PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Efecto de las variaciones microambientales en la generación gametofítica de *Polybotrya osmundacea* y *Thelypteris macrophylla*

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Biológicas

Ricardo Jaramillo Terán

Quito, 2013

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por su apoyo incondicional y por enseñarme que la familia es siempre lo primero.

Agradezco a Cami por ser mi compañera, mi apoyo y mi mejor amiga.

Agradezco a Mercedes por ser el apoyo que necesité durante toda mi carrera, por ser no sólo una excelente amiga sino también por compartir conmigo desde los detalles más pequeños hasta los más grandes.

Agradezco a Priscilla Muriel por ser una guía muy importante en mi carrera, por darme la oportunidad de hacer esta disertación bajo su dirección y por darme su amistad. A Daphne y Mau por sus consejos y por mantener siempre un buen ambiente de trabajo.

Agradezco al Dr. Olivier Dangles por crear el Fondo Biota Máxima que financió los proyectos: "Efecto de las variaciones microambientales en la generación gametofítica de *Polybotrya osmundacea* y *Thelypteris macrophylla*" y "Requerimientos fisiológicos y microambientales de dos especies de anfibios del Parque Nacional Yasuní", dentro de los cuales se pudo crear una estación de monitoreo de microclima en el Parque Nacional Yasuní.

Agradezco a Andrés Merino-Viteri por su gran ayuda y conocimiento compartido a lo largo de todo este proyecto. Al Dr. Hugo Navarrete por darle una oportunidad a esta investigación. A la Dra. María Eugenia Ordoñez por sus valiosos comentarios y consejos. Al Ing. Julio Sánchez-Otero por su ayuda en los análisis estadísticos realizados. Al Dr. Robin Moran por su gran interés y ayuda en el momento más difícil de esta investigación. Al Dr. Renato Valencia por permitirme realizar parte del estudio dentro de la parcela de 50 ha perteneciente al Proyecto de "Dinámica del Bosque de Yasuní". A la Dra. Laura Salazar, por

su apoyo en la identificación taxonómica de las muestras vegetales colectadas. A la Dra. Iliana Alcocer por su colaboración en la parte metodológica inicial de este estudio.

Agradezco, además, a Daniel Omene por compartir sus enseñanzas Waorani y ser un ejemplo al momento de trabajar con la naturaleza. A David Lasso, Carlos Padilla, a todo el Staff de la ECY, a Milton, Pablo, Papo, Pavón y Anelio por su buena onda y por hacer de mi estadía ahí una gran experiencia.

Finalmente agradezco a Marcelita y a Cristina por encontrar siempre una solución en momentos necesarios.

RS.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS II

1. RESUMEN 1

2. ABSTRACT 3

3. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES 5

3.1 CAMBIOS EXTREMOS EN EL AMBIENTE Y SU RELACIÓN CON LA DISTRIBUCIÓN DE LAS PLANTAS 5

3.2 DIVERSIDAD DEL BOSQUE HÚMEDO TROPICAL 6

3.3 LAS PTERIDOFITAS 7

3.3.1 Ciclo de vida 7

3.3.2 Distribución general y hábitat 9

3.3.3 Ecología de las pteridofitas 10

3.3.4 Fisiología de las pteridofitas 11

3.4 *Polybotrya osmundacea* Humb. & Bonpl. ex Willd. y *Thelypteris macrophylla* (Kunze) C.V. Morton 13

3.4.1 *Thelypteris macrophylla* 13

3.4.2 *Polybotrya osmundacea* 14

3.5 GAMETOFITOS COMO ORGANISMOS DE ESTUDIO 15

3.6 OBJETIVOS 17

3.6.1 Objetivo general 17

3.6.2 Objetivos específicos 17

4. METODOLOGÍA 18

4.1 SITIO DE ESTUDIO 18

4.2 ESTACIÓN MICROCLIMÁTICA 18

4.3 MÉTODOS DE MUESTREO 19

4.3.1 Transectos 19

4.3.2 Cultivo de gametofitos 20

4.3.3 Datos climáticos 22

5. RESULTADOS 24

5.1 ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN DE PTERIDOFITAS EN EL BOSQUE TROPICAL 24

5.2 CULTIVO DE GAMETOFITOS 25

5.2.1. *Thelypteris macrophylla* 26

5.2.2. *Polybotrya osmundacea* 27

5.3 CONDICIONES MICROCLIMÁTICAS 29

5.3.1 Condiciones microclimáticas de los tratamientos 29

5.3.2 Condiciones microclimáticas del bosque tropical del Yasuní 32

6. DISCUSIÓN 35

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 44

8. BIBLIOGRAFÍA 46

9. FIGURAS 55

10. TABLAS 94

11. ANEXOS 119

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Centros mundiales de diversidad de plantas vasculares 56

Figura 2. Ciclo de vida de un helecho 57

Figura 3. Gametofitos de *Thelypteris macrophylla* 58

Figura 4. *Thelypteris macrophylla* 59

Figura 5. *Polybotrya osmundacea* 60

Figura 6. Mapa del Parque Nacional Yasuní 61

Figura 7. Estructura de protección de la microestación climática HOBO 62

Figura 8. Estructura de pvc utilizada para proteger a los sensores ubicados en la columna de sensores a los largo del gradiente altitudinal del bosque de 0 a 2.000 cm. 63

Figura 9. Esquema de los transectos 64

Figura 10. Invernadero para los experimentos de germinación de esporas y cultivo de gametofitos de *Polybotrya osmundacea* y *Thelypteris macrophylla*. 65

Figura 11. Zonas del invernadero cubiertas por malla polisombra 66

Figura 12. Metodología para la el estudio de la germinación de esporas y cultivo de gametofitos de *Polybotrya osmundacea* y *Thelypteris macrophylla* bajo diferentes intensidades de luz, en invernadero 67

Figura 13. Tipos de morfología de los gametofitos observados a lo largo del experimento 68

Figura 14. Regresiones lineares de los promedios de crecimiento en largo y ancho de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*, bajo los cinco tratamientos de sombra (80%, 66%, 50%, 35% y 0%) 69

Figura 15. Promedios del crecimiento en largo por fecha de medición de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*..... 70

Figura 16. Tamaño promedio del largo inicial y final de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla* 71

Figura 17. Promedios del crecimiento en ancho por fecha de medición de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*..... 72

Figura 18. Tamaño promedio del ancho inicial y final de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla* 73

Figura 19. Regresiones lineares de los promedios de crecimiento en largo y ancho de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea*, bajo los cinco tratamientos de sombra (80%, 66%, 50%, 35% y 0%) 74

Figura 20. Promedios del crecimiento en largo por fecha de medición de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea* 75

Figura 21. Tamaño promedio del largo inicial y final de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea*..... 76

Figura 22. Promedios del crecimiento en ancho por fecha de medición de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea* 77

Figura 23. Tamaño promedio del ancho inicial y final de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea*..... 78

Figura 24. Intensidad lumínica máxima de cada tratamiento..... 79

Figura 25. Variación de la intensidad lumínica cada 10 minutos de todos los tratamientos..... 80

Figura 26. Comparación de la media del tiempo de exposición máxima diaria a la luz solar de cada tratamiento 81

Figura 27. Temperatura máxima y mínima y humedad relativa diaria de los cinco tratamientos..... 82

Figura 28. Temperaturas medias máximas y mínimas de cada tratamiento..... 83

Figura 29. Comparación de la humedad relativa media diaria de cada tratamiento 84

Figura 30. Comparación del peso promedio en gramos de un metro cubico de vapor agua saturado diario de cada tratamiento..... 85

Figura 31. Intensidad lumínica máxima y energía diaria dentro del bosque..... 86

Figura 32. Comparación de la intensidad lumínica máxima 0 cm y 150 cm en el bosque y control de intensidad de luz con la intensidad lumínica de cada tratamiento..... 87

Figura 33. Minutos de luz diaria de sensores de luz bajo condiciones control sin filtros, a 0 cm y 150 cm dentro del bosque..... 88

Figura 34. Comparación de los minutos de luz diaria de cada tratamiento con los datos de la ECY, de sensores de luz bajo condiciones control sin filtros, 0 cm y 150 cm dentro del bosque 89

Figura 35. Temperaturas medias máximas y mínimas de la ECY, sensores de luz y temperatura bajo condiciones control, y a -5 cm, 0 cm y 150 cm dentro del bosque 90

Figura 36. Comparación de la temperatura media máxima de cada tratamiento con los datos de la ECY, sensores de luz y temperatura bajo condiciones control, a -5 cm, 0 cm y 150 cm dentro del bosque 91

Figura 37. Comparación de la temperatura media mínima de cada tratamiento con los datos de la ECY, sensores de luz y temperatura bajo condiciones control, a -5 cm, 0 cm y 150 cm dentro del bosque 92

Figura 38. Comparación del peso promedio en gramos de un metro cubico de vapor agua saturado diario dentro del bosque a 0 cm, 150 cm y control..... 93

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Fechas en las que se realizaron las mediciones de largo y ancho de los gametofitos de las dos especies..... 95

Tabla 2. Especies de pteridofitas encontradas en los transectos realizados dentro del Sitio 1 y Sitio 2 96

Tabla 3. Número de individuos muestreados y de especies encontradas según su hábito..... 99

Tabla 4. Número total de individuos de helechos muestreados en los tres tipos de transectos (Estero, Cima-Valle y Cima) dentro del Sitio 1 y Sitio 2. 100

Tabla 5. Número de individuos de helechos muestreados por transecto. 101

Tabla 6. Número de especies de helechos encontradas por cada tipo de transecto realizados dentro del Sitio 1 y Sitio 2. 105

Tabla 7. Valor de la pendiente en la ecuación de la regresión lineal de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla* y *Polybotrya osmundacea* en función de los cuatro tratamientos de sombra (80%, 65%, 50% y 35%)... 106

Tabla 8. ANOVA de un factor de *Thelypteris macrophylla* 107

Tabla 9. Análisis descriptivo del ANOVA de un factor de *Thelypteris macrophylla*..... 108

Tabla 10. Cantidad total de esporofitos cuantificados en cada fecha de medición por tratamiento. 109

Tabla 11. ANOVA de un factor de *Polybotrya osmundacea* 110

Tabla 12. Análisis descriptivo del ANOVA de un factor de los datos obtenidos de *Polybotrya osmundacea* 111

Tabla 13. Cantidad de individuos medidos en cada fecha de medición. 112

Tabla 14. Datos climáticos registrados desde el 26 junio 2012 hasta el 16 de septiembre 2012 113

Tabla 15. Intensidad lumínica y porcentajes de luz filtrada por la malla polisombra observada y esperada dentro de cada tratamiento. 115

Tabla 16. Hoja de toma de datos sugerida para la metodología propuesta para el estudio fisiológico del efecto de la luz solar en los gametofitos de helechos, bajo invernadero 116

Tabla 17. Hoja de registro fotográfico de los gametofitos sugerida para la metodología propuesta para el estudio fisiológico del efecto de la luz solar en los gametofitos de helechos, bajo invernadero 118

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Cambios en las concentraciones atmosféricas de CO2 CH4 y N2O a lo largo de los últimos 1.000 años..... 120

Anexo 2. Metodología para la obtención de esporas de pteridofitas viables para distintos usos..... 121

Anexo 3. Metodología para el estudio fisiológico del efecto de la luz solar en los gametofitos de helechos, bajo invernadero..... 122

Anexo 4. Protocolo de recuperación de datos climáticos..... 126

Anexo 5. Maceta del tratamiento control (0% de sombra) de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*. 132

Anexo 6. Glosario..... 133

1. RESUMEN

El acelerado cambio climático que se está experimentando es una realidad con la cual deberán lidiar los seres vivos a lo largo de todo el presente siglo. Los estudios relacionados al cambio climático están enfocados en determinar sus efectos sobre las especies en el futuro inmediato. Las pteridofitas y licofitas tienen más de 12.000 especies a nivel mundial, están mayormente distribuidas en los trópicos y poseen un ciclo de vida que alterna entre un esporofito diploide dispersado por esporas y un gametofito haploide, que ha atraído la atención de aquellos interesados en la interpretación del ciclo de vida de las plantas vasculares. El presente estudio buscó determinar si la luz y la temperatura son condiciones microclimáticas que influencian el desarrollo de los gametofitos de dos especies de helechos: *Polybotrya osmundacea* y *Thelypteris macrophylla* en el bosque tropical del Parque Nacional Yasuní. Para ello, se estudiaron gametofitos de las dos especies, cultivados bajo diferentes niveles de sombra (0%, 35%, 50%, 65% y 80%). También se estudió la abundancia de los esporofitos de ambas especies en tres tipos de topografía (cimas, cimas y valles, esteros) en el bosque húmedo y se analizaron las condiciones microambientales en un sitio seleccionado. Los transectos de diversidad y abundancia fueron realizados con el fin de saber si las dos especies de estudio: *T. macrophylla* y *P. osmundacea* se encuentran asociadas a algún tipo topográfico y a su vez asociar la presencia de las especies en las cimas y valles con los datos microclimáticos, instalada en este tipo de bosque. Los resultados demostraron que tanto la luz como la temperatura fueron condiciones climáticas determinantes en el desarrollo de los gametofitos de *P. osmundacea* y *T. macrophylla*. En ambas especies, los gametofitos presentaron un mayor tamaño a 0% de sombra, a pesar de tener una mayor mortalidad y cambios morfológicos, mientras que bajo la mayor cantidad de sombra (80% y 65%) éstos tuvieron los tamaños más pequeños y morfologías planas. El microclima bajo el cual los gametofitos crecieron más fue el más extremo tanto en luz como en temperatura (tratamiento

control), mientras que en los tratamientos con más sombra tuvieron un microclima menos agresivo con intensidades lumínicas menores y temperaturas más bajas. La especie más abundante fue *Adiantum humile* en las cimas del bosque, seguida por *T. macrophylla*, que fue más abundante en las cimas de los bosques, mientras que *P. osmundacea* fue más abundante en las cimas y valles del bosque.

Palabras clave: Gametofito, luz, microclima, pteridofitas, temperatura.

2. ABSTRACT

Current accelerated climate change is a reality that living beings must deal with throughout this century. Studies related to climate change are focused on identifying its effects on species in the immediate future. Pteridophytes and Lycophytes comprise more than 12.000 species worldwide, they are mostly distributed in the tropics, and have a life cycle that alternates between a diploid sporophyte dispersed by spores and a haploid gametophyte. This later has attracted the attention of those interested in the interpretation of vascular plants life cycles. This study sought to determine whether light and temperature are microclimatic conditions influencing the gametophyte development of two fern species: *Polybotrya osmundacea* and *Thelypteris macrophylla* in Yasuní National Park. Gametophytes of the two species were grown under different shade levels (0%, 35%, 50%, 65% and 80%). The sporophyte abundance of both species in three topography types (ridgetops, cross-country, flooded plains) in the humid forest were studied and micro-environmental conditions were analized at a selected site. Diversity and abundance transects were conducted in order to know whether the presence of the two study species, *T. osmundacea* and *P. macrophylla*, was associated with the different topographic types and to determine if the presence of the species in the crosscountry topography had any association with climate data gather from the microclimate station, installed in such topography. The results showed that both light and temperature were climatic determinants in the development of the gametophytes of *P. osmundacea* and *T. macrophylla*. In both species, gametophytes were larger at 0% shade, despite having higher mortality and morphological changes, while under shade (80% and 65%) gametophytes had smaller sizes and flat morphologies. The microclimate under which gametophytes were larger was the most extreme one, for both light and temperature (control treatment), whereas in more shadowed treatments they had a less aggressive microclimate. The most abundant species was *Adiantum humile* on ridgetops, followed by *T. macrophylla*,

which was more abundant on ridgdetops as well, while *P*. *osmundacea* was more abundant on crosscountry transects.

Key words: Gametophyte, light, microclimate, Pteridophytes, temperature.

3. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

3.1 CAMBIOS EXTREMOS EN EL AMBIENTE Y SU RELACIÓN CON LA DISTRIBUCIÓN DE LAS PLANTAS

Existen pocas dudas en la comunidad científica de que el acelerado cambio climático que se está experimentando es una realidad con la cual deberán lidiar la humanidad y los demás seres vivos a lo largo de todo el presente siglo. Los estudios relacionados al cambio climático actual se han incrementado en los últimos años, y están enfocados en determinar cómo las especies van a verse afectadas por el mismo, en el futuro inmediato. Así, una especie vegetal o animal determinada puede extinguirse o adaptarse, sobrevivir y reproducirse dentro del rango de condiciones ambientales que conforman el nicho fundamental de la especie, el cual incluye al nicho climático al que se ha adaptado (Herzog *et al.*, 2010; Sahley *et al.*, 2010).

Actualmente, existe un énfasis científico y social sin precedentes en evaluar los cambios en la temperatura por causas antropogénicas y los impactos subsecuentes en sistemas manejados y no manejados. Una de las causas asociadas al aumento potencial de temperatura, es el incremento en la concentración de dióxido de carbono (CO_2) en la atmósfera; sin embargo éste es también uno de los cuatro requerimientos abióticos necesarios para el crecimiento de las plantas (además de luz, nutrientes y agua). Cualquier cambio en estos parámetros abióticos, particularmente a escala global (Anexo 1), impactará no sólo en la biología de las plantas sino en todos los organismos vivientes (Morison y Morecroft, 2006).

La evidencia paleoecológica de la respuesta al último cambio climático, especialmente de plantas, indica que la evolución adaptativa tuvo un papel menor y que la migración fue la respuesta más común de los organismos (Huntley, 1991). Por lo tanto, se necesita un modelo más realista de la migración de las plantas para predecir las respuestas biológicas al cambio

climático global, drásticamente alterado por el humano. Por lo tanto, el estudio de la fisiología de los helechos pretende proveer información para clarificar el efecto del clima sobre su ecología y distribución (Pitelka y Group, 1997)

3.2 DIVERSIDAD DEL BOSQUE HÚMEDO TROPICAL

La diversidad de plantas vasculares es desigualmente distribuida a lo largo del globo. En las regiones montañosas entre los trópicos húmedos, las condiciones climáticas y los altos niveles de geodiversidad definen patrones de biodiversidad a gran escala, caracterizados por una duración y longitud del período de vegetación térmica (cantidad de energía disponible para procesos vegetales necesarios, muy específicas o la disponibilidad de agua (Mutke y Barthlott, 2005). De esta manera, el ambiente físico ha delimitado cinco áreas que llegan a una riqueza de especies mayor a 5.000 especies/10.000 km^2: Costa Rica (Chocó), Brasil Atlántico, Oriente de los Andes Tropicales, Norte de Borneo y Nueva Guinea. Si bien estas áreas cubren sólo el 0,2% de la superficie terrestre (Figura 1), albergan a más de 18.500 especies endémicas de estas regiones (Barthlott *et al.*, 2005).

Es así que los Andes Amazónicos son el segundo centro de riqueza de especies, con alrededor de 2.704 a 4.000 especies de plantas (Bass *et al.*, 2010). Aquí la diversidad alfa de plantas llega a niveles sorprendentes. Por ejemplo, una sola hectárea de bosque amazónico puede soportar más de 654,9 especies de árboles con un diámetro a la altura del pecho de ≥10 cm. La diversidad alfa es mucho mayor en bosques lluviosos ecuatoriales que en cualquier otro tipo de vegetación (Wright, 2002; Valencia *et al.*, 2004).

Se asume que la Amazonia es ecológicamente tan uniforme, que las condiciones ecológicas actuales son insignificantes para determinar patrones de distribución de especies y especiación. Sin embargo, esta asunción se basa más en la falta de información relevante y no en las observaciones actuales de uniformidad ambiental o en la no especialización ecológica

de las especies. Varios estudios han documentado que la composición y abundancia de especies de plantas dentro del bosque tropical responde a la heterogeneidad de propiedades del suelo, topografía y sucesión estacional del bosque. Además, se ha documentado recientemente una heterogeneidad ecológica y diferencias florísticas entre sitios que previamente se pensaron similares (Tuomisto y Ruokolainen, 1997; Jones *et al.*, 2008).

3.3 LAS PTERIDOFITAS

3.3.1 Ciclo de vida

Los helechos, cuyo origen se remonta a unos 420 millones de años atrás (Judd *et al*., 2008), tienen una forma primitiva de reproducción en relación a las plantas con flor, éstos se dispersan por esporas y dependen del agua para la fecundación (Navarrete, 2001).

Los ciclos de vida de las plantas vasculares sin semilla se caracterizan por una alternancia de generaciones heteromorfas, en las cuales el adulto esporofito es grande y de vida libre (Raven *et al.*, 2005).

El ciclo de vida de un helecho puede ser homospórico o heterospórico. El primero da lugar a un tipo único de espora, que tiene el potencial de generar un gametofito bisexual y el segundo da lugar a dos tipos de esporas, megasporas y microsporas, las cuales van a germinar y generar gametofitos femeninos y masculinos, respectivamente. La mayoría de plantas vasculares sin semilla son homospóricas y sus gametofitos son mucho más grandes comparados con los provenientes de helechos heterospóricos (Raven *et al.*, 2005).

El ciclo de vida típico de las pteridofitas inicia con una planta que tiene tallo en forma de rizoma, del que surgen raíces adventicias y frondas. En el envés o márgenes de las frondas expandidas y maduras se encuentran los soros, que contienen a los esporangios. El esporangio consiste típicamente de un tallo delgado y una cápsula globosa que se encuentra cercada por

el ánulo. La función de este último es catapultar las esporas fuera del esporangio, gracias a la dehiscencia esporangial, influenciada por cambios de humedad en las células. Al secarse las células, el ánulo se dobla hacia atrás, dividiendo a la cápsula transversalmente. Éste continúa doblándose hasta que la fuerza elástica supera a la fuerza de sequía de las células y vuelve a su posición original. Este movimiento repentino lanza las esporas fuera de la cápsula y son llevadas lejos por el viento (Figura 2) (Bidlack y Jansky, 2011; Moran, 2011).

Luego de aterrizar, las esporas germinan y se desarrollan en gametofitos o prótalos de 0,2–2 cm de largo y son típicamente bilobados o acorazonados, delgados y planos. Los prótalos tienen el grosor de una célula y pueden tener de 5–6 mm de diámetro y usualmente se ondulan en los márgenes. Los anteridios, producidos en la superficie inferior del área central del gametofito (Figura 3), están intercalados entre los rizoides, mientras que los arquegonios están usualmente más cerca del corte del gametofito acorazonado (Figura 3) (Bidlack y Jansky, 2011; Hoshizaki y Moran, 2001). La fertilización, que es un proceso de unión de los gametos masculinos y femeninos, se da cuando hay presencia de agua en el medio: los anteridios absorben agua, se hinchan, y luego explotan para liberar al esperma, que sabe hacia dónde nadar para fertilizar al huevo. Esto se debe a que el esperma se ve atraído por el ácido málico, liberado por la decadencia de las células del cuello de los arquegonios. Una vez fertilizado el huevo, el cigoto crece y se desarrolla en una planta embriónica (esporofito) que continuará su crecimiento normal (Hoshizaki y Moran, 2001; Bidlack y Jansky, 2011; Moran, 2011).

Mientras las raíces crecen y anclan el esporofito al suelo, el gametofito eventualmente se marchita y muere, dejando a la planta joven sola. Esta planta continúa creciendo y produciendo nuevos órganos hasta que alcanza a su madurez y tamaño máximo, que es cuando produce hojas con soros y esporas y el ciclo se repite. Sin embargo, si la fertilización no ocurre, el gametofito puede seguir viviendo, incluso por algunos años. La manera en la que

los grupos principales de plantas alternan sus generaciones los define y puede tener consecuencias biológicas profundas. Algunos factores determinantes pueden ser la necesidad de agua para la fertilización en los helechos, restringiéndolos a hábitats húmedos, además de una auto fertilización homocigota, entre otras (Hoshizaki y Moran, 2001; Bidlack y Jansky, 2011; Moran, 2011).

Debido a que los helechos tienen esporofitos y gametofitos independientes, el estudio de estos últimos es esencial para revelar aspectos importantes de la ecología de organismos con dos generaciones de vida libre y completamente diferentes (Watkins *et al.*, 2007).

3.3.2 Distribución general y hábitat

Los helechos o pteridofitas, junto con las licofitas, representan dos de los seis mayores clados de plantas terrestres. Estos dos grupos llegan a tener 12.000 especies a nivel mundial, con su gran mayoría distribuida en los trópicos, sin embargo actualmente, las pteridofitas ocurren a nivel mundial, desde las tundras hasta los trópicos ecuatoriales. En el Ecuador, los pteridólogos tienen el privilegio de observar 1.300 especies de helechos y plantas afines, de los cuales más de 200 prosperan exitosamente en la Amazonia ecuatoriana. Los trópicos son más diversos para helechos y licofitas, no sólo en número de especies sino en formas de crecimiento. Los helechos más comunes en los trópicos con los arborescentes, epífitos, hemiepífitas secundarios y trepadores— formas casi totalmente ausentes en las zonas temperadas (Navarrete, 2001; Moran, 2011).

Los atributos biogeográficos de los helechos son tres. El primero implica que los helechos tienen pocos casos de coevolución con herbívoros. La preferencia de hábitat, y por lo tanto su distribución, refleja características climáticas y otras abióticas como el sustrato, y no una combinación intrincada de características climáticas y coevolutivas. Segundo, la biología reproductiva única de los helechos parece imponer limitaciones en la ecología y

distribución de las especies, al tener estructuras tan frágiles como los gametofitos, sin embargo, la capacidad de dispersión regular a larga distancia ayuda a disminuir los efectos de estas limitaciones. Tercero, este tipo de dispersión es una fuerza dominante en la distribución de los helechos, siendo efectiva debido a que muchos helechos tienen esporas pequeñas y livianas, con el potencial de desarrollar un gametofito capaz de producir oocitos y esperma (Barrington, 1993).

El estrato de hierbas y arbustos del sotobosque es un filtro ecológico muy importante en muchas comunidades temperadas y tropicales, que influencia la composición y estructura del dosel. El estrato del sotobosque es un mosaico variable compuesto de plantas de diferentes especies, densidades y grados de mezcla. Dentro de este estrato de gran importancia se encuentran gran parte de las pteridofitas (George y Bazzaz, 1999).

3.3.3 Ecología de las pteridofitas

Si bien el estudio de los helechos ha sido fundamental para entender la biología de plantas vasculares, sólo los aspectos más básicos de su ecología han comenzado a ser examinados. La cantidad de información tanto de ecología como de fisiología de otros grupos de plantas y animales es muy grande comparada con la que se tiene de pteridofitas (Watkins *et al.*, 2007).

La cantidad de roles que cumplen los helechos dentro de los ecosistemas es enorme. Por ejemplo, los helechos del sotobosque influencian el microambiente del suelo en maneras que llevan a una reducción diferencial de la emergencia de plántulas de especies de árboles y su establecimiento (George y Bazzaz, 1999). De esta manera, actúan como un filtro selectivo que influencia la futura composición al reducir la densidad, alterar la composición de especies y determinar la distribución espacial del banco de plántulas (Russell y Vitousek, 1997). Adicionalmente, los helechos han demostrado controlar la regeneración potencial de bosques

alrededor del mundo. Por ejemplo, los helechos arborescentes pueden soportar un gran número de plántulas epífitas en sus troncos y así proveer de oportunidades a ciertas especies para una regeneración exitosa (Coomes *et al.*, 2005). Por último, la cantidad de materia orgánica que se encuentra bajo los helechos es más profunda comparada con áreas libres de éstos; inclusive algunas especies de pteridofitas que se descomponen lento inmovilizan nitrógeno y fósforo, previniendo fugas de nutrientes y conservándolos en el sistema (Russell y Vitousek, 1997; George y Bazzaz, 1999).

3.3.4 Fisiología de las pteridofitas

La existencia del gametofito ha atraído la atención de aquellos interesados en la interpretación del ciclo de vida de las plantas vasculares. El gametofito de los helechos es una entidad autotrófica, de crecimiento libre, con una forma definida, un patrón de crecimiento, estructura y modo de reproducción (Figura 3). Comparado con el esporofito, es una entidad simple, muy pequeña y taloide, es decir sin diferenciación en órganos especializados (Nayar y Kaur, 1971; Sheffield y Bell, 1987; Hoshizaki y Moran, 2001).

Ecológicamente, el esporofito y el gametofito tienen requerimientos similares, pero al tener una organización más simple y carecer de dispositivos de protección elaborados, el gametofito es más susceptible a la escasez de humedad en el sustrato y en la atmósfera. Además, para la reproducción sexual, el gametofito es totalmente dependiente de la disponibilidad de agua (Nayar y Kaur, 1971).

Dentro del estudio de la fisiología de los helechos existe un factor muy importante: la luz. Ésta tiene funciones de señalización en el desarrollo de cualquier planta en el bosque y es la fuente energética para la asimilación de CO_2 (Renner y Randi, 2004; Hiendlmeyer y Randi, 2007). Las plantas alteran su crecimiento y desarrollo en respuesta a la luz ambiental a través de procesos conocidos como fotomorfogénesis. Muchos aspectos del desarrollo de las plantas

son controlados por la luz. Varios pasos, desde la germinación de esporas y semillas, hasta la formación de órganos reproductivos, requieren de ésta a través de varias respuestas transductivas como el flujo de iones, el metabolismo y la expresión génica. Comparada con otros factores ambientales que controlan el desarrollo de las plantas, la luz es una excelente herramienta para el estudio de la morfogénesis, ya que es un factor ambiental fácil de controlar bajo condiciones experimentales (Wada y Kadota, 1989; Nozue *et al.*, 1998).

Adicionalmente, el balance entre la energía lumínica absorbida y la usada para el metabolismo es crítica en organismos fotosintéticos, para un mantenimiento equilibrado de carbono positivo en una gran cantidad de ambientes y para ocupar exitosamente diversos hábitats. La luz es el recurso más importante que limita la supervivencia y el crecimiento de las plantas en el sotobosque de los bosques húmedos. Por lo tanto, la habilidad de las especies de helechos a capturar y usar este recurso puede determinar su amplitud ecológica (Saldaña *et al.*, 2010).

Por otro lado, el ambiente es altamente heterogéneo tanto en espacio como en tiempo, y los organismos deben aclimatarse o escapar de condiciones adversas. La plasticidad fenotípica, o la capacidad de un determinado genotipo de crear diferentes fenotipos bajo distintas condiciones ambientales, es un medio para lidiar con la heterogeneidad ambiental y es particularmente adecuado para organismos sésiles (Valladares *et al.*, 2007). Muchos estudios han mostrado que las plantas son plásticas para un gran número de características ecológicas, que van desde morfología, fisiología y anatomía, hasta sincronización en el desarrollo y reproducción, patrones de crianza y desarrollo de la descendencia. Desde una perspectiva ecológica, se considera que las plantas especialistas, por ejemplo aquellas limitadas a un rango de distribución restringido, deberían exhibir una tolerancia angosta a la variación ambiental, mientras que especies generalistas, con distribución amplia, deberían

tener una mayor tolerancia a cambios ambientales (González y Gianoli, 2004; Valladares *et al.*, 2007).

Existen bases de información morfológica, taxonómica y filogenética de las especies, pero sólo estamos al comienzo de preguntarnos más acerca de los aspectos ecológicos y las razones detrás de las adaptaciones y las arquitecturas que vemos (Page, 2002).

Por último, debido a que no todos los organismos están expuestos a las mismas condiciones ambientales, su comportamiento y el tipo de microhábitats utilizados definen a qué condiciones están realmente expuestos. Los helechos, como muchos otros organismos, pueden estar influenciados y depender específicamente de estas condiciones para completar su ciclo de vida.

3.4 *Polybotrya osmundacea* Humb. & Bonpl. ex Willd. y *Thelypteris macrophylla* (Kunze) C.V. Morton

En este estudio se utilizó una especie epífita: *P. osmundacea* y una terrestre: *T. macrophylla*, para los experimentos de germinación y tolerancia fisiológica de los gametofitos a la intensidad lumínica solar (Lux).

3.4.1 *Thelypteris macrophylla*

Terrestre; rizoma cortamente rastrero; hojas 1–2 m de longitud, subdimórficas a dimórficas; pecíolo de menor longitud que la lámina, glabrescente; lámina estéril 1-pinnada terminando en un segmento apical similar a las pinnas laterales, pero bastante más largo; pinnas 3–6 pares, 5–12 cm de ancho, glabras, con margen entero, sésiles o cortamente pecioluladas, a veces adnadas, venación reticulada, formando varias hileras de areolas simétricas entre la costa y el margen, areolas con una venilla incluida; hojas fértiles con

mayor número de pinnas, pero las pinnas más cortas y pubescentes en el envés de las venas y costas, esporangios cubriendo casi todo el envés de las pinnas (Figura 4) (Navarrete, 2001).

Esta especie crece en áreas bien drenadas y en zonas que se inundan periódicamente. Es una de las especies más comunes en la Amazonia (Navarrete, 2001).

3.4.2 *Polybotrya osmundacea*

Tallo de 1-2,5(4) cm de grueso, hemiepífita; escamas extremadamente variables, los individuos de la Amazonia tendiendo a tener escamas gruesas, opacas, oscuras, cafés, sub-enteras, recurvadas, y plantas de otros lugares tendiendo a tener escamas brillosas, ascendientes, extensas y bicoloras, usualmente con una veta oscura y bordes claros, márgenes muy erosos, o menos frecuente, denticulados, en su mayoría de 1,0–2,2 × 0,8–1,9 (2,3) cm. Hojas estériles de hasta 1,8 m de largo; lámina deltada, ovada o lanceolada, 3-pinnada-pinnatífida, cartácea, raramente con glándulas dispersas, redondas, sésiles y resinosas en la superficie abaxial, los márgenes glabros; pinna estrechamente deltada, equilateral, (7)13–18 pares; pínulas arregladas de manera anadrómica o raramente de manera catadrómica (Perú), hasta 14 × 14 cm el corte más profundo en la base, ápice acuminado. Las plantas juveniles se las puede encontrar como terrestres, es una de las especies más comunes en la Amazonia. Las pinnas fértiles semejan un racimo de uvas (botrioides) y la lámina varias veces dividida caracterizan esta especie (Figura 5) (Moran, 1987; Navarrete, 2001).

P. osmundacea, una de las especies más ampliamente distribuidas de *Polybotrya*, es la especie tipo del género. Se encuentra en bosques húmedos con sombra desde el nivel del mar hasta 2.100 m. Junto con *P. caudata*, *P. osmundacea*, tiene los rangos geográficos y altitudinales más amplios que cualquier especie dentro de este género (Moran, 1987).

3.5 GAMETOFITOS COMO ORGANISMOS DE ESTUDIO

A pesar de que los helechos no son importantes cultivos y tienen pequeño impacto en las actividades del ser humano, es importante entender que se puede aprender del desarrollo de las plantas usando gametofitos de helechos como sistemas experimentales (Banks, 1999).

Se han realizado estudios descriptivos de la germinación de la espora y del desarrollo del gametofito en una gran cantidad de helechos, ya que éstos presentan muchas ventajas como material de investigación para morfología experimental: Los gametofitos son pequeños y fáciles de manejar en grandes números, pueden ser ubicados en cultivos estériles desde antes de la germinación de la espora y se puede manipular todos los aspectos de su crecimiento y desarrollo de una manera no destructiva. El entendimiento de su biología es crítico para, en última instancia, entender la distribución de los esporofitos además de proveer bases para el desarrollo de métodos alternativos de propagación que pueden contribuir a su conservación (Miller y Miller, 1961; Gantt y Arnott, 1965; Banks, 1999; Renner y Randi, 2004).

Desde el punto de vista de la fisiología, fotobiología y biología celular, los gametofitos son sistemas modelo ideales para el estudio del mecanismo de fotomorfogénesis. Algunos aspectos positivos del sistema de los helechos incluyen: (1) la preservación de las esporas a temperatura ambiente y su germinación bajo condiciones apropiadas, (2) el fácil cultivo de gametofitos autónomos nutricionalmente, (3) la fácil observación, irradiación lumínica y manipulación experimental, debido a que los gametofitos no se encuentran dentro de otro tejido y (4) el control sincrónico de cada paso del desarrollo, ya que los gametofitos son muy sensibles a la luz (Ranker y Haufler, 2008).

Hasta ahora las metodologías para determinar impactos de cambio climático se basan en el análisis de condiciones macroambientales y datos de presencia de los organismos en una

región geográfica determinada, en particular, en el caso de las plantas, los estudios están enfocados en información sobre la generación esporofítica. Por ende, el análisis de los efectos de cambios microambientales en gametofitos permite evaluar de manera más efectiva los potenciales efectos del cambio climático sobre el ciclo completo de las plantas vasculares y la vulnerabilidad de los organismos de estudio.

3.6 OBJETIVOS

3.6.1 Objetivo general

Determinar si la luz es una condición microclimática que influencia el desarrollo de los gametofitos de dos especies de helechos: *Polybotrya osmundacea* y *Thelypteris macrophylla* en el bosque tropical del Parque Nacional Yasuní.

3.6.2 Objetivos específicos

- Estandarizar una metodología para el estudio del efecto de las variaciones microambientales sobre la fisiología de gametofitos.
- Determinar diferencias en el desarrollo, crecimiento y morfología de los gametofitos de *P. osmundacea* y *T. macrophylla* bajo diferentes intensidades de luz, mediante la comparación de sus tasas de crecimiento.
- Identificar las condiciones microclimáticas de la luz idóneas para el desarrollo de los gametofitos de cada especie.

4. METODOLOGÍA

4.1 SITIO DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el Parque Nacional Yasuní, en los alrededores de la Estación Científica Yasuní (ECY) (76°24´ 1,8´´W; 0°40´16,7´´S). El parque está situado entre 200–300 m.s.n.m, tiene un clima húmedo tropical y casi no estacional. La precipitación anual excede los 2.400 mm y ningún mes recibe menos de 100 mm promedio de lluvia, aunque se pueden reconocer dos épocas menos lluviosas (diciembre–febrero y agosto), y se han registrado períodos de sequía con duración de 30 a 45 días. Los meses más húmedos son de abril a mayo y de octubre a noviembre. Las temperaturas promedio mensuales son una máxima de 34 °C y una mínima de 22 °C (Barriga, 2002; Tuomisto *et al.*, 2002; Valencia *et al.*, 2004) (Figura 6).

4.2 ESTACIÓN MICROCLIMÁTICA

Para el presente estudio, se construyó una estación de colección de datos microambientales (76°24'5.64"W; 0°40'36.01"S). La estación está compuesta por una microestación de registro de datos HOBO (H21-002 *Micro Station*), la cual captura y registra los siguientes datos , a través de diferentes sensores: humedad en la superficie de las hojas (S-LWA-M003 *Leaf Wetness Smart Sensor*), volumen de agua en 1 metro cúbico de suelo (S-SMD-M005-10HS *Soil Moisture Smart Sensor*), la cantidad de energía disponible para fotosíntesis en Watts por metro cuadrado (S-LIB-M003 *Silicon Pyranometer Smart Sensor*). Esta microestación está protegida de los animales por una estructura metálica (Figura 7). Además, con el fin de tener datos climáticos tipo control, se instaló un sensor de temperatura y humedad (DS1923 *temperature/humidity logger iButton*®) y de luz y temperatura (UA-002-64 *Temperature/Light —waterproof— Pendant*®) fuera del bosque en la ECY.

Adicionalmente, la estación de datos microambientales cuenta con una columna de sensores de temperatura y humedad que consiste de una cadena de acero que llega hasta el dosel del bosque, a la altura del nacimiento de las primeras ramas, en la que se sujetaron sensores de temperatura y humedad (DS1923 *temperature/humidity logger iButton*®) a lo largo del siguiente gradiente altitudinal: 0 cm, 150 cm, 500 cm, 1.000 cm, 1.500 cm y 2.000 cm. Adicionalmente, se colocaron dos sensores de temperatura y luz (UA-002-64 *Temperature/Light —waterproof— Pendant*®) sobre las estructuras de PVC a 0 cm, 150 cm y 500 cm. Finalmente, se instaló un sensor de temperatura y humedad dentro de una caja negra a -5 cm debajo del suelo, otro a nivel del suelo cubierto por una estructura de PVC sobre la superficie, un sensor de temperatura y luz (UA-002-64 *Temperature/Light —waterproof— Pendant*®) a 0 cm y a 150 cm de altura, cerca de donde se encontraba el piranómetro. La cadena tiene marcas permanentes en cada una de estas altitudes, para facilitar su reubicación de manera precisa, ya que todo el sistema posee un mecanismo de polea que permite que la cadena pueda subir o bajar a conveniencia, para descargar la información registrada. Los sensores de humedad y temperatura se colocaron dentro de estructuras de tubo PVC cubiertas por malla metálica, con el fin de proteger los sensores de la radiación solar directa y de animales (Figura 8).

4.3 MÉTODOS DE MUESTREO

4.3.1 Transectos

Para determinar la abundancia de las especies de estudio (*Polybotrya osmundacea* y *Thelypteris macrophylla*) en distintos ambientes, se realizaron 18 transectos de 80 m de largo por 2 m de ancho, en dos sitios del Parque Nacional Yasuní, con el fin de tener dos repeticiones. El primer sitio fue ubicado al azar dentro del área de bosque cercana a la estación de monitoreo de condiciones ambientales y de la ECY (Sitio 1), el segundo sitio fue

un área dentro de la parcela de 50 ha del proyecto “Dinámica del Bosque de Yasuní” (Sitio 2). La parcela está ubicada dentro del parque a una latitud de 0°41'S y 76°24'W, al sur del río Tiputini, a un kilómetro de la ECY. Se eligieron dos especies con distintos hábitos para analizar si podrían existir diferencias en respuesta a condiciones climáticas similares dependiendo de éste. Además, su elección fue basada también en la cantidad de esporas que liberaron en el momento de la colecta de las mismas.

Los 18 transectos correspondieron a tres tipos topográficos distintos: 1) a campo traviesa (se trazó un transecto a través de la topografía, procurando incluir dos colinas y dos valles), 2) en cimas (siguiendo el contorno topográfico de las cimas, por lo tanto no siempre en línea recta) y 3) en planicies inundables (siguiendo arroyos o ríos). En cada uno de los dos sitios, se realizaron tres transectos por cada tipo topográfico, que fueron divididos en subunidades (cuadrantes) de 2 x 2 metros, obteniendo así 40 cuadrantes por transecto. Las esquinas de cada cuadrante fueron nombradas como A, B, C y D. Las esquinas A y B se encontraron del lado de la línea base del transecto (Valencia *et al.*, 2004; Vormisto *et al.*, 2004). En cada transecto, se colectó un espécimen de referencia (voucher) por cada morfoespecie identificada (Figura 9).

4.3.2 Cultivo de gametofitos

Para determinar las condiciones de luz óptimas para la germinación de las esporas y el desarrollo de los gametofitos, se realizaron las mediciones del ancho y el largo de los gametofitos, además de la captura y registro de la intensidad lumínica (Lux), temperatura (°C) y humedad relativa (%) con un intervalo de 10 minutos para cada tratamiento dentro de un invernadero en la ECY (Figura 10).

Inicialmente se realizó la identificación de los esporofitos de las dos especies en el campo con el fin de colectar esporofilas en las que los soros (inmaduros o maduros) tuviesen

los esporangios cerrados, para poder obtener las esporas. Para esto último, se seleccionaron individuos en estado fértil de ambas especies y se colectaron únicamente las esporofilas útiles, sin dañar al resto del helecho. Luego, éstas fueron secadas con el envés hacia abajo a temperatura ambiente por siete días en sobres de papel bond, hasta que se produjo la dehiscencia esporangial. Las esporas fueron removidas y separadas de los esporangios con ayuda de un Estereoscopio Kruss MSZ5300 (Magnificación 7X–45X). Hasta el día de la siembra las esporas fueron preservadas a 10 °C (Renner y Randi, 2004) (Anexo 2 y 3).

Los tratamientos a los cuales se sometió a las esporas de las dos especies fueron cinco niveles de sombra: 80%, 65%, 50%, 35% y 0% (control). Para aplicar estos tratamientos, se cubrieron distintas zonas del invernadero con malla polisombra (Figura 11), que, gracias a diferentes distancias entre las fibras de la malla, tiene la capacidad de filtrar la luz en los porcentajes mencionados, los cuales son valores establecidos de fábrica.

Dentro de cada tratamiento hubo cinco macetas por especie, de 20 cm de diámetro y 18 cm de alto (Figura 12), de las cuales una tuvo un sensor de luz y temperatura (UA-002-64 *Temperature/Light —waterproof— Pendant*®) y otro de temperatura y humedad (DS1923#F51-*Wire Hygrochron*).

Cada maceta se llenó con suelo del bosque colectado a un máximo de 10 cm de profundidad. El sitio de colección de suelo fue en las cimas del bosque y no se lo trató de ninguna manera, con el fin de mantener sus condiciones lo más naturales posibles. Posteriormente, se sembró 1,5 mg de esporas de cada especie a alta densidad por maceta (sin saber exactamente el número de esporas sembradas). La siembra de cada especie se realizó en días distintos con el fin de evitar la contaminación de las macetas de una especie a otra. Luego de la siembra de las esporas, las macetas fueron cubiertas con plástico para evitar

contaminación con hongos o con esporas o polen de otras especies presentes en los alrededores.

Para el análisis del efecto de la intensidad de luz sobre los gametofitos, se comparó la tasa de crecimiento y desarrollo de diez a veinte gametofitos por maceta, llegando a un total de 50 por tratamiento, en cada fecha de medición. Para poder obtener datos de tasas de crecimiento de los gametofitos se midió el ancho y largo de los mismos (Figura 2). Las mediciones se tomaron desde el 26 de junio hasta el 16 de septiembre del 2012, con intervalos de diez días entre cada medición, con un total de diez mediciones por 92 días (Tabla 1).

Para los análisis estadísticos se realizó un ANOVA de un factor, para cada especie, con el fin de determinar la significación entre los tratamientos. El ANOVA fue realizado en el programa estadístico *PASW Statistics* versión 18 (SPSS Inc., 2009). Se realizaron también regresiones lineales para determinar la tasa de crecimiento de los gametofitos de las dos especies bajo cada tratamiento.

4.3.3 Datos climáticos

Los datos microambientales de la estación microclimática se registraron cada hora y la información microambiental se recuperó de los sensores a una base de datos cada mes, siguiendo el protocolo incluido en el Anexo 4.

Las tres variables climáticas asociadas a las macetas, fueron registradas a diario cada 10 minutos, desde el 26 de junio del 2012 hasta el 16 de septiembre del 2012, para los cinco tratamientos. Las variables fueron: temperatura (°C), humedad relativa del aire (%) e intensidad lumínica (LUX o lumen/m^2). De estas variables ambientales se obtuvo: temperatura media diaria obtenida del promedio del total de datos, temperatura máxima y mínima diaria, humedad media diaria obtenida del promedio del total de datos, peso promedio en gramos de agua en un metro cúbico de aire diario dependiendo de la temperatura,

intensidad lumínica máxima diaria y cantidad de minutos de luz diaria que recibió cada tratamiento.

5. RESULTADOS

5.1 ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN DE PTERIDOFITAS EN EL BOSQUE TROPICAL

En los transectos, se registraron 1.443 individuos de helechos (Tabla 2 y 3), pertenecientes a 42 morfoespecies distintas: 30 especies identificadas, 11 morfoespecies determinadas hasta género y una morfoespecie no identificada. Las 42 morfoespecies correspondieron a 13 familias y 20 géneros de pteridofitas. De los 1.443 individuos registrados, 1.227 (85%) fueron terrestres, 98 (7%) epífitos, 72 (5%) hemiepífitos y 46 (3%) arborescentes.

De los 1.443 individuos muestreados para los dos sitios, el 57% (826 individuos) correspondió a los transectos del Sitio 2, mientras que en el Sitio 1 hubo 617 individuos (Tabla 4). *Adiantum humile* Kunze fue la especie con el mayor número de individuos (441) distribuidos en 12 transectos, representando el 30.5% del total de individuos. La segunda especie más abundante fue una de las especies de estudio, *T. macrophylla*, con 260 individuos (18,01% del total de individuos), en 12 transectos. En contraste, 23 individuos de *P. osmundacea* fueron registrados en 4 de 18 transectos correspondientes al 1,59% de los individuos. Por último, las especies menos abundantes fueron *Asplenium cuneatum* Lam., *Asplenium* sp. 1, *Elaphoglossum raywaense* (Jenman) Alston, *Thelypteris* sp. 2 y la especie indeterminada. En la Tabla 5 se sintetiza la abundancia de especies en los dos sitios de estudio.

La riqueza de especies presentes en los dos sitios no presentó diferencias muy grandes, con 29 especies en el Sitio 1 y 27 especies presentes en el Sitio 2. En ambos sitios, los transectos de topografía mixta (Cima-Valle), siempre tuvieron un mayor número de especies total (29 especies dentro del Sitio 2 y 25 en el Sitio 1) (Tabla 6).

De las dos especies de estudio, *Polybotrya osmundacea* presentó cuatro individuos en el Sitio 1 y 19 individuos en el Sitio 2, mientras que *Thelytperis macrophylla* mostró 115 individuos en el Sitio 1 y 145 individuos en el Sitio 2. De éstos, cinco individuos de *P. osmundacea* (0,34% del total de individuos) se encontraron en los transectos realizados en los esteros (Sitio 1: no se registraron individuos, Sitio 2: cinco individuos), 15 individuos en los transectos Cima-Valle (1,03%) (Sitio 1: un individuo, Sitio 2: 14) y 3 individuos en las cimas del bosque (0.20%) (Sitio 1: tres individuos, Sitio 2: no se registraron individuos). Para *T. macrophylla*, 12 individuos se encontraron en los esteros (0,83% del total de individuos) (Sitio 1: no se registraron individuos, Sitio 2: 12 individuos), 123 individuos en los transectos Cima-Valle (8,52%) (Sitio 1: 41 individuos, Sitio 2: 82 individuos) y 125 individuos (8,66%) en las cimas del bosque (Sitio 1: 74 individuos, Sitio 2: 51 individuos) (Tabla 5).

T. macrophylla fue la más abundante en los transectos de las cimas del bosque, teniendo 74 individuos en el Sitio 1 (5,12% de número de individuos) (Tabla 5) y 51 individuos en el Sitio 2 (3,53% de número de individuos). Esta especie también fue muy abundante en los transectos de Cima-Valle dentro del Sitio 2 con 82 individuos (5,68% de número de individuos) y en el Sitio 1 con 41 individuos (2,84% de número de individuos). En contraste, *P. osmundacea* tuvo una mayor abundancia en los transectos de Cima-Valle dentro del Sitio 2 con 14 individuos (0,97% de número de individuos) y un individuo en el Sitio 1 (0,06% de número de individuos) (Tabla 5).

Por último, las dos especies fueron más abundantes en los transectos realizados en el Sitio 2 con 19 individuos para *P. osmundacea* y 145 para *T. macrophylla.*

5.2 CULTIVO DE GAMETOFITOS

Tanto para *T. macrophylla* como para *P. osmundacea,* el crecimiento observado en los gametofitos del tratamiento control a partir del 24 de julio 2012 se vio modificado, debido a

que los gametofitos de las dos especies cambiaron su morfología y se arrugaron (Figura 13). Si bien esto perjudicó su crecimiento, al final del estudio los gametofitos del tratamiento control fueron los de mayor tamaño de entre todos los tratamientos en las dos especies.

5.2.1. *Thelypteris macrophylla*

La tendencia del crecimiento de los gametofitos de *T. macrophylla* bajo los cinco tratamientos de sombra fue siempre positiva (Figura 14). La mayor tasa de crecimiento en largo de los gametofitos se dio bajo el tratamiento de 65% de sombra con un valor de 0,38 mm/10 días (Tabla 7). Los gametofitos del tratamiento control de 0% de sombra tuvieron la tasa más baja de crecimiento en largo (0,27 mm/10 días), sin embargo, su tasa de crecimiento en ancho fue la mayor al tener un valor de 0,25 mm/10 días. Por último, la tasa más baja del crecimiento en ancho fue de los gametofitos bajo el tratamiento de 50% de sombra (0,02 mm/10 días).

El tratamiento control de 0% de sombra mostró los gametofitos más grandes en largo (6,24 mm) y ancho (4,59 mm) al final del estudio (Figuras 15, 16, 17 y 18), a pesar de presentar un arrugamiento de los gametofitos, mientras que los tamaños de los gametofitos de los tratamientos de 80% y 65% de sombra fueron los más pequeños en largo (4,38 mm y 4,83 mm, respectivamente) y ancho (1,54 mm y 1,77 mm, respectivamente) (Figuras 15, 16, 17 y 18).

Los gametofitos de los tratamientos de luz intermedia de 50% y 35% de sombra mostraron tamaños muy similares, además, tanto el largo como el ancho de los mismos, siempre se ubicaron entre los de los gametofitos de los tratamientos control y tratamientos de 80% y 65% de sombra (Figuras 15, 16, 17 y 18).

Los resultados del ANOVA mostraron que existieron diferencias significativas en el efecto de la luz en el crecimiento de los gametofitos entre los tratamientos, con un valor de

significación de 0,00 para el largo y el ancho de los gametofitos. Esto demuestra que la cantidad de luz si afectó al crecimiento de los gametofitos de *T. macrophylla* (Tabla 8).

El ANOVA muestra además que las medias del tratamiento control de 0% de sombra fueron las más altas (largo: 6,24 mm y ancho: 4,58 mm), (Tabla 9) demostrando un mayor tamaño en largo y ancho de estos gametofitos, mientras que las medias del tratamiento de 80% de sombra fueron las más bajas (Largo: 4,3798 mm y Ancho: 1,5368 mm). Esto demuestra que estadísticamente los gametofitos del tratamiento control fueron los más grandes en contraste con el resto de tratamientos.

Por último, la cantidad de esporofitos que surgió fue mayor en los tratamientos de 50%y 35% de sombra al tener en el último censo 337 individuos y 251 individuos, respectivamente (Tabla 10). Mientras que los tratamientos con menos esporofitos fueron los de 80% y 65% (8 individuos y 80 individuos, respectivamente). El tratamiento control llegó a tener un máximo de 8 individuos, sin embargo en el último censo ninguno sobrevivió.

5.2.2. *Polybotrya osmundacea*

En la mayoría de tratamientos el crecimiento de los gametofitos siguió una tendencia positiva, a excepción de los tratamientos 50% y control en los que varió mucho el crecimiento dentro de los 92 días (Figura 19). La mayor tasa de crecimiento en largo se observó en el tratamiento de 80% de sombra (0,53 mm/10 días) (Tabla 7), mientras que la menor tasa se dio en los gametofitos del tratamiento de 50% de sombra (0,24 mm/10 días). Por otro lado, la tasa de crecimiento en ancho fue mayor en los gametofitos del tratamiento control (0,38 mm/10 días) y la más baja en los gametofitos del tratamiento de 50% de sombra (-0,02 mm/10 días) siendo ésta negativa.

El crecimiento en largo y ancho de los gametofitos de *P. osmundacea* no tuvo concordancia con el porcentaje de sombra dentro de cada tratamiento (Figuras 20, 21, 22 y

23). Los gametofitos del tratamiento control fueron los más grandes en largo (8,18 mm) y ancho (5,93 mm), a pesar de presentar un arrugamiento de los gametofitos. Mientras que, los gametofitos más pequeños en largo fueron los de los tratamientos de 65% y 50% de sombra (5,61 mm para los dos tratamientos) y los más pequeños en ancho los de los tratamientos de 80% y 65% de sombra (2,40 mm para los dos tratamientos), siendo, por último, los gametofitos del tratamiento de 65% de sombra los más pequeños de esta especie.

Los resultados del ANOVA mostraron que existieron diferencias significativas entre los tratamientos, con un valor de significación de 0,00 para el largo y el ancho de los gametofitos, demostrando que la cantidad de luz si afectó al crecimiento de los gametofitos de *P. osmundacea* (Tabla 11).

El ANOVA indicó que las medias del tratamiento control fueron las más altas, demostrando estadísticamente un mayor tamaño en largo y ancho de los gametofitos presentes en el tratamiento control (Tabla 12).

Por último, la cantidad de esporofitos que surgieron fue mayor en los tratamientos de 50%y 35% de sombra al tener en el último censo 101 individuos y 236 individuos, respectivamente (Tabla 10). Mientras que los tratamientos con menos esporofitos fueron los de 80%, 65% y el control (50 individuos, 72 individuos y 24 individuos, respectivamente).

Los gametofitos de las dos especies del tratamiento control presentaron, a pesar de las condiciones extremas de temperatura e intensidad lumínica, el mayor tamaño final en largo y ancho. Sin embargo, la cantidad de individuos que sobrevivió fue muy baja en comparación con el resto de tratamientos. Se pudo notar que el tratamiento control tuvo en la última fecha de medición (16 de septiembre 2012) cuatro gametofitos sobrevivientes para las dos especies.

Por otro lado, una de las diferencias morfológicas más claras entre los gametofitos del tratamiento control de las dos especies, con el resto que tratamientos, fue que los gametofitos

mostraron una estructura tridimensional mucho más compleja (Figura 13). Estos gametofitos, en comparación con los del resto de tratamientos (80%, 65%, 50% y 35% de sombra) mostraron una gran cantidad de pliegues, generando un gametofito mucho más voluminoso y a su vez formando un plano tridimensional, el cual no sólo presentaba ancho y largo sino también alto.

Por último, los tratamientos de 50% y 35% de sombra de ambas especies presentaron gametofitos con un crecimiento intermedio entre los del control y los de 65% y 80% de sombra, además de no presentar una alta mortalidad de individuos ni cambios morfológicos drásticos, como en el caso del tratamiento control (Tabla 13). Además, fueron los tratamientos con un mayor número de esporofitos para ambas especies (Tabla 10).

5.3 CONDICIONES MICROCLIMÁTICAS

5.3.1 Condiciones microclimáticas de los tratamientos

Los datos microclimáticos fueron colectados durante un período de 92 días, para ambas especies (*T. macrophylla* y *P. osmundacea*) en cada uno de los tratamientos aplicados (control: 0% sombra, 80%, 65%, 50%, y 35% de sombra). Los resultados climáticos presentes a continuación son comunes para las dos especies.

En el caso de la intensidad lumínica (Lux) el tratamiento control (0% sombra) tuvo intensidad lumínica media máxima mayor (60.215,93 Lux) (Figura 24) (Tabla 14), superando al resto de tratamientos, además de presentar los tamaños más grandes de gametofitos. La cantidad de luz varió de manera constante con la cantidad de sombra aplicada, como se esperaba. Los tratamientos de 35% y 50% de sombra tuvieron intensidades intermedias muy similares (24.202,57 y 18.735,00 Lux, respectivamente), además de tamaños de gametofitos intermedios, en comparación con el resto de tratamientos. Los tratamientos de 65% y 80% de

sombra presentaron las intensidades más bajas (6.423,36 y 6.582,61 Lux, respectivamente) y también los tamaños menores de los gametofitos.

Igualmente, se puede ver que el tratamiento control presentó también un patrón muy errático de la intensidad lumínica, llegando en algunos casos a tener los mismos valores de los otros tratamientos que se puede observar con mayor resolución este patrón en la Figura 25 que muestra la variación de la luz en el tratamiento control, cada 10 minutos, durante un período de 12 días, fue significativamente mayor que la del resto de tratamientos.

Los niveles de sombra que generaba cada porcentaje de la malla polisombra (35%, 50%, 65% y 80%) no fueron consistentes con la intensidad lumínica que se registró (Figura 24). La intensidad lumínica del control fue de 60.215,93 Lux, mientras que la del tratamiento de 50% de sombra no tuvo un valor siquiera cercano a la mitad de éste (18.735,00 Lux) (Tabla 15), siendo el tratamiento de 50% en realidad un filtro de 69% de luz. Consecuentemente, el resto de tratamientos cambiaron sus valores generando los siguientes valores: 60% (35%), 90,34% (65%) y 90,07% (80%), siendo el de 80% un filtro un poco mayor que el de 65%.

Conjuntamente con una mayor intensidad lumínica, el tratamiento que estuvo durante más tiempo expuesto a la luz solar fue el control (740 minutos) además de presentar los gametofitos más grandes (Figura 26). En contraste, los tratamientos de 65% y 80% de sombra tuvieron la menor cantidad de minutos de luz diarios (705 y 704 minutos, respectivamente) y los tamaños de gametofitos más pequeños.

Por otro lado, las temperaturas máximas más altas diarias se dieron en el tratamiento control (38,86 °C) (Figuras 27 y 28) (Tabla 14). Las temperaturas del tratamiento control, bajo el cual los gametofitos de las dos especies crecieron más en largo y ancho, siempre superaron al resto de tratamientos con por los menos 5,34 °C. Los tratamientos de 80% y 65%

de sombra, que fueron los que presentaron los gametofitos más pequeños en las dos especies, fueron los que tuvieron las temperaturas máximas más bajas (31,20 °C y 31,05 °C, respectivamente). Sin embargo, el tratamiento de 80% de sombra no tuvo la temperatura máxima más baja como se esperaba.

El patrón de temperatura mínima fue distinto, debido a que el tratamiento que tuvo las temperaturas mínimas más altas fue el de 80% de sombra (21,91 °C) (Figuras 27 y 28) (Tabla 14), siendo éste el que presentó los gametofitos más pequeños en ambas especies. En contraste, el tratamiento control tuvo la temperatura mínima más baja (21,83 °C), además de tener los gametofitos más grandes para las dos especies. Cabe mencionar que, a pesar de que sí hubo una variación en la temperatura media mínima entre cada tratamiento, ésta tuvo un rango de variación menor entre la más alta y la más baja (0,08 °C de diferencia), mientras que el rango de variación de la temperatura máxima fue mayor (6 °C de diferencia).

Los rangos de variación de la temperatura máxima y mínima dentro de cada tratamiento fueron distintos, siendo el control el que tuvo una diferencia más amplia (17 °C), seguido por los tratamientos de 50% y 35% de sombra (11,67 °C y 11,54 °C, respectivamente) (Tabla 14). Por último, los tratamientos de 80% y 65% de sombra presentaron una diferencia más baja (9,29 °C y 9,15 °C, respectivamente) y fueron los tratamientos con los gametofitos más pequeños.

Entre todos los tratamientos existió un mismo patrón de variación de la temperatura diaria, sin mostrar épocas calientes ni frías dentro del tiempo que duró el experimento (Figura 27).

Otro factor climático registrado dentro de cada tratamiento fue la humedad relativa. Los tratamientos de 35%, 50% y 80% de sombra tuvieron la humedad relativa media más alta con diferencias menores (99,73%, 99,40% y 99,06%, respectivamente) (Figura 29) (Tabla

14), mientras que, la humedad del tratamiento de 65% de sombra (86,31%) fue menor inclusive que la del control (88,53%). Adicionalmente, al calcular el peso promedio en gramos de un metro cúbico de vapor de agua saturado diario para cada tratamiento, se obtuvo un resultado similar. Los tratamientos con valores más altos fueron los de 35% y 50% de sombra (2.335 y 2.332 gr/m^3, respectivamente) (Figura 30), mientras que el valor más bajo se presentó para el tratamiento de 65% de sombra (1.973 gr/m^3) y valores intermedios para los tratamientos de 80% de sombra y control (2.265 y 2.233 gr/m^3). Esto nos indica que hubo una mayor cantidad de agua presente en la superficie de los gametofitos bajo los tratamientos de 35% y 50% de sombra.

5.3.2 Condiciones microclimáticas del bosque tropical del Yasuní

Debido a que dentro de este estudio *T. macrophylla* es terrestre y *P. osmundacea* es hemiepífita, los datos de la estación microclimática utilizados fueron los registrados desde -5 cm bajo el nivel del suelo hasta 150 cm de altura.

La mayor intensidad lumínica dentro del gradiente altitudinal del bosque ocurrió a 150 cm de altitud, que fue ligeramente superior a la que sucedió a 0 cm (18.782,57 y 16.676,26 Lux, respectivamente) (Figura 31, Tabla 14). Al comparar la intensidad lumínica que recibió cada tratamiento del cultivo de gametofitos con los resultados presentados previamente, se puede ver que el tratamiento que tuvo las condiciones lumínicas más cercanas a las del bosque a 150 cm, fue el de 50% de sombra (18.735,00 Lux) con una diferencia de 47,57 Lux (Figura 32). Por el contrario, los tratamientos control y de 35% de sombra superaron siempre a la intensidad lumínica del gradiente altitudinal dentro del bosque (60.215,93 y 24.202,57 Lux, respectivamente), mientras que los tratamientos de 65% y 80% de sombra (6.423,36 y 6.582,61 Lux, respectivamente) fueron mucho menores a las condiciones de intensidad lumínica dentro del bosque, con una diferencia mínima de 9984,03 Lux.

Conjuntamente, se puede observar que el control siempre recibió un promedio de 778 minutos diarios de luz, mientras que a lo largo del gradiente altitudinal del bosque a 150 cm y 0 cm los tiempos fueron menores (724 minutos y 714 minutos, respectivamente) (Figura 33). Al comparar la cantidad de minutos de luz que recibió cada tratamiento con el tiempo de exposición a la luz al interior del bosque a 0 cm y a 150 cm, se evidencia que el tratamiento de 50% de sombra (724 minutos) fue el que recibió la misma cantidad de minutos luz que dentro del bosque a una altura de 150 cm (Figura 34), mientras que los tratamientos de 65% y 80% de sombra (705 y 704 minutos, respectivamente) recibieron menos tiempo de luz inclusive que el suelo del bosque (714 minutos).

Las condiciones control o sin filtro presentaron la temperatura máxima más alta (45,68 °C) (Figura 35) (Tabla 14) y a su vez la temperatura mínima más baja (20,80 °C). Por el contrario las temperaturas a lo largo del gradiente altitudinal dentro del bosque fueron menores a las de los tratamientos, sin embargo, sí hubo diferencias en ésta, de acuerdo a la altura a la que se encontraba el sensor en el bosque. La temperatura más alta se ubicó a 150 cm desde el suelo (Max: 26,29 °C; Min: 21,36 °C), seguida por la de 0 cm (Max: 25,98 °C; Min: 21,46 °C) y por último la más baja de -5 cm (Max: 25,42 °C; Min: 22,01 °C).

Al comparar las temperaturas máximas y mínimas registradas dentro de cada tratamiento con los datos obtenidos de la Estación Microclimática del gradiente altitudinal del bosque, se encontró que ninguna media de la temperatura máxima diaria de los tratamientos fue similar a las condiciones de temperatura que presentó el bosque (Figuras 36 y 37), siendo las del bosque siempre más bajas y con una diferencia mínima de por lo menos 4,91 °C. Sin embargo, la media de la temperatura mínima diaria de todos los tratamientos fue similar a las condiciones de temperatura presentes a -5 cm en el bosque, siendo el tratamiento de 80% de sombra el que tuvo la temperatura más cercana con una diferencia de 0,1 °C.

En el bosque se pudo ver que el peso promedio en gramos de un metro cúbico de vapor de agua saturado diario fue mayor bajo el control (2.320 gr/m^3) (Figura 38). Mientras que, a lo largo del gradiente a 150 cm y a 0 cm de altura los valores fueron más bajos (2.071 y 1.870 gr/m^3, respectivamente).

6. DISCUSIÓN

Uno de los aportes más importantes del presente estudio es el establecimiento de distintos protocolos para estudios fisiológicos de gametofitos de pteridofitas (Anexo 2, 3 y 4). Estos protocolos son un resultado relevante de los experimentos realizados, puesto que permitieron estandarizar los procedimientos necesarios al momento de cultivar gametofitos fuera de su ambiente natural; adicionalmente estos protocolos fueron complementados para incluir aspectos adicionales, que no se tomaron en cuenta en los experimentos realizados, y que mejorarían el estudio de la fisiología del ciclo de vida de las pteridofitas.

Por otro lado, los transectos de diversidad y abundancia fueron realizados con el fin de saber si las dos especies de estudio: *T. macrophylla* y *P. osmundacea* se encontraban asociadas a algún tipo topográfico (cimas, cimas-valles y esteros) y a su vez, asociar el microclima del tipo topográfico de cima-valle, que es donde la estación de microclima se instaló, con la presencia de las especies dentro de esta topografía.

En los dos sitios de estudio analizados, los transectos de topografía mixta (cima-valle), siempre tuvieron un mayor número total de especies, confirmando así la hipótesis de que el incremento en la heterogeneidad topográfica provee de más hábitats para ambas especies y por tanto incrementa la diversidad beta entre los transectos tal como lo sugiere Tuomisto *et al.*, (2002). La especie *P. osmundacea* fue más abundante en los transectos de cima-valle, y justamente este es el tipo topográfico en el que se localiza la estación microclimática, por lo tanto este sería el microambiente ideal para que esta especie se desarrolle y sea abundante.

Polybotrya osmundacea, presentó una mayor abundancia dentro del bosque tropical, con más de 2.000 individuos de un total de 33.769 (5.9%), mientras que en el presente estudio esta especie no tuvo una buena representación dentro de los transectos, en contraste con *T. macrophylla* que fue la segunda especie más abundante.

Luego de la fase experimental se comprobó que la cantidad de sombra a la que los gametofitos de las dos especies fueron expuestos dentro de cada tratamiento (80%, 65%, 50% y 35%) no correspondió a la provista por la marca comercial de la malla polisombra (Tabla 15). Se pudo comprobar que la cantidad de luz que cada tratamiento recibió fue menor a la esperada y que los porcentajes reales de sombra de la malla no variaron proporcionalmente a los valores iniciales. Por lo tanto, se aconseja realizar una calibración de la intensidad lumínica al usar este tipo de malla. Sin embargo, para el análisis de los presentes resultados no se modificaron los nombres previamente asignados a los tratamientos. Al realizar la calibración los porcentajes de sombra resultaron muy similares, en el caso de los tratamientos de 65% y 80%, y se podría haber eliminado uno de los dos tratamientos, sin embargo se decidió mantener y presentar ambos resultados puesto que los efectos de cada tratamiento sobre el crecimiento de los gametofitos fueron significativo.

Los resultados del presente estudio demuestran que el crecimiento y morfología de los gametofitos varió mucho de acuerdo a las condiciones de luz y temperatura. Primeramente, las tasas de crecimiento no fueron consistentes con los tamaños finales en todos los casos: el tamaño final no es necesariamente mayor, si la tasa de crecimiento es mayor. Esto demuestra que el efecto de la luz no fue constante y continuo sobre el crecimiento de los gametofitos de *T. macrophylla* y de *P. osmundacea*. En el caso del tratamiento control sólo sobrevivieron 4 gametofitos y ningún esporofito para *T. macrophylla* y 6 gametofitos y 24 esporofitos para *P. osmundacea* (Tablas 13 y 10), demostrando que si bien tuvieron los valores más altos en ancho y largo, en un momento dado, la supervivencia de los gametofitos bajo condiciones de luz extrema fue considerablemente baja en relación al resto de tratamientos.

Las condiciones de luz presentes en el tratamiento control podrían haber afectado al crecimiento de los gametofitos, debido a que éstos son organismos muy sensibles a la luz. Por una parte, la poca luz limita el crecimiento, ya que ocasiona tasas de fotosíntesis bajas,

mientras que mucha luz ocasiona daño y muerte celular (Königer y Bollinger, 2012). Por ejemplo, la pobre supervivencia y la baja vitalidad de las especies *Dryopteris carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs, *D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenk. & Jermy y *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray, en el tratamiento de luz natural es normal, debido a que en especies tolerantes a la sombra, se observa frecuentemente una reducción del rendimiento, disminución de la biomasa y daño de las hojas, cuando son expuestas a intensidades lumínicas altas, debido al estrés por la luz intensa (Rünk y Zobel, 2007). Esta podría ser una razón para la alta mortalidad de los gametofitos de las dos especies estudiadas en el presente trabajo bajo el tratamiento control, sobre todo de *Polybotrya osmundacea* que es más común en bosques con sombra (Moran, 1987).

El mayor crecimiento dentro del tratamiento control demuestra además que bajo condiciones extremas de luz, éste se puede ver acelerado con el fin de llegar a tener mayores posibilidades de generar un esporofito, que logre soportar las condiciones lumínicas. Sin embargo, como lo demuestra Hiendlmeyer y Randi, (2007), los niveles de luz altos no sólo afectan al gametofito y al esporofito sino que la germinación de las esporas de *Cyathea delgadii* Sternb. y *Blechnum brasiliense* Desv. fue inhibida bajo altos niveles de luz (62% y 42%). Además, se puede dar una alta mortalidad de gametofitos bajo estos dos mismos tratamientos, provocada por una posible oxidación de la clorofila a altos niveles de luz, lo cual reduce la eficiencia de la fotosíntesis, limitando el crecimiento de la planta y eventualmente causando su muerte. Éste mecanismo garantiza que la germinación de la espora y el establecimiento del gametofito se den bajo condiciones ambientales apropiadas. Además, Suzuki *et al*. (2005) demostraron también que bajo condiciones de intensidades de luz alta (100%, 75% y 50%) los esporofitos de *Dicksonia sellowiana* Hook. morían.

La mayoría de pteridofitas vive en ambientes húmedos y bajo sombra, ya que son muy dependientes de estas condiciones para el crecimiento de la generación no vascular

gametofítica. Al ser tan dependientes del agua, los gametofitos sometidos a 0% de sombra pudieron haber sufrido una falta de agua debido a la alta evaporación del agua del suelo por altas temperaturas (Saldaña *et al.*, 2010). Suzuki *et al*. (2005) sugieren que una posible causa para la muerte de las plantas de *Dicksonia sellowiana*, creciendo bajo irradiancias de 50%, 75% y 100%, fue la disminución del contenido de agua del suelo debido a un incremento en las tasas de transpiración.

Por otro lado, en células gametofíticas de *Adiantum capillus-veneris* L., tanto el núcleo como los cloroplastos cambian su posición de acuerdo a las condiciones de luz. Debido a que la luz solar es un posible causante de daño del ADN, el movimiento mediado por ésta puede ser una respuesta adaptativa para una percepción eficiente de luz bajo condiciones de luz débiles y a la vez una respuesta para evitar daño nuclear bajo luz fuerte (Tsuboi *et al.*, 2007). Como lo explican Frohnmeyer y Staiger, (2003) la elevada radiación UV-B (280-320 nm) tiene efectos pleiotrópicos en el desarrollo de las plantas, en su morfología y fisiología. Ésto también explica la alta mortalidad y el cambio brusco en la morfología de los gametofitos bajo las condiciones del tratamiento control.

Los tratamientos de 65% y 80% de sombra, por otro lado, tuvieron registros de temperatura, intensidad lumínica y cantidad de minutos de luz diarios muy similares. Esto se puede deber a que no existió mucha diferencia entre los tejidos de la malla polisombra a diferentes porcentajes, lo que generó también que las temperaturas mínimas dentro del tratamiento de 80% de sombra no bajen tanto y las máximas tampoco sean las más bajas, generadas por un posible efecto invernadero a pequeña escala, causado por la malla polisombra. Sin embargo, sí existieron diferencias entre el tamaño de los gametofitos de las dos especies que fueron expuestos a estos tratamientos, lo que indica que los gametofitos son muy sensibles a cambios ambientales pequeños. Los tratamientos de 65% y 80% de sombra presentaron los gametofitos más pequeños para *T. macrophylla* y *P. osmundacea*, sin

embargo la mortalidad de individuos fue mucho menor que en el tratamiento control (Tabla 13).

El tamaño menor de los gametofitos se puede deber a que las plantas que crecen bajo condiciones de sombra usualmente poseen algunas adaptaciones que les permiten maximizar la eficiencia con la que capturan luz y minimizan sus costos. Generalmente, tienen tasas máximas de fotosíntesis, de crecimiento y de respiración relativamente bajas, así como también proporción de biomasa raíz: brote bajos (Johnson *et al.*, 2000). Además, el incremento de los niveles de clorofila a irradiancias bajas es un patrón característico de aclimatación a la luz de algunas especies y permite que las hojas absorban luz inclusive bajo sombra permitiendo un crecimiento lento pero constante (Suzuki *et al*,. 2005).

Si bien la luz afecta al crecimiento y a la supervivencia de los gametofitos de los helechos, no hay que dejar de lado que existe otro factor muy importante, los anteridiógenos. Éstos han demostrado disminuir las tasas de crecimiento hasta el punto de inhibirlo completamente en *Woodwardia radicans* (L.) Sm., (Quintanilla *et al.*, 2007). La hipótesis de Korpelainen expone que los anteridiógenos, como cualquier otro factor ambiental, actúan por medio del tamaño del gametofito. La tendencia de los gametofitos a generar machos es promovida bajo condiciones ambientales de estrés, como bajos niveles de luz y baja calidad de nutrientes o una alta densidad de los mismos. Ésto nos podría indicar que la mayoría de gametofitos que se desarrollaron en las macetas de los tratamientos de sombra posiblemente eran machos (Quintanilla *et al.*, 2007).

Además, los efectos de la intensidad de la luz no sólo se pueden ver en los gametofitos sino también en los esporofitos. Según Suzuki *et al.* (2005) los esporofitos de *Dicksonia sellowiana* no sobrevivieron a 100%, 75% y 50% de luz, mostrando un mayor desarrollo bajo 10% de luz, lo que sugiere que la proporción de luz que llega al suelo del bosque, 0,5–4% de

luz solar, limita el desarrollo de *D. sellowiana*. Este mismo fenómeno se pudo observar en el caso de *T. macrophylla* y *P. osmundacea* que tuvieron una mayor cantidad de esporofitos en los tratamientos que presentaron una menor cantidad de luz solar (Tabla 10).

Tanto la luz como la temperatura afectan al microclima de cada tratamiento, provocando que exista un factor muy estresante para los gametofitos, la desecación, sobre todo bajo condiciones extremas como fueron las del tratamiento control (Watkins *et al.*, 2007). Dentro del cultivo de gametofitos existieron diferencias muy marcadas en la morfología de los gametofitos del tratamiento control con el resto de tratamientos, debido a que presentaron una morfología arrugada con pliegues, teniendo una estructura tridimensional más compleja, mientras que en resto de los tratamientos la morfología fue plana, siendo ésta mucho más simple (Figura 13). La tolerancia a la desecación ha sido ampliamente estudiada se ha visto que las especies en la naturaleza no sólo experimentan varias intensidades de desecación, sino también múltiples ciclos de desecación a lo largo del día o a lo largo de épocas de crecimiento. Las plantas vasculares tienen mecanismos estructurales para mantener una fuente de agua adecuada entre los tejidos vegetales. Estos incluyen una cutícula cerosa impermeable en las superficies de las hojas, un sistema de transporte de agua interno (xilema), órganos de absorción de agua (raíces) y poros en las hojas (estomas) (Bidlack y Jansky, 2011). Sin embargo, la habilidad de recuperarse de la desecación es común en los gametofitos de las plantas no vasculares como los musgos, hepáticas y algas. Los musgos, por ejemplo, forman esteras densas para crear una microatmósfera húmeda entre y sobre las plantas. De esta manera, se puede decir que los helechos presentan un sistema intermedio de respuesta que combina un gametofito independiente —con mecanismos similares a las plantas no vasculares para combatir la desecación— con un esporofito provisto de una compleja hoja vascular, que es similar a las hojas de las plantas con semilla y que por ende presenta algunas de las características mencionadas anteriormente (Watkins *et al.*, 2007).

De acuerdo a Watkins *et al.* (2007) los gametofitos con morfologías tridimensionales más complejas exhiben tasas de sequía más lentas que gametofitos que son más planos, bajo las mismas condiciones climáticas. Los gametofitos con morfologías más complejas pueden mantener agua externa en los dobleces y proliferaciones del talo y/o crear pequeños bolsillos de aire altamente humedecido, aumentando así el tiempo que el talo se mantiene húmedo y fotosintetizando. Así, en ambientes propensos a la sequía, como hábitats epífitos, estas especies tienden a producir talos que presentan ramificaciones complejas, alas que se sobrelapan y proliferaciones, mientras que especies de hábitats terrestres más amortiguados tienen morfologías menos ornamentadas y más planas.

Los efectos de las altas temperaturas en las plantas tenderán a variar bastante a lo largo del año. Durante partes frías del año, las plantas se liberarán del estrés, mientras que durante las épocas calientes éstas incrementarán el estrés. Cuando el estrés a las altas temperaturas llegue a exacerbar, las respuestas de las plantas podrían ser similares a las inducidas por el estrés hídrico, con síntomas que incluyen la marchitez, quemadura, doblez y abscisión de las hojas, y respuestas fisiológicas incluyendo cambios en el metabolismo del ARN y síntesis proteica, enzimas, isoenzimas y hormonas del crecimiento. Todos estos cambios afectarán seguramente a la susceptibilidad a los patógenos. Como se ha expuesto previamente, la cantidad de individuos que sobrevivió de *T. macrophylla* y de *P. osmundacea* en el tratamiento control fue mínima. Esto se puede deber, además de las condiciones climáticas, a que dentro de este tratamiento se observó un crecimiento muy grande de hongos (Ver Anexo 5). Actualmente se indica que el cambio climático altera las etapas y tasas de desarrollo de los patógenos, modifica la resistencia del hospedero y resulta en cambios en la fisiología de la relación patógeno hospedero (Garrett *et al.*, 2006).

Para poder interpretar estos resultados de humedad relativa, se calculó el peso promedio en gramos de agua de un metro cúbico de aire diario para cada tratamiento, que a

pesar de tener una mayor importancia fisiológica, nos indica que el tratamiento control tuvo, a pesar de su alta mortalidad, mejores condiciones de humedad que el tratamiento de 65% de sombra. Estos resultados no fueron consistentes con la bibliografía, debido que teóricamente el bosque mantiene una mayor humedad por el filtro que crea la vegetación, al igual que el filtro que crea la malla de polisombra en los tratamientos (Kluge *et al.*, 2006). Esto se debe a que mientras mayor es la temperatura, el aire tiene mayor capacidad de retener vapor de agua, es decir es más receptivo al agua (Petersen *et al.*, 2011). A pesar de estos resultados de humedad relativa y peso promedio en gramos de un metro cúbico de vapor de agua saturado diario, no se niega que el tratamiento control fue el que tuvo las peores condiciones microclimáticas para el crecimiento de los gametofitos, comprobado por la pobre supervivencia de los mismos.

Adicionalmente, los tratamientos de 50% y 35% de sombra presentaron condiciones climáticas y tamaños finales de los gametofitos que se mantuvieron intermedios entre los valores de los tratamientos control, 65% y 80% de sombra. Además, fueron los tratamientos que mayor cantidad de esporofitos produjeron en la última medición (Tabla 10). Éste es un factor muy importante, ya que una vez que se genera el esporofito el gametofito comienza a morir (Moran, 2011), dejando así las presiones bióticas y abióticas a un individuo con mucha más capacidad de sobrellevarlas Por tanto se asume que las condiciones de estos tratamientos son las ideales para el desarrollo primario de las esporas, gametofitos y esporofitos de *T. macrophylla* y *P. osmundacea*.

La comparación de los registros de luz y temperatura de cada tratamiento con los del bosque indica que el rango microclimático, bajo el cual los gametofitos de las dos especies de estudio se encuentran en condiciones naturales, son las ideales y que las condiciones microclimáticas de los tratamientos de 50%y 35% de sombra, podrían representar las mismas. Por lo tanto, se podrían asumir que estas son las condiciones que imponen el límite superior

microclimático a partir del cual el desarrollo de los gametofitos se vería comprometido. A pesar de que en el presente estudio se determinó que existe un efecto claro de la luz sobre el crecimiento y morfología de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla* y *Polybotrya osmundacea*, esta variable microclimática sola no logra explicar totalmente los resultados presentados. Esto podría deberse a que, si las condiciones ambientales son favorables, los gametofitos pueden mantenerse sin desarrollar estructuras reproductivas (anteridios y/o arquegonios) por un tiempo indefinido (Nayar *et al*., 1971; Sánchez-Montiel *et al*., 2008), y que la producción de gametos para generar por fecundación arranca cuando se presentan condiciones de estrés para el gametofito, las cuales les obligan a buscar la generación de un esporofito, más resistente y capaz de sobrellevar las condiciones desfavorables, a pesar del costo que esto significa para el gametofito. Por lo tanto, se vuelve necesario el estudio de otros factores — variables climáticas como la humedad, temperatura, radiación solar (energía solar), y cantidad de nutrientes, cantidad de agua— y su efecto en el ciclo de vida de las pteridofitas, para un mejor entendimiento de la ecología del gametofito y de cómo ésta se encuentra ligada al esporofito. Estos estudios complementarios podrían, en última instancia, proveer una ventana viviente hacia muchas de las innovaciones críticas que las plantas vasculares requirieron antes de ser capaces de dominar la flora moderna (Watkins *et al.*, 2007), además de clarificar los límites fisiológicos y climáticos que limitan su distribución, su biología reproductiva y su ecología.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Los factores microambientales más influyentes en el desarrollo de los gametofitos de *T. macrophylla* y *P. osmundacea* son la temperatura y la intensidad lumínica. Estas dos determinan tanto procesos a nivel celular como morfológicos en el desarrollo de los gametofitos, que conjuntamente afectarán a la ecología y fisiología del esporofito.

2. Tanto para *T. macrophylla* y *P. osmundacea* los gametofitos que crecieron bajo condiciones extremas de luz total tuvieron tamaños mayores, sin embargo la cantidad de individuos que lograron sobrevivir fue muy baja en ambas especies.

3. A pesar de no realizar un censo de los individuos se notó que en todos los tratamientos a excepción del control, los gametofitos, a pesar de ser más pequeños, tuvieron una mayor cantidad de individuos por maceta.

4. Las variables microclimáticas de estudio afectaron de la misma manera a las dos especies de helechos, a pesar de tener hábitos distintos, presentando gametofitos más grandes bajo el tratamiento control y más pequeños bajo tratamientos con más sombra (80%y 65% de sombra).

5. Se logró estandarizar tres metodologías:

    a. Metodología para la obtención de esporas de pteridofitas viables para distintos usos (Anexo 2).

    b. Metodología para el estudio fisiológico del efecto de la luz solar en los gametofitos de helechos, bajo invernadero (Anexo 3).

    c. Protocolo para el manejo de datos microclimáticos en el bosque tropical (Anexo 4).

6. En futuros estudios se recomienda realizar además análisis necesarios para cuantificar clorofila y azúcares de los gametofitos con el fin de poder estudiar tasas de fotosíntesis y respiración de los gametofitos.

7. Se recomienda también realizar estudios paralelos *in vitro* del crecimiento de los gametofitos con el fin de conocer su estructura celular mucho mejor.

8. BIBLIOGRAFÍA

Banks, J. A. 1999. Gametophyte Development in Ferns. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50 (1): 163-186.

Barriga, P. A. 2002. Influencia Del Suelo Y La Luz En La Germinación De Seis Especies De Cecropia De La Amazonía Ecuatoriana. Licenciatura en Biología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

Barrington, D. S. 1993. Ecological and Historical Factors in Fern Biogeography. Journal of Biogeography 20 (3): 275-279.

Barthlott, W., Mutke, J., Rafiqpoor, D., Kier, G. y Kreft, H. 2005. Global Centers of Vascular Plant Diversity. Nova Acta Leopoldina 92 (342): 61-83.

Bass, M. S., Finer, M., Jenkins, C. N., Kreft, H., Cisneros-Heredia, D. F., Mccracken, S. F., Pitman, N. C. A., English, P. H., Swing, K., Villa, G., Di Fiore, A., Voigt, C. C. y Kunz, T. H. 2010. Global Conservation Significance of Ecuador's Yasuni National Park. PLoS ONE 5 (1): e8767.

Bidlack, J. E. y Jansky, S. H. 2011. Stern´s Introductory Plan Biology, McGraw-Hill, New York, USA.

Coomes, D. A., Allen, R. B., Bentley, W. A., Burrows, L. E., Canham, C. D., Fagan, L., Forsyth, D. M., Gaxiola-Alcantar, A., Parfitt, R. L., Ruscoe, W. A., Wardle, D. A.,

Wilson, D. J. y Wright, E. F. 2005. The Hare, the Tortoise and the Crocodile: The Ecology of Angiosperm Dominance, Conifer Persistence and Fern Filtering. Journal of Ecology 93 (5): 918-935.

Frohnmeyer, H. y Staiger, D. 2003. Ultraviolet-B Radiation-Mediated Responses in Plants. Balancing Damage and Protection. Plant Physiology 133 (4): 1420-1428.

Gantt, E. y Arnott, H. J. 1965. Spore Germination and Development of the Young Gametophyte of the Ostrich Fern (Matteuccia Struthiopteris). American Journal of Botany 52 (1): 82-94.

Garrett, K. A., Dendy, S. P., Frank, E. E., Rouse, M. N. y Travers, S. E. 2006. Climate Change Effects on Plant Disease: Genomes to Ecosystems. Annual Review of Phytopathology 44 (1): 489-509.

George, L. O. y Bazzaz, F. A. 1999. The Fern Understory as an Ecological Filter: Emergence and Establishment of Canopy-Tree Seedlings. Ecology 80 (3): 833-845.

González, A. V. y Gianoli, E. 2004. Morphological Plasticity in Response to Shading in Three Convolvulus Species of Different Ecological Breadth. Acta Oecologica 26 (3): 185-190.

Herzog, S. K., P.M. Jørgensen, R. Martínez Güingla, C. Martius, E.P. Anderson, D.G. Hole, T.H. Larsen, J.A. Marengo, D. Ruiz Carrascal y Tiessen, H. Efectos Del Cambio Climático En La Biodiversidad De Los Andes Tropicales: El Estado Del

Conocimiento Científico. Resumen Para Tomadores De Decisiones Y Responsables De La Formulación De Políticas Públicas. 2010. Instituto Interamericano para la Investigación del Cambio Global (IAI), São José dos Campos

Hickey, J. R. 2003. A Modern Multilingual Glossary for Taxonomic Pteridology. American Fern Journal 93 (3): 164-165.

Hickey, M. y King, C. 2000. The Cambridge Illustrated Glossary of Botanical Terms, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

Hiendlmeyer, R. y Randi, A. M. 2007. Response of Spores and Young Gametophytes of Cyathea Delgadii Sternb. (Cyatheaceae) and Blechnum Brasiliense Desv. (Blechnaceae) to Different Light Levels. Acta Botanica Brasilica 21 (4): 909-915.

Hoshizaki, B. J. y Moran, R. C. 2001. Fern Grower´S Manual, Timber Press, Portland, USA.

Huntley, B. 1991. How Plants Respond to Climate Change: Migration Rates, Individualism and the Consequences for Plant Communities. Annals of Botany 67 (supp1): 15-22.

Johnson, G. N., Rumsey, F. J., Headley, A. D. y Sheffield, E. 2000. Adaptions to Extreme Low Light in the Fern Trichomanes Speciosum. New Phytologist 148 (3): 423-431.

Jones, M., Tuomisto, H., Borcard, D., Legendre, P., Clark, D. y Olivas, P. 2008. Explaining Variation in Tropical Plant Community Composition: Influence of Environmental and Spatial Data Quality. Oecologia 155 (3): 593-604.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. y Donoghue, M. J. 2008. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach, SINAUER ASSOCIATES, INC., Sunderland, USA.

Kluge, J., Kessler, M. y Dunn, R. R. 2006. What Drives Elevational Patterns of Diversity? A Test of Geometric Constraints, Climate and Species Pool Effects for Pteridophytes on an Elevational Gradient in Costa Rica. Global Ecology and Biogeography 15 (4): 358-371.

Königer, M. y Bollinger, N. 2012. Chloroplast Movement Behavior Varies Widely among Species and Does Not Correlate with High Light Stress Tolerance. Planta 236 (2): 411-426.

Lincoln, R. J., Boxshall, G. A. y Clark, P. F. 1998. A Dictionary of Ecology, Evolution and Systematics, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

Miller, J. H. y Miller, P. M. 1961. The Effect of Different Light Conditions and Sucrose on the Growth and Development of the Gametophyte of the Fern, Onoclea Sensibilis. American Journal of Botany 48 (2): 154-159.

Moran, R. C. 2011. Géneros Neotropicales De Helechos Y Licofitas, Una Guía Para Estudiantes (Manual Fotocopiado Para Un Curso De Helechos Y Licofitas, Pontífica Universidad Católica Del Ecuador, Quito, 23–28 De Mayo 2011.), Quito, Ecuador.

Moran, R. C. 1987. Monograph of the Neotropical Fern Genus Polybotrya (Dryopteridaceae). Illinois Natural History Survey Bulletin 34 (1): 1-138.

Morison, J. y Morecroft, M. 2006. Plant Growth and Climate Change, Blackwell Publishing.

Mutke, J. y Barthlott, W. 2005. Patterns of Vascular Plant Diversity at Continental to Global Scales. Biologiske Skrifter 55 521-531.

Navarrete, H. 2001. Helechos Comunes De La Amazonía Baja Ecuatoriana, Editorial Simbioe, Quito, Ecuador.

Nayar, B. K. y Kaur, S. 1971. Gametophytes of Homosporous Ferns. Botanical Review 37 (3): 295-396.

Nozue, K., Kanegae, T., Imaizumi, T., Fukuda, S., Okamoto, H., Yeh, K.-C., Lagarias, J. C. y Wada, M. 1998. A Phytochrome from the Fern Adiantum with Features of the Putative Photoreceptor Nph1. Proceedings of the National Academy of Sciences 95 (26): 15826-15830.

Page, C. N. 2002. Ecological Strategies in Fern Evolution: A Neopteridological Overview. Review of Palaeobotany and Palynology 119 1-33.

Petersen, J. F., Sack, D. y Gabler, R. E. 2011. Physical Geography, Cengage Learning, Canada.

Pitelka, L. F. y Group., P. 1997. Plant Migration and Climate Change. American Scientist 85 (5): 464-473.

Quintanilla, L. G., Soto, L. D., Jiménez, A. y Méndez, M. 2007. Do Antheridiogens Act Via Gametophyte Size? A Study of Woodwardia Radicans (Blechnaceae). American Journal of Botany 94 (6): 986-990.

Ranker, T. A. y Haufler, C. H. 2008. Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes, Cambridge University Press, New York.

Raven, P. H., Evert, R. F. y Eichhorn, S. E. 2005. Biology of Plants, W. H. Freeman and Company, New York, USA.

Renner, G. D. y Randi, Á. M. 2004. Effects of Sucrose and Irradiance on Germination and Early Gametophyte Growth of the Endangered Tree Fern Dicksonia Sellowiana Hook (Dicksoniaceae). Acta Botanica Brasilica 18 (2): 375-380.

Rünk, K. y Zobel, K. 2007. Phenotypic Plasticity and Biomass Allocation Pattern in Three Dryopteris (Dryopteridaceae) Species on an Experimental Light-Availability Gradient. Plant Ecology 193 (1): 85-99.

Russell, A. E. y Vitousek, P. M. 1997. Decomposition and Potential Nitrogen Fixation in Dicranopteris Linearis Litter on Mauna Loa, Hawaii. Journal of Tropical Ecology 13 (4): 579-594.

Sahley, C., Zaratti, F., Cuéllar, M., Cáceres, L. y Martínez, R. Los Desafíos De La Investigación Interdisciplinaria En Biodiversidad Y Cambio Climático. 2010. Instituto Interamericano para la Investigación del Cambio Global (IAI),

Saldaña, A., Hernández, C., Coopman, R., Bravo, L. y Corcuera, L. 2010. Differences in Light Usage among Three Fern Species of Genus Blechnum of Contrasting Ecological Breadth in a Forest Light Gradient. Ecological Research 25 (2): 273-281.

Sánchez-Montiel, L., Arreguín-Sánchez, M. y Fernández-Nava, R. 2008. Gametofitos Y Esporofitos Jóvenes De Dos Pteridofitas. Polibotánica 25 29-43.

Sheffield, E. y Bell, P. R. 1987. Current Studies of the Pteridophyte Life Cycle. Botanical Review 53 (4): 442-490.

SPSS Inc. Publicado 2009. PASW Statistics for Windows, Versión 18.0. Chicago: SPSS Inc.

Suzuki, C. C. L. F., Paulilo, M. T. y Randi, Á. M. 2005. Substrate and Irradiance Affect the Early Growth of the Endangered Tropical Tree Fern Dicksonia Sellowiana Hook. (Dicksoniaceae). American Fern Journal 95 (3): 115-125.

Tsuboi, H., Suetsugu, N., Kawai-Toyooka, H. y Wada, M. 2007. Phototropins and Neochrome1 Mediate Nuclear Movement in the Fern Adiantum Capillus-Veneris. Plant and Cell Physiology 48 (6): 892-896.

Tuomisto, H. y Ruokolainen, K. 1997. The Role of Ecological Knowledge in Explaining Biogeography and Diversity in Amazonia. Biodiversity and Conservation 6 347-357.

Tuomisto, H., Ruokolainen, K., Poulsen, A. D., Moran, R. C., Quintana, C., Cañas, G. y Celi, J. 2002. Distribution and Diversity of Pteridophytes and Melastomataceae Along Edaphic Gradients in Yasuni National Park, Ecuadorian Amazonia. Biotropica 34 (4): 516-533.

Valencia, R., Foster, R. B., Villa, G., Condit, R., Svenning, J.-C., Hernández, C., Romoleroux, K., Losos, E., Magård, E. y Balslev, H. 2004. Tree Species Distributions and Local Habitat Variation in the Amazon: Large Forest Plot in Eastern Ecuador. Journal of Ecology 92 (2): 214-229.

Valladares, F., Gianoli, E. y Gómez, J. M. 2007. Ecological Limits to Plant Phenotypic Plasticity. New Phytologist 176 (4): 749-763.

Vormisto, J., Svenning, J.-C., Hall, P. y Balslev, H. 2004. Diversity and Dominance in Palm (Arecaceae) Communities in Terra Firme Forests in the Western Amazon Basin. Journal of Ecology 92 (4): 577-588.

Wada, M. y Kadota, A. 1989. Photomorphogenesis in Lower Green Plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 40 (1): 169-191.

Watkins, J. E., Mack, M. C., Sinclair, T. R. y Mulkey, S. S. 2007. Ecological and Evolutionary Consequences of Desiccation Tolerance in Tropical Fern Gametophytes. New Phytologist 176 (3): 708-717.

Watkins, J. E., Mack, M. K. y Mulkey, S. S. 2007. Gametophyte Ecology and Demography of Epiphytic and Terrestrial Tropical Ferns. American Journal of Botany 94 (4): 701-708.

Wright, J. 2002. Plant Diversity in Tropical Forests: A Review of Mechanisms of Species Coexistence. Oecologia 130 (1): 1-14.

9. FIGURAS

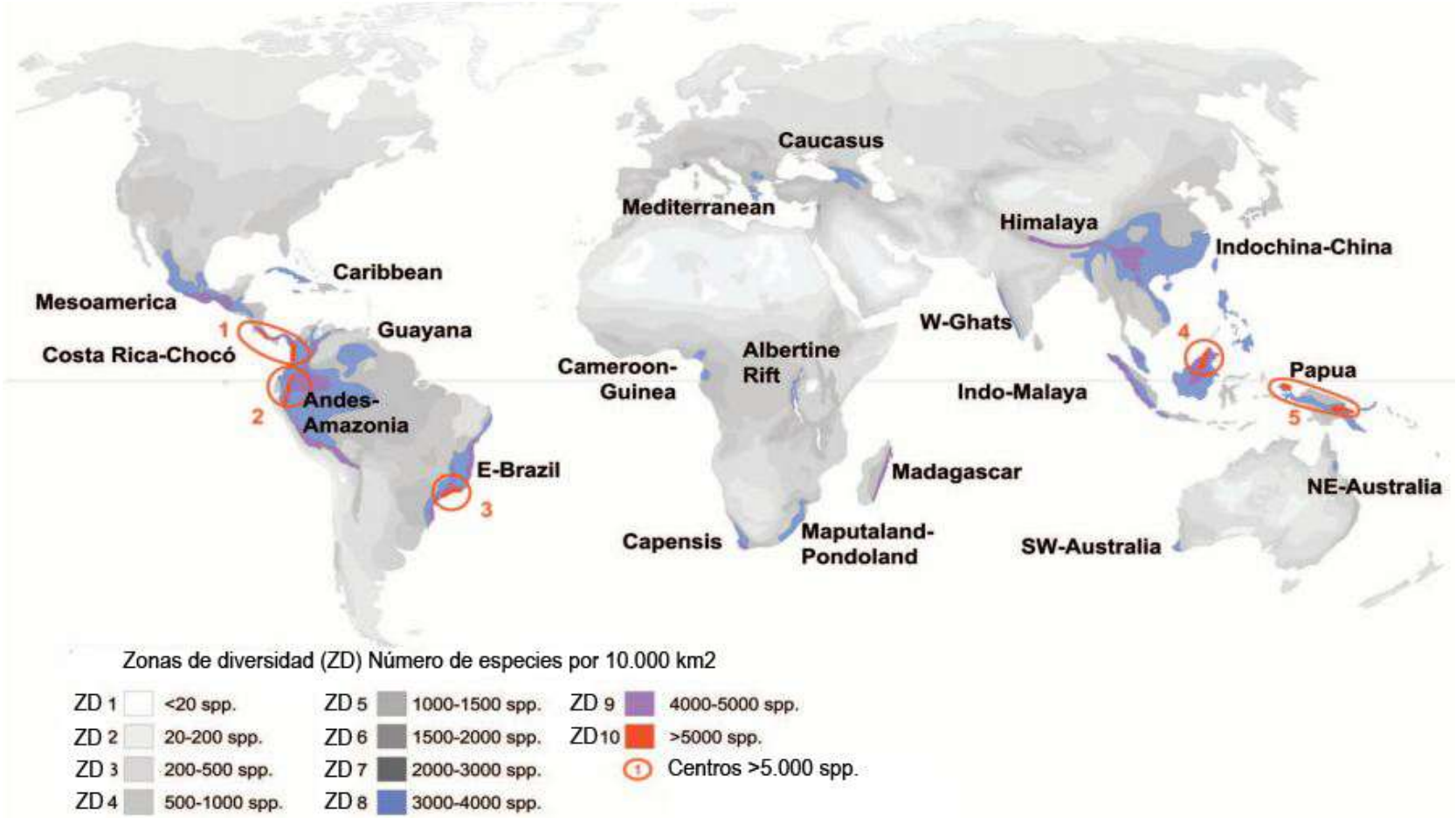


Figura 1. Centros mundiales de diversidad de plantas vasculares. 1. Costa Rica, 2. Oriente de los Andes tropicales, 3. Brasil Atlántico, 4. Norte de Borneo, 5. Nueva Guinea. Tomado de Barthlott *et al.*, 2005.

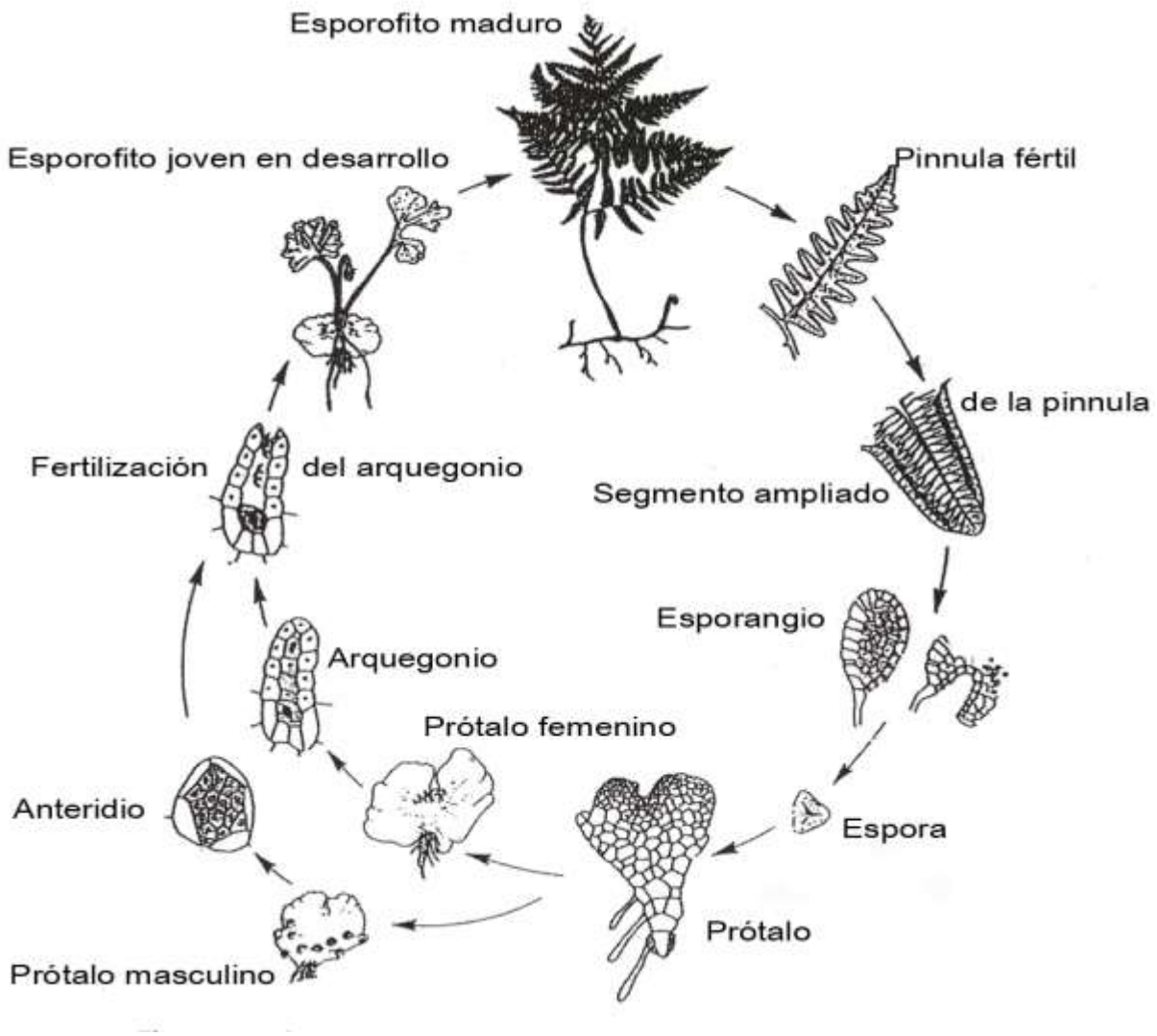


Figura 2. Ciclo de vida de un helecho. Tomado de Ranker y Haufler, (2008).

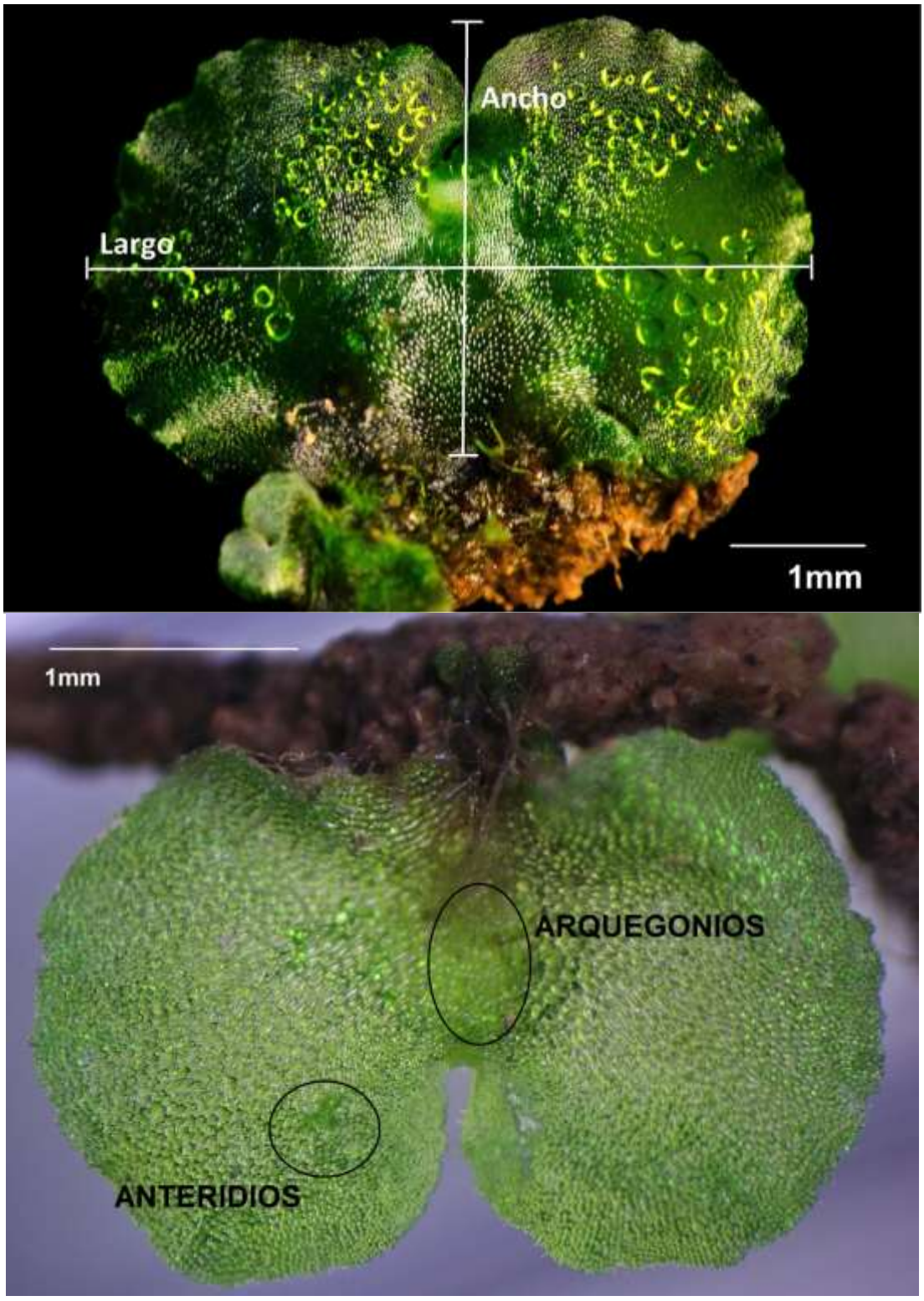


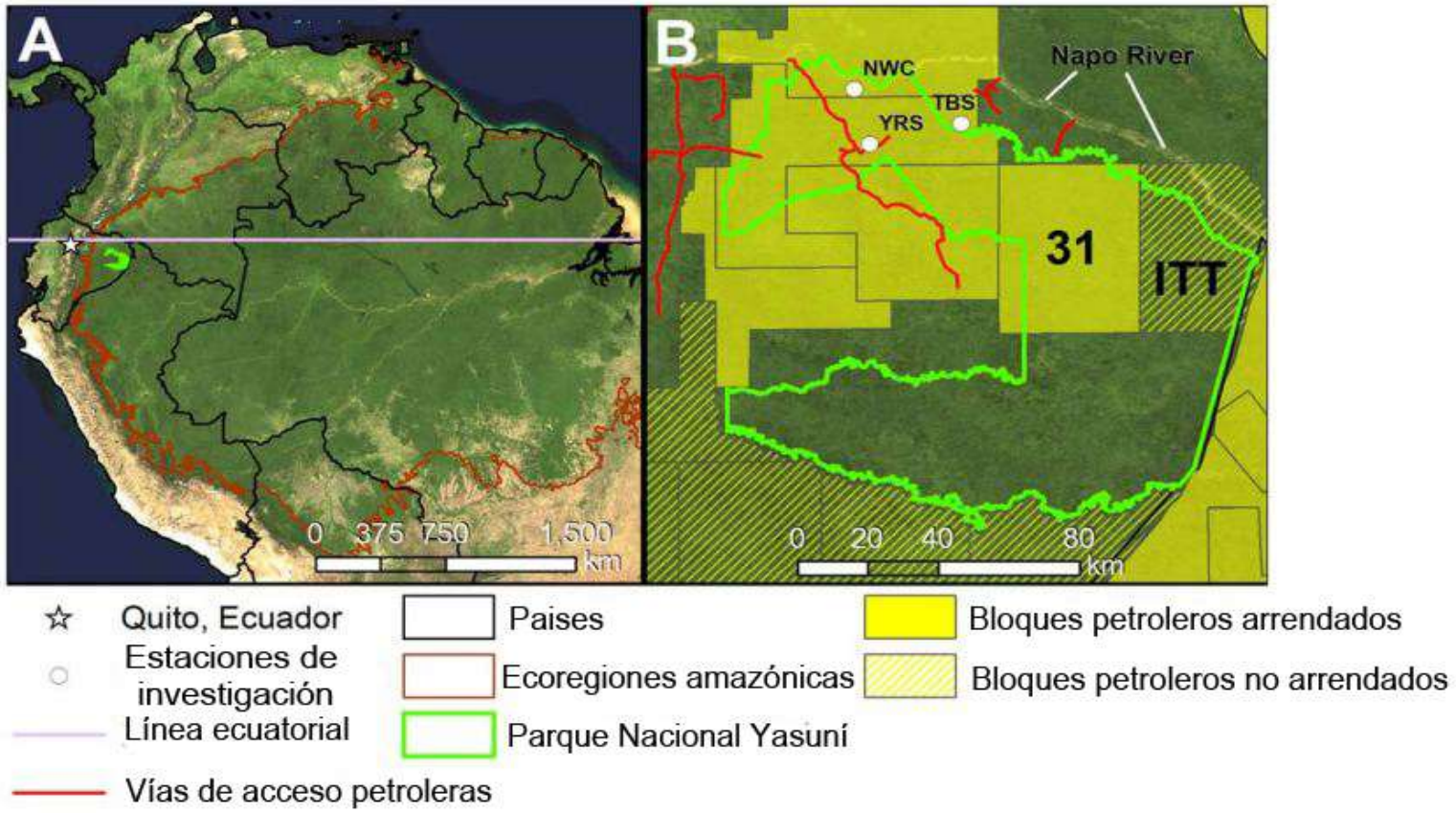
Figura 3. Gametofitos de *Thelypteris macrophylla*. Superior: Las líneas indican la forma en la que se tomaron las medidas de largo y ancho de cada gametofito. Inferior: Ubicación de anteridios y arquegonios.



Figura 4. *Thelypteris macrophylla*. Tomada de http://tropicos.org/Name/26610620 .



Figura 5. *Polybotrya osmundacea*. Tomada de http://tropicos.org/Name/26606080.



A) Ubicación del Parque Nacional Yasuní en las carreteras de la Amazonia, los Andes y del Ecuador. B) Bloques petroleros y carreteras de acceso petrolero dentro y en los alrededores del parque. ITT= Pozos petroleros Ishpingo-Tambococha-Tiputini, NWC= Napo Wildlife Center, TBS= Tiputini Biodiversity Station, YRS= Estación Científica Yasuní.

Figura 6. Mapa del Parque Nacional Yasuní. Tomado de Bass *et al.*, (2010).



Figura 7. Estructura de protección de la microestación climática HOBO. A) Estructura en la que se encuentra la estación microclimática, B) Estación microclimática, señalada con la flecha blanca, C) Piranómetro.

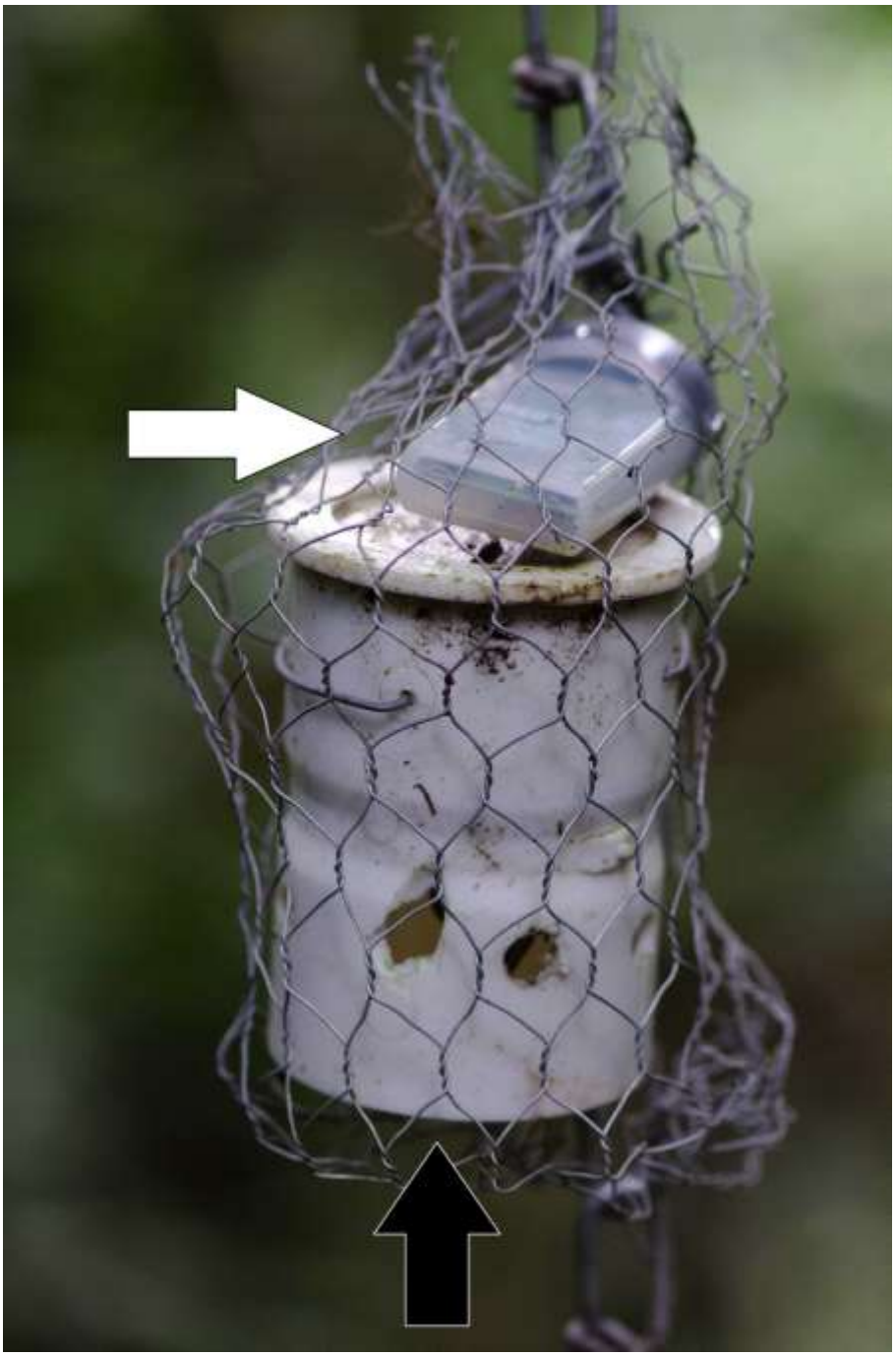


Figura 8. Estructura de pvc utilizada para proteger a los sensores ubicados en la columna de sensores a los largo del gradiente altitudinal del bosque de 0 a 2.000 cm. Flecha blanca: Sensor de luz y temperatura, Flecha negra: Sensor de temperatura y humedad ubicado dentro de la estructura de pvc. En cada punto de muestreo se registran datos de temperatura del aire, humedad y luz, cada 60 minutos.

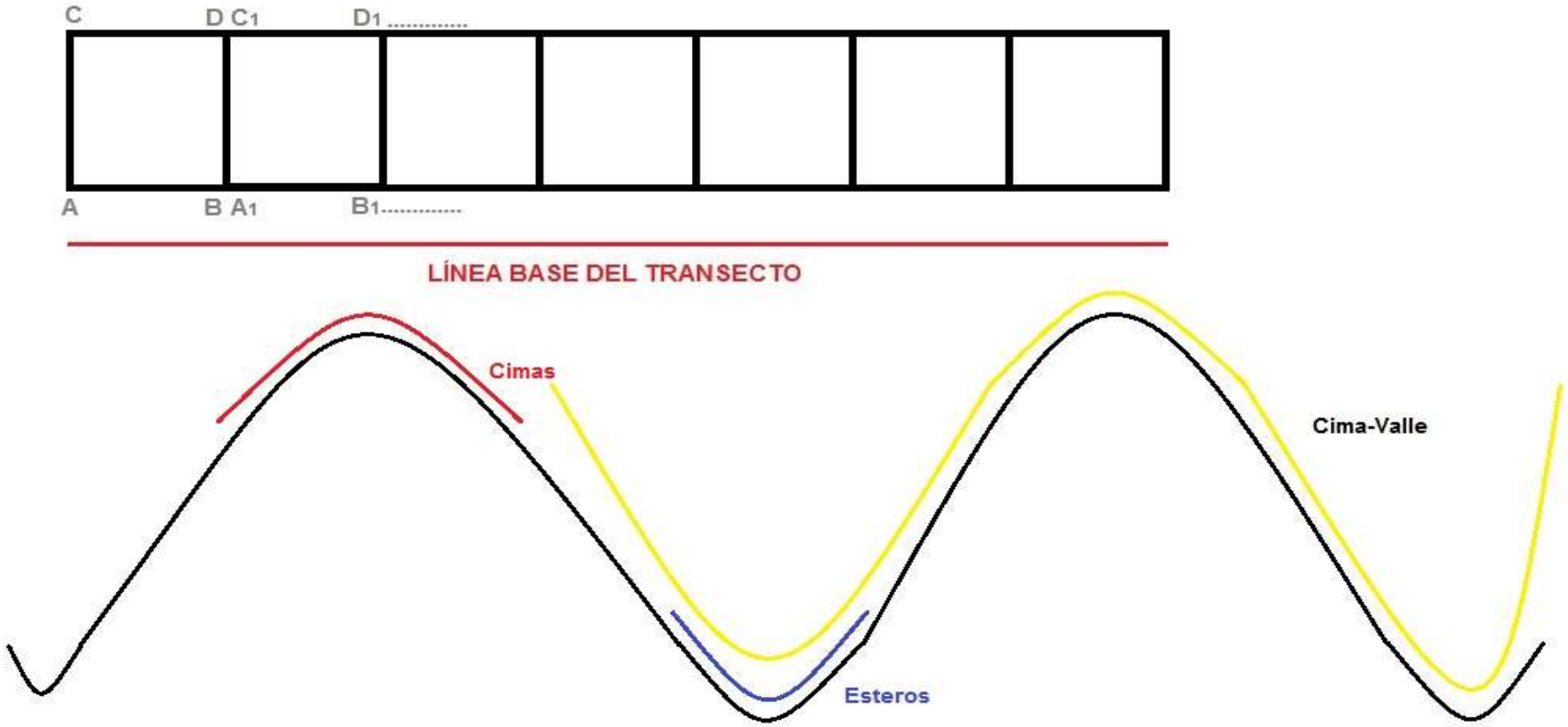


Figura 9. Esquema de los transectos. En la parte superior se observar un esquema de cómo fue la nomenclatura dentro de cada transecto. Las esquinas A y B siempre estuvieron en el lado de la línea base. En la parte inferior se muestra cómo se ubicaron los transectos en los tres tipos topográficos (Cima, Cima-Valle y Estero).



Figura 10. Invernadero para los experimentos de germinación de esporas y cultivo de gametofitos de *Polybotrya osmundacea* y *Thelypteris macrophylla*.



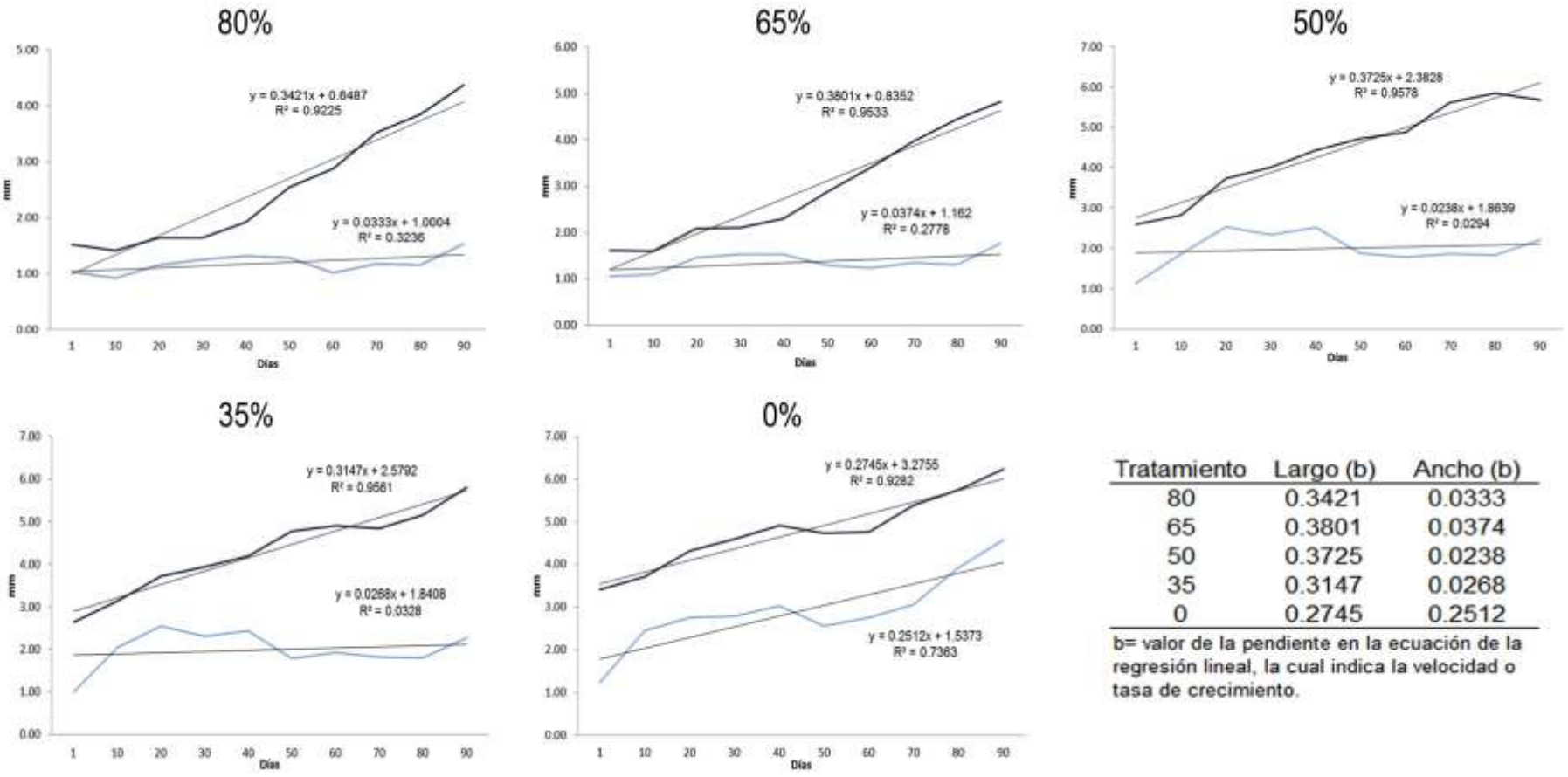
Figura 11. Zonas del invernadero cubiertas por malla polisombra. Las mallas más oscuras (al frente) corresponden al tratamiento 80% de sombra y las más claras (al fondo) al tratamiento 35% de sombra. Las macetas que no están cubiertas son el tratamiento control.



Figura 12. Metodología para la el estudio de la germinación de esporas y cultivo de gametofitos de *Polybotrya osmundacea* y *Thelypteris macrophylla* bajo diferentes intensidades de luz, en invernadero. En la fotografía se muestra las macetas utilizadas para la siembra de esporas, con gametofitos ya desarrollados, además de un sensor de luz y temperatura (UA-002-64 *Temperature/Light — waterproof— Pendant*®) y un botón de humedad y temperatura (DS1923 *temperature/humidity logger iButton*®).



Figura 13. Tipos de morfología de los gametofitos observados a lo largo del experimento. El gametofito señalado con la flecha blanca presenta una morfología más plana, mientras que el gametofito señalado con la flecha negra presenta una morfología mucho más compleja con pliegues.



Tratamiento	Largo (b)	Ancho (b)
80	0.3421	0.0333
65	0.3801	0.0374
50	0.3725	0.0238
35	0.3147	0.0268
0	0.2745	0.2512

b= valor de la pendiente en la ecuación de la regresión lineal, la cual indica la velocidad o tasa de crecimiento.

Figura 14. Regresiones lineares de los promedios de crecimiento en largo (azul oscuro) y ancho (azul claro) de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*, bajo los cinco tratamientos de sombra (80%, 66%, 50%, 35% y 0%). La tabla muestra los valores de las pendientes de cada ecuación. El eje "x" representa los días de toma de datos y el eje "y" representa el tamaño en milímetros**.**

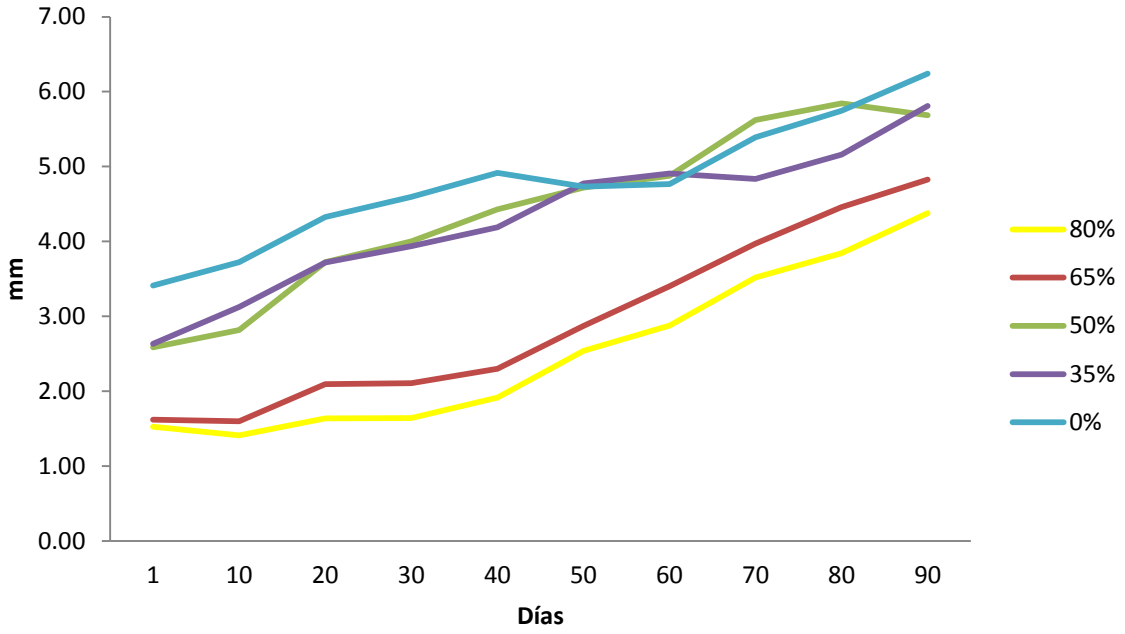


Figura 15. Promedios del crecimiento en largo por fecha de medición de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*. Eje "x" representa los días de mediciones y el eje "y" representa el tamaño en milímetros.

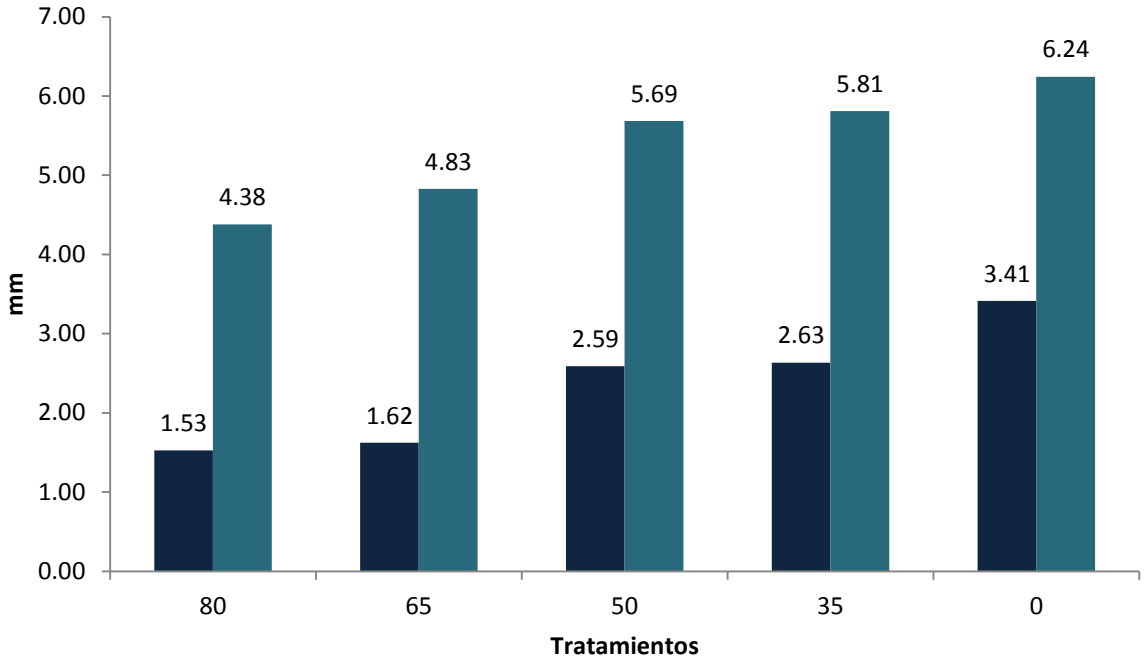


Figura 16. Tamaño promedio del largo inicial (azul oscuro) y final (azul claro) de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*. Eje "x" representa los tratamientos y el eje "y" representa el tamaño en milímetros. El tratamiento control está representado por el número 0 en el eje "x".

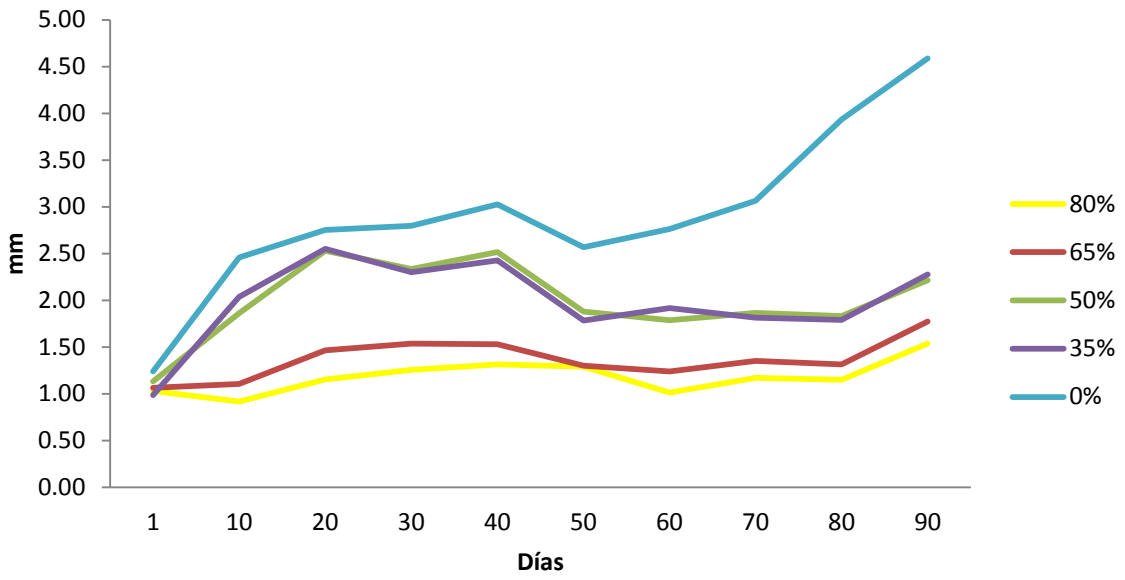


Figura 17. Promedios del crecimiento en ancho por fecha de medición de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*. Eje "x" representa los días de mediciones y el eje "y" representa el tamaño en milímetros.

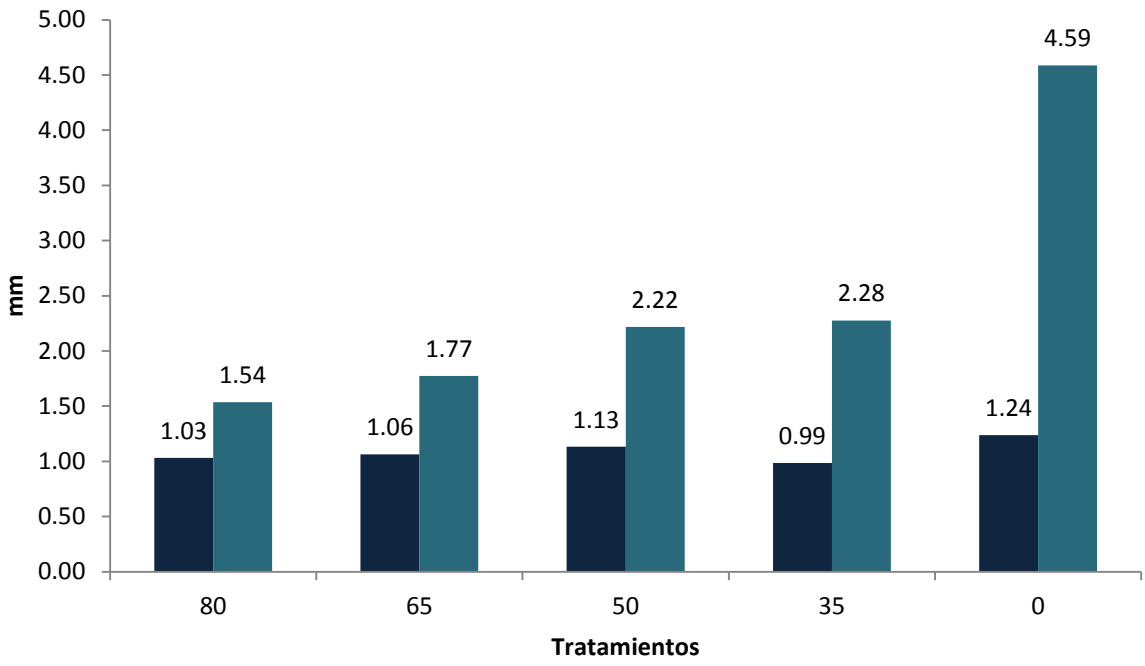
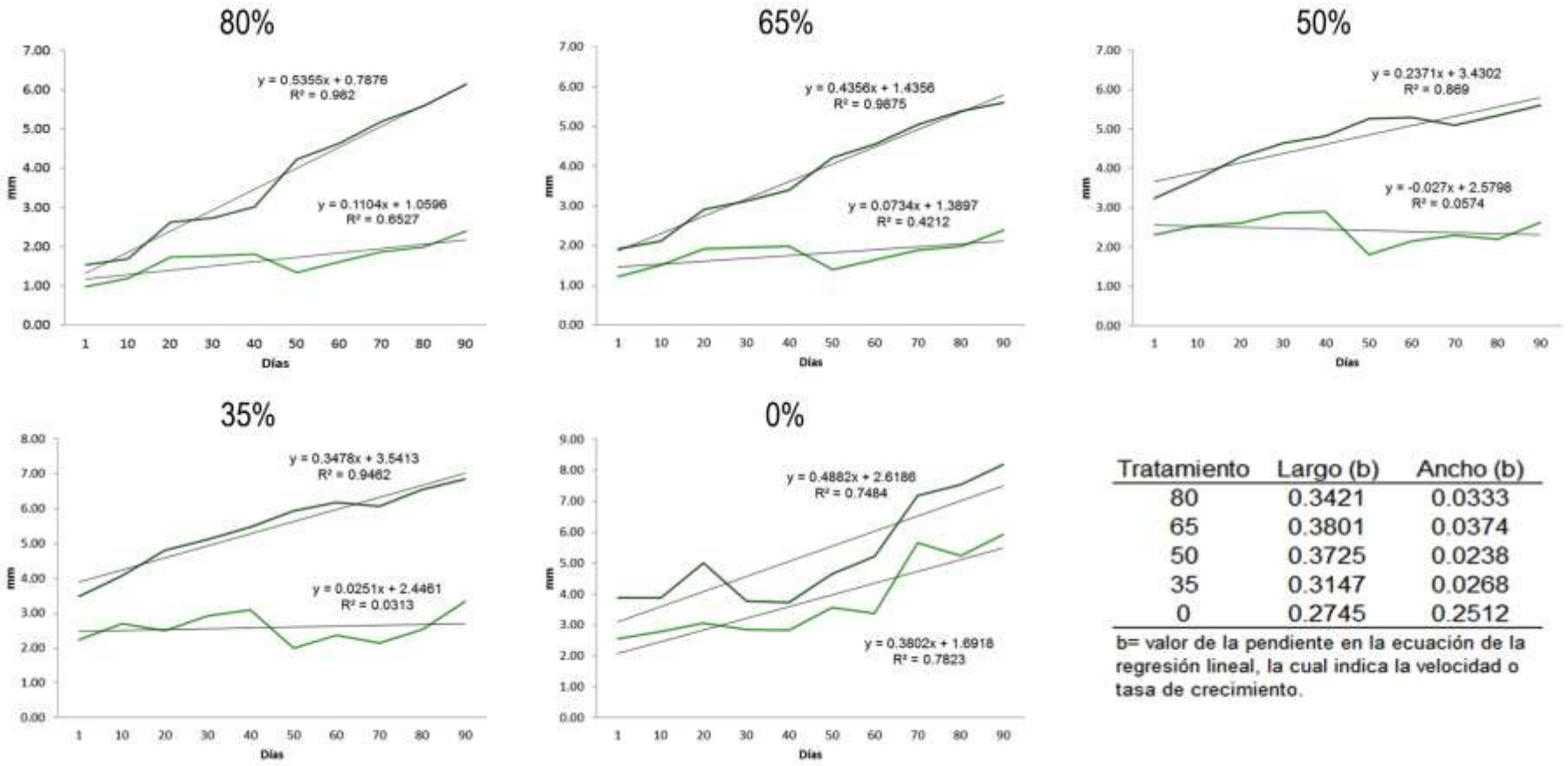


Figura 18. Tamaño promedio del ancho inicial (azul oscuro) y final (azul claro) de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*. Eje "x" representa los tratamientos y el eje "y" representa el tamaño en milímetros. El tratamiento control está representado por el número 0 en el eje "x".



Tratamiento	Largo (b)	Ancho (b)
80	0.3421	0.0333
65	0.3801	0.0374
50	0.3725	0.0238
35	0.3147	0.0268
0	0.2745	0.2512

b= valor de la pendiente en la ecuación de la regresión lineal, la cual indica la velocidad o tasa de crecimiento.

Figura 19. Regresiones lineares de los promedios de crecimiento en largo (verde oscuro) y ancho (verde claro) de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea*, bajo los cinco tratamientos de sombra (80%, 66%, 50%, 35% y 0%). La tabla muestra los valores de las pendientes de cada ecuación. El eje "x" representa los días de toma de datos y el eje "y" representa el tamaño en milímetros.

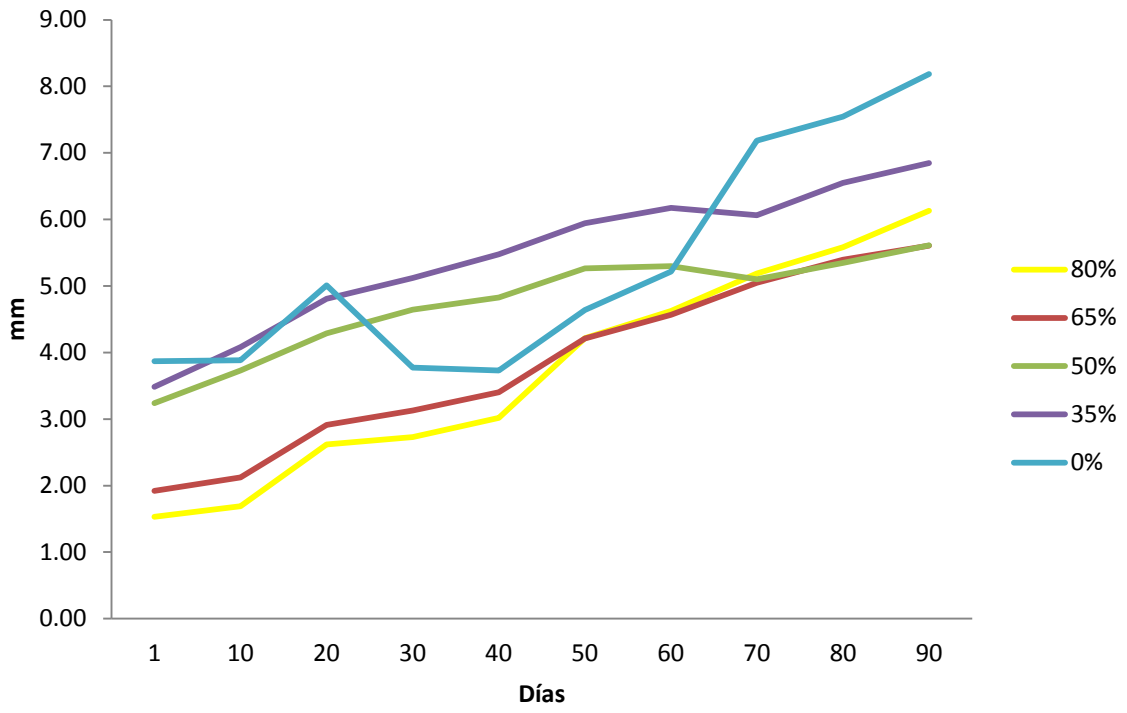


Figura 20. Promedios del crecimiento en largo por fecha de medición de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea*. Eje "x" representa los días de mediciones y el eje "y" representa el tamaño en milímetros.

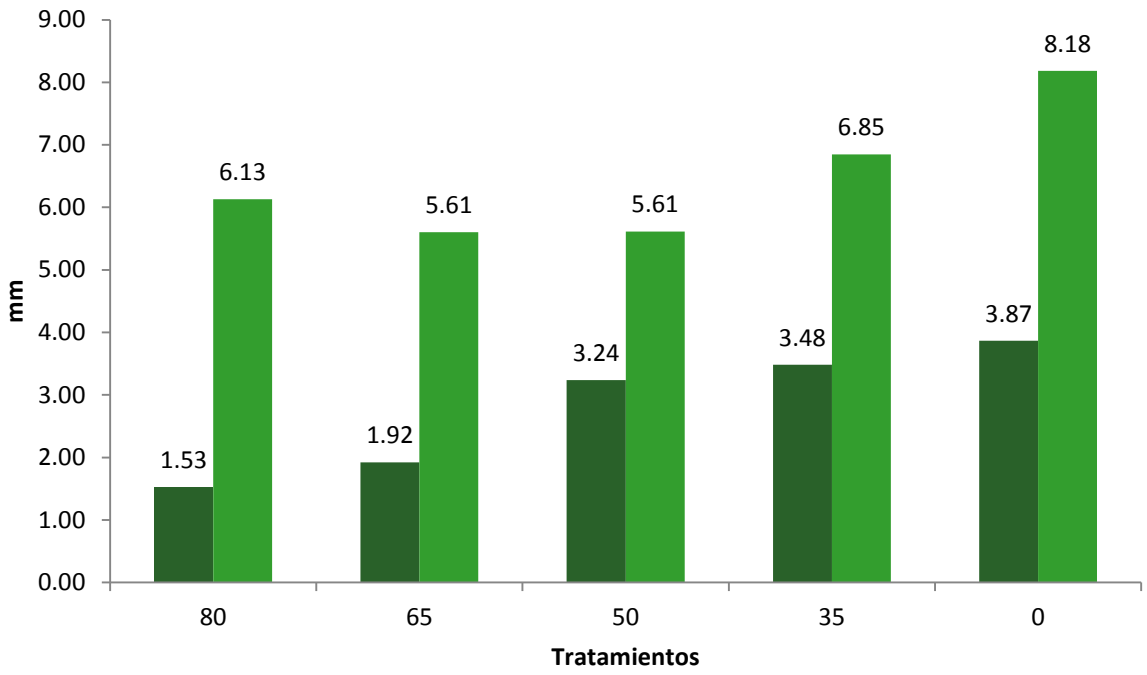


Figura 21. Tamaño promedio del largo inicial (verde oscuro) y final (verde claro) de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea*. Eje "x" representa los tratamientos y el eje "y" representa el tamaño en milímetros. El tratamiento control está representado por el número 0 en el eje "x".

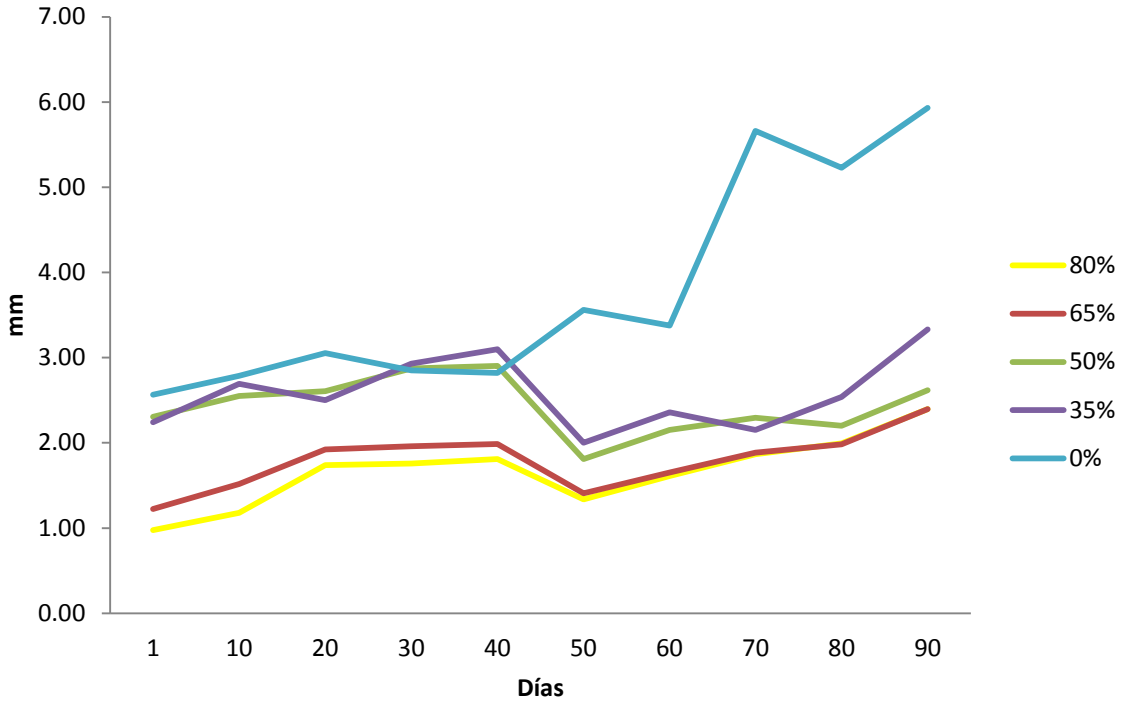


Figura 22. Promedios del crecimiento en ancho por fecha de medición de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea*. Eje "x" representa los días de mediciones y el eje "y" representa el tamaño en milímetros.

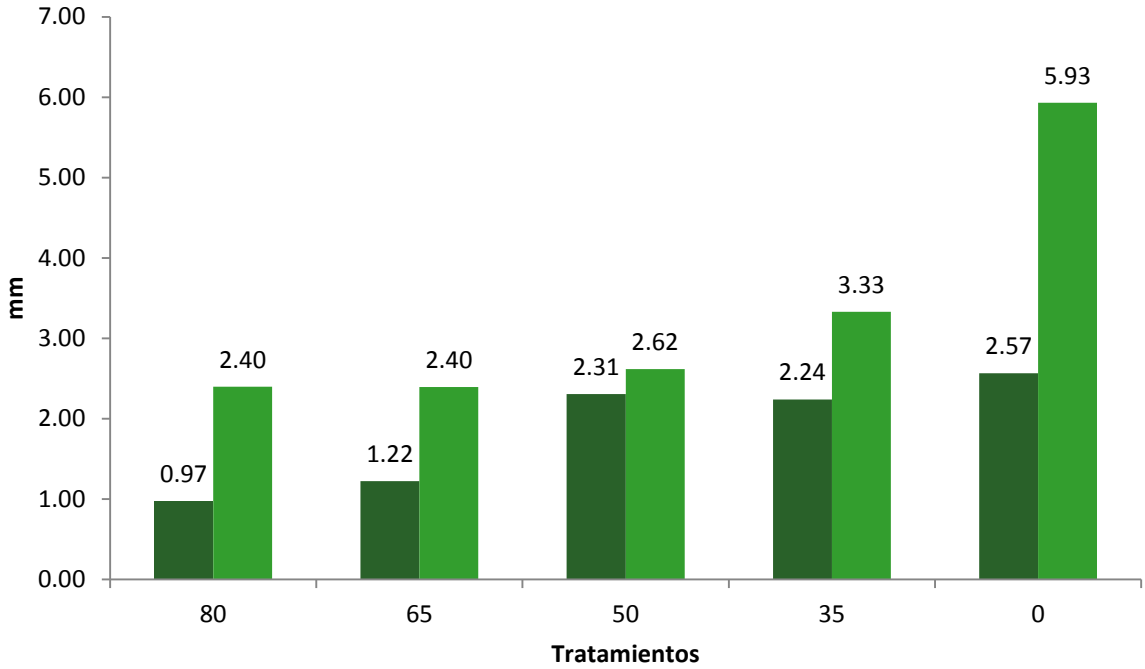


Figura 23. Tamaño promedio del ancho inicial (verde oscuro) y final (verde claro) de los gametofitos de *Polybotrya osmundacea*. Eje "x" representa los tratamientos y el eje "y" representa el tamaño en milímetros. El tratamiento control está representado por el número 0 en el eje "x".

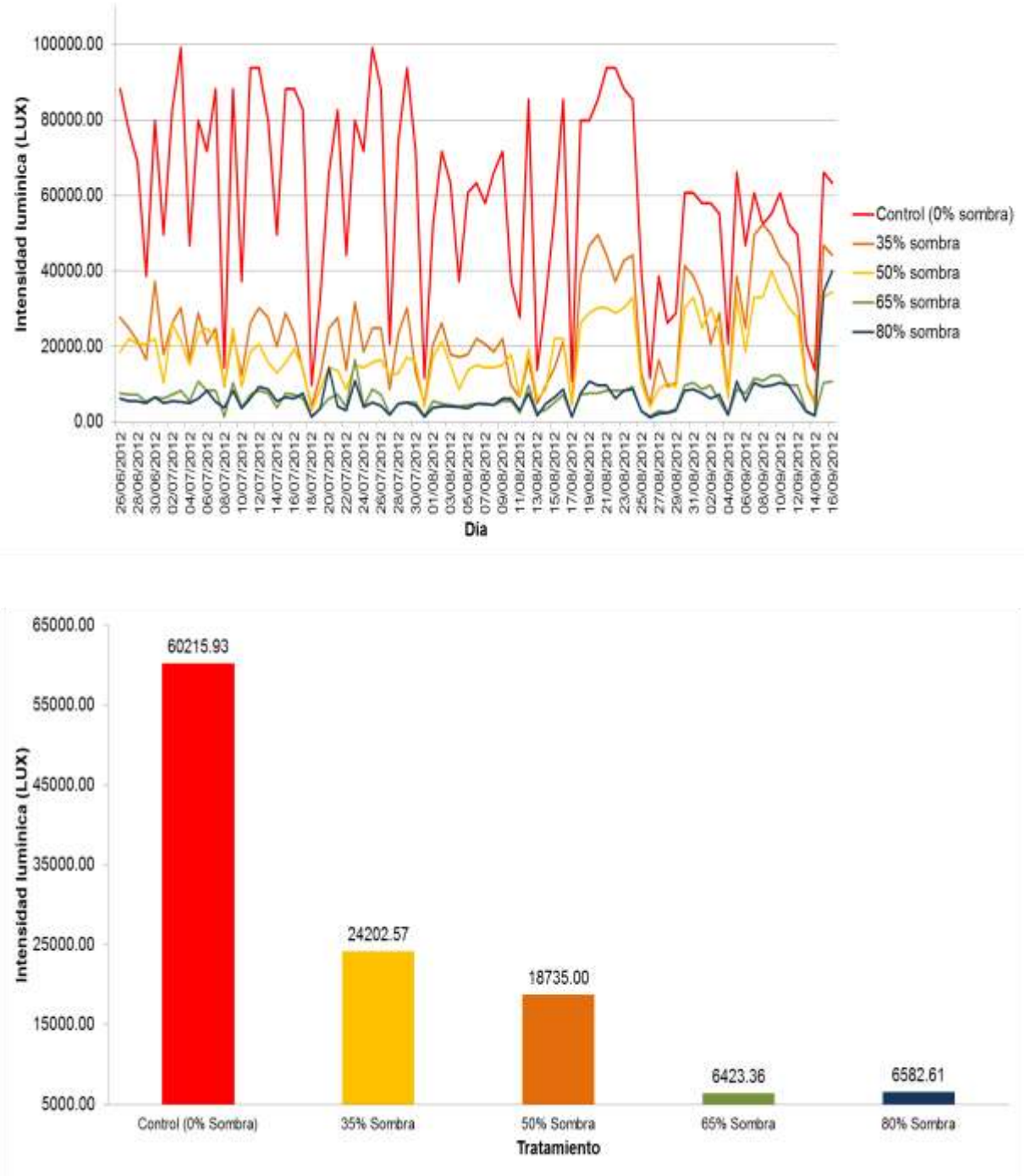


Figura 24. Intensidad lumínica máxima de cada tratamiento. En la Figura superior se muestra la variación de la intensidad lumínica a lo largo del tiempo que duró el experimento, mientras que en la inferior se muestra la media de la intensidad lumínica máxima.

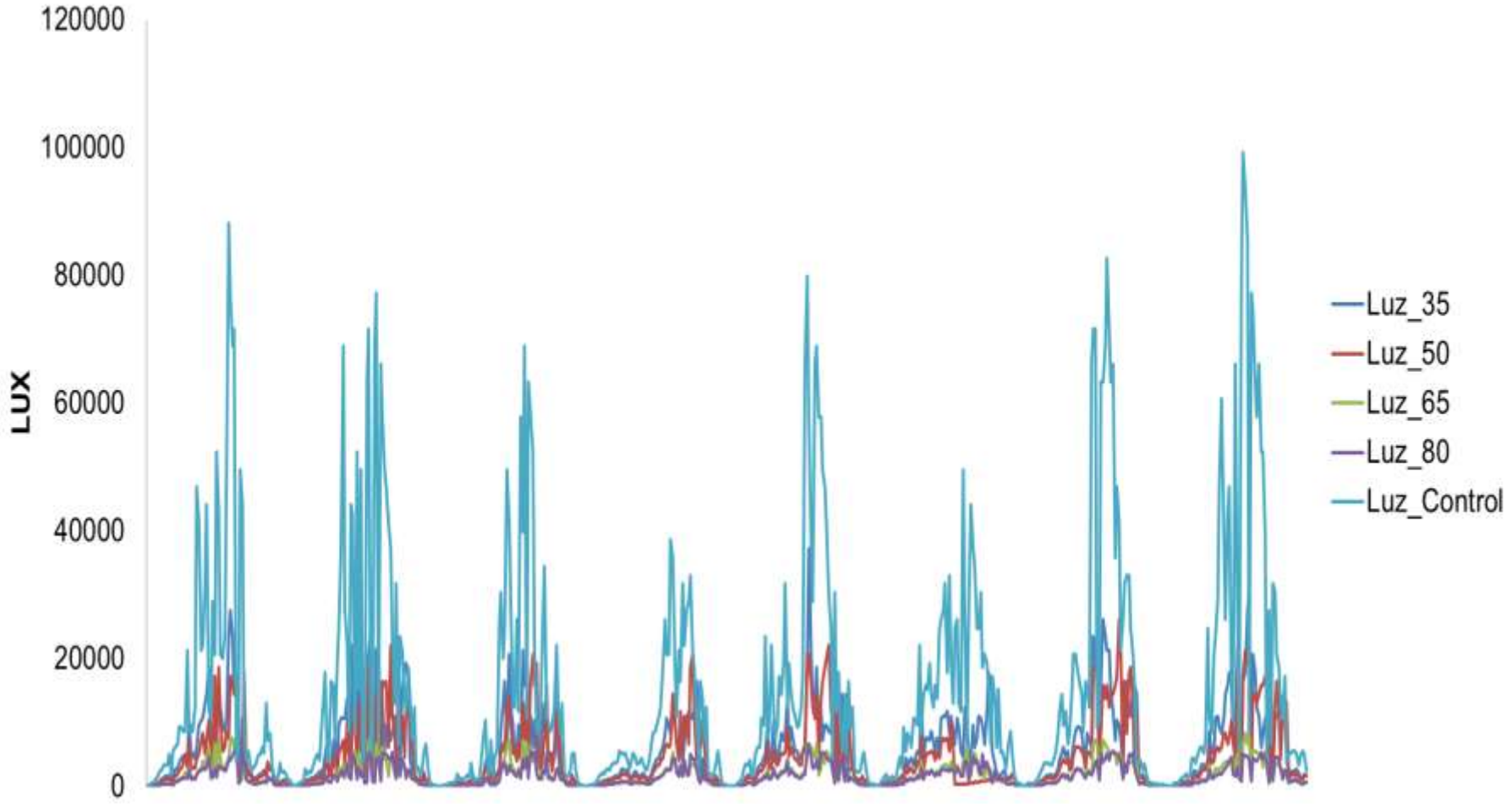


Figura 25. Variación de la intensidad lumínica cada 10 minutos de todos los tratamientos. Datos obtenidos a partir de las mediciones de lux de cada tratamiento desde el 26/06/2012 hasta el 03/07/2012.

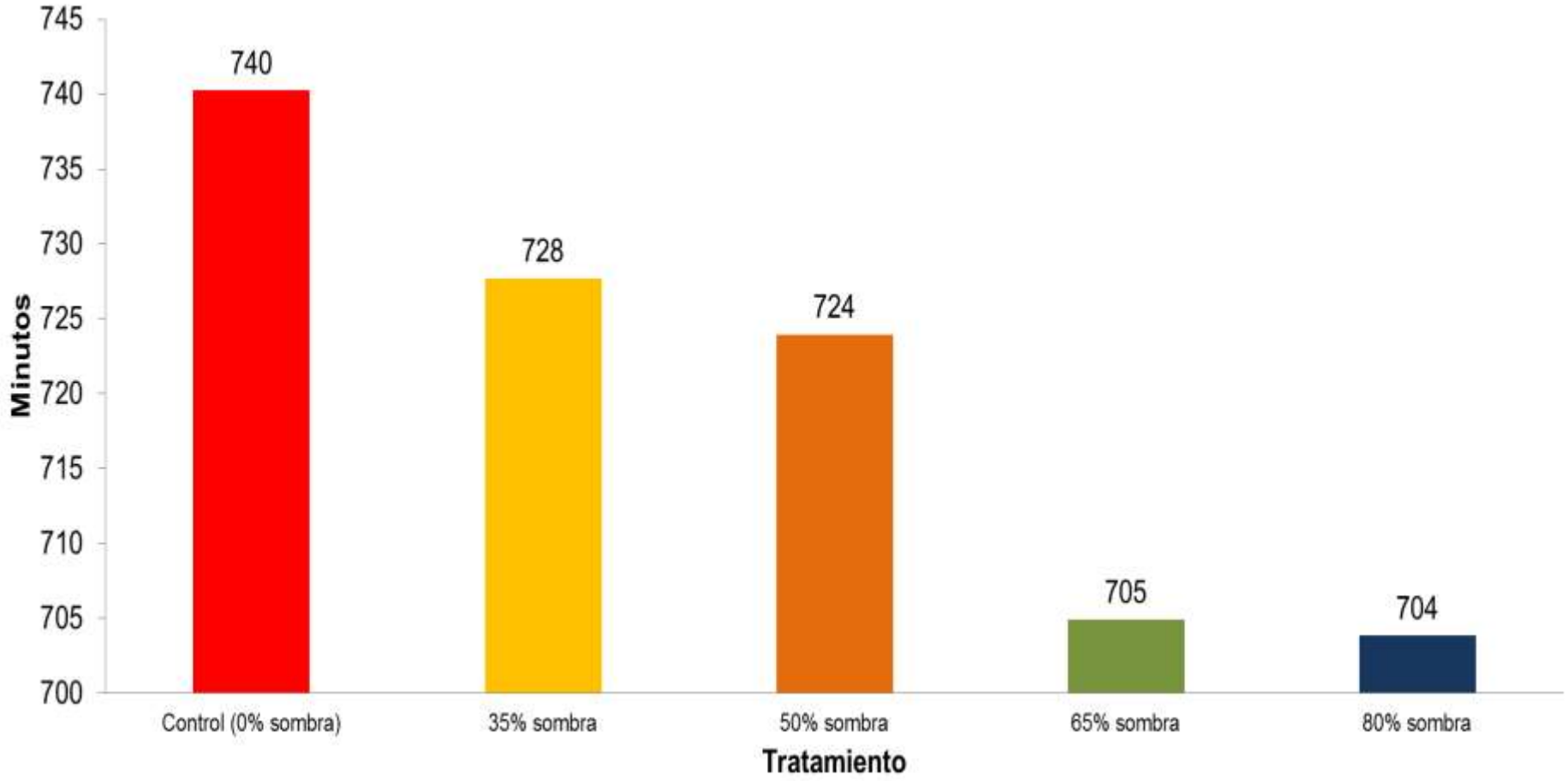


Figura 26. Comparación de la media del tiempo de exposición máxima diaria a la luz solar de cada tratamiento. El eje "y" representa la los minutos de exposición diaria y el eje "x" los tratamientos.

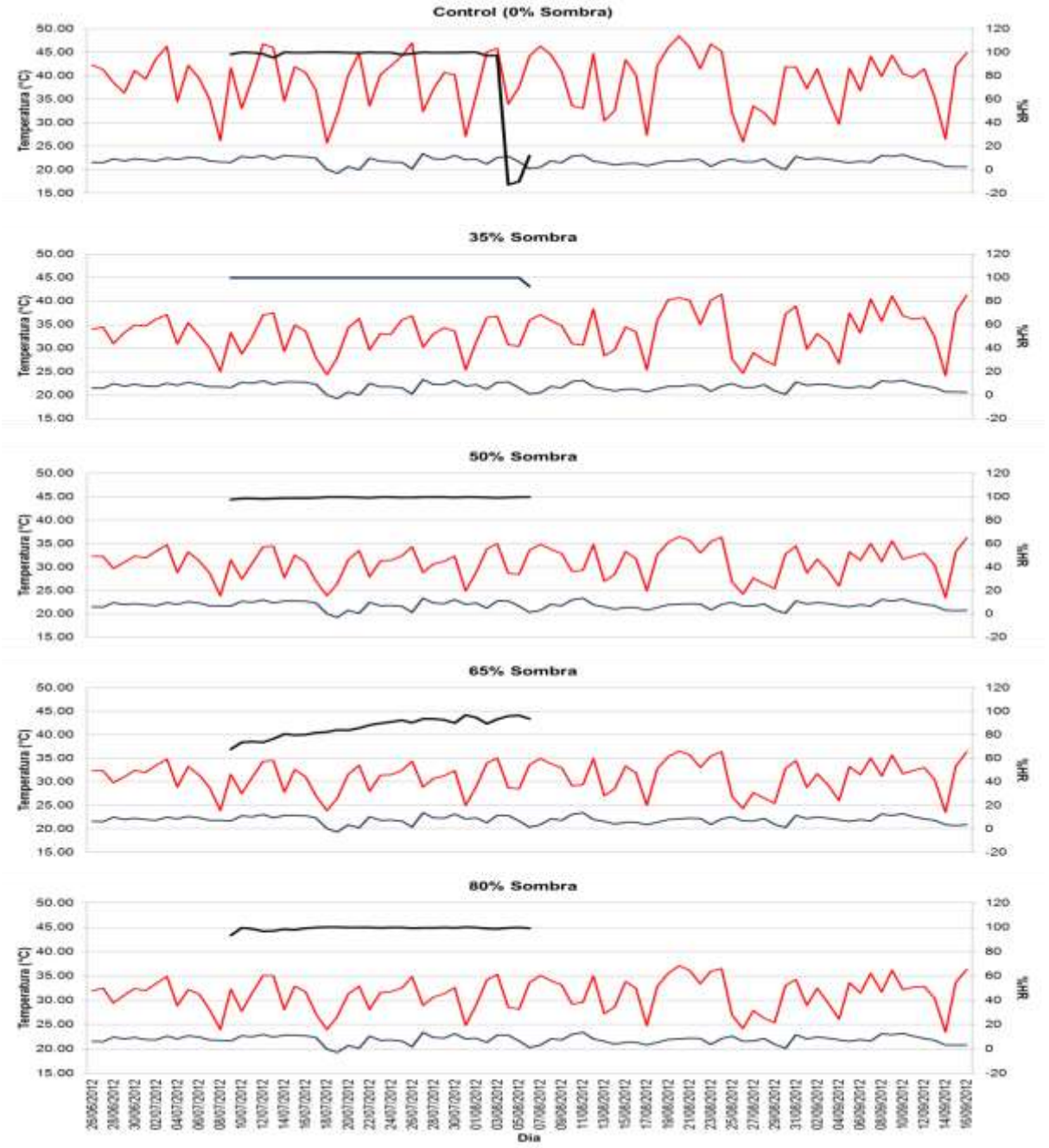


Figura 27. Temperatura máxima y mínima y humedad relativa diaria de los cinco tratamientos. El eje "y" izquierdo representa la temperatura (°C) y el derecho el porcentaje de humedad relativa. El eje "x" representa los días que duró el experimento. Las líneas rojas representan la temperatura máxima, las líneas azules la temperatura mínima y las líneas negras representan la humedad relativa.

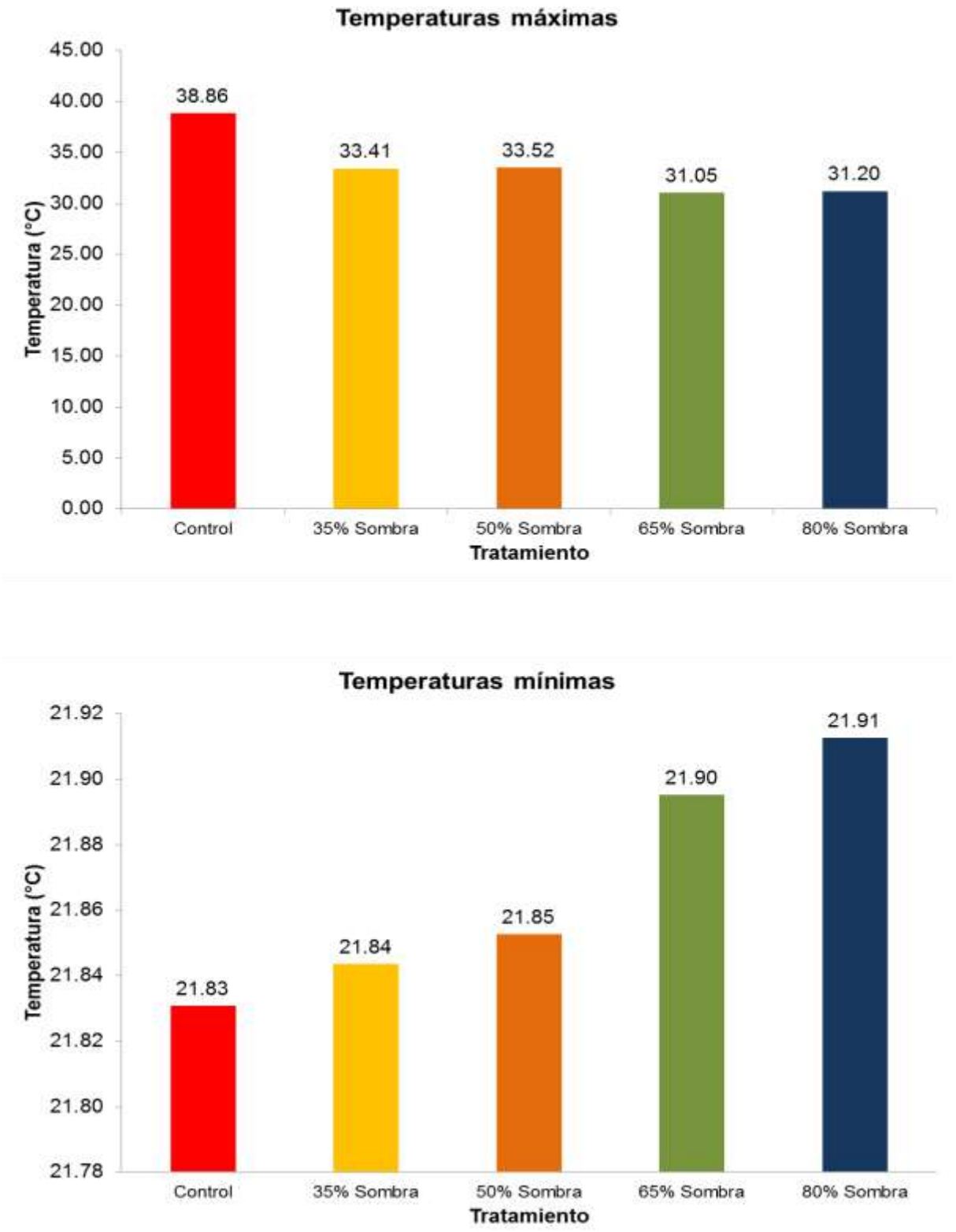


Figura 28. Temperaturas medias máximas y mínimas de cada tratamiento. El eje "y" representa la temperatura (°C) y el eje "x" el tratamiento.

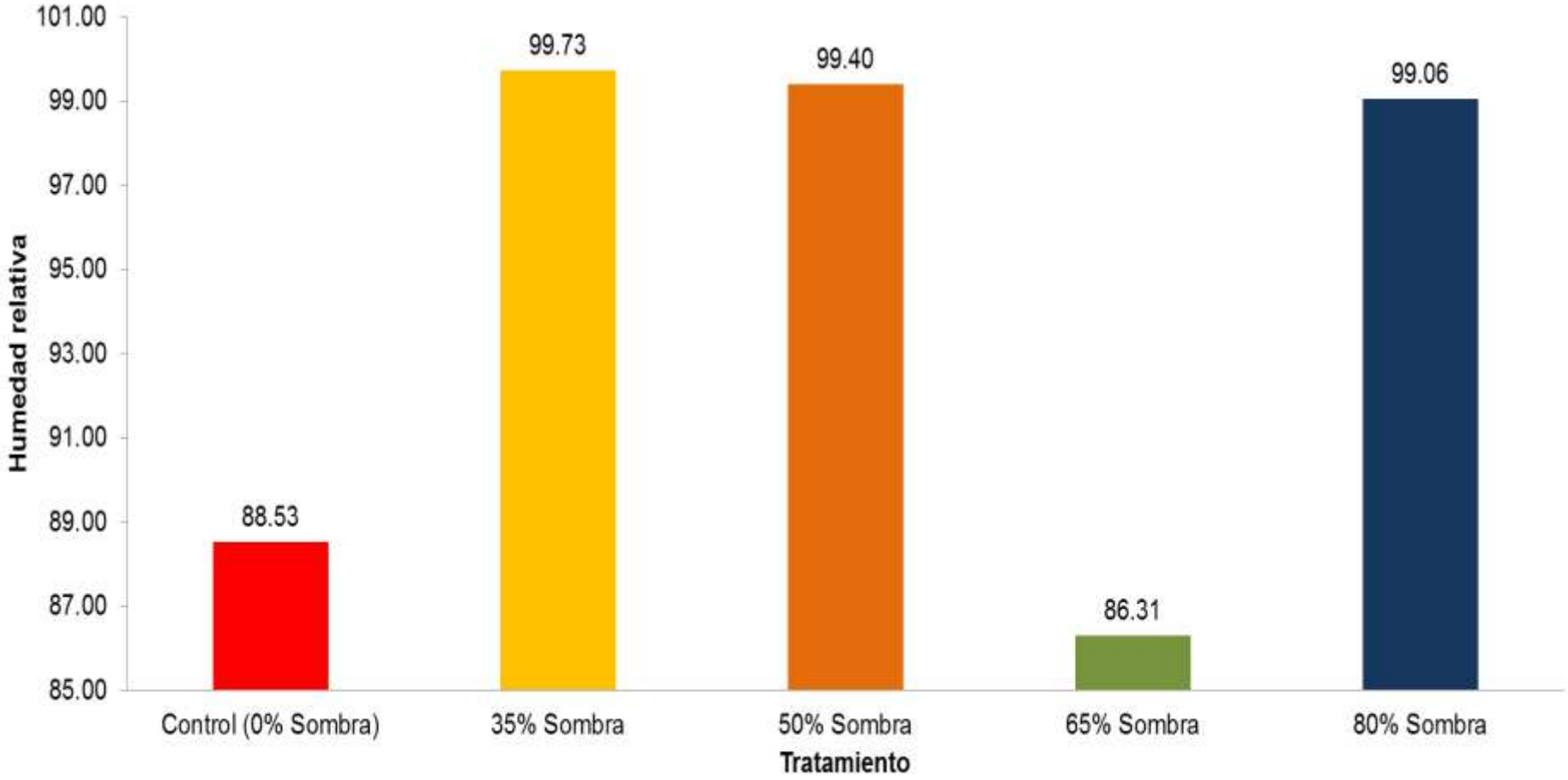


Figura 29. Comparación de la humedad relativa media diaria de cada tratamiento. El eje "y" representa humedad relativa en porcentaje de agua en el aire y el eje "x" los tratamientos.

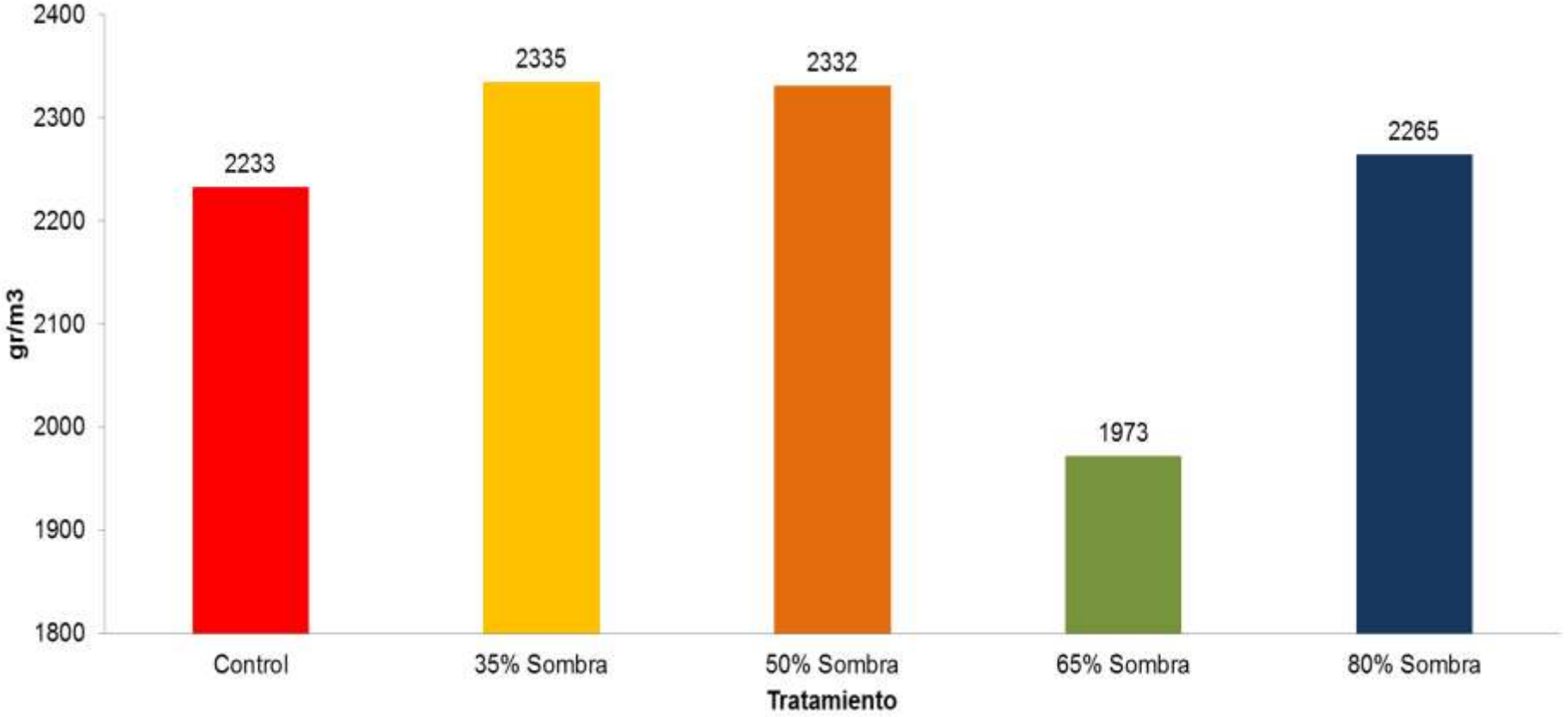


Figura 30. Comparación del peso promedio en gramos de un metro cubico de vapor agua saturado diario de cada tratamiento. Los datos provienen de la humedad relativa diaria de cada tratamiento. El eje "y" representa los gramos por metro cúbico de vapor de agua saturado y el eje "x" los tratamientos.

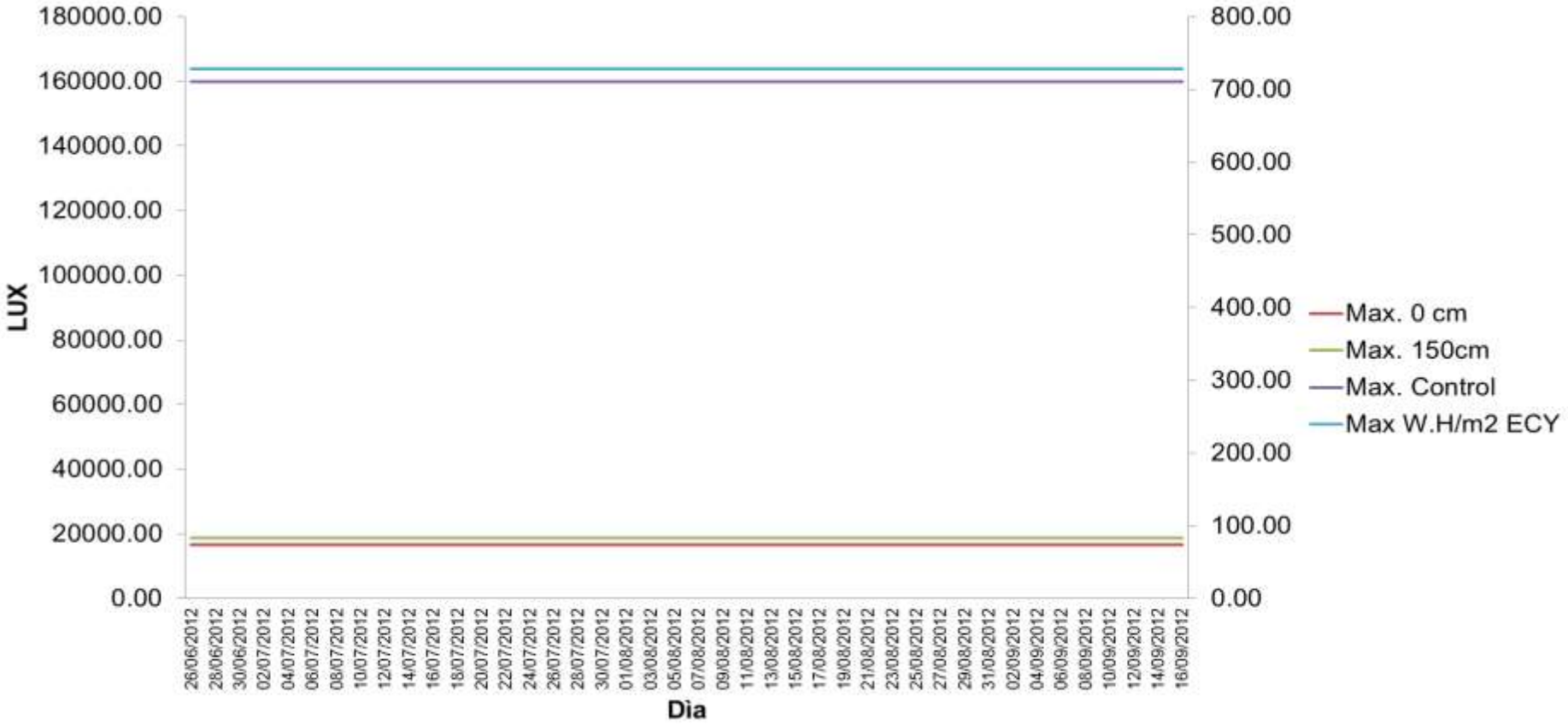


Figura 31. Intensidad lumínica máxima y energía diaria dentro del bosque. El eje "y" izquierdo representa la intensidad lumínica (LUX), y el derecho la energía (Watts. Hora/m^2) y el eje "x" los días que duró el experimento.

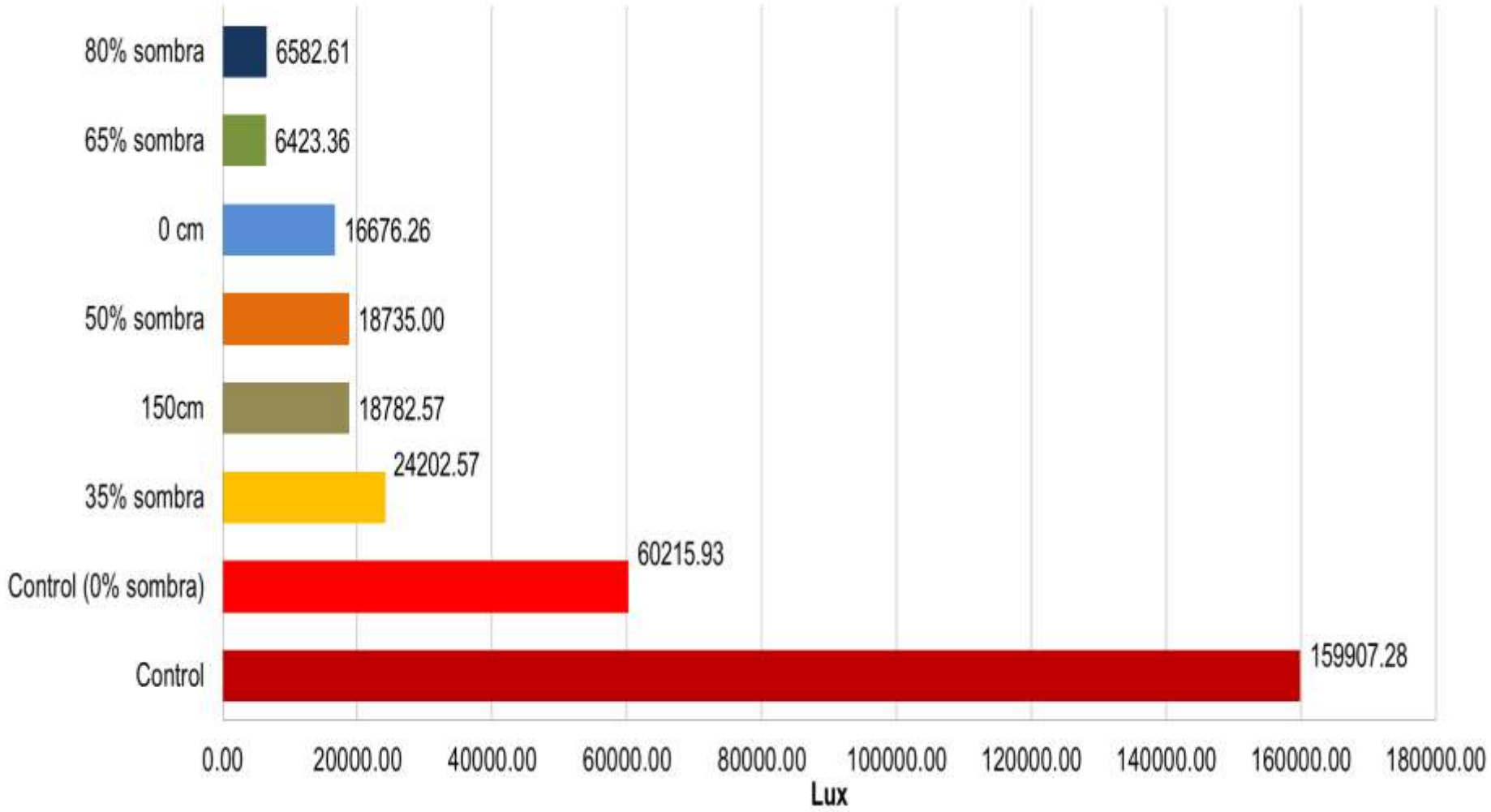


Figura 32. Comparación de la intensidad lumínica máxima 0 cm y 150 cm en el bosque y control de intensidad de luz con la intensidad lumínica de cada tratamiento. El eje "y" el origen de los datos y el eje "x" la intensidad lumínica (Lux).

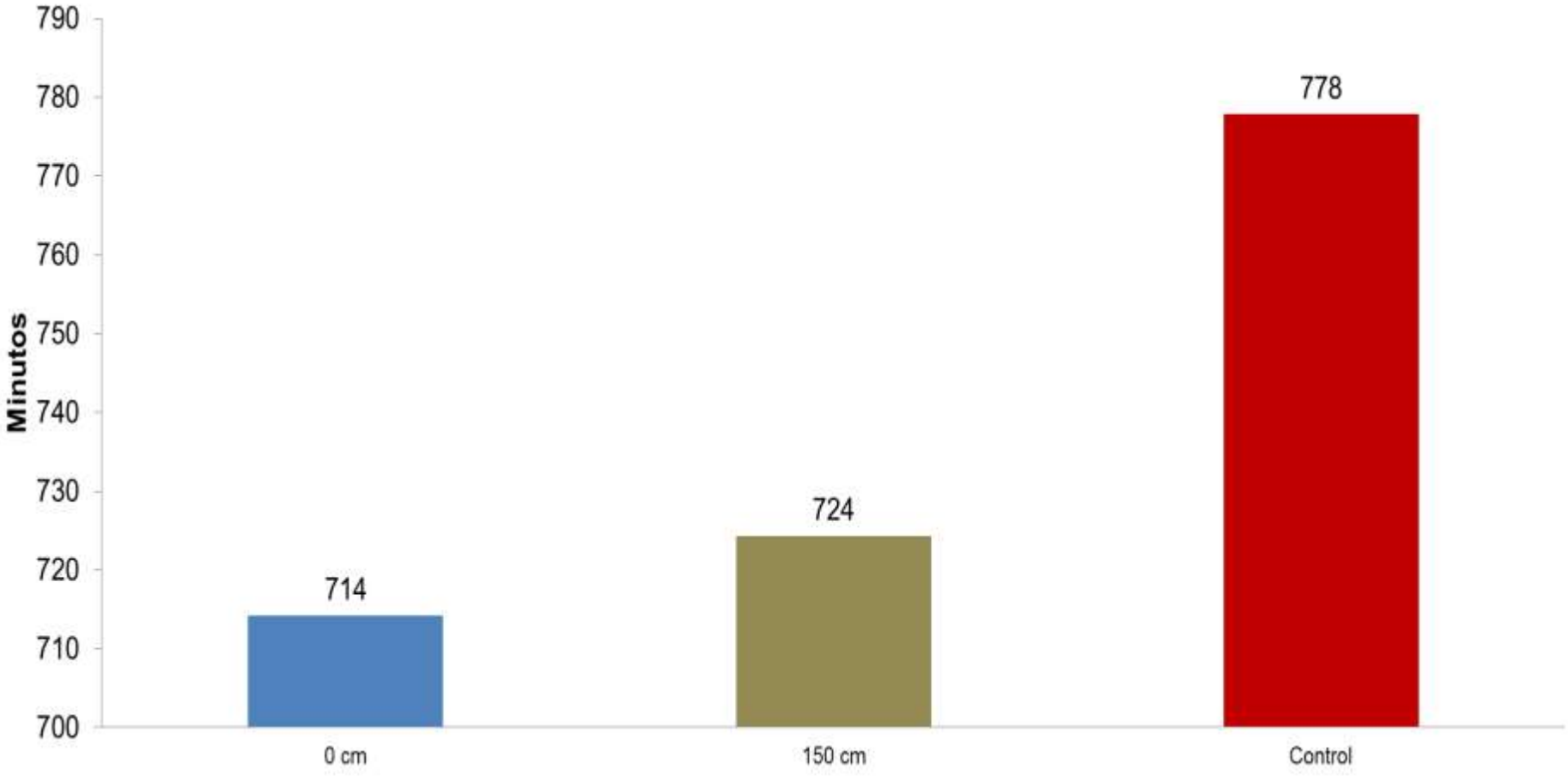


Figura 33. Minutos de luz diaria de sensores de luz bajo condiciones control sin filtros, a 0 cm y 150 cm dentro del bosque. El eje "y" representa la cantidad de minutos media diaria y el eje "x" el origen de los datos bajo las condiciones climáticas del bosque.

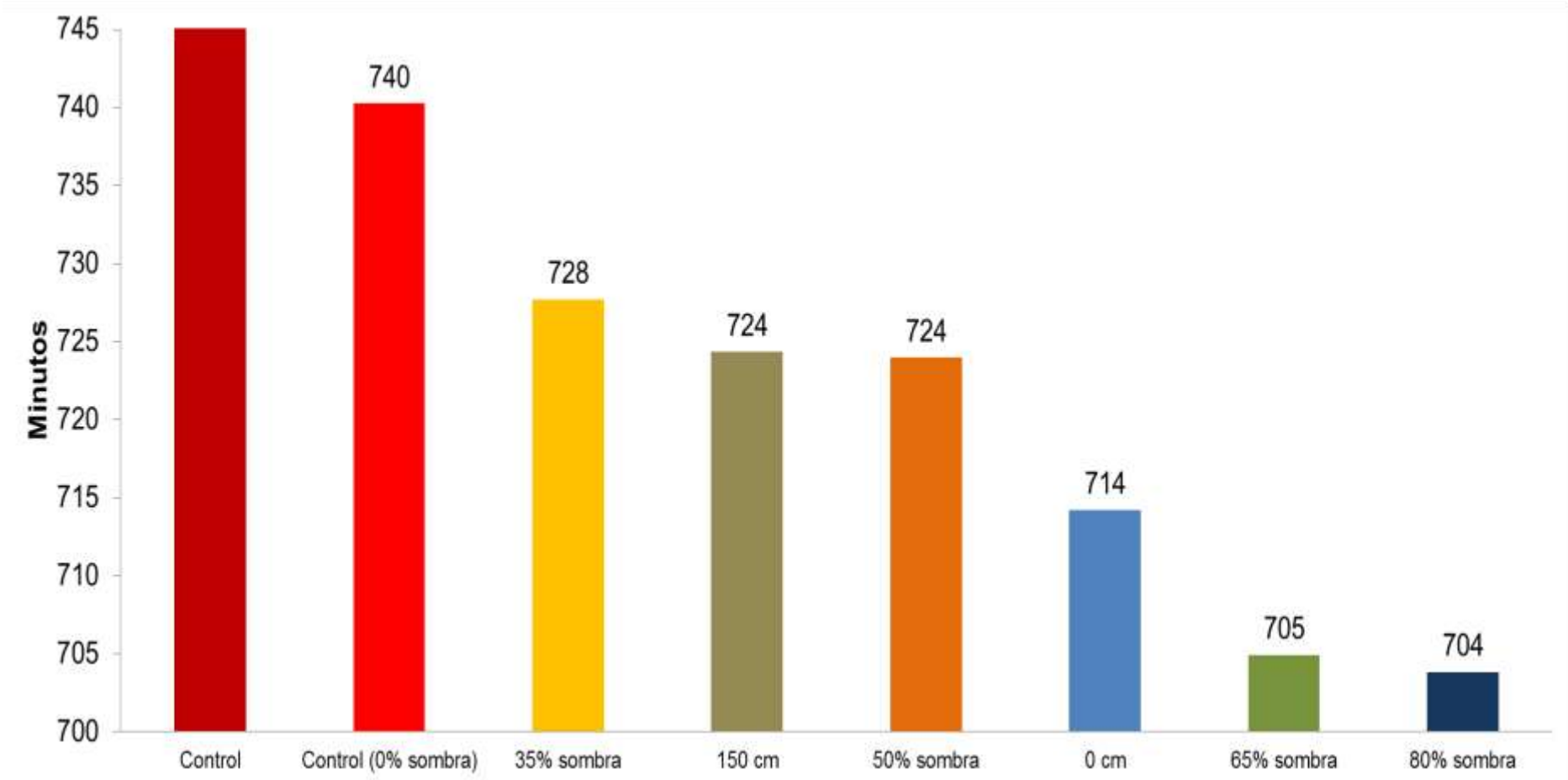


Figura 34. Comparación de los minutos de luz diaria de cada tratamiento con los datos de la ECY, de sensores de luz bajo condiciones control sin filtros, 0 cm y 150 cm dentro del bosque. El eje "y" representa los minutos y el eje "x" los días que duró el experimento.

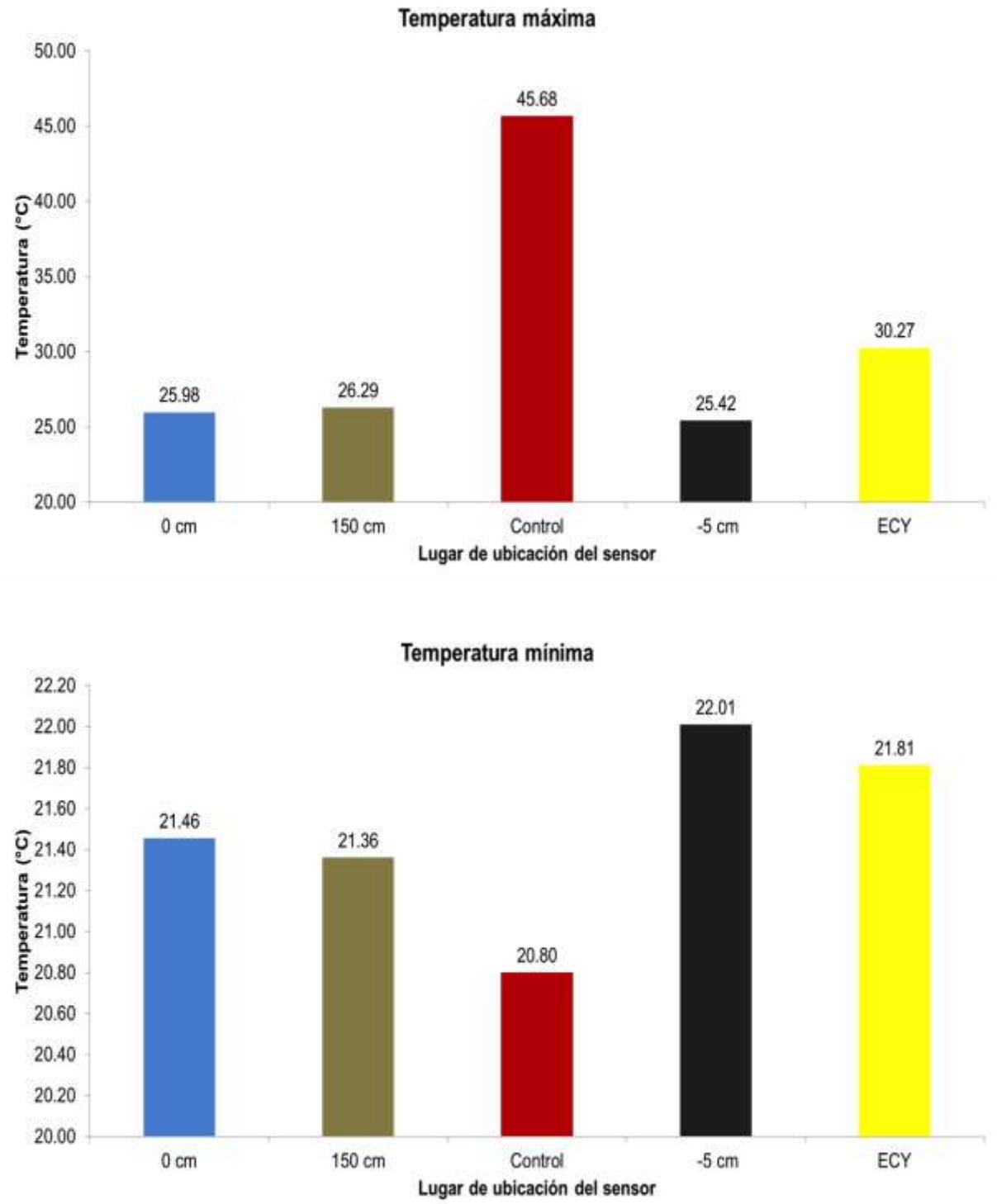


Figura 35. Temperaturas medias máximas (superior) y mínimas (inferior) de la ECY, sensores de luz y temperatura bajo condiciones control, y a -5 cm, 0 cm y 150 cm dentro del bosque. El eje "y" representa la temperatura (°C) y el eje "x" los tratamientos.

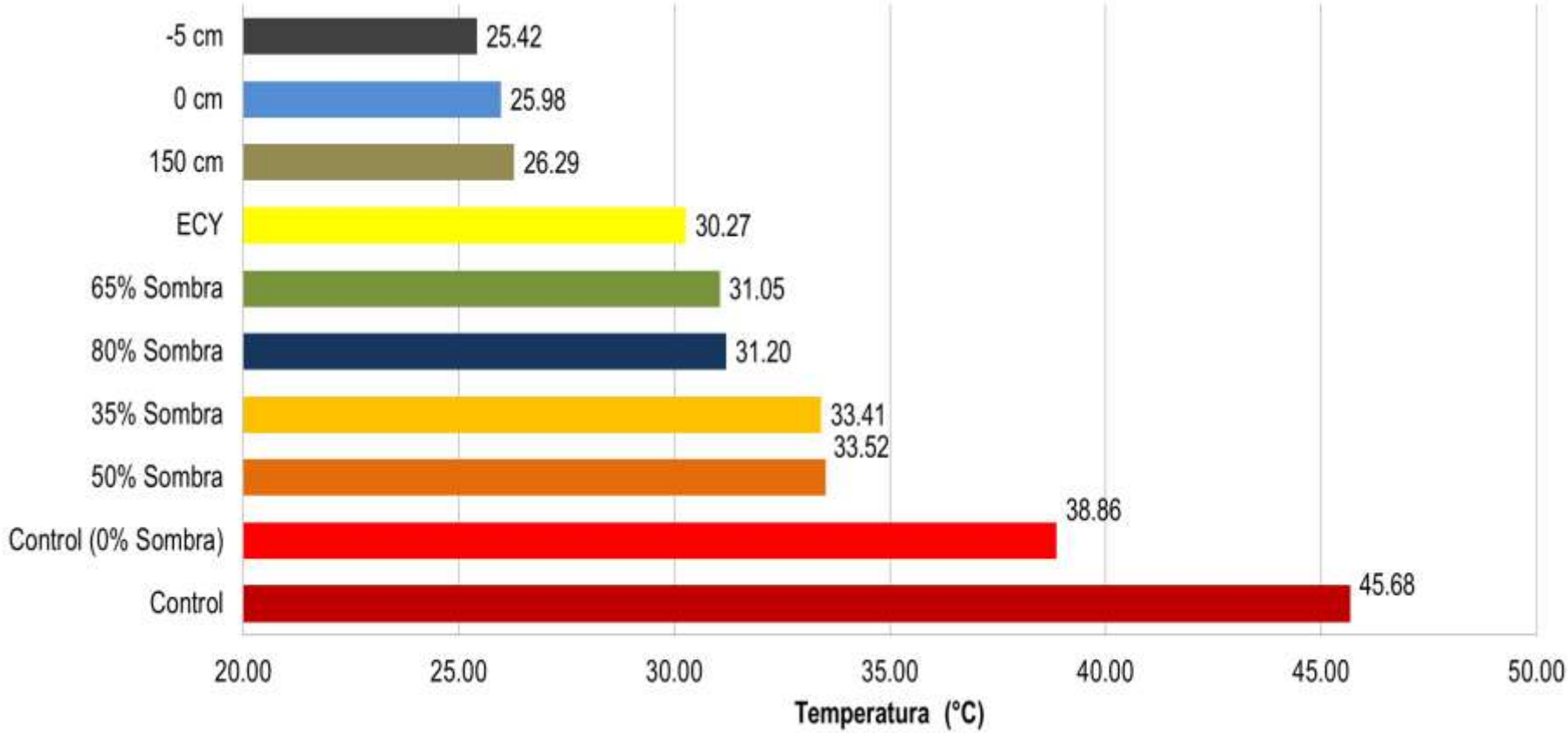


Figura 36. Comparación de la temperatura media máxima de cada tratamiento con los datos de la ECY, sensores de luz y temperatura bajo condiciones control, a -5 cm, 0 cm y 150 cm dentro del bosque. El eje "y" representa el origen de cada temperatura y el eje "y" la temperatura.

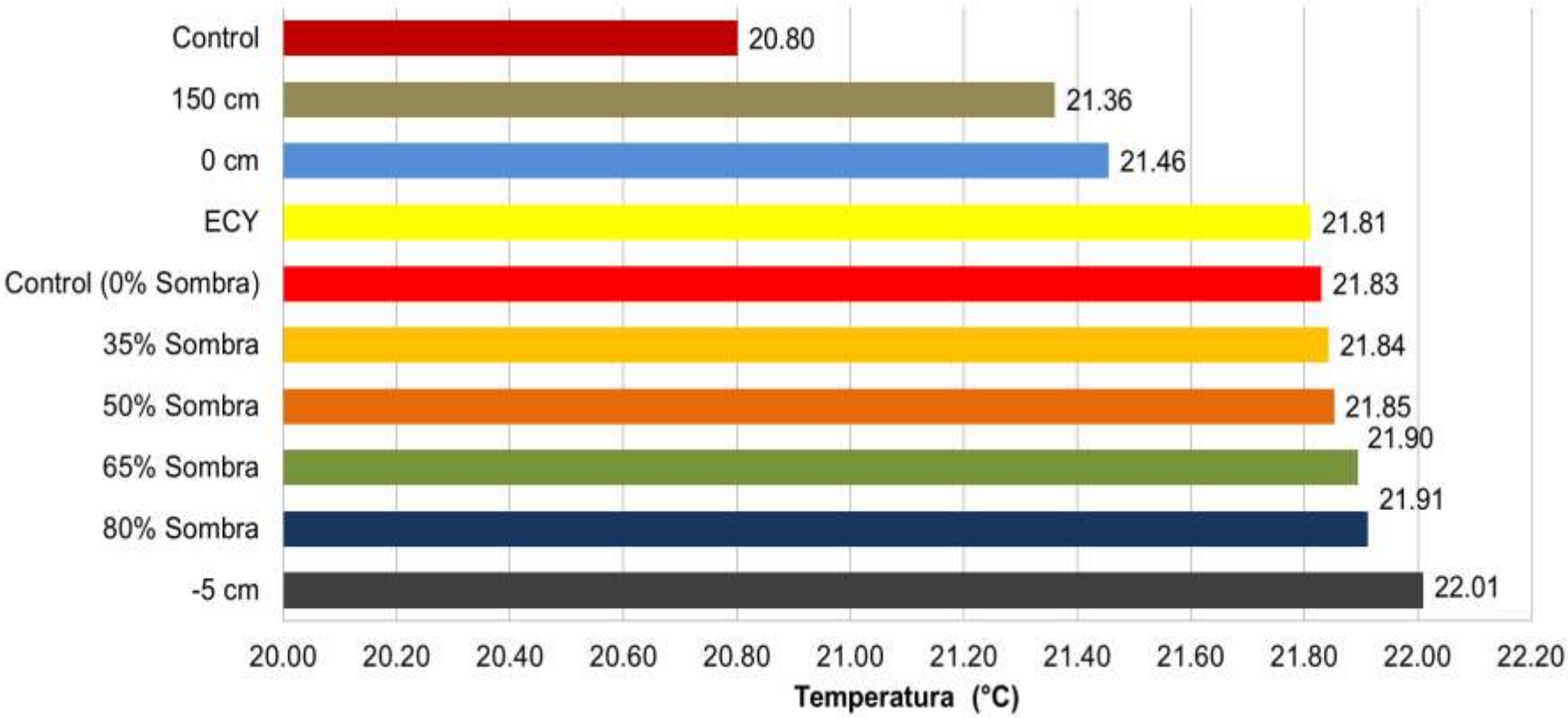


Figura 37. Comparación de la temperatura media mínima de cada tratamiento con los datos de la ECY, sensores de luz y temperatura bajo condiciones control, a -5 cm, 0 cm y 150 cm dentro del bosque. El eje "y" representa el origen de cada temperatura y el eje "y" la temperatura.

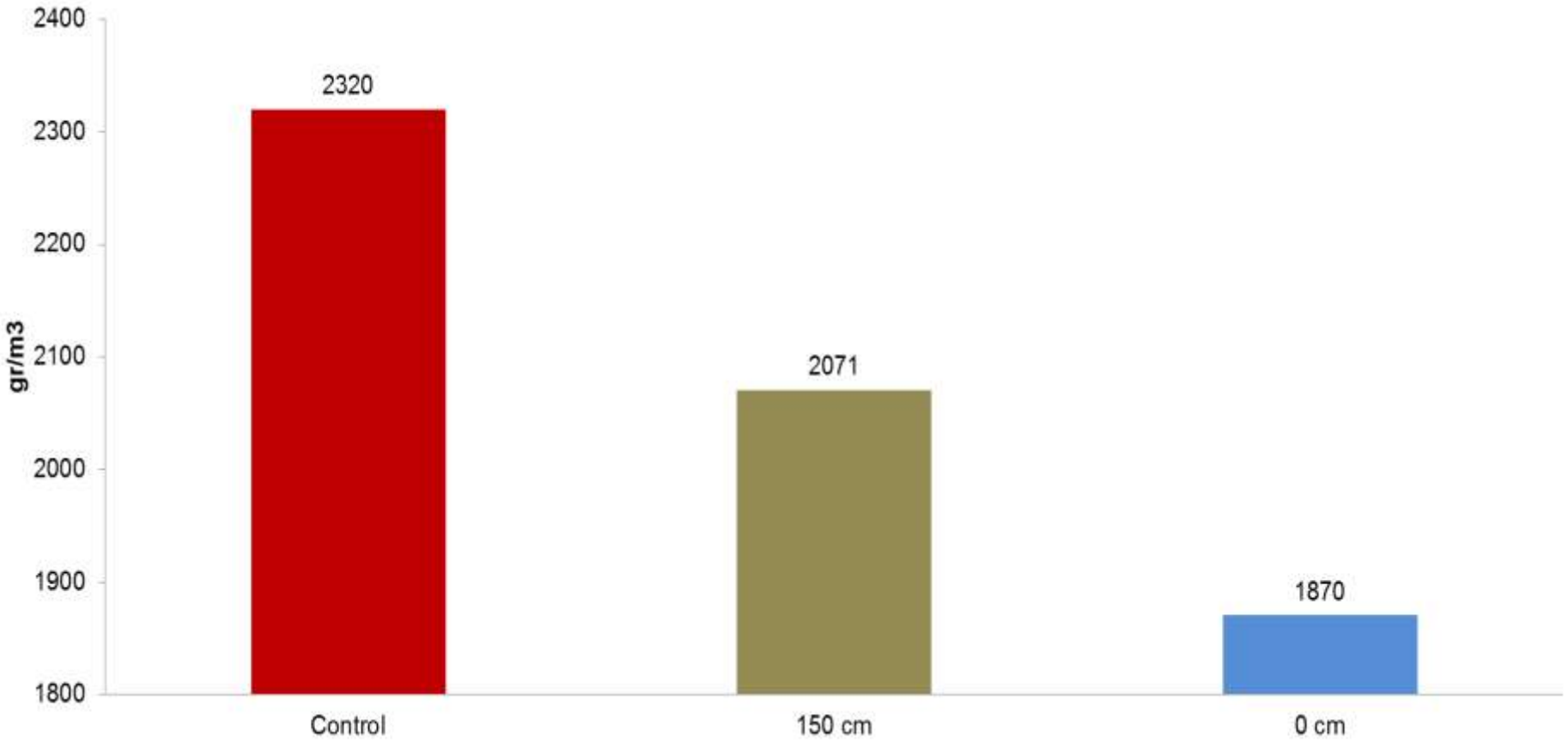


Figura 38. Comparación del peso promedio en gramos de un metro cubico de vapor agua saturado diario dentro del bosque a 0 cm, 150 cm y control. Los datos provienen de la humedad relativa diaria de cada condición. El eje "y" representa los gramos por metro cúbico de vapor de agua saturado y el eje "x" el origen de los datos.

10. TABLAS

Tabla 1. Fechas en las que se realizaron las mediciones de largo y ancho de los gametofitos de las dos especies, resaltadas en azul.

	L	M	M	J	V	S	D	
	24	25	26	27	28	30	1	JUNIO
JULIO	2	3	4	5	6	7	8	
	9	10	11	12	13	14	15	
	16	17	18	19	20	21	22	
	23	24	25	26	27	28	29	
	30	31	1	2	3	4	5	AGOSTO
	6	7	8	9	10	11	12	
	13	14	15	16	17	18	19	
	20	21	22	23	24	25	26	
SEPTIEMBRE	27	28	29	30	31	1	2	
	3	4	5	6	7	8	9	
	10	11	12	13	14	15	16	
	17	18	19	20	21	22	23	
	24	25	26	27	28	29	30	

Tabla 2. Especies de pteridofitas encontradas en los transectos realizados dentro del Sitio 1 y Sitio 2. Se muestra la forma de vida para cada especie: *t= terrestre; e= epífita; ar= arborescente; he= hemiepífito*, el número total de individuos encontrados por especie, como el total de individuos terrestres, epífitos, arborescentes y hemiepífitos y la frecuencia representa el número de transectos en los que se encontró la especie.

		Número de individuos		
	Especie	Forma de vida	Total	Frecuencia
1	*Adiantum humile*	t	441	12
2	*Adiantum obliquum*	t	167	7
3	*Alsophila cuspidata*	e	13	5
4	*Asplenium cirrhatum*	t	20	3
5	*Asplenium cuneatum*	e	1	1
6	*Asplenium* sp. 1	e	1	1
7	*Asplenium stuebelianum*	t	5	2
8	*Campyloneurum fuscosquamatum*	e	8	1
9	*Campyloneurum phyllitidis*	t	5	1
10	*Cyathea* sp. 1	ar	36	7
11	*Cyathea* sp. 2	ar	10	3
12	*Cyclodium meniscioides*	t	7	2
13	*Cyclodium trianae*	t	3	1
14	*Danaea oblanceolata*	t	21	2
15	*Danaea* sp. 1	t	4	2
16	*Danaea* sp. 2	e	5	2

Tabla 2. Continuación

	Especie	Número de individuos		
		Forma de vida	Total	Frecuencia
17	*Didymochlaena truncatula*	t	26	8
18	*Diplazium grandifolium*	t	24	1
19	*Diplazium pinnatifidum*	t	53	8
20	*Elaphoglossum raywaense*	e	1	1
21	*Elaphoglossum* sp. 1	e	5	1
22	*Lindsaea divaricata*	t	3	2
23	*Lindsaea taeniata*	t	11	1
24	*Lomariopsis japurensis*	e	49	10
25	*Mickelia nicotianifolia*	t	6	1
26	*Microgramma fuscopunctata*	e	12	3
27	*Pecluma ptilodon*	e	2	2
28	*Polybotrya caudata*	he	21	3
29	***Polybotrya osmundacea***	**he**	**23**	**4**
30	*Polybotrya* sp. 1	he	28	2
31	*Saccoloma inaequale*	t	9	4
32	*Sin determinar*	e	1	1
33	*Tectaria antioquoiana*	t	75	5
34	*Tectaria pilosa*	t	3	1
35	*Tectaria* sp.	t	12	1
36	*Tectaria vivipara*	t	36	2
37	***Thelypteris macrophylla***	**t**	**260**	**12**
38	*Thelypteris* sp. 1	t	8	1

Tabla 2. Continuación

	Especie	Forma de vida	Número de individuos	
			Total	Frecuencia
39	*Thelypteris* sp. 2	t	1	1
40	*Trichomanes* sp. 1	t	11	1
41	*Trichomanes trollii*	t	3	1
42	*Trichomanes pinnatum*	t	13	4
			1443	

Tabla 3. Número de individuos muestreados y de especies encontradas según su hábito.

Hábito	N° de especies	N° de Individuos	Porcentaje de individuos %
Terrestre (t)	26	1227	85
Epífito (e)	11	98	7
Hemiepífito (he)	3	72	5
Arborescente (ar)	2	46	3

Tabla 4. Número total de individuos de helechos muestreados en los tres tipos de transectos (Estero, Cima-Valle y Cima) dentro del Sitio 1 y Sitio 2.

	Parcela 50 ha		ECY	
Estero 1	47		62	
Estero 2	20	108	76	176
Estero 3	41		38	
Cima-Valle 1	105		66	
Cima-Valle 2	54	242	70	175
Cima-Valle 3	83		39	
Cima 1	244		126	
Cima 2	59	476	87	266
Cima 3	173		53	
TOTAL		826		617

Tabla 5. Número de individuos de helechos muestreados por transecto.

Especie	**Estero Sitio 2**	**Estero Sitio 1**	**Cima Valle Sitio 2**	**Cima Valle Sitio 1**	**Cima Sitio 2**	**Cima Sitio 1**
Adiantum humile		38	21	17	261	104
Adiantum obliquum	1	15	3		138	10
Alsophila cuspidata	1			1	4	7
Asplenium cirrhatum	20					
Asplenium cuneatum				1		
Asplenium sp. *1*				1		
Asplenium stuebelianum	3		2			
Campyloneurum fuscosquamatum		8				
Campyloneurum phyllitidis		5				
Cyathea sp. *1*	1		6	17	2	10
Cyathea sp. *2*				8	2	
Cyclodium meniscioides	6		1			
Cyclodium trianae		3				

Tabla 5. Continuación.

Especie	Estero Sitio 2	Estero Sitio 1	Cima Valle Sitio 2	Cima Valle Sitio 1	Cima Sitio 2	Cima Sitio 1
Danaea oblanceolata			21			
Danaea sp. *1*	4					
Danaea sp. *2*	1					4
Didymochlaena truncatula	8		5	12	1	
Diplazium grandifolium		24				
Diplazium pinnatifidum	6		34	13		
Elaphoglossum raywaense	1					
Elaphoglossum sp. *1*	5					
Lindsaea divaricata	1				2	
Lindsaea taeniata			11			
Lomariopsis japurensis	1	13	2	17	10	6
Mickelia nicotianifolia		6				
Microgramma fuscopunctata	12					
Pecluma ptilodon				1		1

Tabla 5. Continuación.

Especie	Estero Sitio 2	Estero Sitio 1	Cima Valle Sitio 2	Cima Valle Sitio 1	Cima Sitio 2	Cima Sitio 1
Polybotrya cf. caudata			4		2	15
Polybotrya cf. osmundacea	5		14	1		3
Polybotrya sp. *1*		28				
Saccoloma inaequale			4		1	4
Sin determinar					1	
Tectaria antioquoiana	17		19	12		27
Tectaria pilosa				3		
Tectaria sp.			12			
Tectaria vivipara		36				
Thelypteris macrophylla	12		82	41	51	74
Thelypteris sp. *1*				8		
Thelypteris sp. *2*						1
Trichomanes sp. *1*				11		
Trichomanes cf. trollii	3					

Tabla 5. Continuación.

Especie	Estero Sitio 2	Estero Sitio 1	Cima Valle Sitio 2	Cima Valle Sitio 1	Cima Sitio 2	Cima Sitio 1
Trichomanes pinnatum			1	11	1	

Tabla 6. Número de especies de helechos encontradas por cada tipo de transecto realizados dentro del Sitio 1 y Sitio 2.

	Sitio 2		Sitio 1	
Estero 1	12		4	
Estero 2	5	27	6	14
Estero 3	10		4	
Cima-Valle 1	8		11	
Cima-Valle 2	10	29	8	25
Cima-Valle 3	11		6	
Cima 1	4		6	
Cima 2	10	20	6	18
Cima 3	6		6	
TOTAL		27		29

Tabla 7. Valor de la pendiente en la ecuación de la regresión lineal, la cual indica la velocidad o tasa de crecimiento de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla* y *Polybotrya osmundacea* en función de los cuatro tratamientos de sombra (80%, 65%, 50% y 35%). El tratamiento marcado como 0 corresponde a las muestras control.

	Thelypteris macrophylla		*Polybotrya osmundacea*	
Tratamiento	Largo (b)	Ancho (b)	Largo (b)	Ancho (b)
80	0,34 mm/10 días	0,03 mm/10 días	0,54 mm/10 días	0.11 mm/10 días
65	0,38 mm/10 días	0,04 mm/10 días	0,44 mm/10 días	0.07 mm/10 días
50	0,37 mm/10 días	0,02 mm/10 días	0,24 mm/10 días	-0.03 mm/10 días
35	0,31 mm/10 días	0,03 mm/10 días	0,35 mm/10 días	0.03 mm/10 días
0	0,27 mm/10 días	0,25 mm/10 días	0,49 mm/10 días	0.38 mm/10 días

Tabla 8. ANOVA de un factor de *Thelypteris macrophylla*. Datos obtenidos a partir de las mediciones de ancho (mm) y largo (mm) de los gametofitos, en la última fecha de medición (16 septiembre del 2012).

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Largo	Inter-grupos	75,894	4	18,974	8,210	0,000
	Intra-grupos	464,493	201	2,311		
	Total	540,387	205			
Ancho	Inter-grupos	46,340	4	11,585	18,825	0,000
	Intra-grupos	123,700	201	0,615		
	Total	170,040	205			

Tabla 9. Análisis descriptivo del ANOVA de un factor de *Thelypteris macrophylla*. Datos obtenidos a partir de las mediciones de ancho (mm) y largo (mm) de los gametofitos, en la última fecha de medición (16 septiembre del 2012).

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Largo	80%	50	4,3798	1,31968	0,18663	4,0048	4,7548	2,04	7,30
	65%	50	4,8286	1,49216	0,21102	4,4045	5,2527	2,45	8,85
	50%	51	5,6851	1,75837	0,24622	5,1905	6,1796	2,46	10,53
	35%	51	5,8106	1,48963	0,20859	5,3916	6,2296	3,01	9,09
	0%	4	6,2425	1,22647	0,61323	4,2909	8,1941	5,38	8,03
	Total	206	5,2023	1,62359	0,11312	4,9793	5,4253	2,04	10,53
Ancho	80%	50	1,5368	0,40562	0,05736	1,4215	1,6521	0,67	2,47
	65%	50	1,7738	0,54351	0,07686	1,6193	1,9283	0,97	3,55
	50%	51	2,2163	0,79468	0,11128	1,9928	2,4398	0,98	5,18
	35%	51	2,2763	1,07945	0,15115	1,9727	2,5799	1,17	7,07
	0%	4	4,5875	1,94311	0,97156	1,4956	7,6794	2,60	7,26
	Total	206	2,0049	0,91075	0,06345	1,8797	2,1300	0,67	7,26

Tabla 10. Cantidad total de esporofitos cuantificados en cada fecha de medición por tratamiento.

Especie	Tratamiento	Fecha de medición										Número total de esporofitos
		26/06/2012	06/07/2012	15/07/2012	24/07/2012	02/08/2012	11/08/2012	20/08/2012	29/08/2012	07/09/2012	16/09/2012	
		Número de esporofitos										
Thelypteris macrophylla	80%	0	0	0	0	0	0	0	1	2	8	11
	65%	0	0	0	0	0	0	0	1	5	80	86
	50%	0	0	0	0	0	3	13	54	56	337	463
	35%	0	0	0	0	0	8	12	53	122	251	446
	0% (Control)	0	0	0	0	0	4	6	6	8	0	24
	TOTAL											1030
Polybotrya osmundacea	80%	0	0	0	0	0	1	2	4	16	50	73
	65%	0	0	0	1	0	3	6	7	10	72	99
	50%	0	0	0	3	4	11	22	44	63	101	248
	35%	0	0	0	0	1	8	13	86	129	236	473
	0% (Control)	0	0	0	0	0	2	6	14	15	24	61
	TOTAL											954

Tabla 11. ANOVA de un factor de *Polybotrya osmundacea*. Datos obtenidos a partir de las mediciones de ancho (mm) y largo (mm) de los gametofitos, en la última fecha de medición (16 septiembre del 2012).

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Largo	Inter-grupos	78,522	4	19,630	7,871	0,000
	Intra-grupos	513,778	206	2,494		
	Total	592,300	210			
Ancho	Inter-grupos	91,448	4	22,862	27,766	0,000
	Intra-grupos	169,615	206	0,823		
	Total	261,063	210			

Tabla 12. Análisis descriptivo del ANOVA de un factor de los datos obtenidos de *Polybotrya osmundacea*. Datos obtenidos a partir de las mediciones de ancho (mm) y largo (mm) de los gametofitos, en la última fecha de medición (16 septiembre del 2012).

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Largo	80%	53	6,1300	167,227	0,22970	56,691	65,909	3,25	10,14
	65%	52	5,6054	157,775	0,21879	51,661	60,446	3,08	12,15
	50%	50	5,6108	158,260	0,22381	51,610	60,606	3,19	10,07
	35%	50	6,8450	149,631	0,21161	64,198	72,702	3,91	10,09
	0%	6	81,833	133,961	0,54689	67,775	95,892	6,61	9,98
	Total	211	61,055	167,943	0,11562	58,776	63,334	3,08	12,15
Ancho	80%	53	23,970	0,90303	0,12404	21,481	26,459	1,18	5,98
	65%	52	23,950	0,68075	0,09440	22,055	25,845	1,02	3,95
	50%	50	26,172	0,89844	0,12706	23,619	28,725	1,25	5,26
	35%	50	33,300	105,128	0,14867	30,312	36,288	1,25	5,76
	0%	6	59,300	140,501	0,57359	44,555	74,045	3,63	7,42
	Total	211	27,702	111,497	0,07676	26,189	29,216	1,02	7,42

Tabla 13. Cantidad de individuos medidos en cada fecha de medición.

Especie	Tratamiento	Fecha de medición										Número total de mediciones	Promedio de individuos muestreados
		26/06/2012	06/07/2012	15/07/2012	24/07/2012	02/08/2012	11/08/2012	20/08/2012	29/08/2012	07/09/2012	16/09/2012		
		Número de gametofitos medidos											
Thelypteris macrophylla	80%	6	21	50	50	50	50	50	50	50	50	427	43
	65%	7	25	50	50	50	49	49	49	49	49	427	43
	50%	22	25	50	50	50	50	50	50	50	50	447	45
	35%	24	25	50	50	50	50	50	50	49	49	447	45
	0% (Control)	7	10	21	22	20	17	16	9	9	4	135	14
Polybotrya osmundacea	80%	25	25	50	50	50	50	50	50	50	50	450	45
	65%	23	23	50	50	50	50	50	48	48	48	440	44
	50%	25	25	50	50	50	50	50	50	50	50	450	45
	35%	25	25	50	50	50	50	50	50	50	50	450	45
	0% (Control)	10	12	17	26	26	20	18	10	10	6	155	16

Tabla 14. Datos climáticos registrados desde el 26 junio 2012 hasta el 16 de septiembre 2012. Cada valor muestra su media, su desviación media y la cantidad de datos de la cual proviene.

	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Luz Máxima (Lux)	Humedad relativa
0% Control	X=38.86 °C ± SD= 5,84; n=92 Días	X=21,83 °C ± SD= 0,86; n=92 Días	X= 60215,93 Lux ± SD= 25064,57; n= 92 Días	X= 88,56 ± SD= 32,12; n= 92 Días
35% Sombra	X=33.41 °C ± SD= 4,40; n=92 Días	X=21.84 °C ± SD= 0,84; n=92 Días	X= 24202,57 Lux ± SD= 12794,84; n= 92 Días	X= 99,73 ± SD= 1,39; n= 92 Días
50% Sombra	X=33.52 °C ± SD= 4,30; n=92 Días	X=21.85 °C ± SD= 0,84; n=92 Días	X= 18735,00 Lux ± SD= 8955,46; n= 92 Días	X= 99,40 ± SD= 0,57; n= 92 Días
65% Sombra	X=31.05 °C ± SD= 3,33; n=92 Días	X=21.90 °C ± SD= 0,83; n=92 Días	X= 6423,36 Lux ± SD= 3083,53; n= 92 Días	X= 86,31 ± SD= 8,06; n= 92 Días
80% Sombra	X=31.20 °C ± SD= 3,42; n=92 Días	X=21.91 °C ± SD= 0,84; n=92 Días	X= 6582,61 Lux ± SD= 5569,90; n= 92 Días	X= 99,06 ± SD= 1,41; n= 92 Días
Control Est. Microlimática	X=45.68 °C ± SD= 1,5; n=92 Días	X=20.80 °C ± SD= 1,5; n=92 Días	X= 160.503,86 Lux ± SD= 51.813,82; n= 92 Días	X= 85,95 ± SD= 7,10; n= 92 Días
ECY	X=30.27 °C ± SD= 1,5; n=92 Días	X=21.81 °C ± SD= 1,5; n=92 Días		
150 cm	X=26.29 °C ± SD= 1,5; n=92 Días	X=21.36 °C ± SD= 1,5; n=92 Días	X= 18.782,57 Lux ± SD= 35.809,37; n= 92 Días	X= 98,29 ± SD= 2,76; n= 92 Días
0 cm	X=25.98 °C ± SD= 1,5; n=92 Días	X=21.46 °C ± SD= 1,5; n=92 Días	X= 16.566,64 Lux ± SD= 29.281,87; n= 92 Días	X= 89,60 ± SD= 1,03; n= 92 Días

Tabla 14. Continuación.

	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Luz Máxima (Lux)	Humedad relativa
-5 cm	X=25.42 °C ± SD= 1,5; n=92 Días	X=22.01 °C ± SD= 1,5; n=92 Días		

Tabla 15. Intensidad lumínica y porcentajes de luz filtrada por la malla polisombra observada y esperada dentro de cada tratamiento.

Tratamiento	Luz máxima registrada (Lux)	% Luz filtrada	Luz máxima esperada (Lux)	% Luz filtrada
0% Control	60.215,93 Lux	0%	60.215,93 Lux	0%
35% Sombra	24.202,57 Lux	60%	39.140,35 Lux	35%
50% Sombra	18.735,00 Lux	69%	30.107,97 Lux	50%
65% Sombra	6.423,36 Lux	90,34%	21.075,58 Lux	65%
80% Sombra	6.582,61 Lux	90,07%	12.043,19 Lux	80%

Tabla 16. Hoja de toma de datos sugerida para la metodología propuesta para el estudio fisiológico del efecto de la luz solar en los gametofitos de helechos, bajo invernadero

Fecha	Tratamiento	Maceta	Gametofito	Largo	Ancho	Alto	Sustrato	Coordenadas	Sexo (Ant/Arqu)	Esporofito (Alto/Ramificaciones)	Morfología
01/01/2014	80	T01	1	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	2	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	3	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	4	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	5	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	6	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	7	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	8	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	9	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	10	-	-	-	-	-	-	-	-
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
01/01/2014	80	T01	50	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	1	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	2	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	3	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 16. Continuación

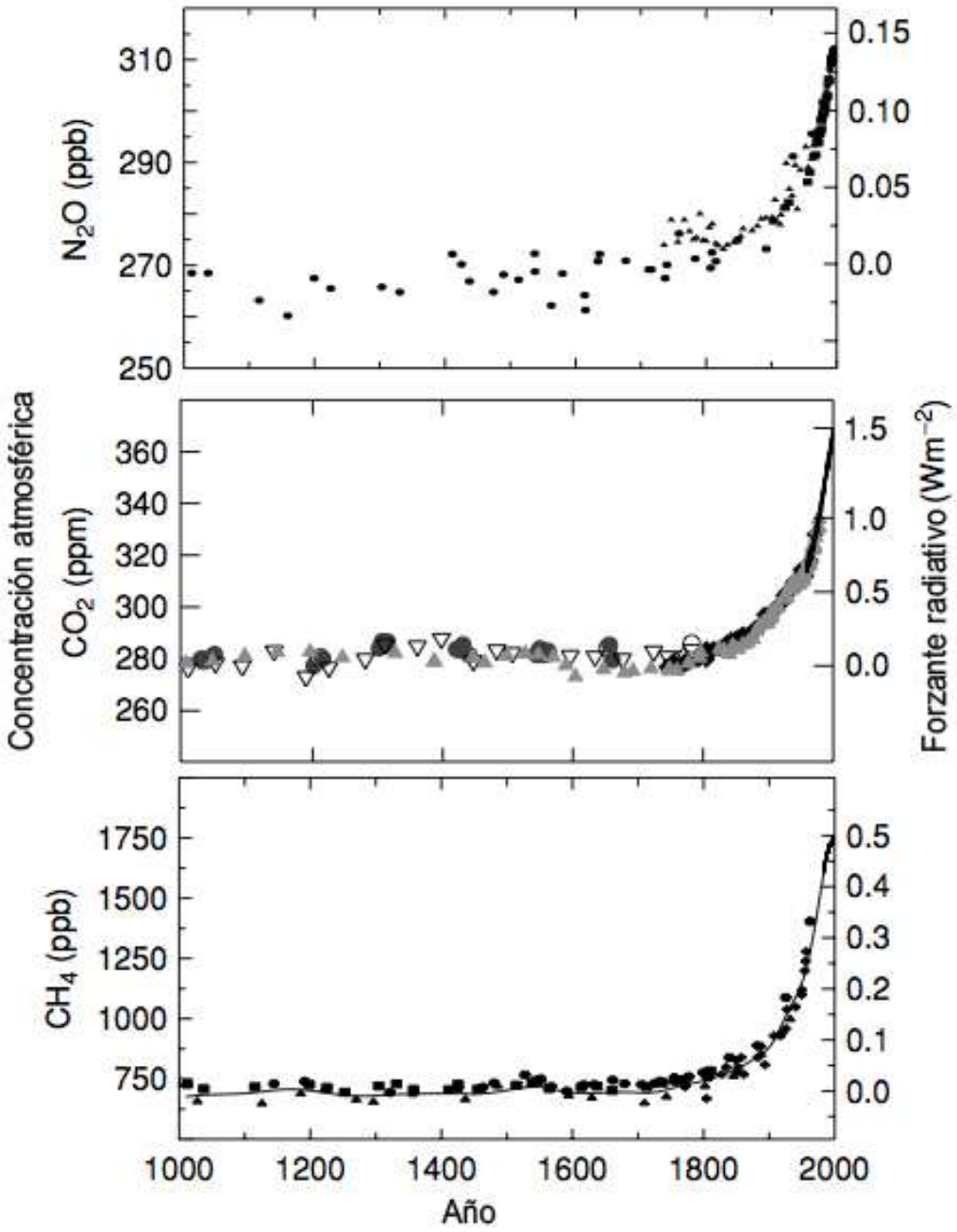
Fecha	Tratamiento	Maceta	Gametofito	Largo	Ancho	Alto	Sustrato	Coordenadas	Sexo (Ant/Arqu)	Esporofito (Alto/Ramificaciones)	Morfología
01/01/2014	80	T02	4	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	5	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	6	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	7	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	8	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	9	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	10	-	-	-	-	-	-	-	-
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
01/01/2014	80	T01	50	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T03	1	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T03	2	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T03	3	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T03	4	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T03	5	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 17. Hoja de registro fotográfico de los gametofitos sugerida para la metodología propuesta para el estudio fisiológico del efecto de la luz solar en los gametofitos de helechos, bajo invernadero

Fecha	Tratamiento	Maceta	Gametofito	Largo	Ancho	Alto	Sustrato	Coordenadas	Sexo (Ant/Arqu)	Esporofito (Alto/Ramificaciones)	Morfología	Códigos de las fotografías
01/01/2014	80	T01	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T01	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/01/2014	80	T02	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-

11. ANEXOS

Anexo 1. Cambios en las concentraciones atmosféricas de CO_2 CH_4 y N_2O a lo largo de los últimos 1.000 años. Tomado de Morison y Morecroft, 2006. Concentración atmosférica: Ppm: partes por millón; ppb: partes por billón.



Anexo 2. Metodología para la obtención de esporas de pteridofitas viables para distintos usos.

a. Para cada una de las especies de estudio, buscar en campo esporofitos adultos que contengan esporofilas con esporangios cerrados.

b. Poner las esporofilas con esporangios cerrados en sobres de papel bond durante siete días y dejar que los esporangios sequen a la sombra y a a temperatura ambiente, en un lugar seco y fresco, y se abran, liberando las esporas.

c. Una vez que se tengan las esporas liberadas, separar éstas de los restos de esporangios usando un estereomicroscopio.

d. Mantener las esporas limpias en tubos Falcon a 10 °C hasta el momento de la siembra.

Anexo 3. Metodología para el estudio fisiológico del efecto de la luz solar en los gametofitos de helechos, bajo invernadero.

1. Estructuración de los tratamientos de sombra del estudio

   Se debe determinar a qué porcentajes va a ser filtrada la luz solar, por lo que se recomienda usar malla polisombra la cual tiene porcentajes de filtración de luz ya establecidos (80%, 65%, 50% y 35%). Sin embargo, es necesario realizar mediciones previas de la intensidad y energía de luz solar que filtra la malla polisombra, debido a que el tejido de ésta no filtra el supuesto porcentaje de luz, a pesar de esto, es una manera muy fácil de filtrar la luz solar.

   a. Cubrir zonas del invernadero con la malla polisombra de los porcentajes elegidos antes (separar cada zona o tratamiento de sombra con un mínimo de dos metros para que no existan áreas sobrelapadas por los tratamientos).

   b. Ubicar las macetas de plástico vacías de cada especie separadas lo suficiente para que en el momento de la siembra no exista contaminación de las esporas de la una especie con las de la otra.

2. Siembra de las esporas de las especies elegidas

   a. Elegir un sitio del bosque del cual se va a obtener el suelo natural para utilizarlo como medio de cultivo. Para una elección correcta del tipo de suelo de aconseja realizar adicionalmente estudios previos de abundancia y diversidad de pteridofitas con el fin de determinar exactamente el tipo de hábitat que es el ideal para que los esporofitos de las especies elegidas sean exitosos.

b. Retirar del sitio elegido previamente la mayor cantidad de materia orgánica en descomposición (hojas, ramas, etc.), con el fin de evitar que semillas y esporas de otras especies, que se encuentran en este estrato, interfieran en el estudio.

c. Con una pala extraer el suelo hasta una profundidad de 10 cm desde el raz del suelo.

d. Llenar las macetas de plástico o arcilla hasta 2/3 del volumen total con el suelo extraído previamente.

e. Sembrar 1,5 mg de esporas de semillas en cada maceta a alta densidad (sin saber exactamente el número de esporas sembradas). Procurar que las semillas siempre caigan en el suelo y no en las paredes de la maceta.

f. Si existe más de una especie de estudio es preferible que la siembra de cada una sea en distintos tiempos y lugares, con el fin de evitar una siembra cruzada.

g. Con ayuda de piola, definir una grilla a 1 cm del suelo de la maceta, para determinar la posicion exacta de los gametofitos y facilitar la anotacion de caracteristicas.

h. Cubrir las macetas con un plástico con huecos para de esta manera permitir la respiración de la maceta y la protección de las esporas y futuros gametofitos de las especies de estudio.

3. Censo de gametofitos

Las esporas han germinado cuando se observa un cambio de coloración de café a verde (en la mayoría de las especies) y se puede observar las masas de células de los

prótalos en desarrollo. El censo de gametofitos consiste en realizar anotaciones periódicas de la cantidad de gametofitos, los tamaños (largo, ancho y alto) y caracteristicas morfológicas de los individuos presentes en cada maceta. En la tabla 15 se incluye la hoja de datos sugerida para la toma de estos datos. El intervalo entre mediciones se determinará de acuerdo a las especies estudiadas, y puede variar entre 5 a 15 días, dependiendo de la especie. Para determinar de manera correcta los intervalos de toma de datos, ésto se basará en la información obtenida de la revisión bibliográfica de cada especie. Las mediciones deben realizarse siempre en los mismos individuos además de mantener siempre un número recomendado de 50 individuos por tratamiento (estos se identifican en base a su ubicación, en función de las cordenadas registradas por maceta) por fines estadísticos.

El procedimiento para el registro de los datos, en cada toma del censo son los siguientes:

a. Para la toma de datos, se debe definir a priori el orden en el cual se tomarán los datos de cada especie. Se sugiere comenzar a tomar los datos siempre por el tratamiento con mayor sombra (80%) hasta el que tenga menos sombra (0%). Cuando se empiece a tomar los datos de un tratamiento siempre realizarlo en el mismo orden de macetas para que al momento de anotar los datos no existan confusiones. Si hay más de una especie, realizar la toma de datos de una especie primero y luego de la otra.

b. Descubrir las macetas del plástico e identificar el primer gametofito por su posicion en la grilla, registrar los datos y seguir con el siguiente gametofito.

c. Para cada gametofito registrar: maceta en la que se encuentra, coordenadas, dimensiones (largo, ancho, alto), sustrato al que se encuentra sostenido,

morfología (plana o arrugada), el sexo (presencia de anteridios, arquegonios o ambos), presencia de esporofitos, color, observaciones. En caso de existan esporofitos anotar el largo del mismo y la cantidad de ramificaciones que presentes (Tabla 16).

d. Al final, para cada maceta, se realiza el registro fotográfico de los gametofitos, para ello se seleccionan diez individuos por maceta (que no entran en el censo). En el caso de que uno de los diez gametofitos muera o se dañe mucho por la manipulación excesiva, no se lo reemplazará, debido a que el resto de gametofitos forman parte del censo y de las mediciones (Tabla 17).

e. Adicionalmente, se debe anotar la cantidad total de gametofitos y esporofitos totales por maceta, sin tomar en cuenta los individuos elegidos para las mediciones y el registro fotográfico.

Anexo 4. Protocolo de recuperación de datos climáticos

ORGANIZACIÓN PREVIA REQUERIDA PARA LA DESCARGA DE DATOS

1. Asegurarse que el formato de separación de decimales del ordenador sea diferente a la coma (Panel de control en PC y Preferencias del Sistema en Apple).
2. Crear una carpeta denominada "Datos[MicroestaciónYasuní][MesAño]" (ej.datosHoboMAR12).
3. Crear una subcarpeta denominada "DatosCSV".

MISIONAR SENSORES DE LUZ Y TEMPERATURA (HOBO® PENDANT TEMP/LIGHT PART #UA-002-64) POR PRIMERA VEZ

Importante: Para misionar los sensores se debe tener cuidado de no bajar los datos justo antes de que se cumpla un intervalo de tiempo para la toma de datos.

1. Abrir el programa *HoboWare Pro*.
2. Conectar el sensor al lector.
3. Presionar el botón *Launch Logger*.
4. Nombrar misión: para estandarizar la nomenclatura de las misiones, se debe ingresar el código del área –ej. YAS_, el sitio_sendero_el tipo de sensor –ej. *luz/temp, ibutton, leafwet, soilmoist, hygrocron*–, la altitud–ej. 0m, 1.5m, 5m, 10m, 15m, 20m, y la fecha –MAR12– (e.g. YAS_Arbol1_hum_*ibutton*_15m_MAR13).
5. Verificar que los sensores de luz y temperatura estén seleccionados.
6. Seleccionar intervalo de toma de datos.

7. Seleccionar hora y fecha de inicio de toma de datos. Al momento de seleccionar las opciones, marcar la opción *at next interval* para que la toma de datos empiece a en la siguiente hora.
8. Presionar *Delayed Start* y desconectar el sensor del lector.

BAJAR INFORMACIÓN DE SENSORES DE LUZ Y TEMPERATURA (HOBO® PENDANT TEMP/LIGHT PART #UA-002-64) Y TRANSFORMAR A .CSV

1. Abrir el programa *HoboWare Pro*.
2. Conectar el sensor al lector.
3. Presionar el botón *Stop Device* y parar el sensor.
4. Presionar *Readout Device* para leer la información registrada.
5. Seleccionar como carpeta de destino DatosCSV.
6. Presionar en *Plot* para crear el gráfico de los datos.
7. Dirigirse a *File>Export Table Data*.
8. En la ventana de opciones de exportación escoger exportar a un único archivo y presionar exportar.
9. Seleccionar la carpeta de destino (DatosCSV), asignar un nombre al archivo y guardar.
10. Cerrar las ventanas de los datos e insertar el siguiente sensor

MISIONAR BOTONES THERMODATA (DS1923 temperature/humidity logger iButton®)

1. Conectar el adaptador a la computadora.
2. Abrir el programa *1-Wire Software*.
3. Colocar botón en el lector.

4. Seleccionar el botón en el panel izquierdo.
5. En la pestaña *Mission* (en el caso de que sea un Sensor *Hygrochron*) o *Thermochron* (en el caso de que sea un sensor *Thermochron*) elegir *Start New Mission*.
6. Activar la opción *Synchronize Clock* y desactivar la opción *Enable Rollover* para evitar la pérdida de los datos de las primeras fechas, en el caso de que el botón se sature de datos.
7. Seleccionar el intervalo de toma de datos en minutos.
8. Seleccionar hora de retraso para el inicio de la misión en minutos.
9. Presionar aceptar y confirmar la información de la misión.
10. Desconectar el sensor del adaptador.

BAJAR INFORMACIÓN DE BOTONES THERMODATA (DS1923 *temperature/humidity logger iButton*®)

1. Conectar el adaptador a la computadora.
2. Abrir el programa *1-Wire Software*.
3. Colocar botón en el lector.
4. Seleccionar el botón (número de serie) en el panel izquierdo.
5. En la pestaña *Mission* (en el caso de que sea un Sensor *Hygrochron*) o *Thermochron* (en el caso de que sea un sensor *Thermochron*) elegir *Disable Mission*.
6. En las pestañas *Temperature Data Log* y *Humidity Data Log* hacer clic derecho y elegir *Save Data to csv. File* en cada caso y elegir el destino y nombre de los archivos.

MISIONAR LA MICROESTACIÓN (H21-002 MICRO STATION)

1. Abrir el programa *HoboWare Pro*.

2. Conectar el cable a la microestación a través del agujero de la caja.
3. Verificar que los niveles de las baterías estén bien. Si es que las baterías están bajas, se debe primero parar el logger, bajar la información y remplazar las baterías.
4. Presionar el botón *Launch Logger*.
5. Nombrar la misión.
6. Verificar que los tres sensores estén seleccionados (*Leaf Wetness, Soil Water Content y Pyranometer*).
7. Seleccionar el intervalo de tiempo para la toma de datos.
8. Seleccionar hora y fecha de inicio de toma de datos (Como los datos se toman cada hora, para indicar que empiece a la siguiente hora en punto se debe seleccionar en la pestaña de intervalo: *At next interval*. Esto automáticamente señalará la siguiente hora en punto).
9. Presionar *Delayed Start*.
10. Cerrar las ventanas de los datos.
11. Desconectar la microestación.
12. Poner nuevamente el tornillo hasta que el empaque impida la entrada de humedad, sin apretar hasta que el empaque aparezca a los lados del tornillo.

BAJAR INFORMACIÓN DE LA MICROESTACIÓN (H21-002 MICRO STATION) Y TRANSFORMAR A .CSV

Al tener acceso a la microestación, retirar el tornillo plástico de la parte lateral de la caja con un destornillador o con una moneda pequeña. Verificar que no haya entrado humedad a la caja, si este fuese el caso, abrir y secar con un paño limpio.

1. Abrir el programa *HoboWare Pro*.

2. Conectar el cable a la microestación a través del agujero de la caja.
3. Verificar que los niveles de las baterías estén bien. Si es que las baterías están bajas, se debe primero parar el *logger*, bajar la información y remplazar las baterías.
4. Una vez que los sensores han sido detectados, presionar el botón *Stop Device* y parar los sensores.
5. Presionar *Readout Device* para leer la información registrada.
6. Seleccionar la carpeta de destino (DatosCSV) y asignar un nombre al archivo y guardar.
7. Presionar *Plot* para crear el gráfico.
8. Ir a *File>Export Table Data*.
9. En la ventana de opciones de exportación escoger exportar a un único archivo y presionar exportar.
10. Seleccionar la carpeta de destino (DatosCSV) y asignar un nombre al archivo y guardar.
11. Cerrar las ventanas de los datos.
12. Desconectar la microestación.
13. Poner nuevamente el tornillo hasta que el empaque impida la entrada de humedad, sin apretar hasta que el empaque aparezca a los lados del tornillo.

SENSORES QUE SE ENCUENTRAN EN LA ESTACIÓN DE DATOS MICROAMBIENTALES Y EN LA ECY

1. Botón de temperatura y humedad: tronco, 0 cm, 150 cm, 500 cm, 1000 cm, 1500 cm y 2000 cm.
2. Botón de temperatura en el suelo en caja negra a -5 cm.
3. Sensor de luz y temperatura a 0 cm, 150 cm, 150 cm (estación), 500 cm y 2000 cm.

4. Microestación HOBO sensores de:
    a. Humedad en hojas (*Leaf wetness*) .
    b. Volumen de agua en suelo (*Soil Water Content*).
    c. Piranómetro (*Pyranometer*).
5. Sensor de luz y temperatura junto a estación de datos de la ECY.

Anexo 5. Maceta del tratamiento control (0% de sombra) de los gametofitos de *Thelypteris macrophylla*.



Anexo 6. Glosario.

La terminología específica para pteridofitas incluida en este glosario fue consultada en Hickey y King, (2000), Hickey, (2003) y Lincoln *et al.*, (1998).

- **Abaxial:** Dorsal, el lado de un órgano lejano al eje.
- **Acroscópico:** Localizado hacia el ápice.
- **Adnado:** Unido a una parte con origen distinto, como las estípulas al peciolo o una bráctea a un pedúnculo.
- **Anádromo:** Con la pínnula basal y/o el grupo de venas de la pinna dirigido hacia el ápice de la fronda.
- **Anteridio:** El órgano masculino en los helechos que produce anterozoides (gametos masculinos).
- **Anterozoide:** Célula sexual masculina (gameto) con grupos de flagelos que le permiten moverse en el agua.
- **Ánulo:** Anillo especializado de células en el esporangio, involucrado en la liberación de las esporas.
- **Arquegonio:** El órgano femenino en los helechos que produce los huevos.
- **Basioscópico:** Localizado hacia la base.
- **Cartácea:** Como papel.
- **Catádromo:** Con la pínnula basal y/o el grupo de venas de la pinna dirigido hacia la base de la fronda.

- **Denticulados:** Borde minuciosamente dentado.
- **Eroso:** Margen erosionado o dentado.
- **Espécimen voucher:** Cualquier espécimen identificado por una autoridad reconocida con el propósito de formar una colección de referencia.
- **Espora:** Célula reproductiva de una planta capaz de desarrollarse en un nuevo individuo, directamente o luego de la fusión con otra espora; producida meióticamente (meiosporas) o mitóticamente.
- **Esporangio:** Estructura productora de esporas.
- **Esporofila:** Hoja especializada que porta esporangios.
- **Esporofito:** La etapa madura del ciclo de vida de los helechos, producto de la fertilización en las que las células son diploides o, muy raro poliploides.
- **Estípete:** Tallo o peciolo de una fronda de helecho o de palma.
- **Fronda:** Hoja de una palma, de una cícada o de un helecho.
- **Gametofito:** Etapa sexual en el ciclo de vida de una planta cuando los cromosomas en cada célula están reducidos a la mitad del número usual, típicamente diploides reducidos a haploides.
- **Glabrescente:** Se dice de una estructura u órgano que pierde gradualmente el pelo.
- **Hemiepífito:** Una planta que pasa sólo una parte de su ciclo de vida como una epífita, produciendo raíces aéreas y subterráneas en diferentes tiempos.

- **Heterospórico:** El tener dos tipos de esporas, tales como microsporas y megasporas, las cuales dan lugar a generaciones de gametofitos masculinos y femeninos distintos, respectivamente.
- **Homospórico:** El tener sólo un tipo de espora.
- **Humedad relativa:** La proporción del vapor de agua presente actual en relación a la saturación total a la temperatura existente, expresada como porcentaje.
- **Indusio:** Cubierta protectora de los esporangios, formada por una extensión de la fronda.
- **Lux:** Unidad derivada de iluminación, definida como 1 lumen por metro cuadrado.
- **Megaspora:** En organismos heterospóricos, es la espora más grande de dos tipos de esporas haploides producidas por las plantas vasculares
- **Meristelas:** Uno de los haces del tejido vascular, que consiste de xilema rodeado por floema, entre una envoltura de endodermis, que compone una dictiostela.
- **Microspora:** En organismos heterospóricos, es la espora más pequeña de los dos tipos de esporas haploides producidas por las plantas vasculares.
- **Peciolulado:** Que tiene una porción basal libre; se aplica a pinnas y pínnulas.
- **Perisporio:** Capa de esporopolenina, a menudo muy ornamentada, externa, que proviene de la desintegración del tapete y su depósito sobre el exosporio en el transcurso de la formación de las esporas.

- **Pinna:** División primaria u hojuela de una hoja compuesta.
- **Pinnada:** Se dice de una hoja que tiene hojuelas separadas a lo largo de cada lado de un eje común; o tener venas separadas a lo largo de cada lado de la nervadura de la hoja.
- **Pinnatífida:** Se dice de una hoja pinnada lobada, en la que los lóbulos se extienden desde ¼ hacia la mitad del raquis.
- **Pínnula:** División secundaria de una hoja pinnada.
- **Prótalo:** Gametofito que se desarrolla de una espora de un helecho u otra criptógama vascular. Carece de raíces, tallos y hojas, pero presenta órganos sexuales masculinos y/o femeninos, y se encuentra ligado al suelo por rizoides.
- **Reniforme:** Con forma de riñón; semilunar con extremos redondeados; se aplica a ciertos indusios y a esporas.
- **Rizoma:** Tallo modificado que funciona como raíz, tendido horizontalmente sobre o debajo del suelo, presentando yemas o brotes y raíces adventicias.
- **Soro:** Grupo de esporangios.
- **Talo:** Un cuerpo de una planta que no se ha diferenciado en hojas y tallo.