



Presencia de micorrizas arbusculares y endófitos septados en *Plagiochasma rupestre* (Aytoniaceae, Marchantiophyta) del Chaco Serrano (Tucumán, Argentina)

Presence of arbuscular mycorrhizae and septate endophytes in *Plagiochasma rupestre* (Aytoniaceae, Marchantiophyta) from the Chaco Serrano (Tucumán, Argentina)

Albornoz Patricia L.^{1*}, Myriam del V. Catania², Guillermo M. Suárez³

¹ Cátedra de Anatomía Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo (UNT), Miguel Lillo 205. Instituto de Morfología Vegetal, Fundación Miguel Lillo (FML), Miguel Lillo 251, (T4000JFE) San Miguel de Tucumán, Argentina.

² Instituto Criptogámico, Laboratorio de Micología, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (T4000JFE) San Miguel de Tucumán, Argentina.

³ Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo (UNT), Miguel Lillo 205, (T4000JFE) San Miguel de Tucumán. Unidad Ejecutora Lillo (CONICET – Fundación Miguel Lillo), Miguel Lillo 251 (T4000JFE) San Miguel de Tucumán, Argentina.

* Autor correspondiente: albornoz@csnat.unt.edu.ar; plalbornoz@lillo.org.ar

RESUMEN

Los hongos micorrícicos arbusculares han sido registrados en distintos representantes de briófitas (sensu lato). En este trabajo se da a conocer la colonización micorrícica arbuscular en *Plagiochasma rupestre*, encontrada en el Chaco Serrano de la Provincia de Tucumán, Argentina. Además, se describen los tipos morfológicos de colonización *Arum* y *Paris* y la co-ocurrencia con endófitos septados oscuros (ESO) y hongos septados desconocidos (HSD).

Palabras clave — Endófitos; micorriza arbuscular; *Plagiochasma*.

► Ref. bibliográfica: Albornoz, P. L.; Catania, M. del V.; Suárez, G. M. 2022. Presencia de micorrizas arbusculares y endófitos septados en *Plagiochasma rupestre* (Aytoniaceae, Marchantiophyta) del Chaco Serrano (Tucumán, Argentina). *Lilloa* 59 (2): 189-197. doi: <https://doi.org/10.30550/j.lil/2022.59.2/2022.08.10>

► Recibido: 23 de mayo 2022 – Aceptado: 10 de agosto 2022 – Publicado en línea: 25 de agosto 2022.

► URL de la revista: <http://lilloa.lillo.org.ar>



► Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi have been recorded in different representatives of bryophytes (sensu lato). In this work, the colonization of *Plagiochasma rupestre* found in the Chaco Serrano of Tucumán (Argentina) is disclosed. In addition, *Arum* and *Paris* morphological types and the co-occurrence with dark septate endophytes (DES) and unknown septate fungi (SUF) are described.

Keywords — Arbuscular mycorrhizae; endophytes; *Plagiochasma*.

INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) se asocian con más del 80% de las plantas terrestres vasculares y no vasculares (briófitas y plantas afines), epifitas o acuáticas; los cuales se encuentran en diversos ecosistemas (Brundrett, 2002; Bidartondo et al., 2011). Particularmente, las briófitas juegan un papel importante en la dinámica de la vegetación del sotobosque, el ciclo de nutrientes, la estructura y estabilidad del suelo (Smith y Smith, 1997). Las mismas carecen de tejido vascular por lo que adoptan distintas estrategias para captar nutrientes. Son numerosos los estudios que demuestran la asociación de las briófitas con diferentes microorganismos (Estébanez et al., 2011). La presencia de estructuras fúngicas de HMA ha sido reportada en este grupo de plantas (Scagel et al., 1982; Zhang y Guo, 2007; Cottet y Messuti, 2017, 2022). Si bien la investigación es aún escasa, se encuentran mayores registros en antocerotes (Anthocerotophyta) y hepáticas (Marchantiophyta) que en especies de musgos (Bryophyta). Asociaciones con HMA fueron citadas en varias especies de hepáticas en distintas regiones del mundo (Rabatin, 1980; Read et al., 2000; Ligrone et al., 2007; Cottet y Messuti, 2019). En estas asociaciones los talos de los gametofitos son colonizados por las hifas de HMA a través de los rizoides; siendo confirmada la identidad de los HMA en diferentes especies de hepáticas mediante estudios morfológicos y moleculares (Chambers et al., 1999; Ligrone et al., 2007; A.B.De., 2017).

En las hepáticas se cita la presencia de estructuras de HMA en *Plagiochasma rupestre* (G. Forst.) Steph. y *Lunularia cruciata* (L.) Lindb. de plantas obtenidas por cultivo *in vitro* (Silvani et al., 2012; Fonseca y Berbara, 2008); mientras que en *Aneura mirabilis* (Malmb.) Wickett & Goffinet (Bidartondo et al., 2003), y *Mannia fragrans* (Balb.) Frye & L. Clark (A.B.De., 2017) las plantas proceden de ambientes naturales.

En la Argentina, las asociaciones con HMA en Marchantiophyta han sido poco estudiadas. Silvani et al. (2012) en sus cultivos duales *in vitro* demostraron la presencia de especies de HMA en *Plagiochasma rupestre*, describiendo la morfología y el efecto del crecimiento del hongo en el talo. Cottet y Messuti (2019, 2022) estudiaron la colonización de HMA en tres especies del género *Symphyogyna* Nees & Mont. y en *Asterella chilensis* (Nees & Mont.) A. Evans. El objetivo de este trabajo es dar a conocer la colonización de HMA y endófitos septados en *P. rupestre* proveniente de un ecosistema natural del Chaco Serrano de la provincia de Tucumán, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los especímenes de *P. rupestre* fueron recolectados en la Provincia de Tucumán (Dep. to. Trancas, San Pedro de Colalao), Argentina.

Para la caracterización morfológica del talo se realizaron cortes transversales a “mano libre” de 35 a 45 μm de espesor. Los cortes fueron teñidos con violeta de cresilo (5%) y montados posteriormente en agua glicerina (1:1) (D’ Ambrogio de Argüeso, 1986).

Para observar la colonización de HMA, los gametofitos fueron lavados con agua corriente y preservados en etanol al 70% a temperatura ambiente. Posteriormente, para clarificar, se colocaron en cajas de Petri con hidróxido de potasio al 1% durante 20 minutos a 80°C (Cottet *et al.*, 2018). Debido a la escasa clarificación del material se procedió a reemplazar por hidróxido de potasio al 10% de 1 a 2 horas a 80°C. Luego el material fue acidificado con ácido clorhídrico al 1% durante 10 minutos y teñido con azul de tripán al 0,05% en glicerina.

El tipo de colonización se determinó utilizando los criterios de Dickson (2004), quien basó la clasificación en la presencia de hifas inter e intracelulares, arbúsculos, enrollamientos hifales y enrollamientos hifales arbusculares. Los HMA se identificaron siguiendo los criterios taxonómicos de Schenck y Pérez (1990), Schüßler *et al.* (2001) además de utilizar la información de la International Culture Collection of Vesicular–Arbuscular Mycorrhizal Fungi (<http://www.invam.caf.wdu.edu>).

Para determinar el sector del talo asociado con HMA, se realizaron cortes transversales de la porción distal y proximal.

Para observar las estructuras características de los HMA, se montaron cinco fragmentos de 1 cm de largo por gametofito (de un total de 5) en agua-glicerina (1:1). Los mismos fueron examinados con microscopio estereoscopio (Olympus SZX7, Olympus Co., Tokyo, Japan) y microscopio óptico (Axiostar Plus, Carl Zeiss, Göttingen, Alemania) y fotografiados con cámara digital (Canon A620, Power Shot 7,1 M.P). El material estudiado con microscopio electrónico de barrido (MEB) fue fijado en solución de Karnovsky (formaldehído al 4%, glutaraldehído al 5% y tampón fosfato de sodio 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4) (Karnovsky, 1965) y deshidratado pasando por una serie de alcoholes y acetona. Luego se secó con punto crítico y posteriormente se recubrió con oro-paladio (Dorador, Ion Spotter, JFC 1100 Joel Japón).

Los ejemplares estudiados se conservan en el herbario criptogámico de la Fundación Miguel Lillo (LIL).

RESULTADOS

Los gametofitos de *Plagiochasma rupestre* son acintados, frecuentemente creciendo en forma masiva; glauco a verde pálido; ramificados dicotómicamente hacia el ápice. Hacia el lado ventral presentan rizoides unicelulares lisos y verrucosos (con proyecciones intracelular de la pared) y escamas a ambos lados de la línea media (Fig. 1A, B; Fig. 2A). En corte transversal, la superficie dorsal es plana a levemente curvada hacia los márgenes y la ventral convexa. Ambas epidermis son unistratas, de paredes delgadas y cutícula lisa con poros rodeados por 4 a 6 células hacia la cara dorsal. El



Fig. 1. *Plagiochasma rupestre*. A) Hábitat natural. B) Aspecto general del talo.

Fig. 1. *Plagiochasma rupestre*. A) Natural habitat. B) General aspect of the thallus.

tejido fundamental está formado por 13 a 17 estratos de células en la porción central y de 2 a 4 capas hacia las alas del talo. Cámaras aeríferas se presentan hacia la superficie adaxial (Fig. 2B, C).

La epidermis y el parénquima subepidérmico (2 a 3 estratos) se encuentran colonizadas por HMA hacia ambas superficies, presentando estructuras correspondientes con dos tipos morfológicos simultáneos: *Arum* y *Paris*. La morfología *Arum* es la de mayor frecuencia, presentando hifas finas y gruesas intercelulares de 1 μm y 4 μm de ancho respectivamente, con estructuras en “H” que se disponen paralelas a la superficie del talo (Fig. 2D, E) y forman arbuscúlos laterales intracelulares (Fig. 2F, G). Estas hifas llevan escasas vesículas esféricas terminales (Fig. 2H). La morfología *Paris* es de hifas gruesas intracelulares de 3 μm de ancho que forman circunvoluciones (Fig. 3A). El tejido parenquimático presenta, además, dos tipos de endófitos con hifas intercelulares y microesclerocios intracelulares: endófitos septados oscuros de color castaño (ESO) y hongos septados desconocidos (HSD) (Fig. 3B, C). Asimismo, se observaron esporas de *Glomus* sp. y *Gigaspora* sp. adheridas al talo (Fig. 3D, E). Las hifas de los HMA ingresan al talo a través de los rizoides lisos y verrucosos o trabeculados (Fig. 3F, G).

Material examinado.— ARGENTINA. Prov. Tucumán, Dpto. Trancas, San Pedro de Colalao, 26°15'11"S 65°30' 22"O, sobre paredón arenoso, 12-II-2022, G. Suárez 1908, 1909 (LIL).

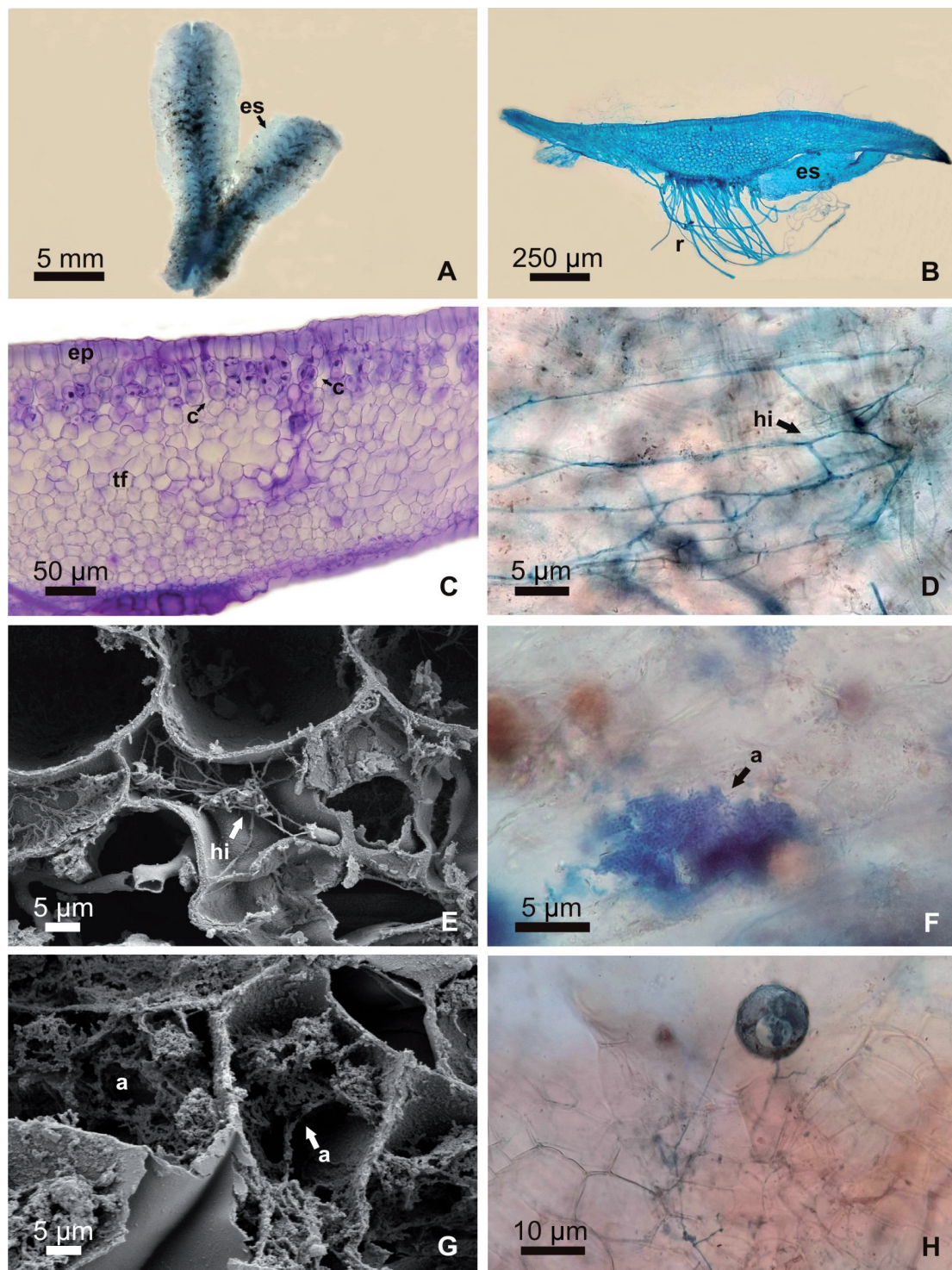


Fig. 2. *Plagiochasma rupestre*. A) Aspecto del talo, vista dorsal. B) Corte transversal del talo. C) Detalle del corte transversal del talo mostrando epidermis, tejido fundamental, cámaras aeríferas. D y E) Hongo micorrízico arbuscular (HMA), micelio fino intercelular tipo *Arum*. F y G). Arbúsculo. H) Vesícula esférica. c: cámara aerífera; ep: epidermis; es: escamas (vistas por transparencia); r: rizoide; tf: tejido fundamental; hi: hifa intercelular; a: arbúsculo.

Fig. 2. *Plagiochasma rupestre*. A) Thallus aspect, dorsal view. B) Cross section of the thallus. C) Detailed cross section of the thallus showing the epidermis, fundamental tissue and the air chambers. D y E) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), fine intercellular mycelium *Arum* type. F y G). Arbuscule. H) Spherical vesicle. c: air chambers; ep: epidermis; es: scales (view by transparency); r: rhizoid; tf: fundamental tissue; hi: intercellular hyphae; a: arbuscule.

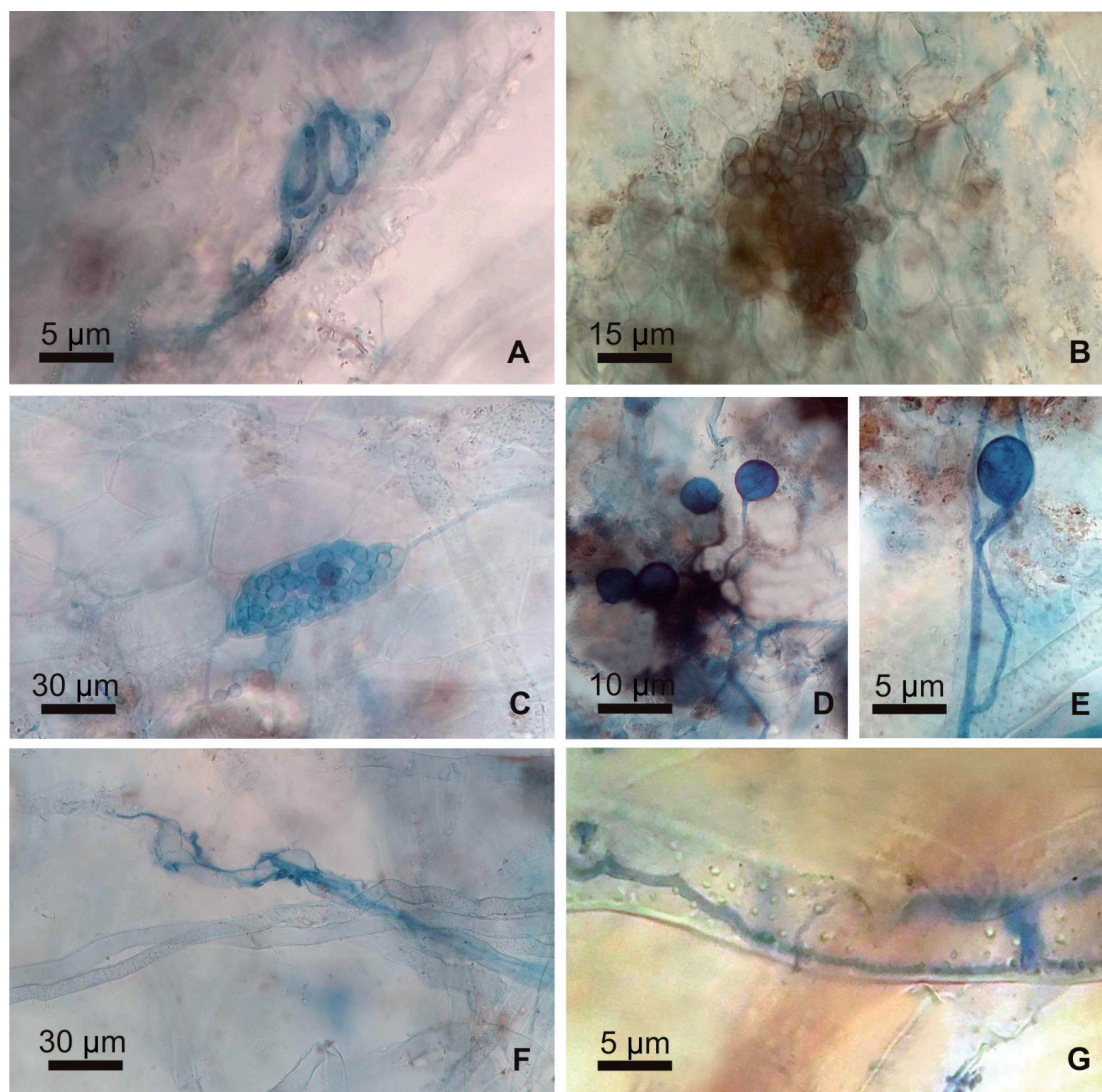


Fig. 3. *Plagiochasma rupestre*. A) Hongo micorrízico arbuscular (HMA), micelio grueso intracelular tipo *Paris*. B) Endófito oscuro septado, microesclerocio. C) Hongo septado desconocido. D) Esporas de *Glomus* sp. E) Espora de *Gigaspora* sp. F) HMA colonizando el rizoide liso. G) HMA colonizando el rizoide verrucoso.

Fig. 3. *Plagiochasma rupestre*. A) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), thick intercellular mycelium *Paris* type. B) Dark septate endophyte, microsclerotia. C) unknown septate fungus. D) *Glomus* sp. spore. E) *Gigaspora* sp. spore F) Smooth rhizoid colonization by the AMH. G) Pegged rhizoid colonization by the AMH.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Plagiochasma rupestre presenta HMA y otros endófitos fúngicos en las plantas muestreadas provenientes de ambientes naturales del Chaco Serrano de la Provincia de Tucumán. Ligrone *et al.* (2007) mencionaron que esta especie está asociada con Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001) en la naturaleza, sin definir el tipo morfológico de colonización.

Las estructuras características de la simbiosis micorrízica se observaron en la epidermis y tejido subepidérmico de ambas superficies del talo. Carafa *et al.* (2003) y Field *et al.* (2015) mencionaron que en *Haplomitrium* Nees la colonización está res-

tringida a las capas epidérmicas, mientras que para Ligrone *et al.* (2007) y Rimington *et al.* (2018) en las hepáticas los hongos generalmente ocupan regiones específicas de los talos. En *P. rupestre* la colonización sucede a través de los rizoides (Fig. 3F, G) que actúan como conductos para la entrada de hongos en las hepáticas talosas (Ligrone *et al.*, 2007; Pressel *et al.*, 2010). Silvani *et al.* (2012) observaron hifas de HMA colonizando talos de *P. rupestre* a través de rizoides en cultivos *in vitro*.

La morfología de la colonización en *P. rupestre* evidenció la presencia simultánea de los tipos *Arum* y *Paris*. La presencia de la morfología *Paris* es coincidente con lo mencionado por Smith y Smith (1997), quienes concluyeron que este tipo de colonización predomina en las briófitas, también mencionado por Cottet y Messuti (2022) para especímenes de *Asterella chilensis*, una hepática talosa que crece en Argentina, Chile y Uruguay. Un tipo morfológico intermedio entre *Arum* y *Paris* (tipo *Intermediate 1*) fue citado en *Phaeoceros laevis* (Anthocerotophyta) por Cottet y Messuti (2017). En *P. rupestre* la colonización HMA fue similar al tipo *Paris*, en algunos casos intermedia entre *Arum* y *Paris* (Silvani *et al.*, 2012).

Se observaron hifas y microesclerocios típicos de HSO y HSD. Los hongos endófitos oscuros se relacionan con la producción de metabolitos secundarios con funciones antibióticas y antifúngicas que le permiten mantener una mayor sanidad en los tejidos de diversas plantas (Chadha *et al.*, 2014). Mientras que los HMA ejercen un efecto protector y contribuyen a la reducción de enfermedades provocadas por diversos patógenos del suelo que afectan los tejidos radicales (Azcón-Aguilar *et al.*, 2002; Pozo *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos en este trabajo mencionan y describen la morfología de la colonización de HMA y la presencia de ESO y HSD en *P. rupestre*. La co-ocurrencia entre esta hepática y hongos permite ampliar el conocimiento de estas asociaciones en un ecosistema natural.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo subsidiado por los proyectos B-0002-1 (Fundación Miguel Lillo), PICT 0810 y PIUNT G631.

BIBLIOGRAFÍA

- A.B.De. (2017). Association of *Glomus tenue* (Greenall) Hall with the hepatic *Mannia fragrans* (Balb.) Frye & Clark. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* 4 (8): 51-58. DOI: <http://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2017.04.08.008>
- Azcón-Aguilar, C., Jaizme-Vega, M. C. y Calvet, C. (2002). The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. In: Mycorrhizal technology in agriculture. S. Gianinazzi, H. Schüepp, J.M. Barea, & K. Haselwandter (Eds.), pp 187-197. Birkhäuser Verlag, Germany.
- Bidartondo, M. I., Bruns, T. D., Weiss, M., Sérgio, C. y Read, D. J. (2003). Specialized cheating of the ectomycorrhizal symbiosis by an epiparasitic liverwort. *Proceedings of the Royal Society B*, 270: 835-842.

- Bidartondo, M. I., Read, D. J., Trappe, J. M., Merckx, V., Ligrone, R. y Duckett, J. G. (2011). The dawn of symbiosis between plants and fungi. *Biology Letters* 7: 574-577. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2010.1203>
- Brundrett, M.C. (2002). Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154: 275-304.
- Carafa, A., Duckett, J. G. y Ligrone, R. (2003) Subterranean gametophytic axes in the primitive liverwort *Haplomitrium* harbour a unique type of endophytic association with aseptate fungi. *New Phytologist* 160: 185-197. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00849.x>
- Chadha, N., Mishra, M., Prasad, R. y Varma, A. (2014). Root endophytic fungi: research update. *Journal of Biology and Life Science* 5: 135-158. <https://doi.org/10.5296/jbls.v5i2.5960>
- Chambers, S. M., Williams, P. G., Seppelt, R. D. y Cairney, J. W. G. (1999). Molecular identification of *Hymenoscyphus* sp. from rhizoids of the leafy liverwort *Cephaloziella exiliflora* in Australia and Antarctica. *Mycological Research* 103: 286-288. <https://doi.org/10.1017/S0953756298007217>
- Cottet, A. C. y Messuti, M. I. (2017). Identificación del tipo morfológico de micorriza arbuscular en *Phaeoceros laevis* (Anthocerotophyta). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 52 (2): 291-293.
- Cottet, A. C. y Messuti, M. I. (2019). New evidence about the interactions between liverworts in the genus *Symphyogyna* (Pallaviciniaceae) and arbuscular mycorrhizal fungi. *Symbiosis* 79 (2): 117-121. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00634-2>
- Cottet, A. C. y Messuti, M. I. (2022). Nuevo registro de micorriza arbuscular en *Asterella chilensis* (Aytoniaceae, Marchantiophyta), Patagonia, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 57 (1): 3-7. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v57.n1.35364>
- Cottet, A. C., Scervino, J. M. y Messuti, M. I. (2018). An improved staining protocol for the assessment of arbuscular mycorrhizal in bryophytes. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 53 (2): 201-206. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v53.n2.20577>
- D' Ambrogio de Argüeso, A. (1986). Manual de técnicas de histología vegetal. Editora Hemisferio Sur, Buenos Aires, 83 pp.
- Dickson, S. (2004). The *Arum-Paris* continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 163 (1): 187-200. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01095.x>
- Estébanez, B., Draper, I. y Díaz de Aza, R. (2011). Briófitos: una aproximación a las plantas terrestres más sencillas. *Memorias de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 9: 19-73.
- Field, K. J., Rimington, W. R., Bidartondo, M. I., Allison, K. E., Beerling, D. J., Cameron, D. D., Duckett, J. G., Leake, J. R. y Pressel, S. (2015). First evidence of mutualism between ancient plant lineages (Haplomitriopsida liverworts) and Mucoromycotina fungi and its response to simulated Palaeozoic changes in atmospheric CO₂. *New Phytologist* 205: 743-756. <https://doi.org/10.1111/nph.13024>

- Fonseca, H. M. A. C. y Berbara, R. L. L. (2008). Does *Lunularia cruciata* form symbiotic relationships with either *Glomus proliferum* or *G. intraradices*? *Mycological Research* 112: 1063-1068.
- Karnovsky, M. J. (1965). A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137-138.
- Ligrone, R., Carafa, A. Lumini, E., Bianciotto, V., Bonfante, P. y Duckett, J. G. (2007). Glomeromycotean associations in liverworts: A molecular cellular and taxonomic analysis. *American Journal of Botany* 94 (11): 1756-1777.
- Pozo, M. J., Cordier, C., Dumas-Gaudot, E., Gianinazzi, S., Barea, J. M. y Azcon-Aguilar, C. (2002). Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defense response to *Phytophthora* infection in tomato plants. *Journal of Experimental Botany* 53: 525-534.
- Pressel, S., Bidartondo, M. I., Ligrone, R. y Duckett, J. G. (2010). Fungal symbioses in bryophytes: new insights in the twenty first century. *Phytotaxa* 9: 238-253.
- Rabatin, S. C. (1980). The occurrence of the vesiculararbuscular mycorrhizal fungus *Glomus tenuis* with moss. *Mycologia* 72: 191-195.
- Read, D. J., Duckett, J. G., Francis, R., Ligrone, R. y Russell, A. (2000). Symbiotic fungal associations in "lower" land plants. *Philosophical Transactions of the Royal Sciences* 355: 815-831. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0617>
- Rimington, W. R., Pressel, S., Duckett, J. G., Field, K. J., Read, D. J. y Bidartondo, M. I. (2018). Ancient plants with ancient fungi: liverworts associate with early-diverging arbuscular mycorrhizal fungi. *Proceedings of the Royal Society B* 285: 20181600. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2018.1600>
- Scagel, R. F., Bandoni, R. J., Maze, R. J., Rouse, G. E., Shoefield, W. B. y Stein, J. R. (1982). *Nonvascular Plants*. Wadsworth Publ. Co., Belmont, Cal., USA.
- Schenck, N. C. y Pérez, Y. (1990). *Manual for the identification of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi*. INVAM, University of Florida, Gainesville.
- Schüßler, A., Schwarzott, D. y Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.
- Silvani, V. A., Rothen, C. P., Rodríguez, M. A., Godeas, A. y Fracchia, S. (2012). The thalloid liverwort *Plagiochasma rupestre* supports arbuscular mycorrhiza-like symbiosis in vitro. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28: 3393-3397. DOI 10.1007/s11274-012-1146-7
- Smith, F. A. y Smith, S. E. (1997). 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>
- Zhang, Y. y Guo, L. D. (2007). Arbuscular mycorrhizal structure and fungi associated with mosses. *Mycorrhiza* 17: 319-325. DOI 10.1007/s00572-007-0107-8