

ONTOGENIA DEL ESPORANGIO Y ESPOROGENESIS EN *LYCOPodium SAURURUS* (LYCOPODIALES)¹

POR ALICIA N. SERSIC

SUMMARY

Studies on the ontogenetic development of the sporangium of *Lycopodium saururus* Lam., especially in relation to the cytological aspects of the sporangium wall and sporogenous tissue. New data are added about the dynamic process ending with the formation of the final sporodermis. There is also an explanation about the way by which the sporangium opens and expels the spores.

INTRODUCCION

Lycopodium saururus Lam. es la única especie del orden *Lycopodiales* que habita en Córdoba. De hábito netamente saxícola, vive en zonas altas de no menos de 1000 m.s.m. La morfología del esporófito está bastante estudiada, no así la del gametófito, el que permanece aún desconocido. En efecto, se conoce la morfología y anatomía de la parte vegetativa y, a grandes rasgos, la ontogenia del esporangio de esta especie (Rolleri, 1972); empero, debido al carácter comparativo del trabajo, no se han dado muchos detalles de los cambios citológicos que se producen. En estas páginas se intenta completar el estudio del desarrollo del esporangio con especial referencia a los aspectos citológicos tanto de la pared, como del tejido arqueosporico, en particular sobre el proceso de formación de paredes especiales. Se analiza también la topografía del tejido de acción mecánica del esporangio, a fin de hallar una explicación del modo en que se produce su dehiscencia.

MATERIALES Y METODOS

El material estudiado procede de las Sierras Grandes de la provincia de Córdoba, al cual corresponden los siguientes datos de recolección:

¹ Trabajo de Seminario I y II para la carrera de Ciencias Biológicas dirigido por el Prof. Dr. Alfredo E. Cocucci, realizado en la Facultad Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba.

ARGENTINA. *Prov. Córdoba: Dpto. Punilla*. Los Gigantes, 1800 m.s.m., Sérscic 70, 10-IV-82 (CORD). - Copina, 1500 m.s.m., Sérscic 73, 4-I-1983 (frasco n° 3607, CORD). - Los Gigantes, 2200 m.s.m., Sérscic 74, 18-III-1983 (frasco n° 3603, CORD). - Los Gigantes, 2200 m.s.m., Sérscic 71, 14-V-1983 (frasco n° 3609, CORD).

El material recolectado fue, en parte, herborizado y algunos fragmentos fueron fijados en FAA, o mezcla 3:1 de alcohol etílico y ácido acético glacial. Parte del material fue transplantado a un ambiente natural en la localidad de El Durazno (Dpto. Punilla), a una altura de 1130 m.s.m., el 10-IV-1982, donde se desarrolló con éxito.

Métodos. — Se efectuaron cortes histológicos seriados de 12 μ de espesor, con un micrótopo rotativo tipo Minot. El material fijado fue preparado siguiendo las técnicas corrientes de inclusión en parafina, empleando una serie alcohólica para la deshidratación y xiloparafina para la imbibición (Conn *et al.*, 1960). Los cortes fueron hechos en esporangios con distinto grado de maduración. Para los estadios más jóvenes se hicieron cortes longitudinales del ápice del tallo, mientras que para estadios más avanzados cada esporangio con su esporofilo fue separado del vástago.

En general se coloreó con hematoxilina-safranina-verde permanente, pero también se realizaron tinciones citológicas especiales para determinar la naturaleza de ciertos componentes, según las siguientes técnicas:

Calosa: 1. Azul de anilina (Método con luz ultravioleta): Solución acuosa 0,1 % con fosfato tripotásico 0,1 N. Se trata de un fluorocromo específico para determinar la presencia de calosa la cual fluoresce dando color amarillo. Las observaciones se hicieron con microscopio de fluorescencia Zeiss estándar equipado con un filtro supresor 50 y filtro excitador III (Kho and Baer, 1971). 2. Azul de anilina (Método con luz visible) Solución de anilina 0,005 % en alcohol etílico 50 %. Al igual que el anterior, es específico para la calosa, dándole color azul; este método permite su visualización con microscopio fotónico normal (Johansen, 1940).

Sustancias pécticas: Técnica del rojo de rutenio. Solución acuosa de rojo de rutenio 1:5000; es un colorante específico para sustancias pécticas, tiñéndolas de rosado a rojo (Johansen, 1940).

Celulosa: Se tiñe de celeste pálido con "verde permanente" ("fast green").

Lípidos: Solución 0,5 % de sudán IV en alcohol etílico 70 %, calentada a 100° - 110° y filtrada con papel Whatman N° 2. Colorea a los lípidos de rojo (Jensen, 1962).

Lignina: 1. Se tiñe fuertemente de rojo con safranina, colorante usado en los preparados histológicos de rutina. 2. Floroglucina 1 % en etanol 95 % y acidulada con gotas de C1H 20 %. Para analizar la topografía de las células epidérmicas del esporangio, se trató la pared del mismo con este reactivo, el cual tiñe de rojo a púrpura las paredes lignificadas (Johansen, 1940).

Las coloraciones especiales se complementaron con observaciones con luz polarizada para poner en evidencia celulosa, mucílagos celulósicos, y almidón, ya que son sustancias ópticamente activas.

El trabajo se documenta con esquemas y dibujos originales realizados en la ayuda de la cámara clara. Asimismo se obtuvieron fotomicrografías generales y particulares del desarrollo ontogénico de las células madres de las esporas (C.M.E.) y del esporangio con distintos métodos de iluminación.

OBSERVACIONES

Los esporangios comienzan a formarse en el ápice caulinar junto con los primordios foliares. A medida que el tallo crece, van madurando los esporangios de posición más basal, mientras que otros nuevos se van formando en el ápice. Así es que, en los aproximadamente 8 cm apicales del tallo, se puede encontrar una secuencia completa del desarrollo de los esporangios, desde su estado de primordio hasta el de esporangio dehiscente (Fig. 1 G).

Para facilitar las descripciones que siguen se han distinguido seis estadios principales; que son los que se detallan a continuación (Fig. 1 A-E y H-L): 1. *Estadio de primordio indiferenciado*. — El primordio del esporangio se presenta como una pequeña protuberancia (producto de divisiones periclinales de un grupo de células epidérmicas), en la porción basal y adaxial de los esporofilos en formación. No obstante las células del primordio formarán distintos tejidos, todas tienen iguales características: son pequeñas, de paredes muy delgadas, el citoplasma es relativamente escaso con muy pocos vacúolos y el núcleo es voluminoso con nucléolo visible (Fig. 2 B).

2. *Estadio de la diferenciación del tejido arqueespórico*. — A medida que crece el primordio, comienzan a diferenciarse una porción central: el tejido arqueespórico, y una porción periférica: la pared del esporangio (Fig. 2 C). En este estadio, la pared esporangial presenta sólo dos capas originadas por divisiones periclinales de la epidermis. Ambos estratos experimentan divisiones anticlinales que incrementan el ancho del esporangio. Las células contienen un núcleo grande con la cromatina algo condensada; el citoplasma, no muy abundante, alberga pequeños vacúolos; las paredes celulares, en ge-

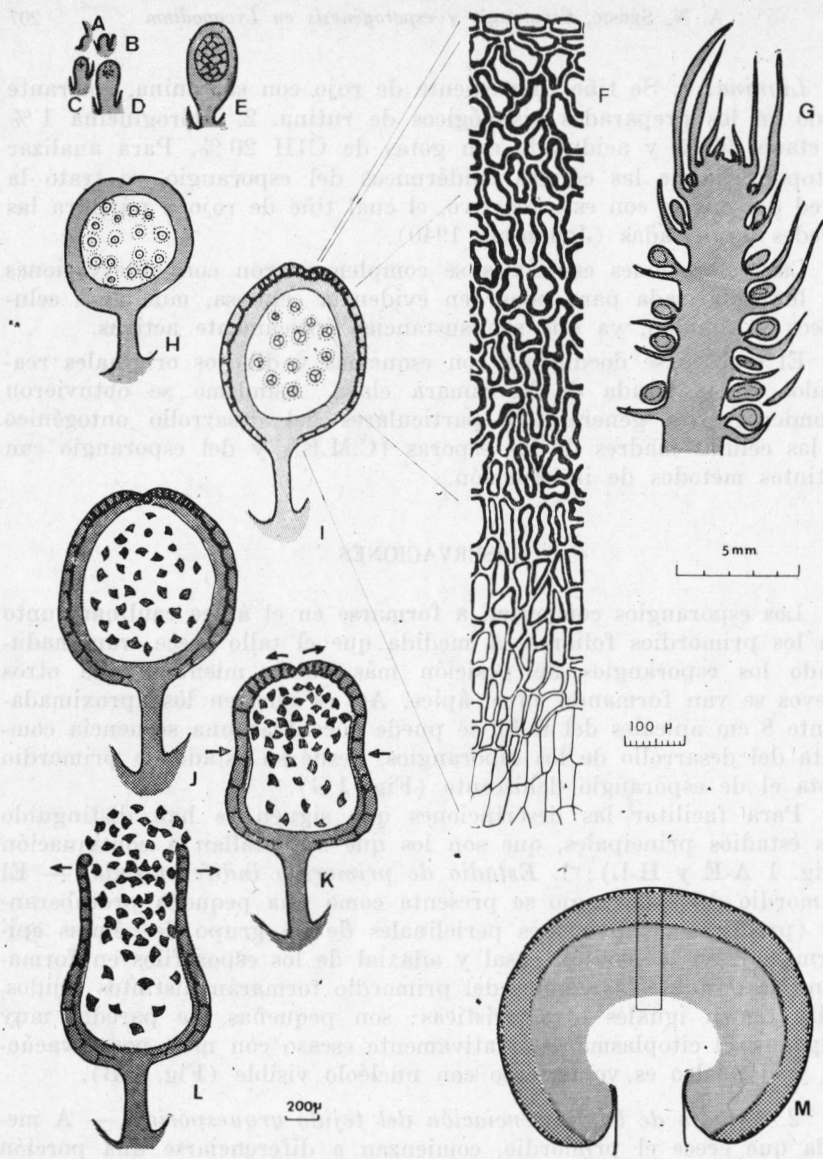


FIG. 1. — *Lycopodium saururus* (A-E, H-L: Sérscic 70; F, G y M: Sérscic 71). A-E, H-L: Cortes longitudinales sagitales por esporangios en estados progresivos de desarrollo. A, B: primordios del esporangio; C-E: estadios en la diferenciación del tejido arqueespórico; H: diferenciación de los esporocitos; I: esporangio durante la meiosis; J: esporangio maduro indehiscente; K, L: esporangios mostrando estados progresivos en el proceso de dehiscencia; las flechas indican las direcciones en los movimientos de la pared esporangial; F: detalle del área marcada en I y M mostrando una vista superficial del exoteco donde se distinguen 4 zonas, de arriba hacia

neral son delgadas, pero una mayor actividad óptica en la pared periclinal externa de la epidermis, pone en evidencia una mayor deposición de celulosa en ella.

El tejido arquespórico está formado por células poliédricas, de núcleos grandes cuya cromatina se presenta menos condensada que en las células parietales, dado que poseen mayor cantidad de cariolinfa. El citoplasma es denso y carente de vacúolos y las paredes celulares son muy tenues. Este tejido crece gracias a divisiones celulares que ocurren en todo sentido (Fig. 2 C).

3. *Estadio de la diferenciación de las células madres de las esporas (C.M.E.).* — Al crecer el esporangio, aumentan las capas de células de la pared, llegando a contener 5 estratos en la mayor parte de la superficie (en ciertas áreas más restringidas, puede tener 4 ó 6). El estrato más externo se diferenciará en el exotecio² y, el más interno, en el tapete (Fig. 2 E).

Exotecio: Este estrato presenta células más altas que los restantes; las paredes celulares se hallan un poco más engrosadas en las caras periclinales, el núcleo tiende a la posición basal y, opuesto a él, hacia la cara externa, hay grandes vacúolos rodeados de escaso citoplasma (Fig. 2 E).

Tapete: Es la capa más interna de la pared del esporangio. Sus células son pequeñas, de núcleo grande y citoplasma denso que, en general, contiene pocos vacúolos; las paredes celulares son muy tenues. Tiene un doble origen. La parte inferior, la que está en contacto con las células del pedicelo, se forma por divisiones periclinales de las células parenquimáticas del mismo; el resto del tapete, se origina por divisiones también periclinales pero de la capa más interna de la pared del esporangio (Fig. 2 E).

Capas parietales: las células intermedias entre exotecio y tapete, presentan paredes muy delgadas, núcleo bien desarrollado y el citoplasma, no muy abundante, contiene grandes vacúolos (Fig. 2 E).

abajo, zona 1, 2, 3 y 4; G: corte longitudinal por ápice para mostrar la disposición de los esporangios en el tallo y la gradual maduración de los mismos a medida que se alejan del extremo apical; M: vista frontal de un esporangio indicando la posición de las 4 zonas que se pueden distinguir conforme las características de sus células. *Aumentos:* la escala de 200 μ corresponde a A-E y H-L; la escala de 100 μ corresponde a F; la escala de 5 mm corresponde a G.

² Exotecio es un término poco usado en las descripciones morfológicas de *Lycopodium*, no obstante aquí se lo usará para referirse a la epidermis del esporangio especializada para la acción mecánica de la dehiscencia.

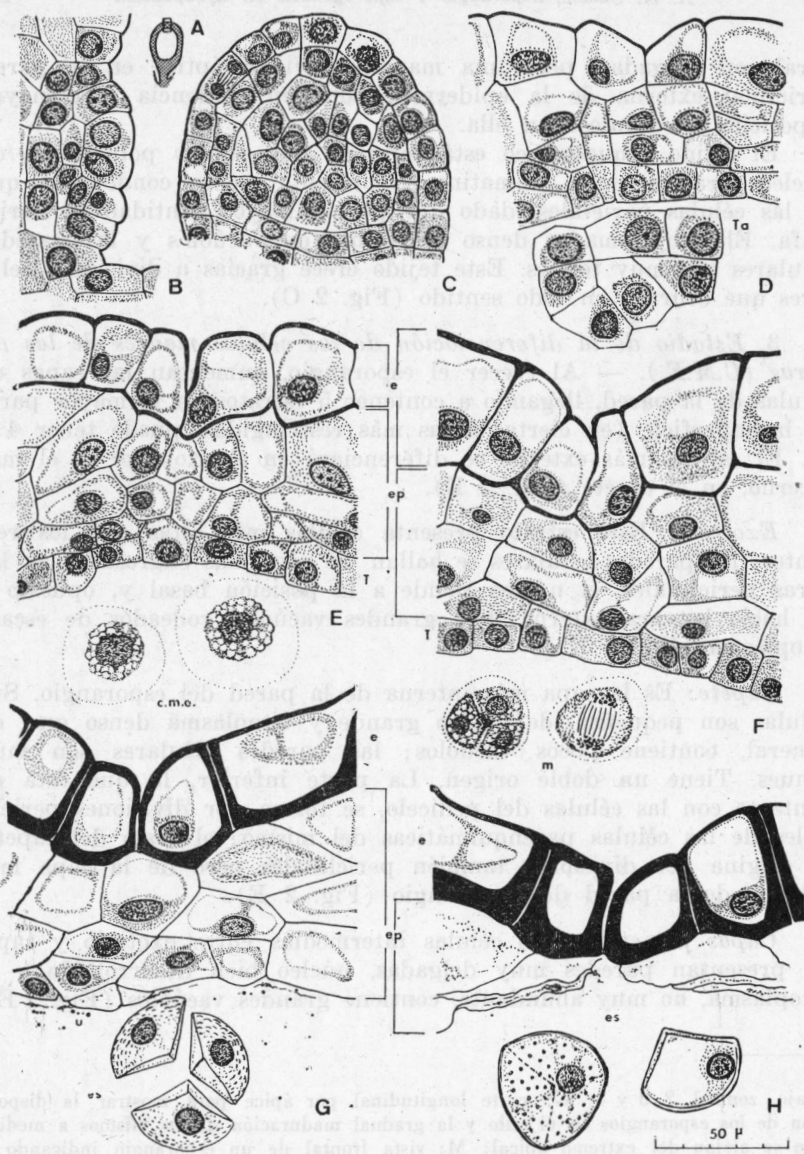


FIG. 2. — *Lycopodium saururus* (Sérsic 70). A: esquema de un esporangio en corte sagital para mostrar el sector que se representa en los detalles; B-H: detalles de los cambios citológicos producidos en la pared del esporangio y tejido arque-sporico a lo largo de la ontogenia; B: primordio indiferenciado; C: diferenciación del tejido arque-sporico, la pared del esporangio presenta sólo 2 capas de células; D: la pared contiene 4 capas y el tejido arque-sporico se separa de ellas; E: diferenciación de las células madres de las esporas, la pared del esporangio tiene 5

En cortes realizados con esporangios provenientes de material vivo se hacen evidentes abundantes coloroplastos en las células de la pared, que si bien en estadios anteriores no se restringían a ningún estrato en particular, aquí se los encuentra sólo en las células del exotecio y estratos parietales.

Tejido arquespórico: poco antes de diferenciarse las C.M.E., es posible ver calosa y algo de almidón en el citoplasma de las células, y sustancias pécticas fuera de él, constituyendo la capa más interna de la pared (Fig. 3 A).

Al diferenciarse las C.M.E., se separan unas de otras y se redondean adquiriendo forma esférica (Fig. 3 B). Su citoplasma se caracteriza por carecer de vacúolos y presentar numerosas inclusiones consistentes en vesículas de calosa rodeando al núcleo, y abundantes gránulos de almidón en posición más externa. El núcleo es denso, en general central y casi no experimenta cambios respecto al estadio anterior. Entre el plasmalema y la pared celular se deposita una gruesa capa de sustancias pécticas que alberga grandes glóbulos de lípidos de color amarillento. Finalmente, por fuera de la capa celulósica de la pared, hay un último estrato translúcido, probablemente constituido por hemicelulosas.³

4. *Estadio de la ocurrencia de la meiosis.* — La pared del esporangio, incluyendo el tapete, no presenta mayores modificaciones en este estadio. Las células del exotecio se hacen más altas, y sus paredes celulares aumentan de espesor y comienzan a lignificarse. Los estratos parietales empiezan a aplastarse y el tapete se mantiene casi sin modificarse (Fig. 2 F).

Los cambios más acentuados se producen en las C.M.E. antes y durante la meiosis. En el estado profásico de las células madres el material de calosa se moviliza hacia la zona periférica, quedando prácticamente en contacto con el plasmalema. El núcleo experimenta cariocinesis meiótica I (Fig. 3 C) y los dos núcleos resultantes con-

capas de células siendo la más externa el exotecio, la más interna el tapete, y las intermedias los estratos parietales; F: ocurrencia de la meiosis; G: esporas jóvenes, tapete destruido, estratos parietales aplastados y exotecio en vías de diferenciación; H: esporangio poco antes de la dehiscencia, con exotecio y esporas maduros y restos de los estratos parietales; *Abreviaturas:* *c.m.e.*, células madres de las esporas; *e*, exotecio; *ep*, estratos parietales; *es*, esporas; *m*, esporocitos sufriendo la división meiótica; *T*, tapete; *Ta*, tejido arquespórico; *u*, corpúsculos semejantes a los de Ubisch.

³ No fue posible realizar pruebas concluyentes que permitiesen saber si estas sustancias son realmente hemicelulosas; no obstante, por eliminación, puede inferirse que seguramente se trataría de estos compuestos.

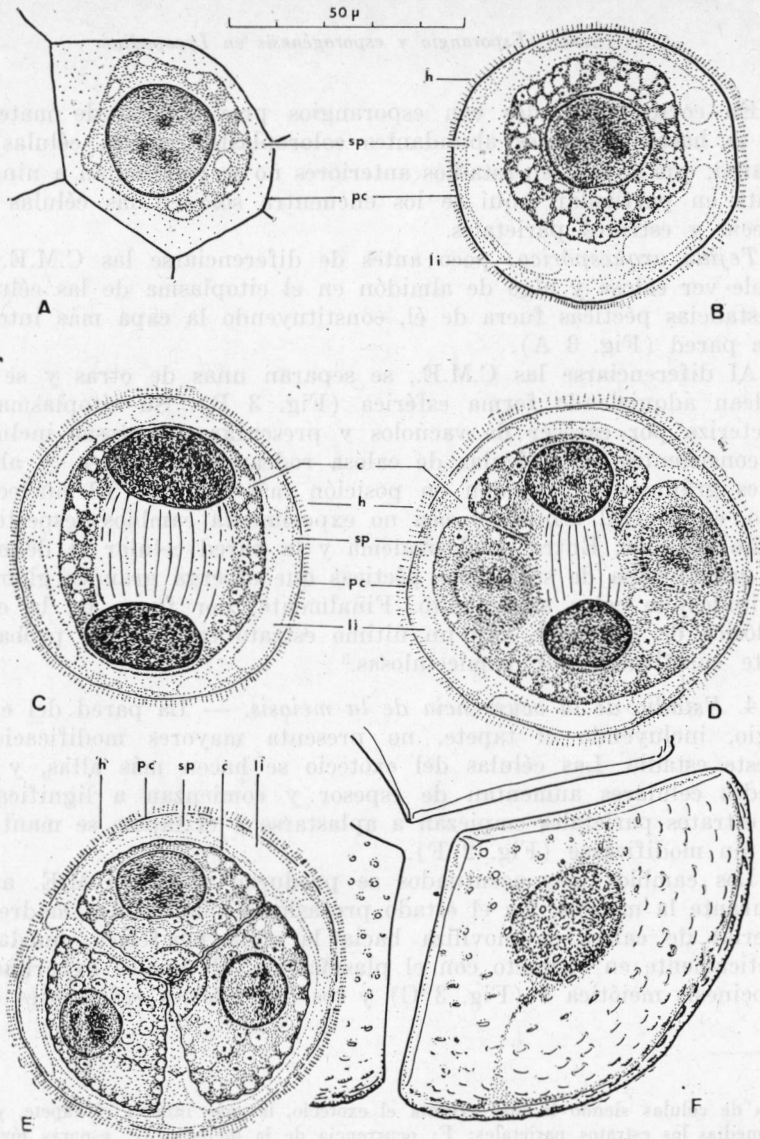


FIG. 3. — *Lycopodium saururus* (Sérsic 71). Formación y maduración de las esporas. A: célula poligonal del tejido arquespórico; B: esporocito profásico mostrando las capas que conforman su pared; C: ocurrencia de la meiosis I; D: cenocito tetranucleado resultado de la meiosis II y comienzo de la citocinesis en la parte superior; E: tétrade recién formada presentando aún la pared celular del esporocito junto con la capa de calosa originada en el momento de producirse la citocinesis simultánea; F: espора madura; Abreviaturas: c, calosa; h, hemicelulosas; li, glóbulos de lípidos con carotenoides; pc, pared celulósica; sp, sustancias pécticas. En todas las figuras los círculos blancos con hilo en el centro, contenidos en el citoplasma de las células, corresponden a gránulos de almidón, y las vesículas blancas sin hilo representan la calosa.

tinúan con la cariocinesis meiótica II sin que hasta ahora haya ocurrido citocinesis (Fig. 3 D); se obtiene así un cenocito tetranucleado con los núcleos dispuestos según un arreglo tetraédrico mediante el auxilio de husos secundarios. A continuación, comienza a producirse la citocinesis simultánea mediante la formación centrípeta de paredes calósicas; a su formación contribuyen las vesículas de ese material que, ya antes de la cariocinesis, se hallaban en posición periférica (Fig. 3 C y D). Todos estos eventos tienen lugar en el interior del recinto limitado por la compleja pared celular de la C.M.E. cuyos 4 componentes de afuera hacia adentro son: estrato de hemicelulosa, estrato celulósico, estrato de sustancias pécticas conteniendo lípidos y estrato de calosa.

Concluida la citocinesis, las sustancias pécticas se introducen entre los miembros de la tétrade hasta rodearlos completamente (Fig. 3 E). En esta etapa sigue habiendo almidón en el citoplasma de los esporos recién formados, y conviene destacar que la pared celulósica que rodea a la tétrade se hace cada vez más tenue e imperceptible.

5. *Estadio de maduración de las esporas.* — *Exotecio*: una vez maduro presenta células de escaso estroma citoplásmico que carece de cloroplastos, pero posee un sistema vacuolar muy desarrollado; el núcleo, de posición interna, es algo más pequeño que en estadios anteriores (Fig. 2 G).

Las células del exotecio, en general, presentan las paredes anticlinales gruesas y de contornos sinuosos en vista periclinal. Los engrosamientos de estas paredes aumentan hacia la pared periclinal interna, que también está engrosada. En cortes transversales, estos espesamientos se presentan en forma de "u" ya que la pared periclinal externa se mantiene delgada. Es importante destacar que no todas las células epidérmicas presentan las características antes mencionadas. En efecto, desde la línea de dehiscencia hasta el pedicelo, pueden distinguirse 4 zonas que se describen a continuación, en el orden citado (Fig. 1 I, F y M):

Zona 1: Formada por una hilera de células a ambos lados de la línea de dehiscencia, constituyendo el borde del estomio. Son células pequeñas, de contorno no sinuoso, con sus paredes engrosadas de un modo más o menos uniforme y muy lignificadas en todas sus caras. Por estas características, no participan activamente en la apertura del esporangio ya que carecen de acción mecánica.

Zona 2: Aquí las células son más grandes, isodiamétricas, de paredes anticlinales sinuosas, gruesas y lignificadas, y paredes periclinales externas delgadas. Estas células tienen participación activa en la dehiscencia después de producida la apertura del esporangio.

Zona 3: Las células son de contornos sinuosos y alargadas en sentido longitudinal. Las paredes son algo más delgadas y menos lignificadas que las anteriores. Tienen una participación activa en la dehiscencia; éstas son las células que actúan primero y juegan un papel importante en la apertura del esporangio.

Zona 4: Finalmente, las células de la región basal carecen de sinuosidades, sus paredes se hacen mucho más delgadas, casi sin lignificar y, lo mismo que las anteriores, son alargadas y se continúan con el pedicelo.

Tapete y estratos parietales: El tapete se consume cuando las esporas todavía no están maduras (entonces, presenta sus células aplastadas y con escaso contenido celular) y termina por desaparecer totalmente. Durante los estadios finales de desintegración aparecen, en el lóculo del esporangio, orbículos muy semejantes a los llamados "cuerpos de Ubisch" en las Angiospermas, quienes a menudo se hallan adheridos a la pared tangencial interna de las células del tapete.

Los estratos parietales también se destruyen, pero este proceso de degradación no es tan acentuado como en el tapete (Fig. 2 G).

Los cloroplastos de las capas parietales también se destruyen, y el esporangio toma color amarillo debido a la masa de esporas que contiene.

Esporas: El proceso de maduración de las esporas trae consigo profundos cambios no sólo en la parte protoplásmica sino también en los varios componentes de la pared celular presentes durante la meiosis.

En efecto, las esporas recién formadas se rodean de una pared calósica, originada durante la citocinesis meiótica; poseen un citoplasma carente de vacúolos, pero conforme van madurando, se desarrolla un gran vacúolo que hace aumentar considerablemente el volumen de la célula (la espora madura tiene un volumen casi 6 veces superior al de la recién formada por división meiótica (Fig. 3 E y F).

El almidón, presente en el citoplasma durante los estadios iniciales, desaparece mientras que se forma una nueva pared celulósica lignificada (interna a la de calosa) sobre la que se depositará la esporopolenina que le dará el aspecto definitivo.

En cuanto a la pared originaria de la célula madre, que se mantuviera durante la meiosis, puede decirse que sus 4 componentes se destruyen gradualmente conforme avanza el proceso de formación de la pared propia de las esporas. Esta degradación tiene sentido centrípeto, siendo las sustancias pécticas y la calosa los últimos componentes en desaparecer (Fig. 4).

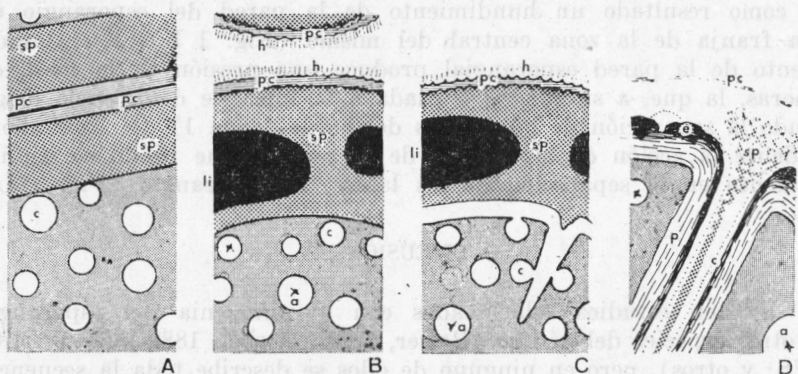


FIG. 4. — *Lycopodium saururus*. Esquema diagramático que resume la evolución de la pared celular desde un esporocito joven hasta una espora. A: fragmento de la superficie de un esporocito poligonal mostrando la composición de su pared celular. En el citoplasma se han representado solamente vesículas que contienen calosa. B: esporocito de contorno esférico, el cemento péctico ya se ha disuelto y las células se presentan separadas unas de otras. Aparece una cubierta translúcida hemi-celulósica (h) por fuera de la pared primaria celulósica (pc). Acumulación de lípidos (li) en el grueso estrato péctico (sp). C: comienzo de citocinesis, durante la meiosis II. Nótese la degradación de la pared primaria (pc) y la deposición de un estrato calósico (c); D: esporas de cuya pared celulósica algo lignificada (p) presenta deposiciones de esporopolenina (e) por encima de ella. Para más detalles ver texto. *Abreviaturas:* a, almidón; c, calosa; e, esporopolenina; h, hemicelulosas; li, lípidos con carotinoides; p, pared celulósica lignificada; pc, pared celulósica; sp, sustancias pécticas. *Simbología utilizada:* punteado grueso, sustancias pécticas; punteado fino, estroma citoplásmico; rayado, pared celulósica; negro pleno, lípidos; negro con estrías blancas, esporopolenina.

6. *Estadio de la dehiscencia del esporangio.* — Referente a este punto, se realizaron algunas sencillas experiencias para observar el proceso de apertura del esporangio y la liberación de las esporas. Dichas experiencias consistieron en colocar, bajo el binocular estereoscópico esporangios maduros, pero indehiscentes, bajo condiciones de iluminación intensa y calor, a fin de provocar la apertura. Estas experiencias se repitieron con esporangios ya vacíos, los cuales fueron hidratados y deshidratados en forma sucesiva para comprobar si en efecto estos procesos producían el cierre y la apertura, respectivamente, del esporangio, lo que se pudo confirmar.

En este estadio la pared del esporangio queda reducida casi totalmente al exotecio (Fig. 2 H). Las esporas, ya maduras, sólo deben esperar el momento de la dehiscencia para dispersarse. Al deshidratarse el esporangio, comienza a ejercerse la acción mecánica de la zona 3, lo que origina una aproximación del borde externo de las paredes anticlinales; esta acción en el conjunto de las células,

da como resultado un hundimiento de la pared del esporangio en una franja de la zona central del mismo (Fig. 1 K). Este hundimiento de la pared esporangial produce una presión en la masa de esporas, la que, a su vez, se traslada a la línea de dehiscencia originando la separación de las células del borde (zona 1). Se hace ahora evidente la acción de las células de la zona 2, que producen un incremento en la separación de los labios del esporangio (Fig. 1 L).

DISCUSION

Existen estudios relacionados con la ontogenia del esporangio de otras especies del género (Bower, 1894; Goebel, 1880-1881; Pettitt, 1978; y otros), pero en ninguno de ellos se describe toda la secuencia de cambios citológicos que ocurren a nivel de la pared del esporangio y del tejido arquespórico.

Respecto de *L. saururus* se ha estudiado (Rolleri, 1972) la ontogenia del esporangio con un criterio semejante al de las otras especies, es decir que tampoco hay información citológica sobre asuntos tales como la citocinesis meiótica, la evolución de las paredes celulares y el origen de sus componentes.

En lo que sigue, se tratarán de interpretar los fenómenos observados para dar una idea del dinamismo del proceso. Como los hallazgos más novedosos comprenden la ontogenia del tejido arquespórico, se dejará de lado lo referente a la evolución de la pared del esporangio puesto que fue tratado en detalle en el capítulo Observaciones.

Todos los materiales presentes en los esporocitos profásicos jugarán un papel muy importante en la construcción de las esporas. Las hemicelulosas, celulosa, sustancias pécticas, lípidos, almidón y calosa tienen en este estado inicial, ubicaciones bien precisas. En el cuadro que sigue se indica la posición de los mismos en los estadios fundamentales, mostrando si la ubicación de los componentes es en la pared (P), o en el citoplasma (C); asimismo, se da una idea de su abundancia con cruces (+).

	CEL. ARQESP.	ESPOROCITO PROFÁSICO	ESPOROCITO TELOFÁSICO	ESPORAS JÓVENES
Almidón	++ C	+++ C	++ C	+ P
Calosa	++ C	+++ C	+++ P	+ P
Lípidos	—	+ P	++ P	—
S. pécticas	++ P	+++ P	+++ P	+ P
Pared celulósica	++ P	+ P	+ P	—
Hemicelulosas	—	+ P	+ P	—

Por de pronto, conviene destacar que, hasta ahora, nunca se indicó la presencia de una pared de sustancias pécticas de posición interna a la pared celulósica de la C.M.E. No se quiere decir con esto que *L. saururus* sea una excepción en la naturaleza, sino que las técnicas empleadas no han permitido evidenciarla. Empero, parece que por lo menos las Angiospermas carecerían de esa pared, ya que, en los numerosos estudios realizados, nunca se ha hablado de este material asociado a los microsporocitos.

Además, es notable la asociación de sustancias pécticas con lípidos que contendrían carotinoides,⁴ posible reservorio de los precursores de la esporopolenina que se depositará sobre la pared celulósica lignificada, formando la cubierta definitiva de las esporas. Dicha pared celulósica, en parte, resultaría homóloga a la primexina de las Angiospermas. La aparición de orbículos semejantes a los de Ubisch en los estadios finales de la evolución del tapete, pueden considerarse como colaboradores para la formación del esporodermo; empero, la posición estratégica de los carotinoides dentro de la pared péctica, hace que éstos sean los contribuyentes quizás más importantes a ese respecto.

Si bien el proceso de esporogénesis de *L. saururus* tiene muchos puntos en común con el similar en Angiospermas, la estrategia empleada para la construcción de las paredes celulares de los esporos es algo distinta. En Angiospermas la conspicua pared de calosa se forma por dentro de la pared celulósica de los esporocitos y ella se mantiene en las micrósporas hasta el momento en que comienza a depositarse la esporopolenina cuyo origen se reconoce en el tapete (Stanley y Linskens, 1974); naturalmente, la pared celulósica ha desaparecido para entonces. Se ha postulado asimismo, que las paredes de calosa aíslan las células durante la meiosis, de modo que ningún material nuevo ingresará a las micrósporas hasta que la pared calósica desaparezca.

En *L. saururus* se encuentra que cada esporocito profásico ya posee prácticamente todos los materiales que empleará para construir la pared de las esporas, incluyendo los precursores de la esporopolenina. Dichos materiales tienen una posición interna, dentro de la pared primaria de las C.M.E., es decir que son generados por el esporocito mismo. Estos materiales tienen una ubicación que va cambiando según avanza el proceso.

La pared péctica actúa como un reservorio para los lípidos que, como ya se dijo, contendrían los carotinoides precursores de la esporo-

⁴ No se han realizado pruebas histoquímicas para determinar fehacientemente la presencia de carotinoides; no obstante el color de los lípidos, sumado a su posición estratégica respecto del esporodermo y al hecho de que estos materiales son consumidos durante el proceso, sugieren que se trate de carotinoides.

polenina. Dichos materiales serán empleados recién cuando comience a disolverse la pared de calosa que se formó durante la citocinesis simultánea al final de la meiosis.

La calosa se observa dentro del citoplasma de los esporocitos ya en la profase pero recién será vertida fuera del plasmalema durante la citocinesis meiótica.

Las sustancias pécticas que rodean a los esporocitos se mantienen hasta finalizado el proceso de maduración, pero particularmente en la zona del polo proximal de los esporos. Su acción es, en cierto modo, equivalente al papel que juega la calosa en la esporogénesis de Angiospermas, en el sentido de que este estrato es el que aísla a los esporocitos y tétrade de la influencia del tapete.

El almidón constituye el compuesto que sirve como materia prima para la formación de dos sustancias bien distintas, que son: los lípidos acumulados en la pared péctica y, más tarde, los monómeros que construirán la primexina. Abonan esta idea la reducción de almidón entre el pasaje de C.M.E. a espora joven, cosa que se ha visto en otras plantas mediante estudios ultraestructurales (Bell and Sheffield, 1979: 401).

Si se establece una comparación entre el mecanismo de la esporodermogénesis en Angiospermas y *Lycopodium*, parece evidente que el de Angiospermas permite una gran participación del tapete en favor de una mayor especialización de los esporos, quienes transfieren a aquél parte de sus funciones, tal como ocurre con la deposición de la esporopolenina.

Por el contrario, dicho mecanismo en *Lycopodium* se basa casi exclusivamente en la actividad de los esporocitos; es decir que se trata de un sistema más cerrado donde poco o casi nada, se delega al tapete; en otras palabras, constituiría un sistema más primitivo que el anterior.

CONCLUSIONES

La ontogenia del esporangio de *L. saururus* aún no está totalmente esclarecida, pues son muchos y muy variados los estudios que se pueden hacer sobre este tema. En este trabajo se aportan nuevos conocimientos que contribuyen a ampliar las ideas que se tienen hasta este momento sobre el desarrollo ontogenético del esporangio. A continuación se enumeran las nuevas contribuciones que se discuten en las páginas precedentes.

1. Esporocitos con una pared celular formada por 4 capas de sustancias distintas, generadas por su propia actividad metabólica; éstas son de afuera hacia adentro: hemicelulosas, celulosas, sustancias pécticas con glóbulos de lípidos y calosa.

2. Por primera vez se cita la presencia de una pared de sustancias pécticas por dentro de la pared celulósica de los esporocitos.

3. Se señala por primera vez la presencia de grandes glóbulos de lípidos que llevarían disueltos los precursores de la esporopolenina, todo lo cual se halla inmerso en las sustancias pécticas.

4. Se da a conocer el carácter simultáneo de la citocinesis en la formación de las tétrades.

5. Se propone una explicación de cómo se forma la exina de las esporas, a partir de materiales elaborados por el esporocito antes de la ocurrencia de la meiosis, lo cual reduciría la participación del tapete. Se indica asimismo la secuencia en el empleo de los distintos materiales acumulados en la pared o el citoplasma del esporocito.

6. Se demuestra cuáles son los mecanismos de dehiscencia del esporangio y de expulsión de las esporas.

AGRADECIMIENTOS

Debo manifestar mi profunda gratitud hacia el Dr. A. E. Cocucci, Director de este Seminario, quien me ha brindado una continua orientación y asesoramiento; así como también agradezco al Lic. C. Proserpi, Dra. T. E. Di Fulvio, Dra. R. Subils, Sr. R. Munch, Srta. G. Di Fulvio y a otros integrantes de la Cátedra de Plantas Vasculares que, de una manera u otra, colaboraron para hacer posible este trabajo.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- BELL, P. R. and E. SHEFFIELD, 1979. Ultrastructural aspects of sporogenesis in a fern, *Pteridium aquilinum* (L) Khun *Ann. Bot.* (London) 44: 339-405.
- BOWER, F. O. 1894. Studies in the morphology of spore-producing members-*Equisetinae* and *Lycopodinae*. *Phil. Trans. Roy. Soc.* (London) B. 185: 473-572.
- CONN, H. J. and M. A. DARROW, 1960. *Staining procedures*. 1-289. Ed. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- GOEBEL, L. 1880. Beiträge zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte der sporangien. *Bot. Zeit.* 38: 545-552.
- 1881. Beiträge zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte der sporangien. *Bot. Zeit.* 39: 681-694.
- JENSEN, W. A. 1962. *Botanical Histochemistry*. I-VII, 1-408. W. H. Freeman and Company, San Francisco and London.
- JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. Mc Grow Hill Book Company, New York. London.
- KHO, Y. O. and J. BAER, 1971. La microscopía de fluorescencia en la investigación botánica. *Rev. Zeiss* 18 (76): 54-57.
- PETTITT, J. M. 1978. Regression and elimination of cytoplasmic organelles during meiosis in *Lycopodium*. *Grana Palyn.* 17 (2) 99-105.
- ROLLERI, C. 1972. Morfología comparada de las especies de *Lycopodium* del Noroeste de Argentina. *Revista Mus. La Plata, Secc. Bot.* 12: 223-317.
- STANLEY, R. C. and H. F. LINSKENS, 1974. *Pollen. Biology, Biochemistry Management*. I-VI, 1-307. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York.