

## 2. INVESTIGACIONES EXPERIMENTALES DE LAS ESPORAS DE ALSOPHILA SALVINII HOOKER

J.A. LAGOS<sub>1</sub>, M. KEDVES<sub>2</sub>, M. MADARÁSZ<sub>2</sub> y O. BÉRES<sub>2</sub>

1. Col. Miramonte Pje. N° 10, 3034, San Salvador, El Salvador, 2. Laboratorio de Biología celular y Micropaleontología evolutiva de la Universidad Szeged, Apartado Postal 993, H-6701, Szeged, Hungría..

### Resumen

Se investigó la morfología de las esporas, frescas y experimentalmente alteradas, de *Alsophila salvinii* con el microscopio óptico (LM). En nuestro material se observó la forma básica trileta y, algunas veces, la monoleta. El protoplasma está lleno de diferentes organelas granulares. Algunos de éstos son similares a los plastidios y presentan pirenoides que son característicos de los cloroplastos de las algas. Se investigaron alteraciones como consecuencia de la hidratación, alta temperatura y los diferentes reactivos químicos. Se investigó estadísticamente la tendencia de la alteración del diámetro y la circunferencia de las esporas. Las esporas de esta especie son, en general, relativamente resistentes a las influencias experimentales.

### Introducción

Existe mucha información sobre la presencia de las esporas de los helechos arborescentes en épocas geológicas pasadas, pero este interesante helecho es un constituyente importante de la presente vegetación tropical.

Hay muchas opiniones en torno a la taxonomía de este helecho, por ejemplo HARRIS (1955) en su libro enfatiza lo siguiente, p. 97: "El único género que aquí se discute es *Cyathea*, en el cual están incluidas las especies que antes eran referidas a *Alsophila* y *Hemitelia*". Posteriormente WELMAN (1970) menciona el género *Cyathea* SM. que comprende alrededor de 800 especies encontradas en las regiones tropicales. Hay muchas publicaciones relacionadas con la morfología de esporas recientes y fósiles de este género de helecho. Entre las más importantes monografías citamos las de TRYON y LUGARDON (1991). Ellos estudiaron 34 especies del género *Alsophila* R. BROWN. Se publicaron las microfotografías electrónicas de barrido (SEM) de *A. minor* (D.C. EATON) TRYON, *A. capensis* (L.F.) J.S.M., *A. dregei* (KZE) TRYON, *A. bryophylla* x *Nephelea portoricensis*, *A. caudata* HOOK., *A. podophylla* HOOK., *A. tricolor* (COLENSO) TRYON, *A. decurrens* HOOK., *A. bryophylla* TRYON. De *A. bryophylla* fueron publicadas la ultraestructura de la pared.

Durante las investigaciones de aeropalinología en Taipei, CHEN y HUANG (1980) mencionaron la presencia de esporas de helechos en la atmósfera. HUANG (1998) incluye en su monografía, como esporas anemófilas, del helecho arborescente *Cyathea lepifera*.

LÖTSCHERT (1959) y SEILAR (1980) señalan la presencia de *Alsophila salvinii* en El Salvador. WETTSTEIN (1944) y ENGLER (1954) confirman la existencia del género *Alsophila* y mencionan otras especies. *Alsophila salvinii* HOOKER es un helecho arbores-

cente que alcanza hasta 7 metros de altura; se distribuye en altitudes entre 700 y 2500 metros: las hojas son grandes, alcanzando hasta 1.50 m. de longitud, bipinnadas y son soros sin induso en el envés de las pínulas. Crece, con frecuencia, en los bosques nebulosos.

Tomando en consideración la importancia de las esporas, hemos iniciado un programa de investigaciones sobre estudios experimentales de *Alsophila salvinii*. En el presente trabajo se ha resumido los primeros resultados con el microscopico óptico (LM).

## Materiales y Metodos

El material para la investigación fue recolectado por el primer autor

Los experimentos son como sigue:

T-9-P-73 esporas frescas montadas en gel de glicerina: T-9-P-81 tratadas con solución KJ.J.

3 mg de esporas + 5ml de agua destilada a 30°C durante 24 horas (T-9-P-78) y 120 horas (T-9-P-79).

5 mg de esporas + 1 ml de 2-aminoetanol a 30°C durante 24 horas (T-1/7-1300), 48 horas (T-1/7-1321) y 72 horas (T-1/7-1322). T-1/7-1323 comenzando como T-1/7-1300, después de lavarlas + 10 de  $\text{KMnO}_4$  al 1%. T-1/7-1324 comenzando como T-1/7-1321, T, T-1/7-1325 comenzando como 1322 después lavar + 10 ml  $\text{KMnO}_4$ .

3 mg de esporas calentadas a 200°C durante 10 minutos (T-9-P--74), 1 hora (T-9--P-75), 5 horas (T-9-P-76), 10 horas (T-9-P-77) y 25 horas (T-9-P-80). Las esporas fueron montadas en gel de glicerina hidratada al 39.6% (LOBREAU, 1966), después de los experimentos.

Se investigaron las siguientes características:

- 1 - El tamaño y el diámetro de las esporas.
- 2 - La distribución de las esporas en posición polar y ecuatorial.
- 3 - La esporádica presencia de la forma monoleta entre la característica forma trileta dominante.
- 4 - El aspecto de las caras triangular, convexa y cóncava.
- 5 - Finalmente la forma triplanoide y triplana.

Debemos de enfatizar, después de PFLUG (1953), que las alteraciones trilete - triplana - poroplana son importantes en la evolución de los granos de polen de las primitivas angiospermas de Europa, para la taxa del grupo de los Normapolles. Diferentes investigaciones se han publicado sobre las variaciones morfológicas de las esporas triletas, por ejemplo: SLADKOV (1957, 1959a,b, 1961, 1962), DEÁK (1959), KEDVES (1960, 1961). M. VAN CAMPO (1961) investigado las alteraciones secundarias del área de las aperturas. El objetivo de su investigación fue lo relacionado con el apareamiento del toro (kyrtom) alrededor de las bifurcaciones de los ángulos de la tétrada en las esporas triletas. HUANG (1981) ha recopilado, en un resumen muy útil, lo relaciondao con la morfología básica obtenida con el microscopico óptico (LM) en la que incluye la variedad de las formas de las espóras de las Pteridófitas.

## Resultados

En los cuadros siguientes se exponen las diferentes clases de alteraciones a consecuencia de los experimentos.

### A - Diámetro de las esporas en posición polar.

Numero del experimento	Tamaño (µm %)								Tamaño dominante (µm)	Promedio (µm, %)
	22.5	25	27.5	30	32.5	35	37.5	40		
T9-P-73			2.0	9.5	25.5	38.0	22.5	2.5	35.0	34.43
T9-P-81			0.5	9.0	22.0	40.5	27.0	1.0	35.0	34.68
T9-P-78		1	11.5	27.5	42	17.5	0.5		35	34.13
T9-P-79		4	20	29	33	14			32.5; 35	33.32
1/7-1320	0.5	2.0	13.5	20.0	39.5	22.0	2.5		32.5	31.8
1/7-1321		5.5	23.5	29.5	24.0	16.0	1.5		30.0	30.68
1/7-1322		7.0	25.5	21.0	22.5	19.5	4.5		27.5	30.88
1/7-1323		1.5	7.5	21.5	30.0	22.5	16.5	0.5	32.5	32.9
1/7-1324			3.5	16.0	23.0	29.5	26.0	2.0	35.0;37.5	34.1
1/7-1325			3.5	12.0	24.0	28.5	30.0	2.0	35.0;37.5	34.38
T9-P-74			3.0	20.0	30.5	28.0	18.0	0.5	32.5;35.0	33.48
T9-P-75		1.0	14.5	30.5	26.5	20.5	7.0		30.0;32.5	31.8
T9-P-76		2.5	26.0	26.5	25.5	14.5	4.5	0.5	27.5;30.0;32.5	30.98
T9-P-77		2.5	17.5	32.0	26.5	16.0	5.5		30.0;32.5	31.3
T9-P-80			8.5	32.0	32.5	23.0	4.0		30.0;32.5	32.05

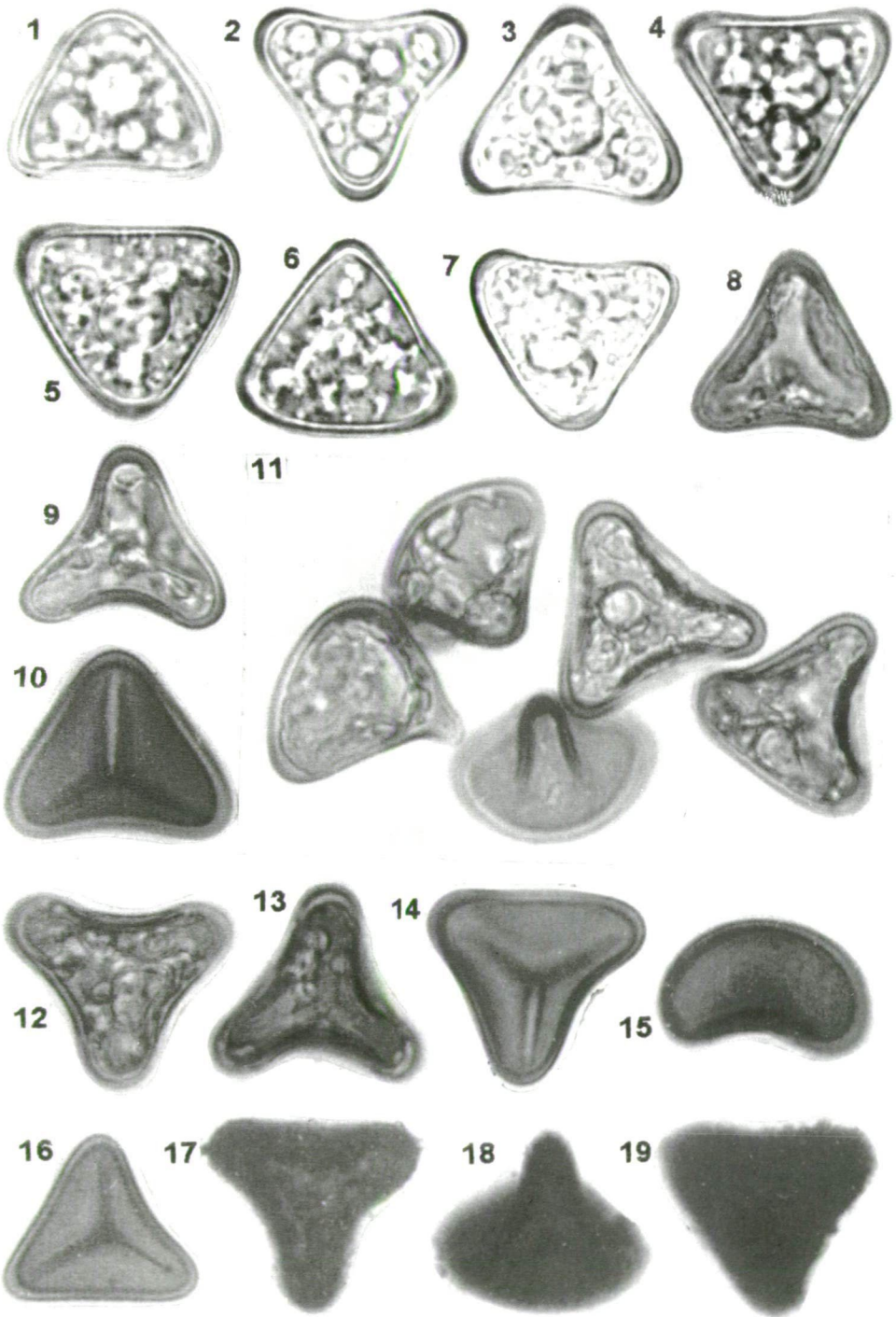
1 - El tamaño de las esporas frescas (T-9-P-74, T-9-P-81) y las esporas hidratadas durante 24 horas son más o menos iguales. La tendencia a la disminución del diámetro se presenta después de 120 horas de hidratación..

2. - El máximo tamaño disminuyó con el tratamiento con 2-aminoetanol durante 24, 48, y 72 horas (Experimentos No.: T-9-P-74, 75, 76). Se observó una notable tendencia a expandirse cuando las esporas fueron tratadas con 2-aminoetanol y  $KMnO_4$ .

3 - Los resultados con la alta temperatura fueron más o menos regulares, pero no característicos, en la disminución del diámetro de las esporas.

### B - Variedad de formas.

	polar					equatorial	monoleta
	triangular	convexa	cóncava	triplanoide	triplane		
T9-P-73	15.5	12.5	18.0	2.0		53.0	
T9-P-81	17.0	2.0	14.0	20.5		46.5	
T9-P-78	16	9	21	8	1.5	44.5	
T9-P-79	8	2.5	18	7.5		3.5	0.5
1/7-1320	6.0	5.5	19.5	49.0	4.0	16.0	
1/7-1321	7.5	4.0	25.5	37.0	2.0	24.0	
1/7-1322	4.0	2.5	29.0	38.0	0.5	25.0	1.0
1/7-1323	6.5	2.5	33.0	38.5	1.0	17.5	1.0
1/7-1324	10.5	3.5	31.0	30.5		24.0	0.5
1/7-1325	10.0	6.0	34.5	31.0	2.0	16.5	
T9-P-74	6.0	2.0	26.0	16.0		50.0	
T9-P-75	2.5	2.0	31.5	22.5		41.0	0.5
T9-P-76	0.5	2.5	28.0	41.0	0.5	27.0	
T9-P-77	1.5	0.5	25.0	54.0		19.0	
T9-P-80	6.0	0.5	20.0	40.0	3.5	29.5	0.5



Lamina 2.1.

Lámina 2.1.

1-19. *Alsophila salvinii* HOOKER

1-3. Esporas frescas.

4,5. Esporas hidratadas durante 1 día.

6,7. Esporas hidratadas durante 5 días.

8-11. Esporas disueltas parcialmente en 2-aminoetanol durante 24 horas.

12-15. Esporas disueltas parcialmente en 2-aminoetanol durante 48 horas.

16. Esporas después de disolución parcial en 2-aminoetanol durante 72 horas.

17. Esporas parcialmente degradadas con 2-aminoetanol durante 24 horas y oxidadas con dilución acuosa de  $\text{KMnO}_4$  al 1 % durante 24 horas.

18. Esporas parcialmente degradadas con 2-aminoetanol durante 48 horas, y oxidadas con dilución acuosa de  $\text{KMnO}_4$  al 1 % durante 24 horas.

19. Esporas parcialmente degradadas con 2-aminoetanol durante 72 horas y oxidadas con dilución acuosa de  $\text{KMnO}_4$  al 1 % durante 24 horas. 1.000x.

1 - Las formas monoletas fueron observadas en pequeña cantidad durante estas investigaciones.

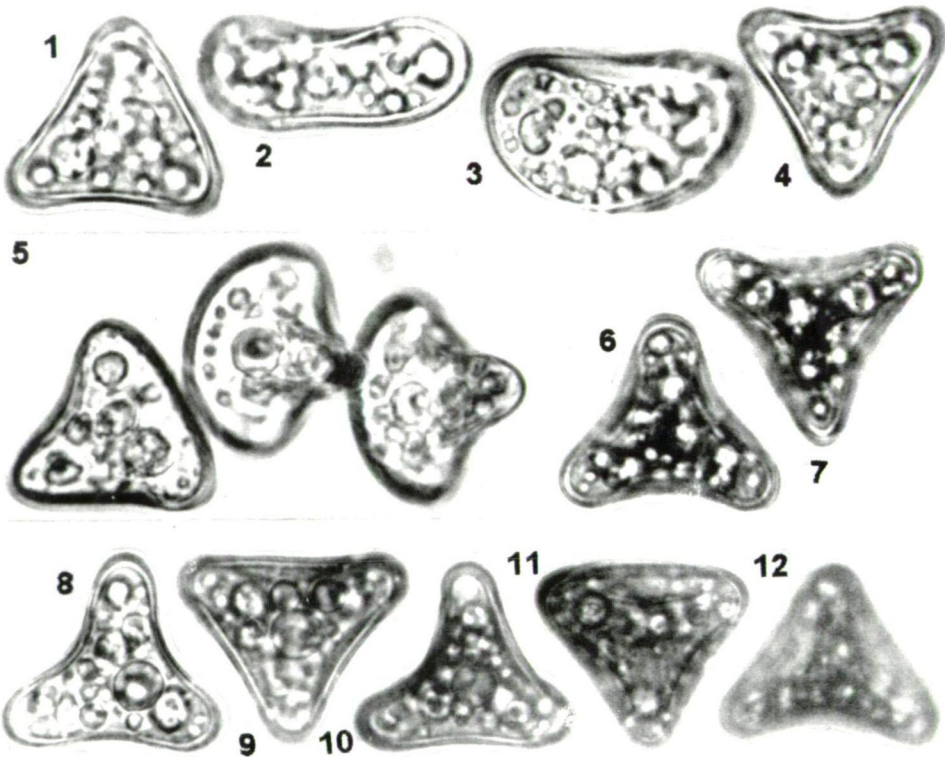


Lámina 2.2.

1-12. *Alsophila salvinii* HOOKER

1-3. Esporas calentadas a  $200^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos.

4,5. Esporas calentadas a  $200^{\circ}\text{C}$  durante 1 hora.

6-8. Esporas calentadas a  $200^{\circ}\text{C}$  durante 5 horas.

9,10. Esporas calentadas a  $200^{\circ}\text{C}$  durante 10 horas.

11,12. Esporas calentadas a  $200^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. 1.000x.

2 - Las formas triplanas no fueron observadas en esporas frescas. Durante los experimentos la cantidad es como máximo, menor al 4.0% y no ocurre siempre en los experimentos usados.

3 - La gran cantidad de formas triplanoideas fue el resultado de la degradación parcial con 2-aminoetanol; después del tratamiento con 2-aminoetanol y  $\text{KMnO}_4$  se incrementaron las formas triangulares y cóncavas.

4 - Después de los efectos de las altas temperaturas son dominantes, en general, la forma cóncava y, algunas veces, la forma triplanoidea.

## Discusion y Conclusiones

De acuerdo con nuestros nuevos resultados obtenidos en las esporas de *Alsophila salvinii* HOOKER, podemos afirmar lo siguiente:

1 - Con toda probabilidad hay pirenoideas en los plasticidios de estas esporas. Para obtener una mayor y definitiva información necesitamos realizar investigaciones con el microscopio electrónico de transmisión.

2 - La poca y esporádica presencia de formas monoletas, comprueba el tipo primitivo de espora.

3 - La morfología de las esporas, investigadas con el microscopio óptico, es relativamente resistente a la acción de las diferentes clases de experimentos. Lo mismo puede establecerse en los experimentos de degradación con 2-aminoetanol y  $\text{KMnO}_4$ .

4 - Se están realizando nuevos estudios experimentales que incluyen la solución de C60 Fullerenol/benzol, los cuales serán objeto de nuevas publicaciones.

## Agradecimiento

Estos trabajos fueron patrocinados por la Grant OTKA T 031715.

## Referencias

- CHEN, S.-H and HUANG, T.-C. (1980): Aeropalynological Study of Taipei Basin, Taiwan. - *Grana* 19, 147-155.
- DEÁK, H.M. (1959): Observations concernant le changement de forme des spores trilètes. - *Rev. de Micro-paléontologie* 2, 28-30.
- ENGLER, A. (1954): *Syllabus der Pflanzenfamilien*. - Gebrüder Borntraeger, Berlin-Nikolassee.
- HARRIS, W. F. (1955): *A Manual of the Spores of New Zealand Pteridophyta*. - N. Z. Dept. Sci. and Ind. Res. Bull. 116, Wellington, New Zealand.
- HUANG, T.-c (1981): *Spore Flora of Taiwan*. - National Taiwan University, Taipei.
- HUANG, T.-C. (1998): *Airborne Pollen Grains and Spores in Taiwan*. - Taipei, Taiwan R.O.C.
- KEDVES, M. (1960): *Études palynologiques dans le Bassin de Dorog I*. - *Pollen et Spores* 2, 89-118.
- KEDVES, M. (1961): *Études palynologiques dans le Bassin de Dorog II*. - *Pollen et Spores* 3, 101-153.
- LOBREAU, D. (1966): Variations polliniques liées à la composition de la gélatine glycinée. - *Pollen et Spores* 8, 229-236.
- LÖTSCHERT, W. (1959): *Vegetation und Standortsklima in El Salvador*. *Botanische Studien*. - VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- PFLUG, H.D. (1953): *Zur Entstehung und Entwicklung des angiospermiden Pollens in der Erdgeschichte*. - *Paläontographica* B, 95, 60-171.

- SEILER, R. (1980): Una guía taxonómica para helechos de El Salvador. Ministerio de educación. Dirección de publicaciones. San Salvador, El Salvador, C.A.
- SLADKOV, A.N. (1957): Polymorphisme des spores chez *Pteris cretica* (en russe). - Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R., 117, 900-903..
- SLADKOV, A.N. (1959a): The spores of Ophioglossaceae R.Br. ferns growing in the USSR. (Russian with English summary). - Bull. Soc. Mosk. Res. Nat. 64, 97-111.
- SLADKOV, A.N. (1959b): Rapport sur les types de déformations des spores fossiles de filicales trilètes (en russe). - Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R., 129, 1176-1179.
- SLADKOV, A.N. (1961): Spores des fougères de la sous-famille des Pteridae DIELS de la flore d'U.R.S.S. (en russe). - Nauchn. Dokl. vyssh. Shk. biol. Nauki S.S.S.R 3, 112-118.
- SLADKOV, A.N. (1962): Clé de détermination des spores des Fougères de la sous-famille des Pterideae Diels dans la flore de l'U.R.S.S. (en russe). - Nauchn. Dokl. vyssh. Shk., biol. Nauk. S.S.S.R., 1, 129-134.
- TRYON, A.F. and LUGARDON, B. (1991): Spores of the Pteridophyta Surface, Wall Structure, and Diversity Based on Electron Microscope Studies. - Springer Verlag, New York Berlin Heidelberg London Paris Tokyo Hong Kong Barcelona.
- VAN CAMPO, M. (1961): Mécanique aperturale. - Grana Palynologica 2, 93-97.
- WELMAN, W. G. (1970): The South African fern spores. In: South African pollen grains and spores, ed.: E. M. VAN ZINDEREN BAKKER. - A. A. Balkema/Cape Town.
- WETTSTEIN, R. (1944): Tratado de Botánica Sistemática. - Traducción de la cuarta edición alemana. Ed. Labor. S.A. Madrid.

Erratum, P.C.B.D. 14, p. 59/60, recte: Durante las operaciones de simetría, el pentágono regular de la unidad biopolímera de la ectexina, parcialmente degradada del polen del ragweed, se rotó un pentágono extremadamente degradado y, por primera vez, fue publicada la estructura molecular de la unidad biopolímera globular (KEDVES, PÁRDUTZ y MADARÁSZ, 2002), lo cual fue un paso importante para los estudios del esqueleto metaestable cuasi-cristaloide de la ectexina.