir de especies con dos cordones vasculares en la traza foliar, surgió la BC como un evento evolutivo único. Se deberá confirmar la correlación de la BC con el arreglo de las trazas foliares múltiples y otras características de ésta, como su continuidad y categorías del engrosamiento de las paredes en un análisis de parsimonia combinado.
- El origen de la BC es del tejido fundamental y tanto ésta como la endodermis proceden de la misma célula del parénquima. Su diferenciación se da en la etapa de prefoliación, a unos cuantos centímetros de la base del pecíolo. En la literatura no hay evidencias si la BC y la endodermis también tienen el mismo origen en tallo y raíz. Por ello sería recomendable estudiar un mayor número de especies con diferente forma de vida y con diferentes rasgos en la banda con la finalidad de confirmar el origen común de BC y la endodermis en todos los órganos de la planta. En consecuencia surge la pregunta si en especies sin la

BC, el origen de la endodermis en los diferentes órganos de los helechos eusporangiados y leptosporangiados es el mismo.

- El ángulo de inclinación de la fronda es un atributo exclusivo y fundamental para la supervivencia de las especies de helechos. Su modificación no provocó cambios en las características de la BC, pero sí en el tejido fundamental como una respuesta de reacción. Los resultados sirven como un modelo para el estudio de otros géneros y especies, principalmente en aquellos taxones con fronda simple y pinnada y de hábito epífita, debido a la correlación existente entre la BC y la disección de la fronda y el hábito.
- Se debe generar un método para estudiar la composición de la pared celular de las células de la BC a través de pruebas de inmunolocalización y detección de polisacáridos (xiloglucan), con la finalidad de poder apoyar o refutar las hipótesis de su función biomécanica y/o de protección al tejido vascular alrededor de los cordones vasculares de los helechos avanzados.
- A pesar de que en la literatura se señala que la anatomía de los helechos es muy similar en sus tejidos epidérmico, fundamental y vascular, los resultados de esta investigación revelaron la necesidad de revisar un mayor número de géneros y especies para confirmar el posible valor de diferentes atributos como son las diferencias de la BC, o bien las diferencias en la composición del tejido fundamental. Por ello se presentan la descripción anatómica de *Ctenitis melanosticta* como un modelo de generar información que a mediano y largo plazo pueda ser utilizada en estudios comparativos de las pteridofitas.

## LITERATURA CITADA

- Barratt, K. 1916. The origin of the endodermis in the stem of *Hippuris*. *Annals of Botany* 30: 91-99.
- Bartoo, D.R. 1929. Origin and development of tissue in root of *Schizaea rupestris*. *Botanical Gazette* 87: 642-652.
- Bartoo, D.R. 1930. Origin of tissue of *Schizaea pusilla*. *Botanical Gazette* 89: 137-153.
- Bell, P.R. 1951. Studies in the genus *Elaphoglossum*. III. Anatomy of the rhizome and frond. *Annals of Botany* 15: 347-357.
- Bierhorst, D.W. 1971. Morphology of vascular plants. The Macmillan Co. New York, New York.
- Bierhorts, D.W. 1977. On the stem apex, leaf initiation and early leaf ontogeny in filicalean ferns. *American Journal of Botany* 64: 125-152.
- Bower, F.O. 1923. The ferns. Vol. I. Univ. Press. Cambridge.
- Carlquist, S. y E.L. Schneider. 1997. SEM studies on vessels in ferns 1. *Woodsia obtusa*. *American Fern Journal* 87: 1-8.
- Carlquist, S. y E.L. Schneider. 1999. SEM studies on vessels in ferns. 12. Marattiaceae, with comments on vessel patterns in Eusporangiate ferns. *American Journal of Botany* 86: 457-464.
- Carlquist, S. y E.L. Schneider. 2000. SEM studies on vessels in fern 18. Montane Cheilanthoid ferns (Pteridaceae) on North America. *Aliso* 19: 31-39.
- Carlquist, S. y E.L. Schneider. 2001. Vessels in ferns: structural, ecological, and evolutionary significance. *American Journal of Botany* 88: 1-13.
- Chaerle P. y R.L.L. Viane 2004. Leaf anatomy and the occurrence of false veins in *Asplenium* (Aspleniaceae, Pterydophyta). *Botanical Journal of the Linnean Society* 145: 187-194.
- Chang, C.Y. 1927. Origin and development of tissue in rhizome of *Pteris aquilina*. *Botanical Gazette* 83: 228-306.
- Chapple, C.C.S. y R.C. Peterson. 1987. Root structure in the fern *Platyserium bifurcatum* (Cav.) C. Chr. (Polypodiaceae). *Botanical Gazette* 148: 180-187.

- Charles, G.M. 1911. The anatomy of the sporeling of *Marattia alata*. Botanical Gazette 51: 81-101.
- Chih-Yu, C.M. 1974. A comparative study of the foliar anatomy of *Lycopodium* species. American Journal of Botany 61: 681-692.
- Chrysler, M.A. 1908. Endodermis of ferns. Botanical Gazette 46: 72.
- Clarke, H.M. 1936. The morphology and anatomy of *Lygodium japonicum*. American Journal of Botany 23: 405-413.
- Cottem, W. Van. 1973. Stomatal types and systematics. Botanical Journal of the Linnean Society 67: 59-71.
- Crabbe, J.A., A.C. Jermy y J.T. Mickel. 1975. A new generic sequence for the pteridophyte herbarium. Fern Gazette 11: 141-162.
- Curtis, J. P. 1986. Microtecnia vegetal. Trillas. México, D.F.
- Dickison, W.C. 2000. Integrative plant Anatomy. Academy Press. San Diego, California.
- Esau, K. 1976. Anatomía vegetal. Omega. Madrid.
- Fahn, A. 1974. Anatomía vegetal. Blume. Madrid.
- Faull, J.H. 1901. The anatomy of the Osmundaceae. Botanical Gazette 32: 381-420.
- Fisher, J.B. y J.W. Stevenson. 1981. Occurrence of reaction wood in branches of dicotyledons and its role in tree architecture. Botanical Gazette 142: 82-95.
- Godwin, H. 1932. Anatomy of the stele of *Cyathea medullaris* Sw. New Phytologist 31: 254-264.
- Guantay, M.E. y M. Hernández T. 1990. Estudio morfoanatómico de las especies del género *Elaphoglossum* Schott de Tucumán. Lilloa 38: 73-84.
- Hamilton, J.R., C.K. Thomas y K.L. Carvel. 1985. Tension wood formation following release of upland oak advance reproduction. Wood and Fiber Science 17: 382-390.
- Hasebe, M., P.G. Wolf, K.M. Pryer, K. Ueda, M.I. Ryosuke Sano, G.J. Gastony, J. Yokoyama, J.R. Manhart, N. Murakami, E.H. Crane, C.H. Haufler y W.D. Hauk. 1995. Fern phylogeny based on rbcL nucleotide sequences. American Fern Journal 85: 134-181.

- Hennipman, E. 1968. The mucilage secreting hairs on the young fronds of some leptosporangiate ferns. *Blumea* 16: 97-103.
- Hernández H.V., T. Terrazas y G. Angeles. 2006. Anatomía de seis especies de *Dryopteris* en México. *Revista Biología Tropical* 54: 1157-1169.
- Hernández-Hernández, V., T. Terrazas, K. Mehlreter y G. Angeles. Systematic survey of the circunendodermal band and its relationship with vascular strand configurations in Pteridophyte petioles. (en revisión).
- Hernández-Hernández, V. Ontogenia de la fronda de *Ctenitis melanosticta* y *Diplazium expansum*: con énfasis en la banda circunendodermal. (en revisión).
- Hernández-Rojas A.C. 2006. Fenología de helechos terrestres en un fragmento de bosque mesófilo de montaña en Xalapa, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Biología, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz. 69 pp.
- Herrera, M.C.M. 1993. Anatomía de dos especies de *Cheilanthes* Swartz. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Estado de México. 107 pp.
- Howard, R.A. 1979. The petiole. En: Metcalfe, C.R. y L. Chalk (eds) *Anatomy of the dicotyledons*. Vol. 1. Clarendon Press, Oxford. Pp. 88-96.
- Imachi, R. y M. Kato. 1992. Comparative leaf development of *Osmunda lancea* and *O. japonica* (Osmundaceae): heterochronic origin of rheophytic stenophylly. *Botanical Magazine* 105: 199-213.
- Inamdar, J.A., R.C. Patel y D.C. Bhatt. 1971. Structure and development of stomata in some Leptosporangiate ferns. *Annals of Botany* 35: 643-651.
- Iqbal, S.H., M. Yousaf y M. Younus 1981. A field survey of mycorrhizal associations in ferns of Pakistan. *New Phytologist* 87: 69-79.
- Jarquín P.M.B., L. Pacheco, I. P.A. Quintanar y A. Sánchez-Morales. 2006. Anatomía e histoquímica del esporofito de *Diplazium striatum* (L.) Presl y *Diplazium ternatum* Liebm. (Athyriaceae. Pteridophyta). En: IX Congreso Latinoamericano de Botánica. República Dominicana. Pp. 196.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill. New York, New York.

- Kato, M. 1978. Vascular anatomy of leaves in Ophioglossaceae. *Botanical Magazine* 91: 187-195.
- Khare, P.K. y R. Shankar. 1989. On the petiolar structure of some *Asplenium* species. *Canadian Journal of Botany* 67: 95-103.
- Knobloch, I.W. y P.A. Volz. 1968. Studies in the fern genus *Cheilanthes* Swartz. II. The anatomy of the stipes and rachises of some species. *Phytomorphology* 18: 1-12.
- Korn, R.W. 1998. Studies on vein formation in the leaf of the *Thelypteris palustris* Schott. *International Journal of Plant Sciences* 159: 275-282.
- Kramer, K.U. y P.S. Green. 1990. Pteridophytes and Gymnosperms. En: Kubitzki, K. (ed) *The families and genera of vascular plants*. Springer-Verlag Berlin. Pp. 1-277.
- Lin, B.L. y C.D. DeVol. 1977. The use of stipe characters in fern taxonomy I. *Taiwania* 22: 91-99.
- Lin, B.L. y C.D. DeVol. 1978. The use of stipe characters in fern taxonomy II. *Taiwania* 23: 77-95.
- Lucansky, T.W. y R.A. White. 1969. Vegetative reproduction in the ferns. III. Leaf buds of *Athyrium macraei* (H. and G.) Copel. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 96: 615-622.
- Lucansky T.W y R.A. White. 1976. Comparative ontogenetic studies in young sporophytes of tree ferns. I. A primitive and an advanced taxon. *American Journal of Botany* 63: 463-472.
- Lucansky, T.W. 1981. Chain ferns of Florida. *American Fern Journal* 71: 101-108.
- Media Cybernetics. 1997. *Image pro-plus*, version 3.0 for windows. Media Cybernetics Inc., Silver Spring.
- Mickel J.T. y J.M. Beitel. 1988. Pteridophyte Flora of Oaxaca, Mexico. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 46: 320-327.
- Mickel, J.T. y A.R. Smith. 2004. The Pteridophytes of Mexico. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 88: 1-1054.
- Moran, R.C. 1987. Monograph of the neotropical fern genus *Polybotrya* (Dryopteridaceae). *Illinois Natural History Survey Bulletin* 34: 1-138.

- Moran, R.C. y R. Riba. 1995. Flora Mesoamericana, Vol. 1. Psilotaceae a Salviniaceae. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma, México, D.F.
- Niklas, K.L. 1989. Mechanical behavior of plant tissues as inferred from the theory of pressurized cellular solids. *American Journal of Botany* 76: 929-937.
- Niklas, K.L. 1990. Biomechanics of *Psilotum nudum* and some early paleozoic vascular sporophytes. *American Journal of Botany* 77: 590-606.
- Niklas, K.J. 1999. Research review: a mechanical perspective on foliage leaf form and function. *New Phytologist* 143: 19-31.
- Ogura, Y. 1972. Comparative anatomy of the vegetative organs of the Pteridophytes. *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Borntraeger, Berlin. 502 pp.
- Pacheco, L. y R.C. Moran. 1999. Monograph of the neotropical species of *Callipteris* with anastomosing veins (Woodsiaceae). *Brittonia* 51: 343-388.
- Pacheco, L. S. Mendoza M., S. Silva Puente y B. Granados. 2003. Estructura mucilagínosa en helechos y plantas afines con énfasis en el género *Diplazium* (Woodsiaceae). *ContactoS* 48: 56-60.
- Pichi-Sermolli, R.E.G. 1973. Historical review of the higher classification of the filicopsida. *Botanical Journal of the Linnean Society Supplement* 67: 11-40.
- Priestley, J.H. y F.M. Radcliffe. 1924. A study of the endodermis in the Filicineae. *New Phytologist* 23: 161-193.
- Pray, T.R. 1960. Ontogeny of the open dichotomous venation in the pinna of the fern *Nephrolepis*. *American Journal of Botany* 47: 319-328.
- Pryer, K.M., A.R. Smith y J.E. Skog. 1995. Phylogenetic relationships of extant ferns based on evidence from morphology and *rbcL* sequences. *American Fern Journal* 85: 205-282.
- Reeve, R.M. 1951. Histochemical test for polyphenols in plants. *Stain Technology* 26: 91-96.
- Rolleri, C.H., M.C. Lavallo, A. Mengascini y M. Rodríguez. 2003. Sistemática de los helechos maratiáceos (Marattiales-Marattiaceae). *Revista del Museo de La Plata, Botánica* 16: 1-21.

- Ruzin, S.E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University Press. New York, New York.
- Sahni, B. 1915. The Anatomy of *Nephrolepis volubilis* J. Sm., with remarks on the biology and morphology of the genus. *New Phytologist* 14: 251-274.
- Sánchez-Morales A., L. Pacheco, P.M.B. Jarquin y I. P.A. Quintanar. 2006. Anatomía del esporofito de *Ctenitis ursina* (Tectariaceae, Pteridophyta). En: IX Congreso Latinoamericano de Botánica. República Dominicana. Pp. 198.
- SAS Institute. 1989. User's Guide, release 6.04. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Schmid, R. 1982. The terminology and classification of steles: Historial perspective and the outlines of a system. *The Botanical Review* 48: 817-931.
- Schneider, E.L. y S. Carlquist. 1998a. SEM studies on vessels in ferns 7. *Microgramma nitida*. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Botánica* 69: 1-7.
- Schneider, E.L. y S. Carlquist. 1998b. SEM studies on vessels in ferns 9. *Dicranopteris* (Gleicheniaceae) and vessels patterns in leptosporangiate ferns. *American Journal of Botany* 85: 1028-1032.
- Schneider, E.L. y S. Carlquist. 1998c. SEM studies on vessels in fern 5. *Woodsia scopulina*. *American Fern Journal* 88: 17-23.
- Schneider, E.L. y S. Carlquist. 1999a. SEM studies on vessels in ferns 11. *Ophioglossum*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 129: 105-114.
- Schneider, E.L. y S. Carlquist. 1999b. SEM studies on vessel in ferns 13. *Nephrolepis*. *American Journal of Botany* 89: 171-177.
- Schneider, E.L. y S. Carlquist. 2000. SEM studies on vessels in ferns 19. *Marsilea*. *American Fern Journal* 90: 32-41.
- Schneider, H., A. R. Smith, R. Cranfill, T. J. Hildebrand, C. H. Haufler and T. A. Ranker. 2004. Unraveling the phylogeny of Polygrammoid ferns (Polypodiaceae and Grammitidaceae): exploring aspects of the diversification of epiphytic plants. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31: 1041-1063.
- Scurfield, G. 1973. Reaction wood: its structure and function. *Science* 179: 647-655.

- Sen, U. y T. Sen. 1973. Anatomical relationships between the *Oleandra* and *Nephrolepis* groups. *Botanical Journal of the Linnean Society* 67: 155-172.
- Sen, U. y E. Hennipman. 1981. Structure and ontogeny of stomata in Polypodiaceae. *Blumea* 27: 175-201.
- Sharpe, J.M. y J.A. Jernstedt. 1990. Leaf growth and phenology of the dimorphic herbaceous layer fern *Danaea wendlandii* (Marattiaceae) in a Costa Rican rain forest. *American Journal of Botany* 77: 1040-1049.
- Skutch, A.F. 1928. Origin of endodermis in ferns. *Botanical Gazette* 86: 113-114.
- Smith A.R. 1981. Pteridophytes. En: Breedlove D.C. (ed) *Flora de Chiapas*. 2: 1-370. California Academy of Science. San Francisco, California.
- Smith, A.R. 1995. Non-molecular phylogenetic hypotheses for ferns. *American Fern Journal* 85: 104-122.
- Soar, I. 1922. The structure and function of the endodermis in the leaves of the Abietineae. *New Phytologist* 21: 269-292.
- Spatz, H.-Ch., L. Köhler y T. Speck. 1998. Biomechanics and functional anatomy of hollow-stemmed Sphenopsids. I. *Equisetum giganteum* (Equisetaceae). *American Journal of Botany* 85: 305-314.
- Tejero D.J.D. 2005. Revisión taxonómica del complejo *Polypodium plesiosorum* Kunze (Polypodiaceae, Polypodiophyta). Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México, D.F. 115 pp.
- Tomlinson, P.B. 2001. Reaction tissues in *Gnetum gnemon*. A preliminary report. *International Association of Wood Anatomist Journal* 22: 401-414.
- Tomlinson, P.B. 2003. Development of gelatinous (reaction) fibers in stems of *Gnetum gnemon* (Gnetales). *American Journal of Botany* 90: 965-972.
- Tryon R. M. y Tryon A.F. 1982. *Ferns and allied plants with special reference to tropical America*. Springer, New York, New York.
- Umikalsom, Y. 1992. Anatomical studies of the Malaysian Aspleniaceae and Athyriaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 110: 111-119.

- Velasco, R.C. 1971. Estudio anatómico comparativo de dos especies del género *Marattia* (Marattiales, Pteridophyta). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 63 pp.
- Velásquez, F.E.M. 1983. Anatomía comparada de dos especies del género *Tectaria* Cav. (Filicales, Pteridophyta). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 62 pp.
- Warmbrodt, R.D. y R.F. Evert. 1979a. Comparative leaf structure of six species of eusporangiate and prototelesporangiate ferns. *Botanical Gazette* 140: 153-167.
- Warmbrodt, R.D. y R.F. Evert. 1979b. Comparative leaf structure of several species of homosporous leptosporangiate ferns. *American Journal of Botany* 66: 412-440.
- Webb, E. 1975. Stem anatomy and phyllotaxis in *Ophioglossum petiolatum*. *American Fern Journal* 65: 87-94.
- White R.A. 1970. Comparative anatomy of the Aspidiaceae. I. Stellar pattern development in young sporophytes of *Tectaria*. *American Journal of Botany* 57: 458-467.
- White, R.A. 1974. Comparative anatomical studies of the ferns. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61: 379-387.
- Williams, M.M. 1924. Anatomy of *Cheilanthes tenuifolia*. *Botanical Gazette* 78: 378-396.
- Yeap Foo, L. y J.J. Karchesy. 1989. Chemical nature of phlobaphenes. En: Hemingway, R.W. y J.J. Karchesty (eds) *Chemistry and significance of condensed tannins*. Plenum Press. New York, New York. Pp. 109-118.
- Zavaro P.C.A., C.V. Sánchez y J. Bozán. 1995. Anatomía de las especies cubanas del género *Thelypteris* Schmidel, subgénero *Cyclosorus* Morton. *Fontqueria* 42: 195-198.
- Zhang, X.C. y H.P. Nooteboom. 1998. A taxonomic revision of Plagiogyriaceae (Pteridophytes). *Blumea* 43: 401-469.
- Zlotnik, E.A. 1991. Anatomía de Polypodiaceae s. str. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 103 pp.

Zurakowski, K.A. y E.M. Gifford. 1988. Quantitative studies development in the ferns *Adiantum raddianum* and *Cheilanthes viridis*. American Journal of Botany 75: 1559-1570.