

## IDENTIFICACIÓN DEL TIPO MORFOLÓGICO DE MICORRIZA ARBUSCULAR EN *PHAEOCEROS LAEVIS* (ANTHOCEROTOPHYTA)

AGUSTINA C. COTTET\* y MARÍA INÉS MESSUTI<sup>1</sup>

**Summary:** Morphological type identification of arbuscular mycorrhizal in *Phaeoceros laevis* (Anthocerotophyta). Arbuscular mycorrhizal have been registered for different representatives of Phylum Anthocerotophyta, including *Phaeoceros laevis* (L.) Prosk. In this paper we report the morphological type colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in *P. laevis*, which corresponds to an intermediate between *Arum*-type and *Paris*-type. In addition, this association is mentioned for the first time for temperate forest of southern hemisphere. Brief descriptions and images of the characteristic structures of the arbuscular mycorrhiza present in *P. laevis* are presented.

**Key words:** Bryophytes, mycorrhizal association, southern hemisphere, temperate forest.

**Resumen:** Las micorrizas arbusculares han sido registradas para distintos representantes del Phylum Anthocerotophyta, entre ellos *Phaeoceros laevis* (L.) Prosk. En este trabajo se da a conocer el tipo morfológico de colonización por parte de hongos micorrícicos arbusculares en *P. laevis*, el cual corresponde a un intermedio entre los tipos *Arum* y *Paris*. Además, esta asociación se menciona por primera vez para los bosques templados del hemisferio sur. Se presentan descripciones breves e imágenes de las estructuras características de las micorrizas arbusculares presentes en *P. laevis*.

**Palabras clave:** Asociación micorrícica, bosques templados, briófitos, hemisferio sur.

### INTRODUCCIÓN

Las asociaciones que se establecen entre briófitos y hongos han sido documentadas por diversos autores, éstas pueden ser desde parasíticas hasta simbióticas formando micorrizas (Davey & Currah, 2006; Liepina, 2012). Un ejemplo de esto, lo constituyen los representantes del filo Anthocerotophyta (antocerotes) que pueden formar simbiosis con hongos del subfilo Glomeromycotina (hongos micorrícicos arbusculares, HMA). La colonización de estos hongos en los talos de algunos antocerotes (*e.g. Anthoceros, Folioceros, Notothylas, Phaeoceros* y *Phaeomegaceros*) es abundante, ocasional (*e.g. Megaceros* y *Nothoceros*) o ausente (*e.g. Dendroceros, Leiosporoceros*) (Desirò *et al.*, 2013). En particular, la asociación entre HMA y *Phaeoceros laevis* (L.) Prosk. ha sido estudiada bajo

distintos aspectos que abarcan desde la ultraestructura de estos hongos hasta análisis moleculares y citológicos. Si bien la distribución de esta especie es cosmopolita, su relación con HMA fue registrada, hasta el momento, para un número reducido de regiones [China, Escocia, Gales, Inglaterra, Italia e Islas Malvinas (Falkland Islands)] (Ligrone, 1988; Desirò *et al.*, 2013).

El objetivo de este trabajo es dar a conocer el tipo morfológico de colonización por parte de HMA en *P. laevis* y el primer registro de esta relación en los bosques templados del hemisferio sur.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### *Área de estudio*

Los especímenes estudiados provienen de colecciones de diferentes sitios del bosque templado realizadas al oeste de las provincias de Río Negro y Chubut (BCRU 5491-5495) los que fueron depositados en el herbario BCRU.

<sup>1</sup> INIBIOMA, CONICET-Universidad Nacional del Comahue, Quintral 1250, 8400 Bariloche, Argentina

\* Autor para la correspondencia: agustina.c.cottet@gmail.com

*Colección e identificación de P. laevis*

Los ejemplares fueron coleccionados, herborizados e identificados empleando las técnicas tradicionales para el estudio de los briófitos (Frahm, 2003). Para la identificación se siguieron los criterios propuestos por Hässel de Menéndez (1962) y Gradstein & Da Costa (2003).

*Observación de estructuras de HMA*

Los gametofitos fueron lavados con agua corriente y preservados en etanol 70% durante 24 horas a temperatura ambiente; luego de este periodo fueron colocados a 50°C hasta la evaporación total del líquido. Posteriormente, fueron clarificados en hidróxido de potasio 1% durante 20 minutos a 80°C; acidificados con ácido clorhídrico 1% durante 10 minutos a 50°C y teñidos con azul tripán 0,05% durante 20 minutos a 60°C. Para observar las estructuras características de los HMA, se montaron cinco fragmentos (ca. 2 cm de largo) por gametofito en lactofenol de Amman, los que fueron examinados con microscopio óptico.

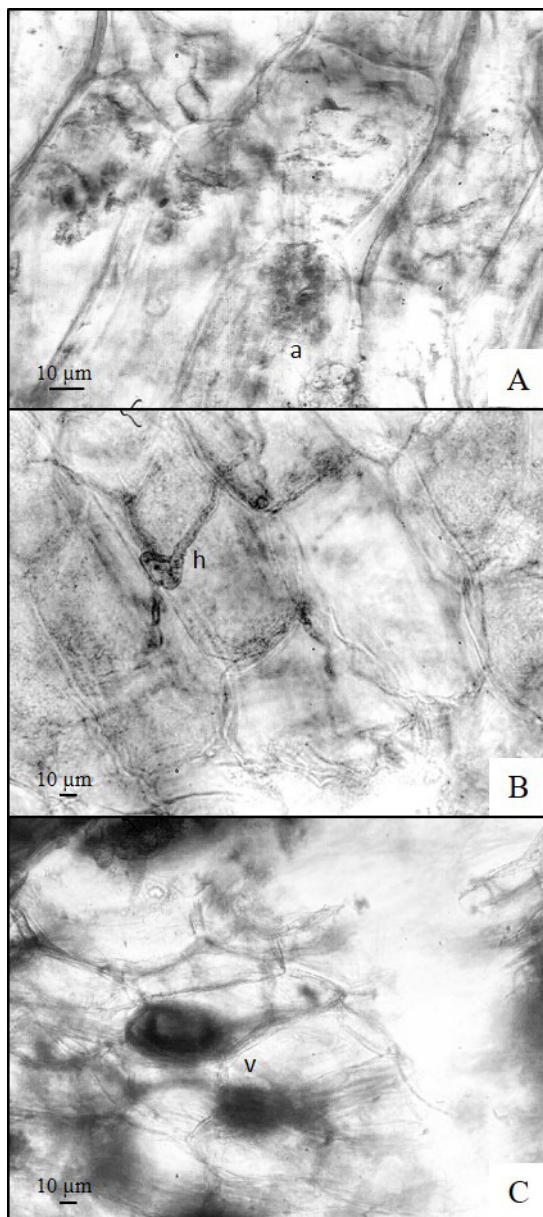
## RESULTADOS

Los gametofitos de *P. laevis* observados son verdes oscuros, gregarios y adheridos al sustrato por rizoides unicelulares. En corte transversal, la superficie dorsal es plana a levemente curvada y lisa; el talo es sólido con el tejido fundamental sin cavernas, con colonias de *Nostoc* sp. y la superficie ventral es convexa o aquillada.

La colonización de los HMA se evidenció por la presencia de estructuras fúngicas características. Se observaron hifas aseptadas, principalmente en la porción media del talo, tanto en la superficie como en su porción interna. Las hifas superficiales o externas cercanas a los rizoides miden ca. 6,5 µm de diámetro. Mientras que las internas, localizadas en el espacio intercelular de las células parenquimatosas, miden ca. 2,5 µm de diámetro. Tanto los arbusculos como las hifas replegadas formando circunvoluciones son intracelulares y abundantes en la porción media del talo. Los primeros miden ca. 35 x 30 µm y las hifas que los conforman presentan un rango entre 0,4-4 µm de diámetro, siendo más pequeñas hacia los ápices de los arbusculos (Fig. 1 A). Las hifas replegadas formando circunvoluciones miden 5 µm de diámetro (Fig. 1 B). Por el contrario, las vesículas son escasas y miden ca. 45 x 27,5 µm (Fig. 1 C).

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Algunos antocerotes pueden establecer relaciones simbióticas duales con representantes de los subfilos Glomeromycotina y Mucoromycotina



**Fig. 1.** Colonización micorrícica arbuscular del tipo *Intermediate 1* en *Phaeoceros laevis* (L.) Prosk. (BCRU 5491). **A:** Arbusculos (a). **B:** Hifas replegadas formando circunvoluciones (h). **C:** Vesícula (v).

(Desirò *et al.*, 2013). Sin embargo, a pesar de sus similitudes morfológicas se pueden diferenciar por la formación de vesículas *vs.* la ausencia de estas; tener hifas de los arbusculos con rango de diámetro entre 1-3  $\mu\text{m}$  *vs.* 0,5-1  $\mu\text{m}$ ; e hifas principales de 4-8  $\mu\text{m}$  de diámetro *vs.* 3-4  $\mu\text{m}$  (Field *et al.*, 2016). En particular, la relación que se establece entre *P. laevis* y los HMA ya ha sido mencionada con anterioridad por otros autores como Ligrone (1988) y Desirò *et al.* (2013), donde ninguno ha definido el tipo morfológico de colonización por parte de estos hongos. Sin embargo, a partir de nuestras observaciones este último puede ser definido, en condiciones naturales, como un tipo morfológico intermedio entre *Arum* y *Paris*. Siguiendo la clasificación de los tipos de colonización de HMA propuesta por Dickson (2004) este corresponde al tipo denominado *Intermediate 1*, el que se caracteriza por la presencia de arbusculos intracelulares formados a partir de hifas intercelulares e hifas intracelulares. Por otra parte, se han encontrado diferencias en relación al tamaño de las estructuras fúngicas según lo mencionado por Ligrone (1988) y el material estudiado (BCRU 5491-5495): hifas extracelulares (4  $\mu\text{m}$  *vs.* 6,5  $\mu\text{m}$ ); hifas intercelulares (4,5  $\mu\text{m}$  *vs.* 2,5  $\mu\text{m}$ ); hifas intracelulares (2,3  $\mu\text{m}$  *vs.* 2,7  $\mu\text{m}$ ) y vesículas (22,5  $\mu\text{m}$  *vs.* 27,5  $\mu\text{m}$ ). Además, en este trabajo se menciona por primera vez la presencia de esta relación en los bosques templados del hemisferio sur.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Administración de Parques Nacionales por los permisos de colección y la amabilidad de todos los guardaparques. Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET) y por la Universidad Nacional del Comahue (UNComahue).

## BIBLIOGRAFÍA

- DAVEY, M. L. & R. S. CURRAH. 2006. Interaction between mosses (Bryophyta) and fungi. *Canad. J. Bot.* 84: 1509-1519.
- DESIRÒ A., J. G. DUCKETT, S. PRESSEL, J. C. VILLARREAL & M. I. BIDARTONDO. 2013. Fungal symbioses in hornworts: a chequered history. *Proc. R. Soc. B.* 280: 20130207.
- DICKSON, S. 2004. The *Arum-Paris* continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* 163: 187-200.
- FRAHM, J. P. 2003. Manual of tropical bryology. *Trop. Bryol.* 23: 1-200.
- FIELD, K. J., W. R. RIMINGTON, M. I. BIDARTONDO, K. ALLINSON, D. J. BEERLING, D. D. CAMERON, J. G. DUCKETT, J. R. LEAKE & S. PRESSEL. 2016. Functional analysis of liverworts in dual symbiosis with Glomeromycota and Mucoromycotina fungi under a simulated Palaeozoic CO<sub>2</sub> decline. *ISME J.* 10: 1514-1526.
- GRADSTEIN, S. R. & D. PINEHIRO DA COSTA. 2003. The Hepaticae and Anthocerotae of Brazil. *Mem. N. Y. Bot. Gard.* 87: 1-318
- HÄSSEL DE MENÉNDEZ, G. G. 1962. Estudio de las Anthocerotales y Marchantiales de la Argentina. *Opera Lilloana* 7: 1-297.
- LIEPINA, L. 2012. Occurrence of fungal structures in bryophytes of the boreo-nemoral zone. *Environ. Exper. Bot.* 10: 35-40.
- LIGRONE, R. 1988. Ultrastructure of a fungal endophyte in *Phaeoceros laevis* (L.) Prosk. (Anthocerothyta). *Bot. Gaz.* 149: 92-100.

Recibido el 20 de febrero de 2017, aceptado el 8 de mayo de 2017.

