

# Helechos: propagación y conservación

BLANCA PÉREZ GARCÍA E IRMA REYES JARAMILLO

Los helechos forman parte de un grupo de plantas vasculares que reciben el nombre de pteridofitas y que se caracterizan porque en su ciclo de vida presentan alternancia de generaciones independientes y de vida libre, una asexual o esporofítica, que produce esporas y otra sexual o gametofítica que, como su nombre lo indica, forma gametos.

La mayor diversidad y abundancia de los helechos se encuentra en las regiones cálido-húmedas montañosas. Actualmente se calcula que pueden existir de 10 000 a 12 000 especies en diferentes tipos de vegetación y en altitudes desde 0 a 5 000 msnm. En México se considera que hay 1 000 especies aproximadamente y que son más abundantes y diversas en bosques mesófilos de montaña y bosques de encino y *Liquidambar* (fig. 1).

La diversidad biológica y la conservación de los helechos dependen del estado que guardan los ecosistemas donde se reproducen, lo que depende principalmente si la actividad humana altera la vegetación desmontando áreas para ocuparlas con asentamientos humanos y para utilizarlas en actividades como la ganadería, la agricultura y la explotación de recursos forestales; estos últimos casos pueden deberse a necesidades alimenticias, medicinales o de comercialización, pero de cualquier manera, con frecuencia ponen en peligro de extinción a las especies que habitan las zonas. (fig. 2).

Blanca Pérez García e Irma Reyes Jaramillo  
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.



Bruce D. Thomas



Figura 1. Helecho arborescente (*Cyathea mexicana*) en bosque mesófilo de montaña, Misantla, Ver.

Por lo anterior tanto biólogos, botánicos, ecólogos, como otros especialistas, están preocupados y empeñados en mantener reservas ecológicas y zonas protegidas, y en poner en práctica métodos de conservación de germoplasma, de esporas y de semillas.

### Esporas, dispersión y viabilidad

Las esporas de los helechos son estructuras microscópicas unicelulares, cuyas dimensiones van desde menos de 25 a más de 100 micras (fig. 3). (Erdtman & Sorsa, 1971.)

La madurez de los esporofitos de los helechos se logra, en la mayoría de los casos, en un lapso que abarca desde 1 hasta 10 años; una vez que maduran la producción puede ser inmensa, como es el caso de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, en el cual una sola hoja puede producir cerca de un gramo de esporas, que corresponde a aproximadamente 300 millones de ellas. En especies de helechos tropicales y templados, bajo cultivo, se ha calculado que el contenido de esporas de hojas individuales, varían de 750 000 en *Asplenium trichomanes* L., hasta de 750 millones en *Dicksonia antarctica* Lab. (Conway, 1957).

La viabilidad de las esporas (tiempo en que permanecen viables, esto es, que son capaces de germinar) y la tasa de crecimiento de los gametofitos, son factores básicos para un exitoso establecimiento de los helechos en un nuevo hábitat, después de la dispersión.

Estos factores están controlados por propiedades intrínsecas como el genotipo, edad y latencia y por factores extrínsecos como lo son las diferentes condiciones del ambiente, del sitio donde se liberan y depositan las esporas, del pH del suelo, de la humedad, la temperatura, la luz y de los competidores, entre otros elementos.

Pero también las características fisiológicas de las esporas, como sería el caso de la presencia o ausencia de clorofila, repercuten en el tiempo de germinación (latencia) y en el desarrollo de las primeras células de los gametofitos jóvenes.

La viabilidad o longevidad de las esporas de los helechos es variable; así por ejemplo, las esporas clorofílicas muestran una cierta tendencia a germinar más rápidamente que las no clorofílicas. Las 60 especies de helechos con esporas clorofílicas, que han sido estudiadas bajo diferentes condiciones de cultivo, quedan comprendidas en las siguientes familias y géneros: Osmundaceae: *Osmunda* L., *Leptopteris* Presl, *Todea* Bernh; Grammitidaceae; Polypodiaceae: *Christioperis* Copel., *Margina-*

*riopsis* C. Chr.; Hymenophyllaceae; Aspidiaceae: *Matteuccia* Tod., *Onoclea* L., *Onocleopsis* Ballard, *Lomariopsis* Fée y Blechnaceae: *Blechnum* L.

Por su parte, las esporas clorofílicas germinan a los dos días, o menos, de haber sido sembradas. Estas esporas presentan cortos periodos de viabilidad, 48 días en promedio. Especies de Hymenophyllaceae y de Equisetaceae, tienen periodos aún más cortos, de aproximadamente 24 días (Lloyd & Klekowski, 1970).

Ahora bien, como la mayoría de los helechos presentan esporas no clorofílicas, consecuentemente tienen una tasa más lenta de germinación, que oscila entre 4 y 210 días, por lo que su viabilidad también es mayor como de 3 años en promedio. Cabe mencionar que se han encontrado esporas viables de *Asplenium* L., después de haber estado almacenadas 48 años; de *Pellaea truncata* Good. de 50 años y de esporocarpos de *Marsilea* L. de 68 y de 90 años (Johnson, 1985).

La corta viabilidad de las esporas clorofílicas ha sido objeto de diferentes investigaciones y se ha visto que por ejemplo en las esporas de *Equisetum* L., este fenómeno se correlaciona con la tasa de respiración y con el contenido de agua y de catalasa (Okada, 1929). Otros autores como Wollersheim (1957), consideran que la corta viabilidad de las esporas de *Equisetum*



Figura 2. Selva alta perennifolia talada, Teapa, Tab.

L. también se ve propiciada por la ausencia de una pared protectora contra la desecación. Mientras que Hauke (1963) piensa que pierde su viabilidad, principalmente por su alta tasa respiratoria.

Gullvåg (1968, 1969), comparando la estructura interna y los productos de reserva en esporas cloroflicas y no cloroflicas, encontró que las esporas de *E. fluviatile* L. var. *verticillatum* Doll., tienen un contenido de humedad de 49% y *Osmunda* de 17% y, por otra parte, en esporas no cloroflicas de *Blechnum spicant* (L.) J. Smith y *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, el contenido de humedad es de 5-14%.

Con relación a los productos primarios de reserva se ha encontrado que las esporas cloroflicas tienen menor cantidad de gránulos de lípidos y de lipoproteínas que las esporas no cloroflicas.

De esta manera se puede concluir que las esporas cloroflicas no entran en un periodo de latencia característico, como sucede con las esporas no cloroflicas, sino que se encuentran en un estado activo fisiológico, de intensa respiración, en el que los compuestos de reserva se utilizan en un tiempo aparentemente corto y, como consecuencia, pierden su viabilidad.

Lo expuesto en los párrafos anteriores es de gran importancia para la conservación, tanto de esporas en el banco del suelo, como en bancos de almacenamiento creados para este fin (Pérez-García y col., 1982).

Es interesante hacer notar cómo Roberts (1973) clasifica las semillas en ortodoxas y recalcitrantes, de acuerdo a su comportamiento en condiciones de almacén. Las primeras son las de tamaño pequeño, tasa respiratoria baja, contenido de humedad hasta del 5% sobre el peso húmedo inicial y que pueden ser almacenadas largo tiempo, a bajas temperaturas, ya que presentan una viabilidad potencial larga, lo cual nos permitiría hacer una analogía con las esporas no cloroflicas.

Por otra parte las semillas recalcitrantes presentan, al igual que las esporas cloroflicas, alto contenido de humedad, tasas metabólicas más elevadas y, como consecuencia, viabilidad potencial corta.

Los helechos que producen esporas cloroflicas tienen gran correlación con

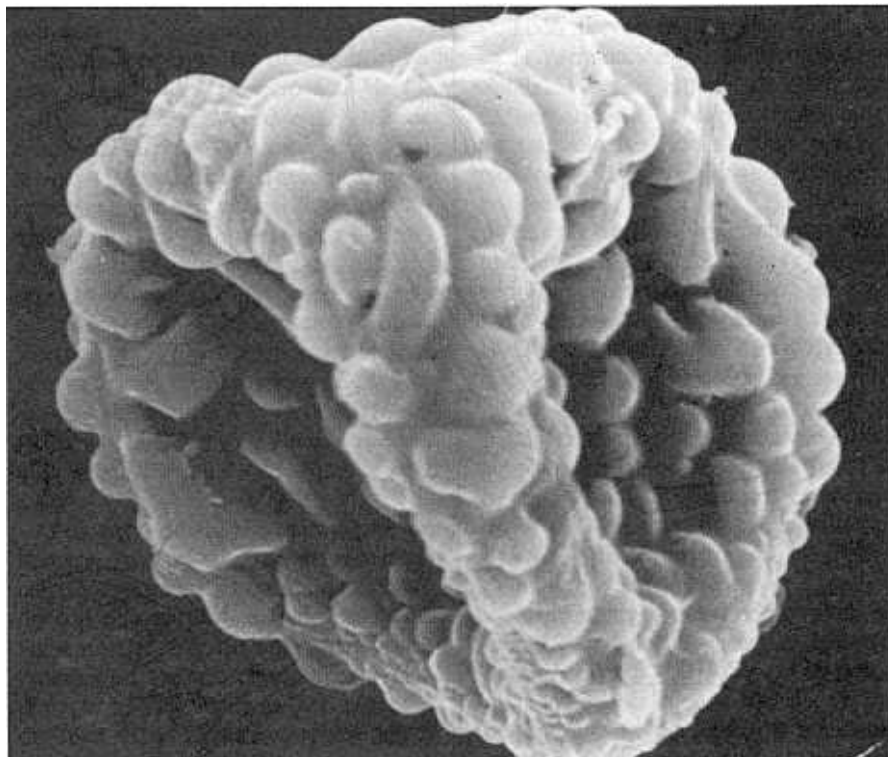


Figura 3. Fotomicrografía de una espora trilete de *Cyathea fulva* (Cyatheaceae).

el hábitat húmedo mesofítico y las plantas que producen semillas recalcitrantes, así como los helechos con esporas no cloroflicas, son característicos de regiones tropicales y subtropicales húmedas; para ambos casos se considera que los mejores bancos, tanto de esporas, como de semillas, son las reservas naturales, ya que no se ha tenido éxito en los procedimientos actuales para poder conservarlas viables, por largos periodos de tiempo.

### Propagación vegetativa en esporofito

Una ventaja de los helechos radica en su capacidad de propagación vegetativa, cuyo único inconveniente es que la información genética no sufre variación, lo cual, a la larga, tiende a disminuir la adecuación de las especies al medio natural.

Hay distintas formas de propagación vegetativa: 1. A partir de diferentes partes de la planta; 2. Por yemas; 3. Por cultivo de tejidos.

1. Las partes de un helecho que pueden generar nuevos individuos son el rizoma, la raíz y la hoja. De éstas el

rizoma ramificado es el más frecuentemente usado para producir nuevas plantas (fig. 4e). También han dado buen resultado los segmentos del pecíolo, por ejemplo, en *Phyllitidis scolopendrium* (L.) Newm. (Hoshizaki, 1975).

2. Algunos helechos producen nuevas plántulas en sus hojas a partir de yemas (figs. 4a, 4c, 4d, 4f). Las hojas que presentan yemas se pueden anclar a la superficie del suelo, sin que se desprendan de la planta madre, por ejemplo en *Camptosorus rhizophyllus* (fig. 4a.)

Las yemas formadas en las hojas de algunos helechos como *Polystichum setiferum* cv. *proliferum* L. y *Woodwardia radicans* (L.) Sm., se pueden desprender y ser trasplantadas (figs. 4c, 4d y 4f).

Especies de *Ophioglossum* y *Platyce-rium*, *Diplazium esculentum* y *Asplenium auritum*, desarrollan en las raíces yemas que generan nuevas plántulas, que pueden ser trasplantadas, desprendiéndolas de la planta que les dio origen.

Por otra parte, helechos como *Marattia* y *Angiopteris* presentan estípulas (escamas de la base del pecíolo), que a

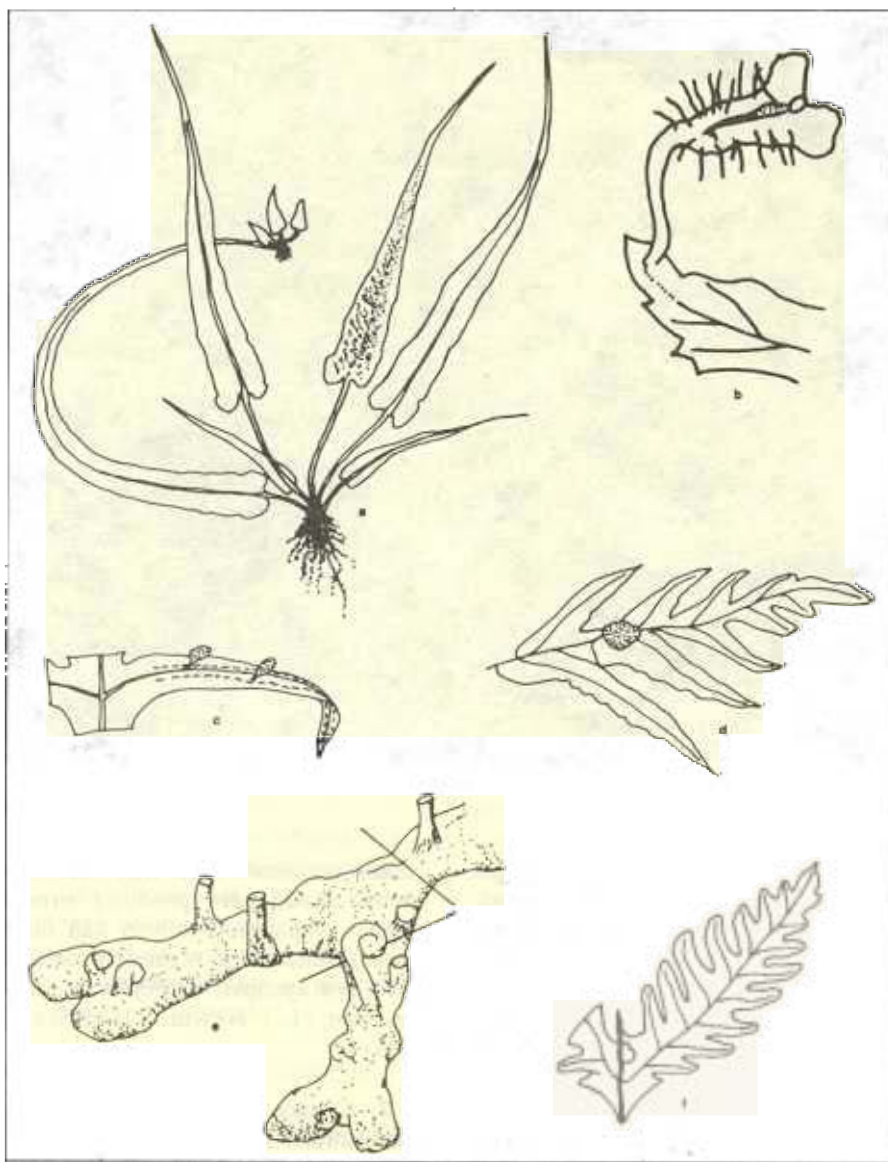


Figura 4. Propagación vegetativa. a. *Camptosorus rhizophyllus* con plántula apical. b. Gametofito creciendo en la hoja de *Polystichum setiferum*. c. Yemas en la lámina de *Woodwardia orientalis*. d. Yema en la hoja de *W. radicans*. e. Rizoma de *Polypodium* sp. f. Yema en el raquis de *Tectaria gemmifera*.

su vez producen yemas que se pueden desprender y cultivar (fig. 5.)

3. El cultivo de tejidos es un método especial que permite el crecimiento de nuevos esporofitos a partir de pequeños trozos de zonas meristemáticas de gametofitos, meristemas de rizomas y de jóvenes esporofitos, así como de tejidos de plantas adultas, donde se trabaja con un medio de cultivo estéril, abastecido con nutrientes. La ventaja con este método es que se producen mayor número de esporofitos y la desventaja es que no hay variación genética.

### Reproducción por gametofitos

Otra forma de reproducción de los helechos, es por medio de la siembra de esporas ya sea en el propio suelo o en medios de cultivo artificiales.

Uno de los procedimientos más usados, también con fines de investigación, es el de preparar un medio de cultivo con agar y nutrientes (de Knop y Thompson) (Klekowski, 1969) y vaciarlo en cajas de petri que estén en condiciones asépticas.

Las esporas se esparcen sobre el agar, se tapan las cajas de petri y se

meten en bolsas de polietileno, colocándolas en un lugar donde reciban suficiente luz y se encuentren entre 15°C y 30°C. Bajo estas condiciones se obtiene una gran cantidad de gametofitos, pero no siempre se producen esporofitos, debido a que con frecuencia no se forman arquegonios (órgano sexual femenino) y anteridios (órgano sexual masculino); muchas veces sólo se observan gametofitos arquegoniados como sucede en diferentes especies de Polypodiaceae s. str. (fig. 6) o anteridiados como en *Woodwardia martinezii*.

La formación de esporofitos por apogamia (producción de esporofitos directamente de gametofitos sin que haya singamia) no es muy frecuente en los cultivos; más bien se ha observado que principalmente ocurre en especies de hábitat seco, como en *Pellaea* Link. y *Notholaena* R. Br. (White, 1979) y en *Woodwardia martinezii* (Stone, 1961; Pérez-García & Riba en preparación); sin embargo un gran número de helechos homosporicos presentan apogamia obligada. En ellos los órganos sexuales no se producen o generalmente no son funcionales, particularmente el arquegonio (Nayar & Kaur, 1971).

En el caso de obtener esporofitos por medio de cultivo de esporas en agar, éstos se trasplantan a macetas con suelo y se protegen de la desecación (fig. 7); una ventaja que tiene esta forma de reproducción, es el gran número potencial de esporofitos, mientras que la desventaja radica en el tiempo tan largo que necesitan para alcanzar la madurez.

### Reproducción vegetativa en gametofitos

La reproducción vegetativa por yemas se ha observado en gametofitos de diferentes especies de *Grammitis* Sw., *Hymenophyllum* Sm., *Vittaria* Sm. y *Trichomanes* L., formando clones (Farrar, 1967; Sheffield & Farrar, 1988).

Las yemas son unidades vegetativas dispersables, que pueden dar lugar a nuevos gametofitos o, bajo la influencia de gametofitos viejos, pueden producir anteridios y funcionar como plantas masculinas. Cuando la germinación ocurre en presencia de gametofitos maduros, éstos se producen anteridiógenos que favorecen la formación de an-

teridios en los gametofitos jóvenes, más que de crecimientos vegetativos.

La reproducción por yemas ha llevado a un patrón evolutivo poco común en Vittariaceae, incluyendo la existencia de poblaciones permanentes de gametofitos sin esporofitos y posiblemente la existencia de especies representadas únicamente por la generación gametofítica (Sheffield & Farrar, 1988).

En cultivos con agar, se ha visto que frecuentemente gametofitos viejos de helechos homosporicos forman yemas, tanto en las alas como en el cojinete (por ejemplo en *Tectaria heracleifolia* (Willd.) Underw., *Woodwardia spinulosa* Mart. & Gal. y *W. martinezii* Weath.).

### Problemas en la conservación de esporas

Si bien es cierto que resulta una tarea difícil conservar semillas en bancos de almacenamiento, lo es más aún el conservar esporas viables.

Hoy en día, la mayoría de los bancos de semillas dedican gran parte de su esfuerzo al manejo de semillas ortodoxas, porque si son almacenadas en óptimas condiciones de humedad y temperatura, pueden lograr con menos dificultad una tan larga viabilidad que varía desde algunos años hasta llegar a sobrepasar el siglo (Vázquez-Yanes & Toledo, 1989).

Por su parte, las semillas recalcitrantes ofrecen mayores problemas en su almacenamiento. Con ellas se ha logrado un relativo éxito en cuanto a alargar el periodo de viabilidad, pero este logro va de sólo unos meses a aproximadamente un año. Por esta razón se ha propuesto que los mejores bancos de semillas recalcitrantes sigan siendo las reservas naturales de la vegetación, en las que, al fructificar se asegura un continuo abastecimiento de semillas (Vázquez-Yanes, 1987). La propuesta anterior no es tan solo válida para las plantas productoras de semillas recalcitrantes, sin embargo también para la gran mayoría de las pteridofitas y en particular de los helechos (fig. 8).

El deterioro de las esporas de los helechos durante su almacenamiento está en función de si son o no clorofíticas y de condiciones tales como el contacto con sustancias químicas, luz, tem-

peratura y humedad del sitio en que se guardan.

Sin embargo se ha observado una gran variación con respecto a la viabilidad de las esporas; por citar algunos ejemplos, diremos que las especies de la familia Cyatheaceae (helechos arborescentes), pierden su viabilidad rápidamente después de unas cuantas semanas, mientras que se han encontrado esporas viables de *Asplenium* después de 48 años de almacenadas (Hill & Wagner, 1974) y de esporas tomadas de ejemplares de herbario de *Schaffneria migripes* Fée de 4 y 11 años (fig. 9) (Riba y col., 1992) y de *Pellaea truncata* que tienen 50 años (Windham y col., 1986).

Por otra parte, en ejemplares de herbario, la capacidad de germinar declina con el paso del tiempo, culminando con una pérdida total de viabilidad. Sin embargo, hay helechos como otras especies de *Pellaea*, cuyas esporas pueden permanecer viables por periodos de entre 10 y 15 años después de ser recolectadas (Pray, 1968).

Las esporas más difíciles de conservar viables, en condiciones de almacenamiento, son las esporas colorofíticas (Osmundaceae, Gleicheniaceae, Grammitidaceae e Hymenophyllaceae) ya que en promedio permanecen viables 7 semanas.

Para reducir el deterioro de las esporas se recomienda almacenarlas secas en tubos sellados, dentro de un deseca-

dor, a bajas temperaturas (Dyer, 1979).

Todo parece indicar que el retraso en la germinación y/o la pérdida de la viabilidad de las esporas de ejemplares de herbario, se debe principalmente a los tratamientos físicos y químicos empleados en su preservación y en control de insectos.

Las técnicas de conservación "curatoriales" de los herbarios repercuten decisivamente en la viabilidad de esporas y de semillas. Se cree que el hecho de que en algunos herbarios de Estados Unidos se utilice Dowfume y bromuro de metilo, ambos compuestos considerados por la Agencia de Protección Ambiental de aquel país como altamente tóxicos y venenosos es la causa de la pérdida total de la viabilidad de esporas de ejemplares de *Pellaea* (Windham y col., 1986).

Sin embargo, otros compuestos como el paradiclorobenceno, el bisulfuro de carbono y el tetracloruro de carbono parecen ser menos tóxicos, ya que en ejemplares de herbario en donde utilizan estos productos, se encontró que las esporas de ejemplares de especies del género *Pellaea* aún eran viables.

Los tratamientos químicos no son la única amenaza para la viabilidad de las esporas en colecciones de herbario; también el tratamiento con calor (60°C por 24 hrs.) provoca una pérdida completa de la viabilidad en muchas especies, mientras que tratamientos basados



Figura 5. Rizoma de *Marattia laxa* con estípulas. Jardín Botánico, UNAM.

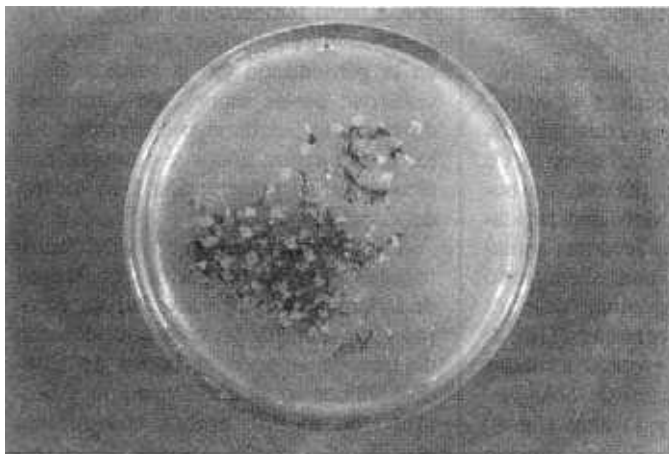


Figura 6. Cultivo de gametofitos con esporofitos en agar.



Figura 7. Esporofitos trasplantados en el suelo.

en la congelación de ejemplares por varios días a  $-20^{\circ}\text{C}$ , han mostrado que en *Pellaea* no se daña la capacidad de germinación de las esporas (Windham y col., 1986).

Otra alternativa que se ha considerado para no emplear insecticidas en los herbarios, es el uso de radiaciones de microondas, las cuales actúan calentando el agua contenida en el cuerpo de los insectos hasta matarlos. Este método es relativamente barato, rápido y efectivo; sin embargo se ha visto que con este tratamiento no es posible la germinación de algunas semillas, entre ellas las del género *Malvastrum* (Malvaceae) (Hill, 1983) y de otros propágulos, tales como esporas.

Por lo expuesto en los párrafos anteriores resulta evidente que mantener viables las esporas de helechos es una tarea ardua y difícil y quizá a esto se deba la falta de bancos de almacenamiento de esporas a nivel mundial; sin embargo hay instituciones y sociedades, como The British Pteridological Society y American Fern Society, que cuentan con programas de intercambio de esporas, y en sus listas llegan a incluir más de 500 diferentes especies de helechos. Pero desafortunadamente sabemos por experiencia propia que al sembrar esporas obtenidas por medio de estos intercambios, no todas germinan.

También existen sociedades en todo el mundo, que se dedican a alentar el estudio, principalmente con fines ornamentales, las pteridofitas, las cuales no han sido muy comercializadas e incluso ocupan un nivel poco importante, desde el punto de vista

económico, comparado con otras plantas cultivadas. Entre estas sociedades podemos mencionar:

Australia: \*Fern Society of Victoria, \*Fern Study Group of the Society for Growing Australian Plants, \*South Australian Fern Society; Japón: Japanese Pteridological Society, \*Nippon Fernist Club; Suiza: Schweizerische Vereinigung der Farnfreunde; Reino Unido: British Pteridological Society; Estados Unidos de América: American Fern Society, \*Birmingham Fern Society, \*Corpus Christi Fern Society, \*Delaware Valley Fern Society, \*Fern Study Group of the Northwest Horticultural Society, \*International Tropical Fern Society, \*Los Angeles International Fern Society, \*Louisiana Fern Society, \*Memphis Fern Society, \*South Florida Fern Society, \*Southwestern Fern Society; India: The Indian Fern Society.

Las señaladas con asterisco corresponden a las que tienen mayor interés en la horticultura de los helechos.

### Propuestas de conservación

Finalmente nos permitimos hacer las siguientes propuestas para la conservación de las pteridofitas.

– Tratar de conservar, por diferentes medios, las poblaciones naturales vegetales *in situ*, es decir, mantenerlas en su hábitat natural, dentro de la comunidad de la cual forman parte. En los casos en que esto no sea posible, mantenerlas *ex situ*, lo cual implica mantener a los organismos fuera de su hábitat natural, en jardines botánicos, bancos de gamoplasma o almacenados

en forma de esporas, propágulos vegetativos, cultivo de células o de tejidos; ambos tipos de conservación, *in situ* y *ex situ*, se complementan y son necesarios para mantener la variación genética de las especies, lo cual les permite mayor oportunidad de sobrevivencia.

– Apoyar a los jardines botánicos para que amplíen sus esfuerzos en cuanto a la preservación de la diversidad biológica y puedan participar activamente en la conservación de plantas, tanto *in situ*, como *ex situ*.

– Desarrollar y mejorar el manejo de las áreas protegidas, como lo son las reservas naturales, en donde se especifiquen, claramente, los lineamientos de conservación y control, sobre todo los relativos al tipo y número de especies que se tienen y de las que son extraídas para diferentes fines, tanto por mexicanos como por extranjeros.

– Apoyar los proyectos de investigación que enriquezcan el conocimiento sobre la biología, la ecología y la distribución de las pteridofitas.

– Continuar haciendo estudios que nos permitan conocer la viabilidad de las esporas de las pteridofitas y así poderlas mantener viables por periodos más largos, lo cual podría dar pie a la creación de un banco de esporas.

– Impulsar la formación de recursos humanos en diferentes especialidades, como la biología, la botánica y la taxonomía, así como en conservación y manejo de los recursos naturales.

– Incidir en los programas de educación a nivel primario, medio y superior, para poder crear conciencia de la importancia de la conservación de re-

giones naturales, ya sean desérticas, boscosas o selváticas, como la única fuente de conservación de la mayoría de las especies vegetales.

— A través de los medios de difusión, instruir y crear conciencia social del valor que tienen las especies vegetales *per se* y del daño y peligro al que se les expone deteriorando los ecosistemas naturales.

### Agradecimientos

Se agradecen los comentarios, sugerencias y revisión del manuscrito a los Drs. Carlos Vázquez Yanes, Ramón Riba y al M. en C. Adolfo Espejo Serna, así como el trabajo fotográfico del Sr. Jorge Lodigiani.

### Referencias

Conway, E., 1957, "Spore production in bracken", *J. Ecol.* 45: 273-284.  
 Dyer, A.F., 1979, "The culture of fern gametophytes for experimental investigation", in: *Experimental Biology of Ferns*, Ed. A.F. Dyer. London: Academic Press, pp. 253-305.  
 Erdtman, G. & P. Sorsa, 1971, *Pollen and spore morphology plants taxonomy*, Almqvist & Wiksell Stockholm, pp. 302.  
 Farrar, D.R., 1967, "Gametophytes of four tropical fern genera reproducing independently of their sporophytes in the southern Appalachians", *Science* 155: 1266-1267.



Figura 8. *Microgramma nitida* fértil. Teapa, Tab.

Gullvåg, B.M., 1968, "On the fine structure of the spores of *Equisetum fluviatile* var. *verticillatum* studied in the quiescent, germinated and non-viable state", *Grana Polynol.* 8: 23-69.  
 Gullvåg, B.M., 1969, "Primary storage products of some pteridophyte spores a fine structural study", *Phytomorphology* 19: 82-92.  
 Hauke, R., 1963, "A taxonomic monograph of the genus *Equisetum*, subgenus *Hippochaete*", *Nova Hedwigia B.* 8: 1-123.  
 Hill, R.H. & W.H. Wagner, 1974, "Seasonality and spore type of the pteridophytes of Michigan", *Mich. Bot.* 13:40-44.  
 Hill, R.S., 1983, "Microwave and the herbarium specimen: potential dangers", *Taxon* 32(4): 614-615.  
 Hoshizaki, B.J., 1975, *Fern growers manual*, Ed. Alfred A. Knopf Inc., New York, pp. 56-74.  
 Johnson, D., 1985, "New records for longevity of *Marsilea* sporocarps", *Amer. Fern J.* 75:30-31.  
 Klekowski, E.J., 1969, "Reproductive biology of the Pteridophyta III. A study of the Blechnaceae", *J. Linn. Soc. Bot.* 62:361-377.  
 Lloyd, R.M. & E.J. Klekowski, 1970, "Spore germination and viability in Pteridophyta. Evolutionary significance of chlorophyllous spores", *Biotropica* 2(2): 129-137.  
 Nayar, B. K. & S. Kaur, 1971, "Gametophytes of homosporous ferns", *Bot. Rev.* 37(3): 295-396.  
 Okada, Y., 1929, Notes on the germination of the spores of some pteridophytes with special regard to their viability. *Sci. Rep. Tôhoku Imp. Univ. Ser. 4 Biol.* 4: 127-182.  
 Pérez-García, B., A. Orozco-Segovia y R. Riba, 1982, "Esporas de helechos en el banco de semillas del suelo de la Esta-



Figura 9. Esporofitos de *Schaffneria nigripes* obtenidos a partir de esporas.

ción Biológica Tropical de los Tuxtlas, Ver.", *Bol. Soc. Bot. Mex.* 4: 89-92.  
 Pérez-García, B. y R. Riba, 1992, Observaciones sobre los gametofitos de *Woodwardia martinensis* Maxon ex Weatherby y *W. spinulosa* Mart. & Gal. (Blechnaceae) (en prensa).  
 Pray, T., 1968, "The gametophytes of *Pellaea* section *Pellaea*: Dark-stiped series", *Phytomorphology* 18:113-142.  
 Riba, R., B. Pérez-García y M. Pérez-García, 1992, "*Schaffneria nigripes* Fée (Asplenaceae): Morfogénesis del gametofito y anatomía y morfología del esporofito". *Bol. Soc. Bot. Méx.* 52: (en prensa).  
 Roberts, E. H. 1973, "Predicting the storage life of seeds", *Seed Sci. & Technol.* 1: 499-514.  
 Scheffield, E. & D. R. Farrar, 1988, "Cryosem examination of gemma formation in *Vittaria graminifolia*", *Amer. J. Bot.* 75(6): 894-899.  
 Stone, I.G., 1961, "The gametophytes of Victorian Blechnaceae. I. *Blechnum nudum* (Labill). Luerss", *Austral. J. Bot.* 9: 120-136.  
 Vázquez-Yanes, C., 1987, "Los bancos de almacenamiento de semillas en la conservación de especies vegetales", *Ciencia* 38:239-246.  
 Vázquez-Yanes, C. y J.R. Toledo, 1989, "El almacenamiento de semillas en la conservación de especies vegetales. Problemas y aplicaciones", *Bol. Soc. Bot. Méx.* 49:61-69.  
 White, R.A., 1979, "Experimental investigations of fern sporophyte development", in: *Experimental Biology of Ferns*, Ed. A.F. Dyer. Academic Press, London, New York, San Francisco, pp. 505-540.  
 Windham, M. D., P.G. Wolf & T.A. Ranker, 1986, "Factors affecting prolonged spore viability in herbarium collections of three species of *Pellaea*". *Amer. Fern J.* 76(3):146-148.  
 Wollersheim, M., 1957, "Untersuchungen über die keimungsphysiologie der sporen von *Equisetum arvense* and *Equisetum limosum*", *Z. Bot.* 45:145-159.