



Nuevo registro de hongos micorrícicos arbusculares en *Nothoceros fuegiensis* (Dendrocerotaceae, Anthocerotophyta)

New record of arbuscular mycorrhizal fungi in *Nothoceros fuegiensis* (Dendrocerotaceae, Anthocerotophyta)

Agustina C. Cottet^{1,2}  y María I. Messuti¹ 

Resumen:

Antecedentes y Objetivos: Los Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) se encuentran asociados, en la naturaleza, con varias especies de antocerotes (Anthocerotophyta). El objetivo de este estudio es dar a conocer y caracterizar por primera vez la colonización de HMA en *Nothoceros fuegiensis* (Dendrocerotaceae).

Métodos: El material examinado proviene de recolectas realizadas en bosques templados fríos dominados por *Nothofagus* spp. Las plantas fueron acondicionadas, teñidas y analizadas de acuerdo con técnicas específicas para briofitas.

Resultados clave: Se describe por primera vez la asociación micorrícica en *N. fuegiensis*. Se presenta una descripción breve e ilustración de la planta y de las estructuras características del hongo micorrícico. El porcentaje de colonización es de 9-40%, ocasionalmente ausente, y su tipo morfológico es *Paris*.

Conclusiones: Al describir la asociación entre HMA y un antocerote, *N. fuegiensis*, se aporta nueva información sobre los registros de asociaciones presentes en diferentes briofitas en ambientes poco conocidos o inexplorados.

Palabras clave: antocerotes, Argentina, asociación fúngica, Patagonia, tipo *Paris*.

Abstract:

Background and Aims: Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) are associated, in nature, with several species of hornworts (Anthocerotophyta). The aim of this study is to describe and characterize for the first time AMF colonization in *Nothoceros fuegiensis* (Dendrocerotaceae).

Methods: The material examined was collected in cold temperate forest dominated by *Nothofagus* spp. The plants were conditioned, stained and analyzed according to specific techniques for bryophytes.

Key results: The mycorrhizal association in *N. fuegiensis* is described for the first time. A brief description and illustration of the plant and the characteristic structures of the mycorrhizal fungus are presented. The percentage of colonization ranges from 9-40%, occasionally absent and its morphological type is *Paris*.

Conclusions: The association between AMF and a hornwort, *N. fuegiensis*, is described, thus providing new information on the records of this type of association present in different bryophyte taxa in little-known or unexplored environments.

Key words: Argentina, fungal association, hornworts, *Paris*-type, Patagonia.

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas-Universidad Nacional del Comahue, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente, Quintral 1250, San Carlos de Bariloche, 8400 Río Negro, Argentina.

²Autor para la correspondencia: agustina.c.cottet@gmail.com

Recibido: 19 de febrero de 2020.

Revisado: 13 de abril de 2020.

Aceptado por Rosario Redonda-Martínez: 24 de junio de 2020.

Publicado primero en línea: 1 de julio de 2020.

Publicado: Acta Botanica Mexicana 127(2020).

Citar como: Cottet, A. C. y M. I. Messuti. 2020. Nuevo registro de hongos micorrícicos arbusculares en *Nothoceros fuegiensis* (Dendrocerotaceae, Anthocerotophyta). Acta Botanica Mexicana 127: e1681. DOI: 10.21829/abm127.2020.1681



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0 Atribución-No Comercial (CC BY-NC 4.0 Internacional).

e-ISSN: 2448-7589

Introducción

Las asociaciones que se establecen entre Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y briofitas (Anthocerotophyta, Bryophyta y Marchantiophyta) juegan un rol importante en el desarrollo de este grupo de plantas no vasculares. Asociarse les permite establecerse en ambientes con ciertas condiciones desfavorables para su desarrollo, como pueden ser los suelos pobres en materia orgánica, temperaturas extremas y presencia de patógenos (Liepina, 2012; Nelson y Shaw, 2019). En función de las estructuras fúngicas presentes como hifas inter e intracelulares, arbusculos, *coils* y *coils* arbusculados, estas asociaciones se clasifican en dos tipos morfológicos conocidos como *Arum* y *Paris* (Smith y Smith, 1997). Dickson (2004) propuso la existencia de formas intermedias entre ambos tipos morfológicos, reconociendo una secuencia estructural entre *Arum* (con hifas intercelulares y arbusculos intracelulares) y *Paris* (con hifas intracelulares con *coils* y *coils* arbusculados).

La relación entre HMA y Anthocerotophyta (antocerotes) ha sido estudiada con anterioridad y se sabe que en antocerotes la colonización por hongos puede diferir en abundancia y ocurrencia en los géneros *Anthoceros* L., *Folioceros* D.C. Bhardwaj, *Megaceros* Campbell, *Nothoceros* (R.M. Schust.) J. Haseg., *Notothyas* Sull. ex A. Gray, *Phaeoceros* Prosk. y *Phaeomegaceros* Duff, J.C. Villarreal, Cargill & Renzaglia, mientras que en *Dendroceros* Nees y *Leiosporoceros* Hässel, está ausente (Desirò et al., 2013). Dentro de las siete especies que comprenden el género *Nothoceros* (Villarreal et al., 2010), en dos ha sido analizada la presencia de asociaciones micorrízicas (Desirò et al., 2013). En *Nothoceros vincentianus* (Lehm. & Lindenb.) J.C. Villarreal, se registró la presencia de HMA con base en la revisión de especímenes recolectados en Panamá (Öpik et al., 2010; Desirò et al., 2013; Feijen et al., 2018), mientras que en *N. giganteus* (Lehm. & Lindenb.) J. Haseg. ex J.C. Villarreal, Hässel & N. Salazar, de material proveniente de Nueva Zelanda, no se observaron asociaciones con simbiontes fúngicos (Öpik et al., 2010; Desirò et al., 2013; Feijen et al., 2018). La especie *N. fuegiensis* (Steph.) J.C. Villarreal no ha sido analizada, por ello el objetivo principal de este trabajo es dar a conocer y caracterizar por primera vez la colonización de HMA en este antocerote.

Materiales y Métodos

Recolección de material

Los especímenes de *N. fuegiensis* fueron recolectados en las Provincias de Chubut (Paraje Entre Ríos, Planta Educativa Parque Nacional Lago Puelo y arroyo Centinela); Neuquén (Lagunas de Epulafquen, Pilolil-Rahue, Playa Yuco y Termas del Queñi); Río Negro (Pampa Linda, arroyo Alerce, Paso Pérez Rosales, Puerto Blest, Villa los Coihues, lago Steffen y Refugio Los Laguitos) y Santa Cruz (Puerto Argentino); en sitios de bosque templado frío dominado por especies de *Nothofagus* Blume en la Patagonia, Argentina. El material recolectado se acondicionó utilizando técnicas tradicionales para el estudio de plantas no vasculares (Frahm, 2003) y se depositó en el herbario BCRU (Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue, San Carlos de Bariloche, Argentina). Para la identificación del material examinado se utilizaron los trabajos de Hässel de Menéndez (1961, 1990) y Villarreal et al. (2010).

Estudio de colonización

Las estructuras características de los HMA (hifas aseptadas, *coils*, arbusculos y vesículas) fueron observadas después de preparar secciones sagitales de gametofitos teñidos y montadas en agua o lactofenol, se observaron en un microscopio compuesto Olympus BX50 (Olympus Corp., Tokio, Japón) y se fotografiaron con una cámara digital Lumenera Infinity 1 (Lumenera Corp., Ottawa, Canadá).

Para observar la colonización por HMA, los gametofitos fueron lavados con agua corriente y preservados en etanol al 70% durante 24 horas a temperatura ambiente; posteriormente se colocaron en cajas de Petri a 50 °C sobre un agitador magnético de calentamiento (VELP Scientifica, Usmate, Velate, Italia), con placa caliente hasta la evaporación total del líquido. Posteriormente, fueron clarificados en hidróxido de potasio al 1% durante 20 minutos a 80 °C; acidificados con ácido clorhídrico al 1% durante 10 minutos a 50 °C y teñidos con azul de tripán al 0.05% durante 20 minutos a 60 °C (Cottet et al., 2018; Cottet y Messuti, 2019). El porcentaje de colonización por HMA se estimó utilizando la presencia o ausencia de las estructuras características de estos hongos con un aumento de 400× en todo el talo (47 talos). El número promedio de campos observados por talo fue de 800. El tipo de colonización se determinó utilizando

los criterios de Dickson (2004), quien basó la clasificación en la presencia de hifas inter e intracelulares, arbusculos, *coils* y *coils* arbusculados. Además, para determinar qué parte del talo estaba asociada con hifas, se realizaron cortes transversales tanto en las porciones distales como proximales de la planta.

Resultados

Los especímenes examinados de *N. fuegiensis* presentaron gametofitos verde-esmeralda, cespitosos o formando rosetas (Fig. 1A) adheridos al sustrato por rizoides unicelulares. En sección transversal, los talos mostraron una superficie dorsal plana con epidermis; tejido fundamental sólido sin cavernas, colonias de cianobacterias y una superficie ventral plana similar a la dorsal (Fig. 1B). En el área de estudio esta especie es frecuente, se encontró asociada a sectores muy húmedos cerca de arroyos o ríos, incluso sumergidos. Los talos analizados provenientes de sustratos no sumergidos, tales como suelo, roca y madera, presentaron una colonización de HMA variable donde el porcentaje osciló entre 9-40%. En tanto que en los talos que se desarrollaban sobre suelo, roca o madera sumergidos, o anfibios, no hubo colonización. Las estructuras fúngicas características observadas fueron las siguientes: hifas superficiales o externas cercanas a los rizoides, 7 µm de diámetro; hifas intracelulares, 5 µm de diámetro; *coils* arbusculados intracelulares y abundantes en la porción media del talo, 35-45 µm de diámetro (Fig. 1C); vesículas globosas, 17-25 µm de diámetro, escasas a abundantes (Fig. 1D). La colonización se encuentra restringida a la porción media ventral del gametofito y corresponde al denominado tipo morfológico *Paris*.

Material examinado: ARGENTINA. Provincia Chubut, Lago Puelo, Paraje Entre Ríos, confluencia río Azul y río Quenquentreu, I.2016, A. Cottet 5552 (BCRU); Parque Nacional Lago Puelo, Planta Educativa, 30.XI.2017, A. Cottet 5556 (BCRU), 5557 (BCRU); Parque Nacional Los Alerces, arroyo Centinela, 29.I.2017, A. Cottet 5549 (BCRU). Provincia Neuquén, Las Ovejas, Lagunas de Epulafquen, laguna Superior, 08.I.2019, A. Cottet 5567 (BCRU), 5568 (BCRU); entre Pilolil y Rahue, 05.X.2018, A. Cottet 5569 (BCRU); Parque Nacional Lanín, Playa Yuco, 31.XII.2018, A. Cottet 5559 (BCRU), 5560 (BCRU), 5561 (BCRU); Termas del Queñi, 30.XII.2018, A. Cottet 5562 (BCRU), 5563 (BCRU), 5564

(BCRU), 5565 (BCRU), 5566 (BCRU). Provincia Río Negro, Parque Nacional Nahuel Huapi, Pampa Linda, 08.XII.2016, A. Cottet 5539 (BCRU); sendero Refugio Otto Meiling, arroyo Alerce, 08.XII.2016, A. Cottet 5541 (BCRU), 5542 (BCRU), 5543 (BCRU), 5544 (BCRU); Paso Pérez Rosales, 10.XII.2016, A. Cottet 5545 (BCRU), 5546 (BCRU), 5547 (BCRU), 5548 (BCRU), Puerto Blest, sendero Puerto Cántaros - Puerto Blest, 08.IX.2017, A. Cottet 5510 (BCRU), 5518 (BCRU), 5519 (BCRU), 5550 (BCRU), 5554 (BCRU), 5555 (BCRU); San Carlos de Bariloche, Villa Los Coihues, VII.2016, A. Cottet 5553 (BCRU); Parque Nacional Nahuel Huapi, lago Steffen, 15.II.2018, A. Cottet 5558 (BCRU); El Bolsón, refugio Los Laguitos, I.2017, A. Cottet 5551 (BCRU). Provincia Santa Cruz, Parque Nacional Los Glaciares, Puerto Argentino, 26.XI.2016, A. Cottet 5526 (BCRU), 5527 (BCRU), 5528 (BCRU), 5529 (BCRU), 5530 (BCRU), 5531 (BCRU), 5532 (BCRU), 5533 (BCRU), 5534 (BCRU), 5535 (BCRU), 5536 (BCRU), 5537 (BCRU), 5538 (BCRU).

Discusión

Tradicionalmente los HMA han sido incluidos en el filo Glomeromycota (Brundrett, 2004; Bidartondo y Duckett, 2010). No obstante, en la última propuesta de clasificación filogenética (Spatafora et al., 2016) los HMA fueron transferidos a nivel de subfilo junto con Mortierellomycotina y Mucoromycotina. Con base en la clasificación de Spatafora et al. (2016), entonces, los HMA se ubican tanto en Glomeromycotina como en Mucoromycotina, representantes capaces de formar asociaciones micorrícicas con plantas no vasculares. Los Glomeromycotina se caracterizan por presentar hifas intracelulares principales de 4-8 µm de diámetro, hifas de arbusculos con un rango entre 1-3 µm y por formar vesículas. Por otro lado, los Mucoromycotina presentan hifas intracelulares principales de 3-4 µm de diámetro, hifas de arbusculos con un rango entre 0.5-1 µm de diámetro y no forman vesículas (Field et al., 2016). Teniendo en cuenta estas diferencias morfológicas, los hongos encontrados en *N. fuegiensis* pueden incluirse dentro de Glomeromycotina. Los especímenes estudiados presentan todas las características típicas del tipo morfológico de colonización *Paris*, lo que coincide con lo mencionado por Smith y Smith (1997), quienes concluyeron que este tipo predomina en las briofitas. No obstante, como una excep-

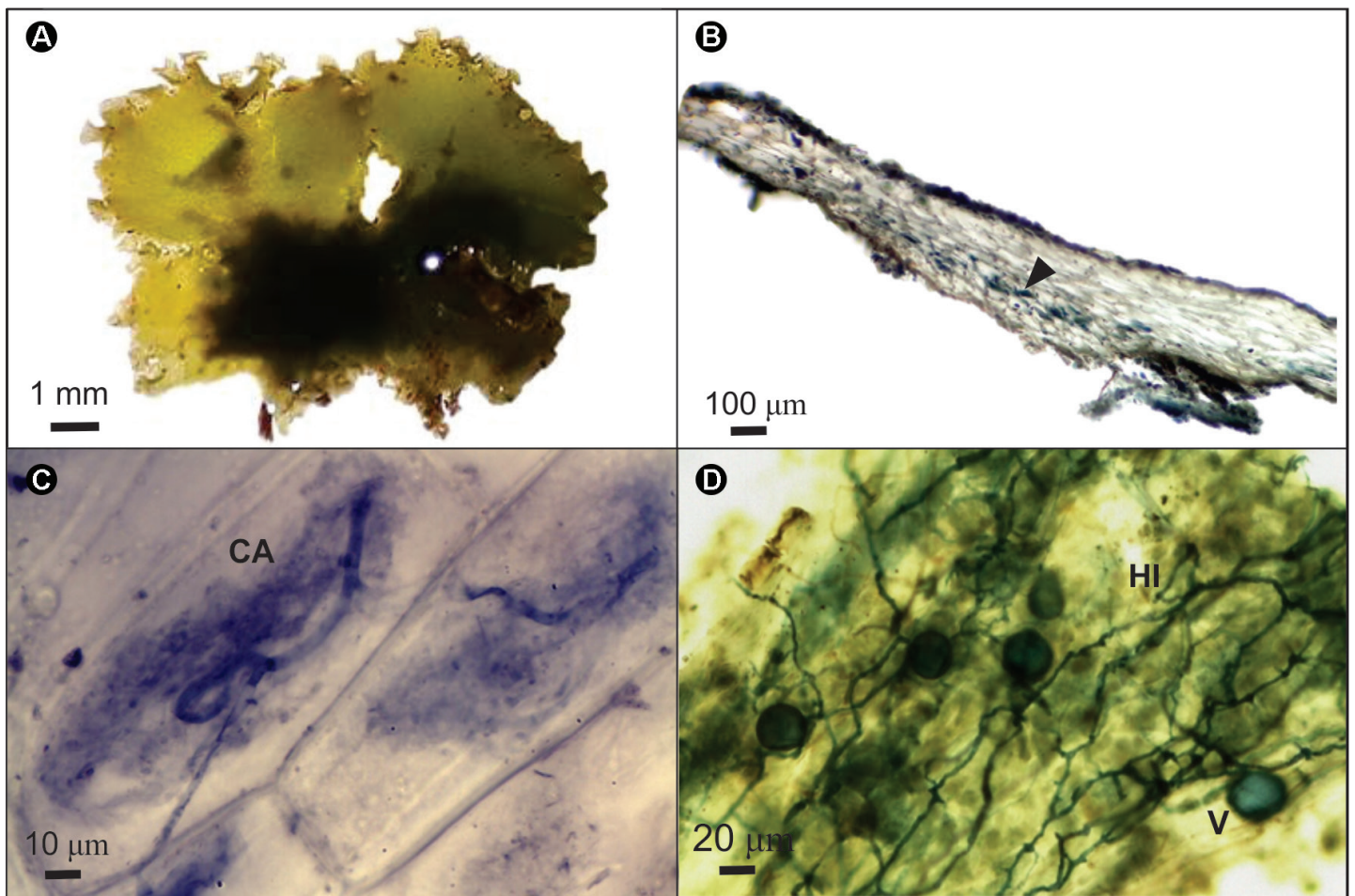


Figura 1: *Nothoceros fuegiensis* (Steph.) J.C. Villarreal, Cottet 5550 (BCRU). A. aspecto general del talo; B. sección transversal del talo colonizado por hongos micorrícicos arbusculares (▼); C. coil arbusculado (CA); D. hifas intracelulares (HI) y vesícula (V).

ción, existe el caso de *Phaeoceros laevis* (L.) Prosk., donde el tipo morfológico de colonización es una forma intermedia entre el tipo *Arum* y el tipo *Paris* llamado *Intermediate I* (Cottet y Messuti, 2017). En los últimos años el estudio de esta simbiosis entre plantas y hongos se ha concentrado en aspectos moleculares y experimentales relacionados con la identidad y fisiología del hongo (Öpik et al., 2010; Martin, 2016; Carrillo-Saucedo y Gavito, 2020). Sin embargo, aún es necesario registrar y describir este tipo de asociación para numerosas especies de briofitas y ambientes. La información brindada a partir de este tipo de estudios descriptivos puede contribuir no solo a la comprensión integral de la interacción que ocurre entre los organismos involucrados, sino también proporcionar nuevos registros sobre la relación entre briofitas y hongos.

Contribución de autores

ACC coleccionó el material examinado. ACC y MIM contribuyeron a la adquisición de datos, interpretación y escritura, discusión, revisión y aprobación del manuscrito final.

Financiamiento

Este estudio fue apoyado por la Universidad Nacional del Comahue (B207).

Agradecimientos

Agradecemos por el apoyo brindado al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, a la Universidad Nacional del Comahue y a la Administración de Parques Nacionales.

Literatura citada

- Bidartondo, M. I. y J. G. Duckett. 2010. Conservative ecological and evolutionary patterns in liverwort-fungal symbioses. *Proceedings of the Royal Society B* 277(1680): 485-492. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1458>
- Brundrett, M. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews* 79(3): 473-495. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1464793103006316>
- Carrillo-Saucedo, S. M. y M. E. Gavito. 2020. Resilience of soil aggregation and exocellular enzymatic functions associated with arbuscular mycorrhizal fungal communities along a successional gradient in a tropical dry forest. *Mycorrhiza* 30: 109-120. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00928-9>
- Cottet, A. C. y M. I. Messuti. 2017. Identificación del tipo morfológico de micorriza arbuscular en *Phaeoceros laevis* (Anthocerotophyta). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 52(2): 291-293. DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v52.n2.17444>
- Cottet, A. C. y M. I. Messuti. 2019. New evidence about the interactions between liverworts in the genus *Symphyogyna* (Pallaviciniaceae) and arbuscular mycorrhizal fungi. *Symbiosis* 79(2): 117-121. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00634-2>
- Cottet, A. C., J. M. Scervino y M. I. Messuti. 2018. An improved staining protocol for the assessment of arbuscular mycorrhizal in bryophytes. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 53(2): 201-206. DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v53.n2.20577>
- Desirò, A., J. G. Duckett, S. Pressel, J. C. Villarreal y M. I. Bidartondo. 2013. Fungal symbioses in hornworts: a chequered history. *Proceedings of the Royal Society B* 280(1759): 20130207. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.0207>
- Dickson, S. 2004. The *Arum-Paris* continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 163(1): 187-200. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01095.x>
- Feijen, F. A. A., R. A. Vos, J. Nuytinck y V. S. F. T. Merckx. 2018. Evolutionary dynamics of mycorrhizal symbiosis in land plant diversification. *Scientific Reports* 8(1): 10698. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28920-x>
- Field, K. J., W. R. Rimington, M. I. Bidartondo, K. Allison, D. J. Beerling, D. D. Cameron, J. G. Duckett, J. R. Leake y S. Pressel. 2016. Functional analysis of liverworts in dual symbiosis with Glomeromycota and Mucoromycotina fungi under a simulated Palaeozoic CO₂ decline. *International Society for Microbial Ecology Journal* 10: 1514-1526. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.204>
- Frahm, J. P. 2003. Manual of tropical bryology. *Tropical Bryology* 23(1): 1-200. DOI: <https://doi.org/10.11646/bde.23.1.1>
- Hassel de Menéndez, G. G. 1961. Estudio de las Anthocerotales y Marchantiales de la Argentina. *Opera Lilloana* 7: 1-297.
- Hassel de Menéndez, G. G. 1990. Las especies de *Anthoceros* y *Folioceros* (Anthocerotophyta) de América del Norte, Sud y Central; la ornamentación de sus esporas y taxonomía. *Candollea* 45: 201-220.
- Liepina, L. 2012. Occurrence of fungal structures in bryophytes of the boreo-nemoral zone. *Environmental and Experimental Biology* 10(1): 35-40.
- Martin, F. 2016. *Molecular Mycorrhizal Symbiosis*. Ed. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, USA. 506 pp. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118951446>
- Nelson, J. y A. J. Shaw. 2019. Exploring the natural microbiome of the model liverwort: fungal endophyte diversity in *Marchantia polymorpha* L. *Symbiosis* 78(1): 45-59.
- Öpik, M., A. Vanatoa, E. Vanatoa, M. Moora, J. Davison, J. M. Kalwij, U. Reier y M. Zobel. 2010. The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *New Phytologist* 188(1): 223-241. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03334.x>
- Smith, F. A. y S. E. Smith. 1997. Tansley Review N° 96. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 137(3): 373-388. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00848.x>
- Spatafora, J. W., Y. Chang, G. L. Benny, K. Lazarus, M. E. Smith, M. L. Berbee, G. Bonito, N. Corradi, I. Grigoriev, A. Gryganskyi, T. Y. James, K. O'Donnell, R. W. Roberson, T. N. Taylor, J. Uehling, R. Vilgalys, M. M. White y J. E. Stajich. 2016. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia* 108(5): 1028-1046. DOI: <https://doi.org/10.3852/16-042>
- Villarreal, J. C., B. Goffinet, R. J. Duff y D. C. Cargill. 2010. Phylogenetic delineation of *Nothoceros* and *Megaceros* (Dendrocerotaceae). *The Bryologist* 113(Spring 2010): 106-113. DOI: <https://doi.org/10.1639/0007-2745-113.1.106>