



NUEVO REGISTRO DE MICORRIZA ARBUSCULAR EN *ASTERELLA CHILENSIS* (AYTONIACEAE, MARCHANTIOPHYTA), PATAGONIA, ARGENTINA

NEW RECORD OF ARBUSCULAR MYCORRHIZA IN *ASTERELLA CHILENSIS*
(AYTONIACEAE, MARCHANTIOPHYTA), PATAGONIA, ARGENTINA

Agustina Celeste Cottet^{ID*} & María Inés Messuti^{ID}

Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA); Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional del Comahue (UNComahue), Quintral 1250, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina.

*agustina.c.cottet@gmail.com

Citar este artículo

COTTET, A. C. & M. I. MESSUTI. 2022. Nuevo registro de micorriza arbuscular en *Asterella chilensis* (Aytoniaceae, Marchantiophyta), Patagonia, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 57: 3-7.

DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v57.n1.35364>

SUMMARY

Background and aims: The associations that are established between arbuscular mycorrhizae (AM) and bryophytes (Anthocerotophyta, Bryophyta and Marchantiophyta) play an important role in the development of this group of plants. In particular, the relationship between AM and Marchantiophyta has been studied previously in different species and regions of the world and, among other things, it is mentioned that colonization by fungi can differ in abundance and occurrence even in species of the same genus. The objective of this study is to present and characterize for the first time the colonization of AM in *Asterella chilensis* (Aytoniaceae).

M&M: The examined material comes from collections made in steppe environments of Patagonia, Argentina. The plants were conditioned, stained and analyzed according to specific techniques for bryophytes.

Results: The mycorrhizal association in *A. chilensis* is described for the first time. A brief description and photographs of the characteristic structures of the AM are presented. The colonization percentage ranges from 35 to 38% and the AM corresponds to the *Paris* type, characterized by the presence of aseptate hyphae forming intracellular arbusculate coils.

Conclusions: The association between AM and a liverwort *A. chilensis*, described here, provides information of this type of associations in taxa and in harsh and little known environments.

KEY WORDS

Fungal association, liverworts, *Paris* type.

RESUMEN

Introducción y Objetivos: Las asociaciones que se establecen entre micorrizas arbusculares (MA) y briofitas (Anthocerotophyta, Bryophyta y Marchantiophyta) juegan un papel importante en el desarrollo de este grupo de plantas. En particular, la relación entre MA y Marchantiophyta ha sido estudiada previamente en diferentes especies y regiones del mundo y, entre otras cosas, se menciona que la colonización por hongos puede diferir en abundancia y ocurrencia incluso en especies del mismo género. El objetivo de este estudio es presentar y caracterizar por primera vez la colonización de MA en *Asterella chilensis* (Aytoniaceae).

M&M: El material examinado proviene de colecciones realizadas en ambientes de estepa de la Patagonia argentina. Las plantas fueron acondicionadas, teñidas y analizadas de acuerdo con técnicas específicas para briofitas.

Resultados: Se describe por primera vez la asociación micorrícica en *A. chilensis*. Se presenta una breve descripción e ilustración de la planta y se comentan las estructuras características de las MA. El porcentaje de colonización osciló entre el 35 y el 38% y la MA corresponde al tipo *Paris*, caracterizado por la presencia de hifas aseptadas que forman espirales arbusculadas intracelulares.

Conclusiones: La asociación entre MA y una hepática, *A. chilensis*, descrita aquí, contribuye a brindar información sobre registros de este tipo de asociación en taxones y ambientes aún inexplorados.

PALABRAS CLAVE

Asociación fúngica, hepática, tipo *Paris*.

Recibido: 28 Oct 2021
Aceptado: 11 Feb 2022
Publicado impreso: 31 Mar 2022
Editora: María Victoria Vignale^{ID}

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

INTRODUCCIÓN

Las asociaciones que se establecen entre micorrizas arbusculares (MA) y briofitas (Anthocerotophyta, Bryophyta y Marchantiophyta) juegan un rol importante en el desarrollo de este grupo de plantas (Delaux & Schornack, 2021). Entre ellas podemos mencionar el establecerse en ambientes con ciertas condiciones desfavorables para su desarrollo, como lo son suelos pobres en materia orgánica, temperaturas extremas y presencia de patógenos (Liepina, 2012; Nelson & Shaw, 2019). En particular, la relación entre MA y Marchantiophyta (hepáticas) ha sido estudiada con anterioridad en distintas especies y regiones del mundo (Ligrone *et al.*, 2007; Cottet & Messuti, 2019) y, entre otras cosas, se menciona que la colonización por hongos puede diferir en abundancia y ocurrencia incluso en especies del mismo género.

De las 75 especies distribuidas en todo el mundo incluidas en el género *Asterella* (Söderström *et al.*, 2016), únicamente cinco han sido estudiadas en relación a la presencia de micorrizas arbusculares por Ligrone *et al.* (2007). Estos autores, con base en el análisis de especímenes de *A. bachmanii* (Steph.) S.W. Arnell provenientes del sur de África, *A. muscicola* (Steph.) S.W. Arnell de Lesoto, *A. wilmsii* (Steph.) S.W. Arnell del sur de África y *A. tenera* (Mitt.) R.M. Schust. y *A. australis* (Hook.f. & Taylor) Verd. de Nueva Zelanda, reportaron la asociación entre estas especies y MA. En particular, en la especie *A. chilensis* (Nees & Mont.) A. Evans no ha sido observada hasta el momento, por ello el objetivo principal de este trabajo es dar a conocer y caracterizar por primera vez la colonización de MA en esta especie de hepática.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los especímenes de *A. chilensis* fueron coleccionados en Patagonia en sitios luminosos dominados por gramíneas ubicados tanto en la Provincia de Neuquén (Caviahue) como en la Provincia de Río Negro (Arroyo del Medio). Los especímenes fueron acondicionados utilizando técnicas tradicionales para el estudio de plantas briofitas (Frahm, 2003), y posteriormente depositados en el herbario BCRU.

Para observar la colonización por parte de MA, los gametofitos fueron lavados con agua corriente y preservados en etanol al 70% durante 24 horas a temperatura ambiente; luego se colocaron en cajas de Petri a 50 °C sobre un agitador magnético de calentamiento hasta la evaporación total del líquido. A continuación, 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 & Messuti, 2019). El porcentaje de colonización por MA se estimó utilizando la presencia o ausencia de las estructuras características de estos hongos con un aumento de 400× en el talo completo. El número promedio de campos observados por talo fue de 300. 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, enrollamientos hifales y enrollamientos hifales 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 *A. chilensis* fueron encontrados agrupados formando pequeños céspedes. Gametofito taloso, verde claro, la superficie ventral y el borde es purpúreo. Superficie dorsal algo cóncava, y con la línea media más oscura, de 0,5 a 1,5 mm de largo, 1,5 a 4 mm de ancho y 0,36 a 0,5 de alto en la porción de mayor grosor. Bordes sinuados crenados. Ramificaciones dicotómicas e innovaciones apicales y ventrales laterales (Fig. 1A). Células epidérmicas de paredes delgadas. Poros poco elevados rodeados por 6 a 7 series de 2 o 3 células de paredes delgadas (Fig. 1B-C). Tejido fotosintético formado por 2 a 3 cámaras superpuestas o 1 a 4 en las alas, sin subdivisiones. Tejido fundamental constituido por 10 a 12 capas de células superpuestas de paredes delgadas. Escamas ventrales purpúreas, lunadas con uno o dos apéndices lanceolados o subulados (Fig. 1D)

La colonización de las MA se evidenció por la presencia de estructuras fúngicas características. Se observaron hifas aseptadas, principalmente en la porción media del talo, tanto en la superficie

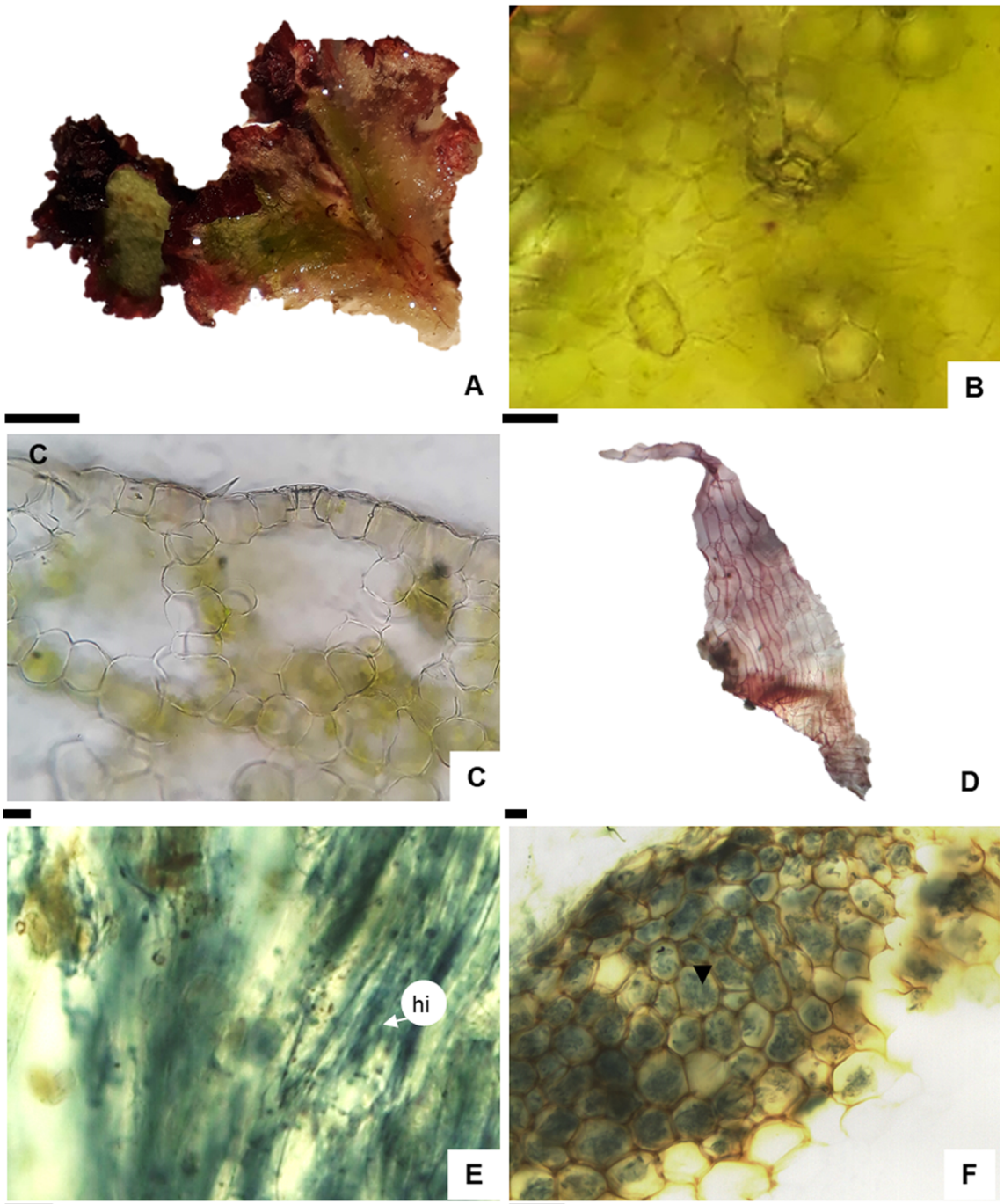


Fig. 1. *Asterella chilensis*. **A.** aspecto general del talo; **B.** vista dorsal de poro epidérmico; **C.** corte transversal de poro epidérmico; **D.** escama ventral; **E.** colonización de hifas aseptadas internas (hi) de hongos micorrícicos; **F.** vista paradermal del talo colonizado por hongos micorrícicos arbusculares (punta de flecha). Escalas= A: 5 mm; B-C, F: 50 µm; D: 100 µm; E: 10 µm.

como en su porción interna. Los talos estudiados presentaron colonización de MA variable oscilando entre un 35-38%. Se observaron hifas superficiales o externas cercanas a los rizoides, 6 µm de diámetro; hifas intracelulares, 5 µm de diámetro (Fig. 1E); enrollamientos hifales arbusculados intracelulares y abundantes en la porción media ventral del talo, 30-40 µm de diámetro (Fig. 1F). La colonización corresponde al denominado tipo morfológico *Paris*. Además, la misma fue encontrada únicamente en la porción media ventral del talo.

Material examinado. ARGENTINA. Prov. Neuquén, Caviahue-Copahue, inicio de sendero Hito Volcán Copahue, sobre suelo. 06.I.2019, A. C. Cottet 597, 599 (BCRU); Prov. Río Negro, San Carlos de Bariloche, Arroyo del Medio, sobre suelo 09.XI.2016, Cottet 146, 149 (BCRU).

DISCUSIÓN

Tradicionalmente las MA han sido incluidas en el filo Glomeromycota (Schubler *et al.*, 2001). No obstante, en la última propuesta de clasificación filogenética (Spatafora *et al.*, 2016) las MA fueron transferidas al nivel taxonómico de subfilo junto con Mortierellomycotina y Mucoromycotina dentro del filo Mucoromycota. Con base en esta clasificación, entonces, existen representantes fúngicos capaces de formar asociaciones micorrícicas con plantas no vasculares tanto en Glomeromycotina como en Mucoromycotina. Los representantes del subfilo 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. Mientras que los de 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 las diferencias morfológicas entre Glomeromycotina y Mucoromycotina, los hongos encontrados en *A. chilensis* se incluyen dentro del subfilo Glomeromycotina. Los especímenes estudiados presentan todas las características típicas del tipo morfológico de colonización *Paris*, presencia de hifas aseptadas formando enrollamientos arbusculados. Estos resultados coinciden con lo mencionado por Smith

& Smith (1997), quienes concluyeron que este tipo de colonización es el que predomina en las briofitas. La principal diferencia entre los tipos morfológicos de colonización *Arum* y *Paris*, es que las hifas en el primer caso son intercelulares y los arbusculos son intracelulares. Mientras que, en la colonización tipo *Paris* tanto las hifas como los arbusculos, de los enrollamientos hifales, son intracelulares.

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; Martín, 2016; Carrillo-Saucedo & Gavito, 2020). Sin embargo, aún es necesario registrar y describir este tipo de asociación para numerosas especies de briofitas y los diferentes tipos ambientes en las que estas se desarrollan. 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 realizaron la investigación y preparación del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el CONICET y la UNComahue.

BIBLIOGRAFÍA

- CARRILLO-SAUCEDO, S. M. & 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. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00928-9>
- COTTET, A. C & M. I. MESSUTI. 2019. New evidence about the interactions between liverworts in the genus *Symphogyna* (Pallaviciniaceae) and arbuscular mycorrhizal fungi. *Symbiosis* 79: 117-121. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00634-2>

A. C. Cottet y M. I. Messuti - Micorriza arbuscular en *Asterella chilensis*

- COTTET, A. C., J. M. SCERVINO & M. I. MESSUTI. 2018. An improved staining protocol for the assessment of arbuscular mycorrhizal in bryophytes. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 53: 201-206. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v53.n2.20577>
- DICKSON, S. 2004. The *Arum-Paris* continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* 163: 187-200. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01095.x>
- FIELD, K. J., W. R. RIMINGTON, M. I. BIDARTONDO, K. ALLISON, 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 CO₂ decline. *ISME Journal* 10: 1514-1526. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.204>
- DELAUX, P. M. & S. SCHORNACK. 2021. Plant evolution driven by interactions with symbiotic and pathogenic microbes. *Science* 371: eaba6605. <https://doi.org/10.1126/science.aba6605>
- FRAHM, J. P. 2003. Manual of tropical bryology. *Trop. Bryol.* 23: 1-200. <https://doi.org/10.11646/bde.23.1.1>
- LIEPINA, L. 2012. Occurrence of fungal structures in bryophytes of the boreo-nemoral zone. *Env. Exp. Biol.* 10: 35-40.
- LIGRONE R., A. CARAFA, E. LUMINI, V. BIANCIOTTO, P. BONFANTE & J. G. DUCKETT. 2007. Glomeromycotean associations in liverworts: a molecular, cellular, and taxonomic. *Am J. Bot.* 94:1756-1777. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.11.1756>
- MARTIN, F. 2016. *Molecular Mycorrhizal Symbiosis*. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. <https://doi.org/10.1002/9781118951446>
- NELSON, J. & A. J. SHAW. 2019. Exploring the natural microbiome of the model liverwort: fungal endophyte diversity in *Marchantia polymorpha* L. *Symbiosis* 78: 45-59.
- ÖPIK, M., A. VANATOA, E. VANATOA, M. MOORA, J. DAVISON, J. M. KALWIJ, U. REIER & M. ZOBEL. 2010. The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *New Phytol.* 188: 223-241. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03334.x>
- SCHUBLER A., SCHWARZOTT D. & WALKER C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105: 1413-1421.
- SMITH, F. A. & S. E. SMITH. 1997. Tansley Review N° 96. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* 137: 373-388. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00848.x>
- SÖDERSTRÖM, L., A. HAGBORG, M. VON KONRAT, S. BARTHOLOMEW-BEGAN, D. BELL, L. BRISCOE, E. BROWN, D. C. CARGILL, D. P. COSTA, B. J. CRANDALL-STOTLER, E. D. COOPER, G. DAUPHIN, J. J. ENGEL, K. FELDBERG, D. GLENNY, S. R. GRADSTEIN, X. HE, J. HEINRICHS, J. HENTSCHEL, A. L. ILKIU-BORGES, T. KATAGIRI, N. A. KONSTANTINOVA, J. LARRAÍN, D. G. LONG, M. NEBEL, T. PÓCS, F. PUCHE, E. REINER-DREHWALD, M. A. RENNER, A. SASS-GYARMATI, A. SCHÄFER-VERWIMP, J. S. MORAGUES, R. E. STOTLER, P. SUKKHARAK, B. M. THIERS, J. URIBE, J. VÁÑA, J. C. VILLARREAL, M. WIGGINTON, L. ZHANG & R. ZHU. 2016. World Checklist of Hornworts and Liverworts. *PhytoKeys* 59: 1-828. <http://dx.doi.org/10.3897/phytokeys.59.6261>
- 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 & J. E. STAJICH. 2016. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia* 108: 1028-1046. <https://doi.org/10.3852/16-042>

