

LABORATORIO: CICLO VITAL DE LOS HELECHOS (1)

Por: Lucía Atehortúa G. (2)

INTRODUCCION

El estudio de los ciclos vitales constituyen el pilar básico en el aprendizaje de los mecanismos de reproducción y ontogenia de las plantas. Para nuestros estudiantes resulta poco interesante y a veces hasta aburrido, el aprendizaje de estos ciclos, especialmente el de las plantas inferiores, debido a que gran parte de sus experiencias se basan en la observación de láminas y filminas que los ilustran. El presente laboratorio permitirá al estudiante observar y aprender el ciclo vital de los Helechos, mediante el empleo de métodos sencillos y prácticos sobre el cultivo de esporas, desarrollo del gametofito y formación del esporofito.

Para el cultivo de esporas debe tenerse en cuenta que los helechos poseen dos tipos de estas: esporas verdes y fotosintéticas caracterizadas por su rápida germinación y baja viabilidad y esporas no verdes que requieren más tiempo para germinar y tienen una alta viabilidad (Lloyd & Klekowski, 1970).

Ejemplo de especies con el primer tipo son:

Trichomanes elegans (Hymenophyllaceae) y todas las especies de esta familia.

Lomariopsis sorbifolia (Polypodiaceae)

Blechnum nudum (Polypodiaceae).

Elaphoglossum lingua (Polypodiaceae).

Ejemplo de especies con el segundo tipo son:

Anemia phyllitidis (Schizaeaceae)

Pityrogramma calomelanos (Polypodiaceae).

Lophosoria quadripinnata (Catheaceae)

(1) Continuación del tema, véase Actualidades Biológicas 4 (14): 97-101.

(2) Profesora Departamento Biología, Universidad de Antioquia.

OBJETIVO

Iniciar al estudiante en la utilización de técnicas sencillas sobre el cultivo de esporas que le permitan hacer observaciones "in vivo" del ciclo completo de los Helechos.

MATERIALES (Para grupos de 4 estudiantes).

Método 1: *Matera invertida*

- Hojas fértiles.
- Cuchilla.
- Mortero.
- Gasa fina.
- Matera de barro sin barnizar o tronco de sarro.
- Musgo (*Sphagnum* sp) o esponja de tocador.
- Ponchera o vasija plástica.
- Campana de vidrio o bolsa plástica transparente.
- Clorox (hipoclorito de sodio 0.5o/o) o lysol.
- Agua destilada.

PROCEDIMIENTO

Después de seleccionar la planta que vamos a reproducir, se corta una fronda o parte de una fronda fértil, preferiblemente de una especie que posea esporas verdes, debido a la rápida germinación. Los soros localizados en el envés se raspan con una cuchilla, previamente esterilizada, (Figs. 1-2) sobre un mortero y se dejan secar al calor de una lámpara o se pisan suavemente con el mazo con el fin de que los esporangios liberen las esporas. El contenido se vierte sobre una gasa fina y se ciernen las esporas (Fig.3). Las esporas se pueden lavar en una solución de clorox (hipoclorito de sodio 0.5o/o) durante 5 minutos, con el fin de esterilizarlas antes de la siembra, luego lave con agua destilada para eliminar el clorox. Todo el equipo que se va a utilizar se esteriliza previamente al calor en un autoclave o estufa esterilizadora; en caso de no tenerla, se lava en una solución comercial de clorox.

Dentro de la matera de barro, sin pintar ni barnizar, se coloca el musgo o esponja de tocador bien húmeda de tal manera que llene completamente la matera. Sobre la pon-

chera se coloca la materia en posición invertida (Fig.4) y se vierte un poco de agua destilada para que la materia pueda absorber la humedad suficiente. Sobre la superficie húmeda se ciernen las esporas y el montaje se cubre con una campana de vidrio o un plástico transparente y se deposita en un lugar fresco y a luz difusa (media luz).

Una variación de este método, consiste en reemplazar la materia y el musgo por un tronco de sarro que conserva la humedad en un 95o/o.

Método 2: *Agar nutritivo*.

- Medio de Knop's
- Autoclave o estufa esterilizadora.
- Mechero.
- Cuchilla.

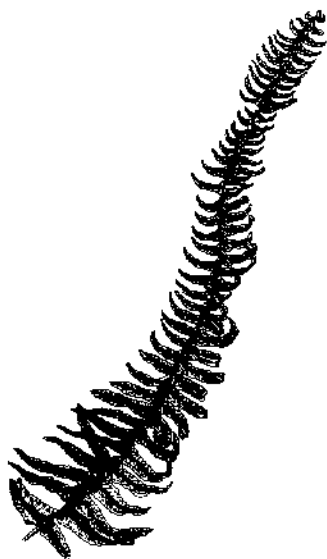


Figura 1.
Fronda fértil: Observe los soros sobre el enves.

- Hojas fértiles.
- Mortero.
- Gasa fina.
- Clorox o lysol.



Figura 3.
Cernido de las esporas después de ser liberadas de los esporangios.

PROCEDIMIENTO

Utilice el mismo método del procedimiento anterior para la obtención y tratamiento de las esporas.

Dentro de una cámara de desinfección o cámara de cultivo introduzca las cajas de Petri con el medio de cultivo; cierna

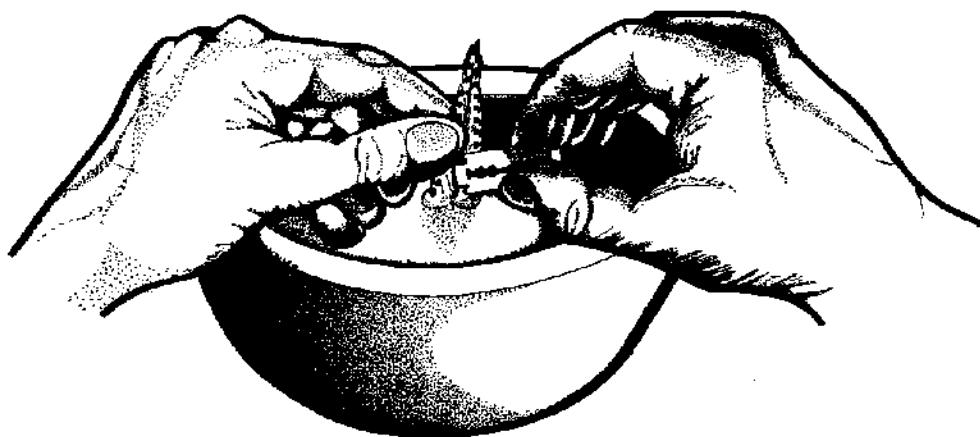


Figura 2.
Procedimiento para la separación de los soros.

las esporas sobre el medio y cubra nuevamente. Las cajas se llevan a un lugar fresco, limpio de polvo y a media luz.

La siembra se puede hacer sin la cámara de desinfección, utilizando un mechero cerca a las cajas de cultivo en el momento de cernir las esporas. Tenga cuidado de no destapar completamente la caja para evitar todo riesgo de contaminación con esporas de hongos.

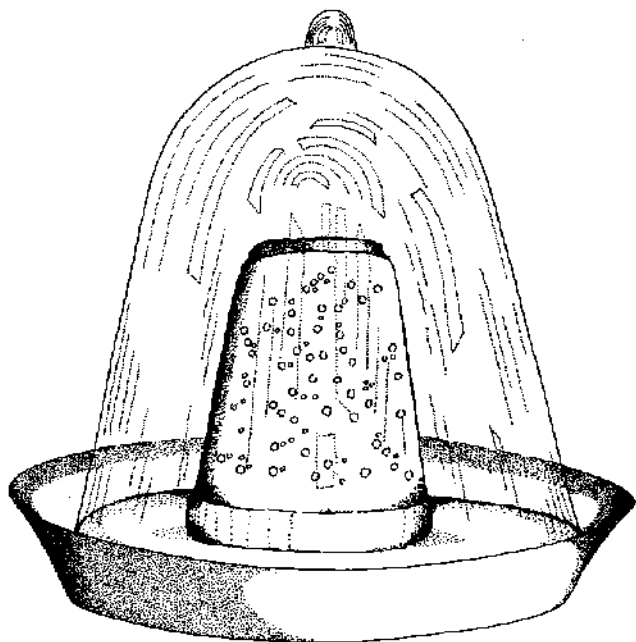


Figura 4.
Cámara húmeda para germinación de las esporas.

OBSERVACIONES

Después de 8 días de haber sembrado el material, inicie observaciones periódicas sobre la germinación de las esporas; esquematice cada cambio registrado hasta la formación del gametofito (planta productora de gametos), y el desarrollo y formación del esporofito (planta productora de esporas). Observe placas al microscopio de una pequeña parte del sustrato con las esporas y elabore una tabla sobre días de germinación hasta días de maduración del gametofito.

DISCUSION

Con base en sus observaciones, analice y conteste las siguientes preguntas, si es necesario consulte bibliografía sobre el tema:

1. ¿Qué cambios se observa en las esporas después de 8 días de siembra?
2. ¿Qué estructura se forma y se fija al sustrato?
3. ¿Cuál es la función de dicha estructura?
4. ¿Cómo son las células que forman la estructura?

5. Cree usted que si falta luz podría desarrollarse ésta? Explique.
6. ¿Qué forma tiene la estructura celular formada, y cuantas capas de células presenta?
7. Después de dos meses de observación, ¿qué cambios graduales se han producido? Descríbalos.
8. ¿Observa una forma definida en toda la estructura? ¿Cómo es?
9. ¿Cómo son las células de la parte superior con respecto a las de la parte inferior? Haga montajes al microscopio, si es necesario.
10. ¿Por qué debe permanecer tapado el montaje? ¿Es necesaria tanta humedad? ¿Para qué le sirve el agua?
11. ¿Cree usted que una campana oscura cumpliría la misma función?
12. ¿Por qué se necesita luz difusa?
13. ¿Cómo ocurre la fecundación? ¿Dónde se localizan los gametangios femeninos y dónde los masculinos?
14. ¿Podría formarse una planta a partir del gameto masculino únicamente?

Explique y consulte sobre anteridógenos.

15. ¿De dónde se origina el esporofito? (Planta productora de esporas). Haga una analogía con respecto a las plantas con flores.
16. Esquematice todo el ciclo observado desde la espora hasta la planta adulta (esporofito) que se conoce comúnmente.

INFORMACION ADICIONAL

A— No todos los helechos desarrollan un prótalo en forma cordada y fotosintética, algunos desarrollan un gametofito en forma taloide o filiforme, verde o no. Los no verdes generalmente se asocian con un hongo a manera de micorriza constituyendo una simbiosis y de esta manera originan los órganos reproductores que al unirse forman el embrión y éste la planta productora de esporas.

B— PREPARACION DEL MEDIO DE KNOP'S

Reactivos:

1. Agua destilada 250.0 cc.
2. Agar 2.0 gr.
3. Sulfato de Magnesio 0.1 gr.
4. Nitrato de Calcio 0.1 gr.

5. Fosfato de Potasio0.2 gr.
6. Nitrato de Potasio1.0 gr.
7. Cloruro o Fosfato férrico 1o/o1.0 gr.

Disuelva las sustancias 3-4-5 en agua destilada y el agar a temperatura de ebullición y luego agregue las sustancias 6-7.

Esterilice al calor y reparta en cajas de Petri o frascos de gomina (Fig.5), el agar debe cubrir una tercera parte de la superficie de la caja, tape y deje enfriar o guarde en nevera hasta el momento de siembra.

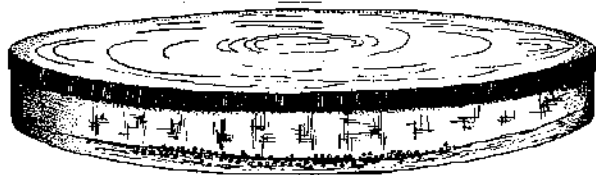


Figura 5.
Caja de petrie para cultivo esteril de esporas
en medio de agar nutritivo.

C— LOS HELECHOS COMO MATERIAL BASICO PARA VARIOS ESTUDIOS BIOLÓGICOS

Los helechos, plantas prehistóricas que a diario observamos como simples malezas o como plantas ornamentales, constituyen un valioso material de investigación para resolver ciertos problemas biológicos.

Estas plantas, que están al alcance de todos, nos dan la posibilidad de encontrar la información básica, aprovechando sus ventajas y propiedades tales como su fácil cultivo y los requerimientos mínimos que exige su desarrollo, los cuales permiten experimentar desde lo más simple a lo más complejo, desde la bioquímica hasta la ecología.

Se tiene la tendencia a asumir que los helechos son bioquímicamente semejantes a otras plantas. Son ellos verdaderamente semejantes? o ellos retienen un rasgo bioquímico ancestral distintivo, el cual podría elucidar nuestro entendimiento sobre el origen y desarro-

llo de sustancias químicas producidas por las plantas. ¿Cuáles son esas sustancias? ¿En verdad que los helechos son raramente atacados por fitófagos? si es así, hay diferentes sustancias que juegan un papel alelopático.

A nivel citológico, se sabe que los helechos homósporos son notorios por su uniformidad en el número de cromosomas. Son éstos verdaderos resultados de poliploidización como se cree? o ello debería indicar un alto grado de primitividad? ¿Qué planta vascular ancestral tuvo gran número de cromosomas uniformes y qué pequeño número de heterósporos y plantas espermatofitas son actualmente derivadas?

Para la solución de estos interrogantes, podemos emplear diferentes etapas de su desarrollo, tal como la alternancia de generaciones, con la cual podemos llevar a cabo estudios morfogénéticos, fisiológicos, fitoquímicos y sistemáticos.

Para abordar estas incógnitas, la sistemática ha sido la base fundamental en la solución de algunos problemas, veamos por qué:

Los filicales comprenden los helechos verdaderos, comunmente agrupados dentro de Pteridofitas, según Engler (1954), junto con *Psilotum*, *Lycopodium*, *Selaginella*, *Isöetes* y *Equisetum*.

Según Eames (1936), los filicales se separan de los Pteridofitas y se colocan junto a un grupo de helechos fósiles llamados Pteridospermas (Plantas con semilla y follaje de helecho o helechos con semilla), con base a los fósiles de Cycadoperis, Pecopteris y otros por lo cual los helechos, las Cycadas, Gymnospermas y Angyospermas son mirados con un origen común.

El descubrimiento de este extinto grupo ha dado enormes conocimientos a la evolución de las plantas y a la vez plantea un gran interrogante sobre la pasada historia de los helechos verdaderos.

BIBLIOGRAFIA

1. Atehortúa, L. 1976. Bases para la clasificación de los helechos. Actual. Biol. 4(14):97-101.
2. Davidonis, G. H. and Ruddat. 1973. Allelopathic compounds, Thelypterin A and B in the Fern *Thelypteris normalis*. Planta (Berl.). 111:23-32.
3. De Maggio, A. E. 1971. Ferns as a model system for studying polyploidy and gene dosage effects. Biosc. April, 1.
4. Giannasi, D. E. 1974. Phytochemical aspects of Fern Systematics Ann Missouri Bot. Gard. 61:(2): 368-378.
5. Hoshizaki, B. 1975. Fern Growers Manual. Alfred. A. Knopf. New York. 256 pp.

6. Lloyd, R. M. and E. J. Klekowski, Jr. 1970. Spore Germination and viability in Pteridophyta: Evolutionary significance of Chlorophyllous Spores. *Biotropica* 2(2): 129-137.
7. Parihar, N. S. 1967. An introduction to Embryophyta. Vol. 2 Pteridophytes. Central Book Depot. Allahabad India.
8. Raghavan, V. 1974. Control of differentiation in the Fern Gametophyte. *Amer. Sci.* 62:465-475.
9. Shedlbauer, M. D. and J. Klekowski, Jr. 1972. Antheridogen activity in the fern *Ceratopteris thalictroides* (L.) Brogn. *Bot. Jour, Lin. Soc.* 65(4):299-413.
10. Taylor, T. N. and J. T. Mickel. 1974. Evolution of Systematic characters in the Ferns. *Ann. Missouri. Bot. Gard.* 61:307-309.