

GERMINACION DE LA ESPORA, MORFOLOGIA DEL GAMETOFITO Y
EXPRESION SEXUAL DE *POLYPODIUM FEUILLEI* BERTERO
(POLYPODIACEAE)

*SPORE GERMINATION, GAMETOPHYTE MORPHOLOGY AND SEXUAL
EXPRESSION OF POLYPODIUM FEUILLEI BERTERO (POLYPODIACEAE)*

Jose María Gabriel y Galán¹, Carmen Prada¹ & Cristina Roller²

¹Departamento de Biología Vegetal I; Facultad de Ciencias Biológicas; Universidad Complutense, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España; ²Laboratorio de Estudios de Anatomía Vegetal Evolutiva y Sistemática (LEAVES), Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata, 64 entre 120 y diagonal 113, B1904 DZB, La Plata, Argentina. jmgabriel@bio.ucm.es

RESUMEN

En este trabajo se estudia el desarrollo morfológico y la expresión sexual de los gametófitos de *Polypodium feuillei*. Se emplearon cultivos multispóricos en agar nutritivo para sembrar esporas. En menos de tres semanas se observó germinación vigorosa, alcanzándose porcentajes del 78%, siendo el patrón de germinación del tipo *Vittaria*. El gametófito de *P. feuillei* presenta una fase filamentososa alargada, cuyo crecimiento se prolonga unas dos semanas, seguida de una fase laminar. Hacia la décima semana tras la germinación, los gametófitos alcanzan la forma cordado-alada y presentan abundantes pelos en los márgenes y en la superficie abaxial de la lámina antes de la madurez. Este modelo ontogénico de desarrollo se ajusta al tipo *Drynaria*. En su madurez, hacia la vigésimo quinta semana, *P. feuillei* desarrolla inicialmente protalos de sexo femenino, que adquieren mayor tamaño y vigor que los masculinos. Muy pocos gametófitos exhiben condición bisexuada.

PALABRAS CLAVES: *Polypodium feuillei*, spora, gametófito, morfología, expresión sexual.

ABSTRACT

This work deals with the study of the morphological development and sexual expression of the gametophyte of *Polypodium feuillei*. Multispore cultures on mineral agar were used to sow spores. In less than three weeks vigorous germination was observed, with percentages of germination of 78%. Pattern of germination is of *Vittaria* type. The gametophyte of *P. feuillei* presents a long filamentous phase, which grows for about two weeks, followed by a laminar phase. Ten weeks after sowing, prothalli exhibit a cordate-winged form before reaching maturity, and bear abundant hairs in the margin of the wings and in the abaxial surface of the lamina. This model of ontogeny is of *Drynaria* type. At sexual maturity, about 25 weeks after sowing, *P. feuillei* develop first female gametophytes, which have more vigorous growth than the male ones. Only a few prothalli become bisexual.

KEYWORDS: *Polypodium feuillei*, spore, gametophyte, morphology, sexual expression.

INTRODUCCION

Polypodium es un género grande y de circunscripción taxonómica compleja, que incluye unas 180 especies pantropicales, con aproximadamente 100 especies exclusivas de los trópicos americanos. En zonas templadas circumboreales sólo está presente el complejo *Polypodium vulgare* L. (Hennipman *et al.* 1990).

Polypodium feuillei Bertero es un helecho epífito con rizomas carnosos; sus frondas tienen hasta 50-60 cm, con estípites de una longitud equivalente a 1/2 - 1/3 del largo total de la fronda; las pinnas son aovadas a triangulares, con 3-9 segmentos con margen irregularmente crenado-serrulado. Los soros son ovalados, de hasta 6 mm de longitud y de color naranja. Rodríguez (1995) señala dos variedades: *P. feuillei* var. *feuillei*, con pinnas con márgenes levemente serrulados y *P. feuillei* var. *ibañezii* Looser, con pinnas que presentan márgenes marcadamente dentados.

La fase gametofítica de diferentes especies de *Polypodium* ha sido estudiada en numerosos trabajos, como los de Pickett & Thayer (1927), Nayar (1962), Atkinson & Stokey (1970), Nayar & Raza (1970) y Reyes Jaramillo & Pérez-García (1994), entre otros. Lloyd (1981) y Tryon & Lugardon (1990) analizaron la morfología de las esporas de algunas especies, entre otras las de *P. aureum* L., *P. latipes* Langsd. & Fisch., *P. polypodioides* (L.) Watt. y *P. sessilifolium* Desv. Villagrán (1980) describe e ilustra la espora de *P. feuillei*, mientras que de la Sota *et al.* (1998) incluyen una imagen sin descripción. Nayar & Kaur (1971) resumen el conocimiento general de desarrollo del gametófito y de la morfología esporal de Polypodiaceae hasta ese momento.

En este trabajo se presenta un estudio sobre el desarrollo del gametófito de *P. feuillei* desde la germinación de la espora hasta su completa maduración. Los resultados se comparan con datos conocidos sobre las esporas, desarrollo y morfología de los gametófitos de otras especies del género y de otras Polypodiaceae.

MATERIALES Y METODOS

Las esporas empleadas en este estudio fueron obtenidas de esporófitos recolectados en Argentina, Chubut, Parque Nacional Los Alerces, 19/XI/2006, Prada & Lavalle, que se encuentran depositados en el herbario

de la Universidad Complutense de Madrid (Biológicas), MACB.

Las esporas se obtuvieron de dos esporófitos de la citada localidad, mantenidos secos a temperatura ambiente desde que fueron recolectados en el campo. Se realizaron cultivos multispuros en agar mineral (Dyer 1979), agitando una pinna fértil sobre un papel de pesar y, posteriormente, pasando las esporas a placas Petri. La siembra de cada muestra se replicó dos veces. Los gametófitos crecieron en placas Petri de 6 cm de diámetro, bajo luz fluorescente en ciclos de 12 horas de luz-oscuridad, a $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Los porcentajes de germinación se obtuvieron de una muestra aleatoria de 50 esporas de cada placa, cada tres días, hasta que los valores se estabilizaron. Se consideró como germinada toda espora que mostró la emergencia del primer rizoide.

Semanalmente se tomaron muestras aleatorias para el estudio de las diferentes fases de desarrollo de los gametófitos, desde la germinación de la espora hasta la madurez sexual. Los gametófitos extraídos de las placas fueron teñidos con hidrato de cloral acetocarmín (Edwards & Miller 1972), se montaron en agua y se observaron en un microscopio óptico. Se hicieron también observaciones en vivo. Las fotografías se tomaron con una cámara Nikon Coolpix MDC.

RESULTADOS

ESPORAS Y GERMINACIÓN

Polypodium feuillei presenta esporas monoletes, reniformes a elipsoidales, de (70-) 75 (-80) $\frac{1}{4}$ m de longitud, con perisporio verrucoso o tuberculado (Fig. 1a). Desde la recolección de los esporófitos en el campo hasta la siembra de las esporas transcurrieron 4 semanas. Durante la primera semana, a los 5 días de la siembra, algunas esporas desarrollaron un pequeño rizoide y a los 8 días el porcentaje de esporas germinadas era ya del 50%. El porcentaje más alto de germinación fue del 78%, a los 19 días después de la siembra y a los 14 días de la primera evidencia de germinación. En los días subsiguientes se pudieron apreciar leves oscilaciones de los porcentajes, que no superaron en ningún caso el máximo obtenido previamente.

DESARROLLO DE LOS GAMETÓFITOS

Las etapas más representativas observadas en el desarrollo del gametófito en *P. feuillei* se resumen a continuación.

Durante la primera semana después de la germinación aparecen nuevos rizoides y también las primeras células protálicas (Fig. 1b). La germinación de las esporas sigue un modelo tipo *Vittaria*, ya que la primera célula protálica se forma por una división perpendicular a la del rizoide (Nayar & Kaur 1968).

A partir de esta etapa se desarrolla una fase filamentososa, que llega a un tamaño de 4-6 células hacia el final de la segunda semana (Fig. 1c). Los restos de la cubierta esporal suelen mantenerse largo tiempo unidas al protalo. Una vez formado este filamento, la célula apical experimenta divisiones que dan origen a un cuerpo de forma espatulada (Fig. 1d), cuyo crecimiento se prolonga durante 5-6 semanas más. Este cuerpo espatulado puede tener 5-8 células de anchura en el ápice (Fig. 1e, f). Posteriormente, se organiza el meristemo apical, se forma la escotadura y el protalo adquiere forma cordada, a la vez que comienzan a formarse los primeros tricomas marginales (Fig. 1g, h).

Este modelo de ontogenia del protalo de *P. feuillei* se ajusta al esquema del tipo *Drynaria* descrito por Nayar & Kaur 1969.

FORMAS ADULTAS, GAMETANGIOS Y EXPRESIÓN SEXUAL

La madurez sexual se alcanza una vez transcurridas unas 25 semanas desde la germinación. En esta etapa, *P. feuillei* produce dos tipos morfológicos de gametófitos, los femeninos anchamente cordados, con alas grandes bien desarrolladas (Fig. 2a) y los masculinos, más pequeños y algo alargados (Fig. 2c). Una pequeña cantidad de protalos masculinos puede presentar también una forma levemente cordada, pero siempre son más pequeños que los femeninos de la misma edad.

Los gametófitos femeninos forman numerosos arquegonios que se sitúan entre la escotadura y los rizoides y pueden ocupar toda la zona central del protalo (Fig. 2a, b). Los gametófitos masculinos desarrollan pocos anteridios y éstos suelen ser superficiales y situarse hacia la zona de los rizoides, entre ellos u, ocasionalmente, en posición marginal (Fig. 2c, d). Pese a su pequeño tamaño, también se han encontrado con abundantes anteridios.

También, en muy escasa proporción y hacia el final del período de observaciones, se pudo apreciar la presencia de gametófitos bisexuales portadores de numerosos arquegonios entre la zona central y la escotadura, además de 1-2 anteridios entre los rizoides.

La secuencia de aparición de órganos sexuales en los protalos se detalla a continuación.

A las 25 semanas de la germinación, el 20% de los gametófitos son fértiles y femeninos, con los gametangios jóvenes o sin abrir (en un solo caso se observaron arquegonios maduros mientras el resto de los protalos permanecía estéril).

A las 29 semanas de la germinación el 54 % de los protalos continuaban estériles, el 41 % eran femeninos y un 5 % de masculinos había empezado a aparecer.

A las 32 semanas de la germinación, se observó un 60 % de protalos estériles. De estos, la mayoría presentaba forma cordada, aunque también había abundantes espatulados y escasos filamentosos; 30 % eran femeninos, 7 % masculinos y 3 % bisexuales. Estos protalos bisexuales provinieron de femeninos, dado que su tamaño es grande, similar al de los femeninos, y portan un elevado número de arquegonios y escasos anteridios.

A las 36 semanas de la germinación se realizó el último recuento. En ese momento, se hallaron 55 % de protalos fértiles, de los cuales, 35 % eran femeninos, 14 % masculinos y 6% bisexuales. Los protalos estériles espatulados eran aún abundantes.

TRICOMAS

En fases tempranas del desarrollo, coincidiendo con el paso de la forma de crecimiento espatulada a la cordada, los gametófitos de *P. feuillei* desarrollan pelos marginales. Estos pelos son cónicos o claviformes, unicelulares, tienen (30-) 35 (-40) $\frac{1}{4}$ m y se forman por una división transversal de una célula del margen de la lámina (Fig 3a-c). La cantidad de pelos marginales va aumentando con la edad y el tamaño del gametófito.

A medida que los gametófitos maduran, se desarrollan nuevos tricomas, de morfología y distribución variables. Los tipos observados y su distribución son los siguientes:

1- Pelos 1-2 celulares, largos, similares a los marginales descritos arriba, de hasta 50 $\frac{1}{4}$ m de largo. Estos tricomas son característicos de la cara abaxial de los gametófitos tanto femeninos como masculinos (Fig. 3d, e).

2- Pelos ramificados más grandes, de hasta 100 $\frac{1}{4}$ m, con una célula basal cilíndrica, un cuerpo dividido en dos ramas desiguales, una de las cuales suele volver a dividirse, y con algunas de las ramas rematadas en una célula apical globosa o elipsoidal. Estos tricomas se encuentran solamente en gametófitos femeninos, por debajo de la escotadura (Fig. 3f).

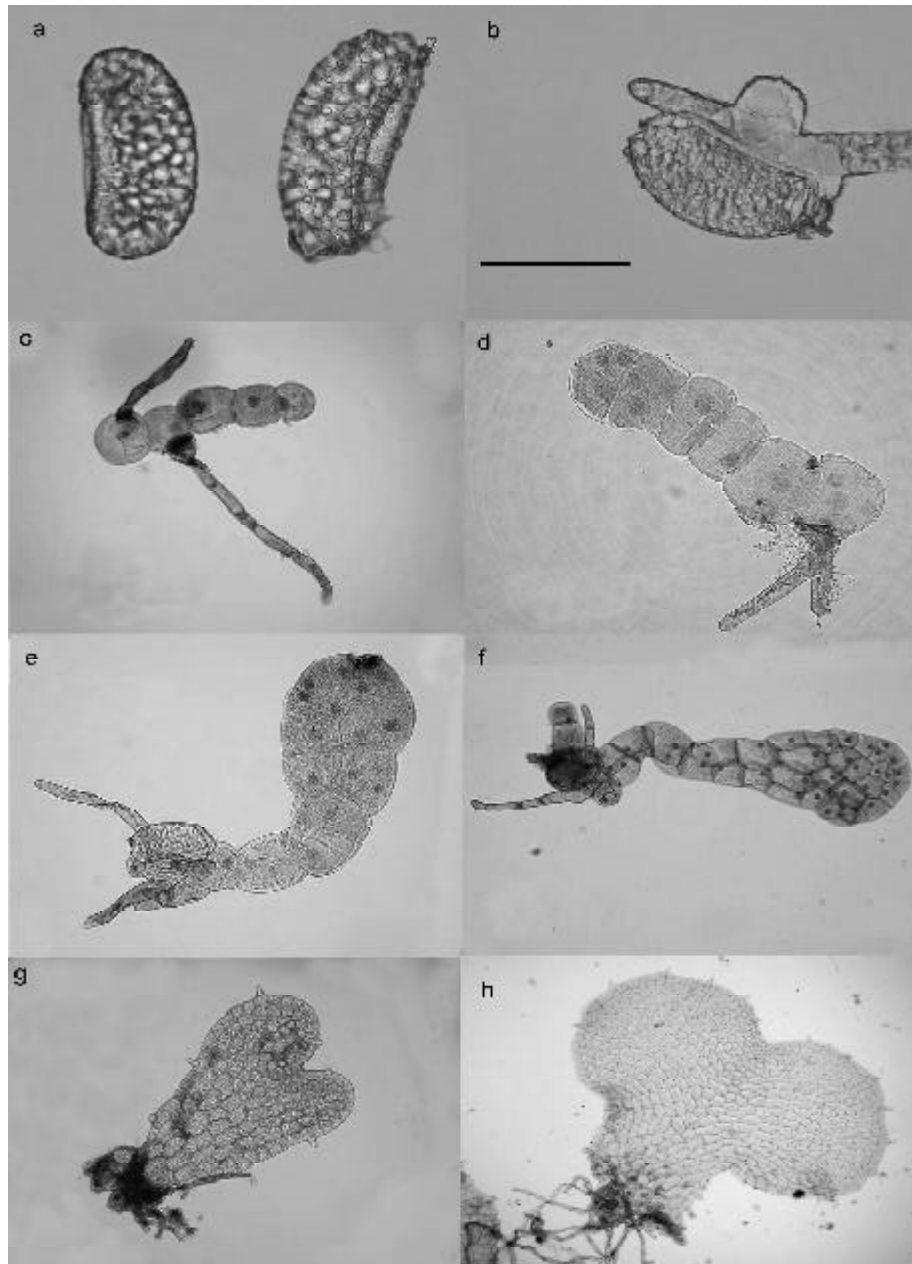


FIGURA 1. Desarrollo del gametófito de *Polypodium feuillei*. a) espora, 3 días; b) espora germinada, 6 días; c) filamento de 5 células, previo al estado laminar, 2 semanas; d) primeras divisiones transversales en el ápice, 3 semanas; e-f) crecimiento laminar espatulado, 7 y 9 semanas respectivamente; g) adquisición de la forma cordada y desarrollo de pelos marginales, 16 semanas; h) aumento de tamaño, previo a la madurez sexual, 24 semanas. El tiempo que se indica corresponde al momento desde la germinación de la espora. Barra: a = 40 μ m; b = 50 μ m; c y d = 100 μ m; e y f = 140 μ m; g = 200 μ m; h = 230 μ m.

FIGURE 1. Gametophyte development in *Polypodium feuillei*: a) spore, 3 days; b) germinated spore, 6 days; c) 5-cell filament prior to laminar stage, 2 weeks; d) first apical transverse divisions, 3 weeks; e-f) spatulate growth, 7 and 9 weeks, respectively; g) cordate form and development of marginal hairs, 16 weeks; h) increase in size prior to sexual maturity, 24 weeks. Time is measured from spore germination. Bar: a = 40 μ m; b = 50 μ m; c y d = 100 μ m; e y f = 140 μ m; g = 200 μ m; h = 230 μ m.

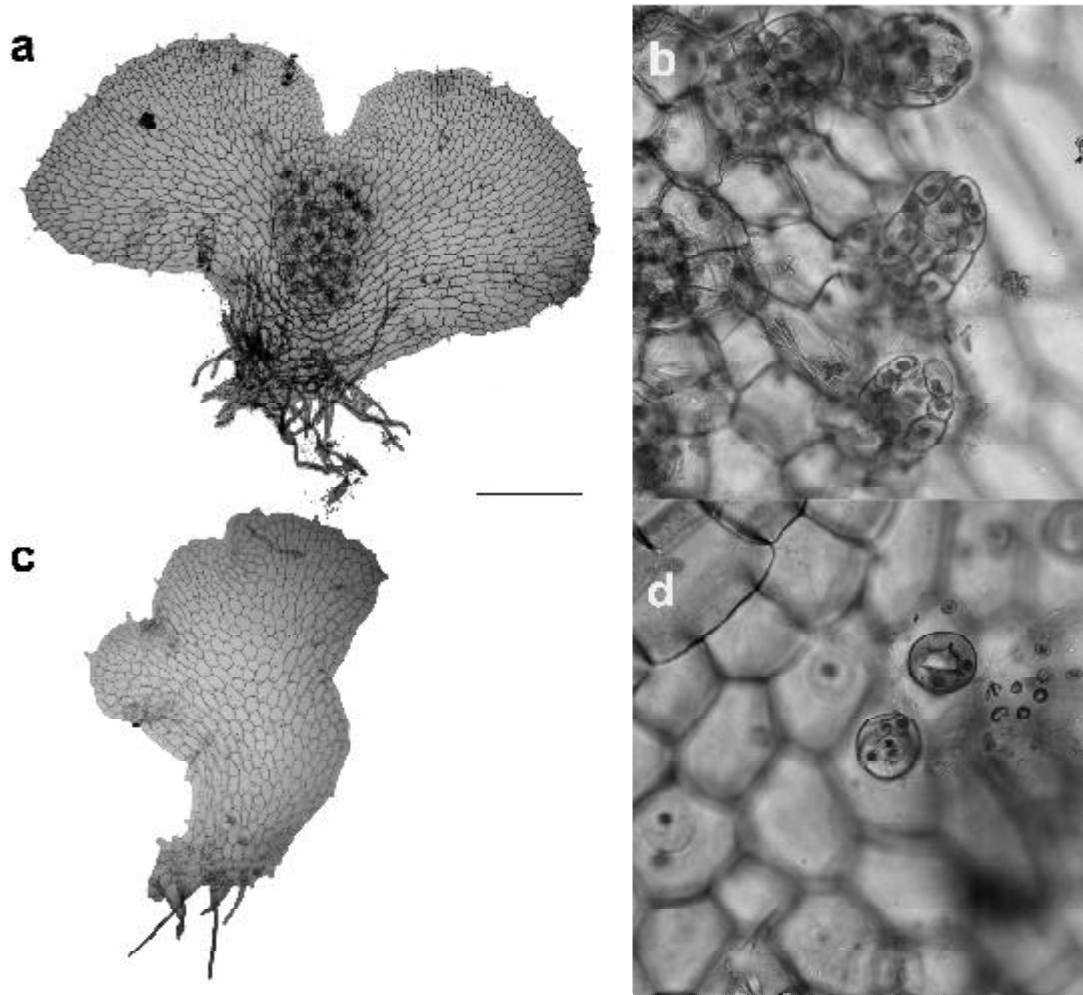


FIGURA 2. Formas maduras de gametófitos en *Polypodium feuillei*. a) gametófito femenino; b) detalle de arquegonios; c) gametófito masculino; d) detalle de los anteridios. En todos, 31 semanas desde la germinación. Barra: a = 0,8 mm; c = 0,2 mm; b and d = 50 μ m.

FIGURE 2. Mature gametophytes in *Polypodium feuillei*. a) female gametophyte; b) detail of archegonia; c) male gametophyte; d) detail of antheridia. In all, 31 weeks from germination. Bar: a = 0,8 mm; b and d = 50 μ m; c = 0,2 mm.

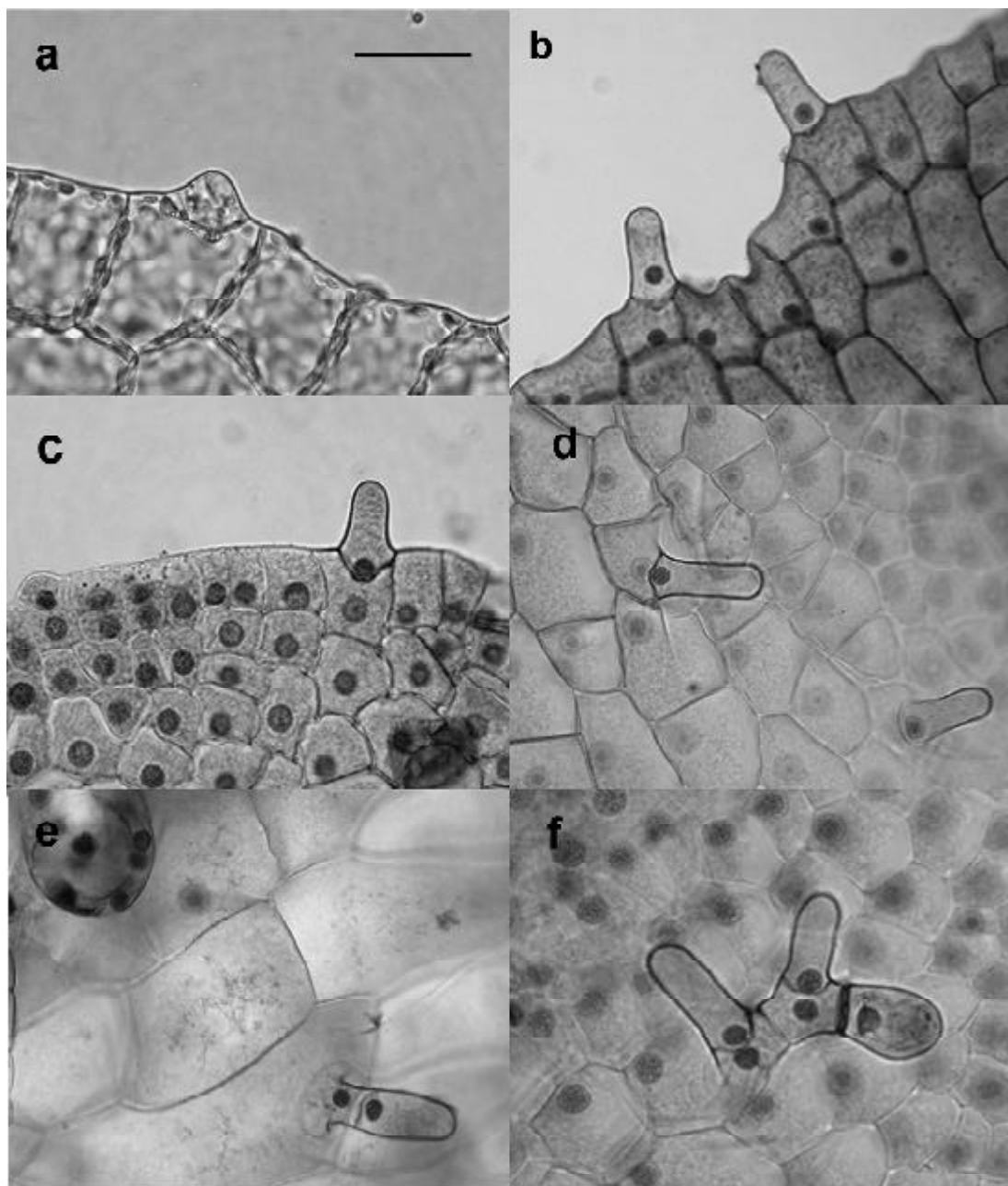


FIGURA 3. Tricomas en *Polypodium feuillei*. a) detalle de la formación de un tricoma marginal mediante división transversal, en un gametófito joven, 16 semanas; b-c) pelos marginales en estado adulto, 29 semanas; d) pelos superficiales unicelulares en un gametófito femenino, 29 semanas; e) pelos superficiales 2-celulares en un gametófito femenino, 30 semanas; f) pelos ramificados en un gametófito femenino, 32 semanas. El tiempo que se indica corresponde al momento desde la germinación. Barra: 40 $\frac{1}{4}$ m en todos los casos.

FIGURE 3. Hairs in *Polypodium feuillei*. a) detail of hair formation by transversal division in a young gametophyte, 16 weeks; b-c) marginal hairs in adult stage, 29 weeks; d) superficial unicellular hairs in a female gametophyte, 29 weeks; e) superficial 2-cellular hairs in a female gametophyte, 30 weeks; f) branched hairs in a female gametophyte, 32 weeks. Time is measured from spore germination. Bar: 40 $\frac{1}{4}$ m in all.

DISCUSION

Las esporas de *P. feuillei* se incluyen en general dentro del tipo morfológico conocido para la familia. Poseen apertura monolete, son elipsoidales y grandes, con un diámetro mayor de hasta 80 $\frac{1}{4}$ μ m de promedio, una medida que se encuentra en el rango asignado por Tryon & Lugardon (1990) para las especies de *Polypodium* y por Villagrán (1980) para *P. feuillei*. La ornamentación verrucosa es otro de los rasgos esporales comunes en el género (Nayar & Kaur 1971, Villagrán, 1980, de la Sota *et al.* 1998). La germinación de la espора responde al patrón de tipo *Vittaria* (Nayar & Kaur, 1968), caracterizado porque la emergencia de la célula protálica se produce perpendicularmente en relación con el primer rizoido.

Las diferencias observadas en tiempo y vigor de la germinación con respecto a otras especies de *Polypodium* se pueden deber, entre otros factores, al tiempo transcurrido entre la recolección de las esporas y su siembra en el laboratorio, relación ya conocida (Raghavan 1989).

Por lo que respecta al tiempo que tarda la espора en germinar, el proceso observado aquí se produce más rápidamente que en las *Polypodiaceae* del Viejo Mundo estudiadas por Nayar (1962), cuya germinación se produce hasta 30 días después de la siembra. En el caso aquí estudiado, la germinación de *P. feuillei* tuvo lugar en el curso de la primera semana después de la siembra y este tiempo es menor que el observado para otras especies americanas de *Polypodium*, caso de las dos semanas registradas para *P. lepidotrichum* (Feé) Maxon por Reyes Jaramillo & Pérez-García (1994), aunque similar a la advertida para especies de otros géneros, como *Microgramma nitida* (J.Sm.) A.R. Smith (Ramírez & Pérez-García 1998).

También es destacable en *P. feuillei* el porcentaje de germinación moderadamente elevado (78%). En *P. lepidotrichum* se reporta una viabilidad alta, del 95%, con medios y condiciones de cultivo similares (Reyes Jaramillo & Pérez-García 1994), pero en ese caso no se ha especificado el tiempo transcurrido entre la recolección y la siembra de las esporas.

En el proceso de germinación de las esporas de *Polypodium feuillei* se han observado varias gotas grandes de aceite, de color amarillo-dorado. La presencia de gotas de aceite producidas en el momento de la germinación, a partir de las reservas lipídicas

de la espора, parece ser un fenómeno común, inherente a la germinación misma, observado no solo en especies de *Polypodiaceae* (Ramírez & Pérez-García 1998), si no también en muchas otras (Raghavan 1989).

La secuencia del desarrollo morfológico del gametófito de *P. feuillei* tras la germinación coincide con el llamado tipo *Drynaria* (Nayar & Kaur 1969). La actividad de un meristema apical situado en el polo opuesto al rizoidal del gametófito, conduce a la formación de un protalo maduro de forma cordada, con escotadura y con tricomas marginales. La aparición de los tricomas es tardía debido a una prolongación en el tiempo de las etapas filamentosa y espatulada, que son desnudas.

Las observaciones realizadas aquí se corresponden con este modelo, compartido por otros géneros de *Polypodiaceae*, si bien los tiempos que transcurren entre las etapas de desarrollo del protalo difieren algo en otros géneros y especies de la familia. Las esporas de *P. feuillei* germinan más rápidamente que las de *P. lepidotrichum*, aunque las formas filamentosas y laminares de ambas se forman transcurrido un tiempo similar desde la germinación. Los protalos de *P. feuillei* generan su meristema y llegan a la etapa cordada a las 5-7 semanas después de la germinación de la espора, como en *Microgramma nitida* (Ramírez & Pérez García 1998), mientras que en *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger y en *P. lepidotrichum* la etapa cordada tarda 60 ó más días en producirse (Reyes Jaramillo *et al.* 1996 y Reyes Jaramillo & Pérez-García 1994, respectivamente).

La aparición de los pelos marginales tiene lugar aproximadamente al mismo tiempo en las polipodiáceas citadas, pero es más lenta en *P. feuillei*: más de 100 días después de la germinación, frente a los 60 días señalados para *P. lepidotrichum* y otras especies del género, como *P. amoenum* Wall. ex Mett. (Reyes Jaramillo & Pérez-García 1994). La presencia de pelos unicelulares marginales originados al iniciarse la fase cordiforme del gametófito es corriente en *Polypodiaceae*, una familia que parece contar también con un alto número de especies con pelos ramificados: *P. chnoodes* Spr., *P. heracleum* Kze., *P. pectinatum* Schkuhr, *P. plebejum* Schl. & Cham., *P. repens* Sw. y *P. vexatum* Eat. se han citado entre las más pilosas del género (Stokey 1960). *Polypodium feuillei* presenta pelos ramificados 3-5 (7) celulares, del tipo presente en *Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farw. y en *Pessopteris crassifolia* Underw. & Maxon (como

Niphidium crassifolium). Los pelos unicelulares capitados marginales y superficiales que se observaron en *P. feuillei* son frecuentes en helechos leptosporangiados avanzados pero, dado que los pelos ramificados son menos habituales en general (Stokey 1960), la coexistencia de pelos simples y ramificados, como sucede en *P. feuillei*, parece ser más rara.

El desarrollo de los gametangios y la secuencia de la expresión sexual en *P. feuillei* coincide con la estudiada para otras especies del género (Davie 1951, Nayar 1962) y no se observaron anomalías. El desarrollo de los gametangios coincide con el observado para *P. lepidotrichum* (Reyes Jaramillo & Pérez-García 1994), aunque difiere de la considerada generalizada para helechos homosporados por Atkinson & Stokey (1964), una secuencia en que los anteridios aparecen siempre antes que los arquegonios.

Las observaciones efectuadas aquí en relación con la expresión sexual de los gametófitos de *P. feuillei*, permite destacar aspectos que se consideraran de interés sobre su biología reproductiva. La coexistencia de protalos unisexuales femeninos, masculinos y bisexuados en *P. feuillei* sugiere un comportamiento sexual complejo que involucra la práctica de diversas estrategias reproductivas simultáneas que derivan, seguramente, en una mayor diversidad genética y por ende, en un mayor éxito biológico (Klekowsky & Lloyd 1968). La presencia masiva de protalos unisexuales en poblaciones artificiales de *P. feuillei* indica, *a priori*, que hay una tendencia a la fecundación intergametofítica, pero que también es posible la fecundación intragametofítica, por la presencia de un pequeño porcentaje de protalos bisexuales. La hipótesis de que se tiende en primera instancia a la fecundación cruzada estaría apoyada por la aparición en los cultivos, en primer lugar, de gametófitos unisexuales, que se producen mucho antes que los bisexuales. Resta por analizar si estas estrategias reproductivas se manifiestan de igual manera en poblaciones gametofíticas naturales. Además, el desarrollo de protalos femeninos antes que masculinos, y la diferencia en tamaño y forma entre ambos, podría sugerir la existencia de un sistema de anteridiógeno que controlara la expresión sexual en las poblaciones de gametófitos (Schneller *et al.* 1990). De esta forma, los gametófitos femeninos que se producen antes que otros, alcanzan mayor tamaño que los formados

posteriormente, masculinos o bisexuales. Al tiempo que van madurando los arquegonios, el anteridiógeno intervendría para inducir el desarrollo precoz de anteridios en protalos estériles, lo que explicaría por qué los gametófitos masculinos suelen ser mucho más pequeños y no alcanzan la forma cordada típica. Un sistema de anteridiógeno de este tipo ha sido reportado por Chiou & Farrar (1997) para varias *Polypodiaceae*, una hipótesis explicativa que estudios adicionales sobre *P. feuillei*, permitiría confirmar o ampliar.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la aportación de dos revisores anónimos en la mejora del manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

- ATKINSON, L.R. & A.G. STOKEY. 1964. Comparative morphology of the gametophyte of homosporous ferns. *Phytomorphology* 14: 51-71.
- ATKINSON, L. R. & A. G. STOKEY. 1970. Gametophyte of *Polypodium chnoodes*. *Phytomorphology* 20: 363-367.
- CHIOU, W.L. & D.R. FARRAR. 1997. Antheridiogen production and response in Polypodiaceae species. *American Journal of Botany* 84: 633-640.
- DAVIE, J.H. 1951. Development of antheridium in the Polypodiaceae. *American Journal of Botany* 38: 621-628.
- DE LA SOTA, E., M. PONCE, M. MORBELLI & L. CASSÁ DE PAZOS. 1998. Pteridophyta. In: *Flora Patagónica I* (Ed. M.N. Correa), pp. 282-369. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires.
- DYER, A. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigation. In: *The experimental biology of ferns* (Ed. A. Dyer), pp. 254-305. Academic Press, Londres.
- EDWARDS, M.E. & J.H. MILLER. 1972. Growth regulation by ethylene in fern gametophytes III. Inhibition of spore germination. *American Journal of Botany* 59: 458-465.
- HENNIPMAN, E., P. VELDHOEN & K. U. KRAMER. 1990. Polypodiaceae. In: *The families and genera of vascular plants*, vol. 1 (Ed K. Kubitzki), pp. 203-230. Springer-Verlag, Berlin.
- KLEKOWSKY, E.J. & R.M. LLOYD. 1968. Reproductive biology of the Pteridophyta I. General considerations and a study of *Onoclea sensibilis* L. *Journal of the Linnean Society, Botany* 60: 315-324.
- LLOYD, R. 1981. The perispore in *Polypodium* and related genera (Polypodiaceae). *Canadian Journal of Botany* 59(2): 175-189.

- NAYAR, B. K. 1962. Morphology of spores and prothalli of some species of Polypodiaceae. *Botanical Gazette*. 123: 223-232.
- NAYAR, B.K. & S. KAUR. 1968. Spore germination in homosporous ferns. *Journal of Palynology* 4: 1-14.
- NAYAR, B.K. & S. KAUR. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. *Phytomorphology* 19: 171-188.
- NAYAR, B.K. & S. KAUR. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *The Botanical Review* 37: 295-396.
- NAYAR, B.K. & F. RAZA. 1970. Morphology of the prothalli of some species of Polypodiaceae. II. *Lepisorus loriformis*, *L. thunbergianus*, *Polypodium vulgare* and *Weatherbya accedens*. *Journal of the Indian Botanical Society* 49: 81-86.
- PICKETT, F.L. & L.A. THAYER. 1927. The gametophytic development of certain ferns: *Polypodium vulgare* var. *occidentale* and *Pellaea densa*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*: 54: 249-255.
- RAGHAVAN, V. 1989. Developmental biology of fern gametophytes. University Press, Cambridge. 361 pp.
- RAMÍREZ, M.R. & B. PEREZ-GARCIA. 1998. Fase gametofítica del helecho *Microgramma nitida* (Polypodiaceae). *Revista de Biología Tropical* 6: 587-593.
- REYES JARAMILLO, I. & B. PEREZ-GARCIA. 1994. Morfología y estrategias reproductivas del gametofito de *Polypodium lepidotrichum* (Feé) Maxon (Polypodiaceae). *Acta Botanica Mexicana* 28: 71-78.
- REYES JARAMILLO, I., B. PEREZ-GARCIA & A. MENDOZA. 1996. Desarrollo del gametofito y del esporófito joven de *Niphidium crassifolium* (Filicales: Polypodiaceae s.str.). *Revista de Biología Tropical* 44: 485-490.
- RODRIGUEZ, R. 1995. Pteridophyta. In: *Flora de Chile*, vol. 1 (Eds. C. Marticorena & R. Rodríguez), pp. 119-307. Ediciones Universidad de Concepción, Concepción.
- SCHNELLER, J.J., C.H. HAUFLER & T.A. RANKER. 1990. Antheridiogen and natural gametophyte populations. *American Fern Journal* 80: 143-152.
- STOKEY, A.G. 1960. Multicellular and branched hairs on the fern gametophyte. *American Fern Journal* 50: 78-87.
- TRYON, A. & B. LUGARDON. 1990. Spores of the Pteridophyta. Springer-Verlag, Nueva York. 648 pp.
- VILLAGRAN, C. 1980. Vegetationsgeschichtliche und pflanzensoziologische Untersuchungen im Vicente Pérez Rosales Nationalpark (Chile). *Dissertationes Botanicae* 54: 1-165.

Recibido:
Aceptado: