

ANALES DE EDAFOLOGIA Y AGROBIOLOGIA



CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

Anal. Edaf. Tomo XXXIII. Núms. 5-6. Págs. 343-498

Madrid, Mayo-Junio 1974

ESTUDIOS RECAPITULATIVOS

LA ULTRAESTRUCTURA DE LOS LIQUENES (*)

P O R

M.^a C. ASCASO

S U M M A R Y

THE ULTRASTRUCTURE OF LICHENS

The ultrastructure of the fungus-alga association in lichens has been reviewed. Moreover, the influence of different environmental conditions was examined electron microscopically.

1. INTRODUCCIÓN

Los líquenes son el producto de la asociación entre diferentes hongos y algas. Representan un tipo de simbiosis, generalmente considerada un mutualismo, la cual, después de varios años de estudios, aún no está totalmente comprendida (1).

En los últimos años, la microscopía electrónica ha aportado soluciones de tipo morfológico a este problema. El gran poder de resolución del microscopio electrónico (M. E.) ayuda a la comprensión de la estructura fina de los componentes del líquen.

2. EL ALGA. SU ESTRUCTURA

Especies de género *Gloeocapsa* se encuentran como ficobiontes en los líquenes *Gonohymenia mesopotamica* Stein y *G. sinaica* Galun (19). El tamaño del alga madura es de alrededor de $8 \times 4 \mu$.

Observada al M. E. distinguimos: la pared celular, que consiste en una envoltura fibrilar (S) envolviendo cuatro capas (fig. 1). Este tipo de composición de pared ha sido encontrado en varias algas azul-verdes (18).

La estructura fina del citoplasma queda detallada en la figura 2. Es curioso observar en ella la existencia de cuerpos muy osmiófilos

(*) Este trabajo es parte preliminar de una tesis doctoral sobre la acción de los líquenes sobre las rocas.

que corresponden a gránulos según Pankratz y Bowen (18), a glóbulos osmiófilos según Peat (20) o a los llamados plastoglóbulos por Peveling (22).

La estructura del núcleo ha sido estudiada en otra alga, *Anabaena cylindrica*, por Hopwood y Glauert (6). Generalmente es difícil obtener fotografías de núcleos debido al pequeño volumen que ocupa dentro del citoplasma.

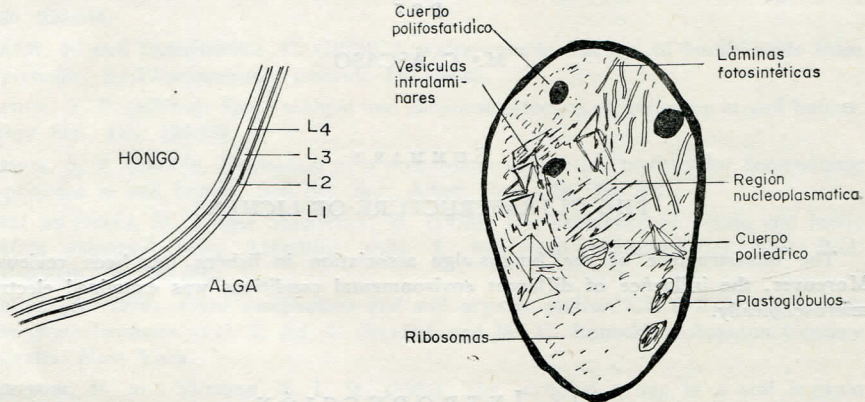


Fig. 1

Fig. 2

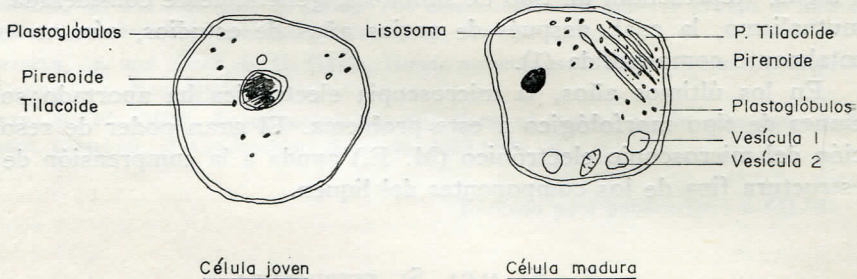


Fig. 3

La estructura de las algas de los líquenes bajo otros aspectos y siempre con el empleo del M. E. ha sido estudiada por otros autores (4, 5, 14, 15, 24, 25, 28, 29). A continuación se resumen los trabajos citados.

Durante la vida del ficobionte ocurren cambios en su estructura. Hay que hacer resaltar que, en el caso estudiado (*Squamaria crassa*), estos cambios no son debidos a la penetración del hongo. Es importante hacer constar que, según algunos autores (8), en el caso de líquenes que tienen como ficobionte especies del género *Trebouxia*, la invasión del hongo no es un fenómeno obligatorio para las relaciones mutuas

entre los simbiosntes. Los cambios que ocurren entre la edad joven y la madura son notables (fig. 3). Tanto la buena organización de los tilacooides como la aparición de mayor número de lisosomas nos muestran la complejidad de funciones de la célula adulta.

Cuando la célula pasa de adulta a senescente también se producen cambios notables en la ultraestructura algal (fig. 4), y aunque, en este caso, el líquen no pertenece al gen. *Squamaria*, sino al *Aspicilia*, los estudios corresponden al mismo trabajo. Se puede observar que, en la célula senescente, el incremento tanto en tamaño como en número de los lisosomas, con respecto a la célula madura, se acompaña con una acusada degeneración mitocondrial.

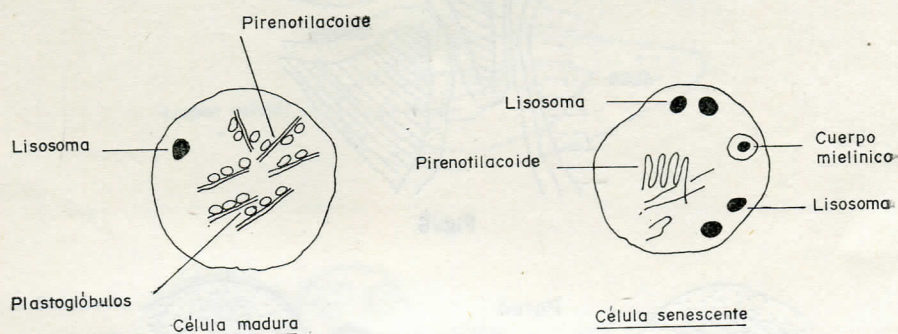


Fig. 4

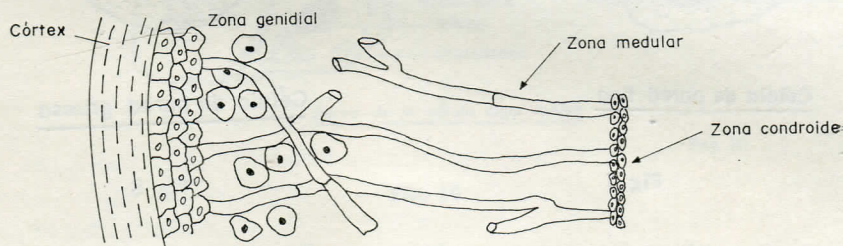


Fig. 5

La función de almacenamiento de enzimas líticos que tienen los lisosomas nos explica el por qué de su aumento en la fase senescente. La rotura del lisosoma y la liberación de estos enzimas ocasiona la destrucción de la célula. Por otro lado, se sabe que las mitocondrias siempre se acumulan en las zonas de mayor actividad de la célula. El estado senescente se caracteriza por la pérdida de actividad metabólica y esto explica la degeneración mitocondrial observada.

3. EL HONGO. SU ESTRUCTURA

Estudiando dos especies de líquenes pertenecientes al género *Usnea*, *Usnea rockii* Zahbr y *U. pruinososa* Mot, se ha llegado a la conclusión de que en el hongo existe un notable polimorfismo (6), distinguiéndose cuatro tipos de hifas diferentes correspondientes a las distintas zonas del líquen (fig. 5):

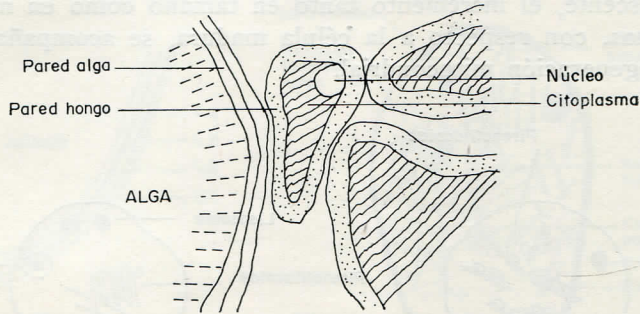


Fig. 6

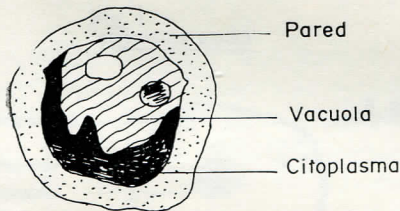
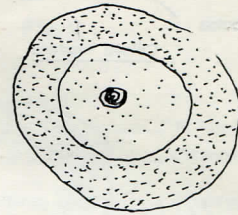
Celula de pared finaCélula de pared gruesa

Fig. 7

Fig. 8

A) Las *hifas de la zona gonidial* (fig. 6), de 2,5 μ de diámetro y pared de 0,5 μ de grosor. El núcleo, de doble membrana perforada por múltiples poros, tiene 1,5 $\mu \times 3 \mu$. Las mitocondrias miden entre 0,5 y 1,0 μ .

B) Las *hifas de la zona medular* (fig. 7). Las paredes de las células de esta zona son de dos tipos: a) de pared fina (de 1 μ de espesor) y b) de pared gruesa (2 μ de espesor). El citoplasma de estas células es denso, revelando pocos detalles de su ultraestructura. Sin embargo, en ocasiones, se observan algunas mitocondrias y vacuolas.

C) Las *hifas de la zona condroide* (fig. 9). Son semejantes a las anteriores en tamaño y morfología, excepto en que el material denso

a los electrones de la capa media lo es menos y la capa más externa de la pared de las células son confluentes.

4. RELACIÓN ALGA-HONGO

Las interrelaciones entre alga y hongo han sido analizadas en *Dermatocarpon hepaticum* Ach. por Galun y cols. (11). Para llegar a una comprensión lo más exacta posible de la relación alga-hongo los autores comienzan por estudiar separadamente cada simbionte. El ficobionte es, en este caso, *Myrmecia biatorellae* (13). La ultraestructura del hongo en la zona medular se muestra esquemáticamente en la figura 11.

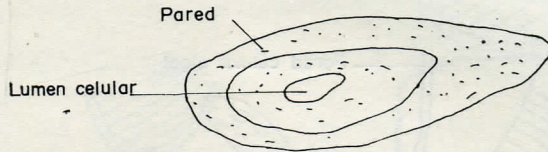
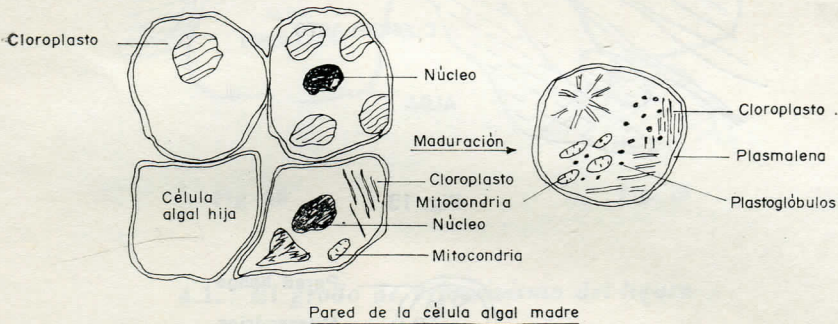


Fig. 9



Pag. 10

Fig. 10

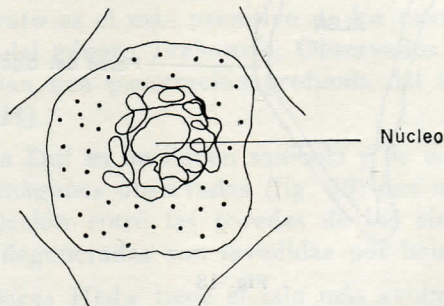


Fig. 11

En la figura 12 se muestra la alteración, en zonas de la pared algal, por aproximación del protoplasma del hongo. También aparecen zonas opacas (R) que son restos de desintegración de la pared.

Estudios más detallados, en este caso en *Parmelia sulcata*, han permitido realizar el esquema correspondiente a la figura 13. Se interpreta (27) que el haustorio penetra en la célula algal por mecanismos tanto mecánicos como bioquímicos. La presencia de mesosomas y lisosomas en el haustorio sugiere la digestión enzimática. La abundancia de mitocondrias indica una elevada actividad metabólica.

En diversos líquenes se encuentran distintos grados de penetración del alga por el hongo que, como se verá a continuación, no sólo depende de la especie estudiada sino también de otros factores:

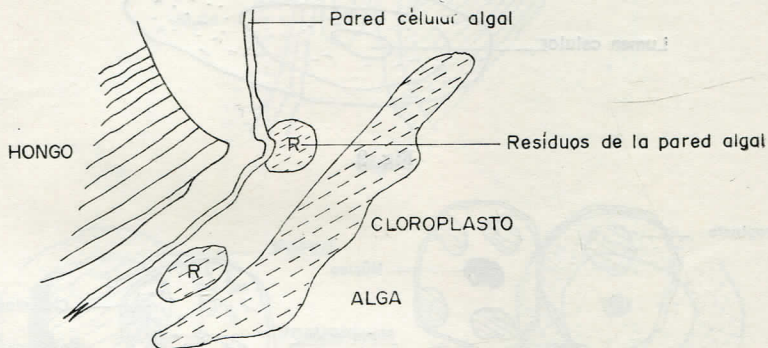


Fig. 12

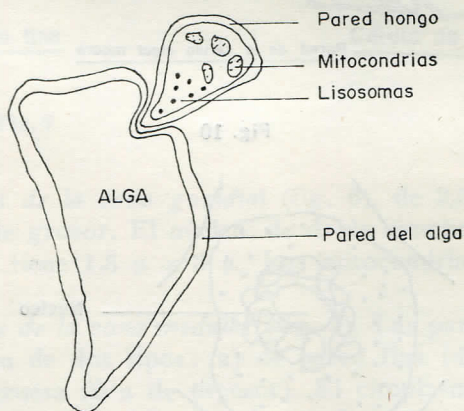


Fig. 13

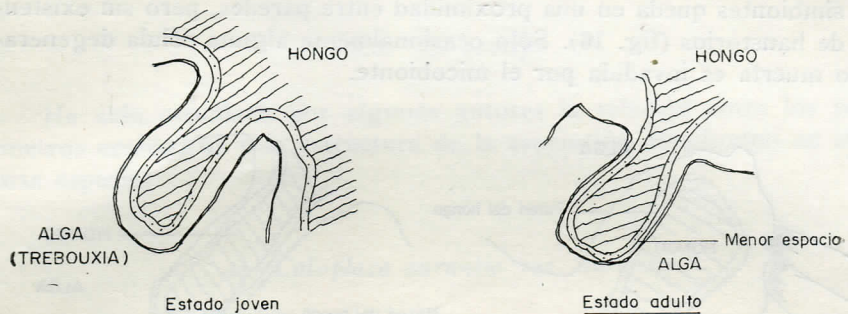


Fig. 14

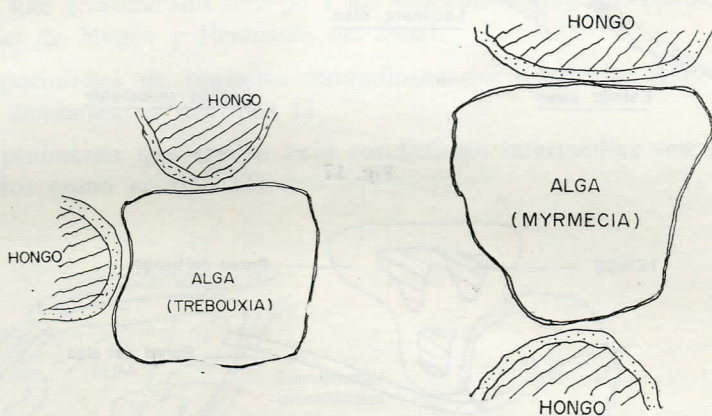


Fig. 15

Fig. 16

4.1. El grado de primitivismo del líquen

Estudios al M. E. sobre este aspecto han sido realizados por Galun y cols. (12) en tres líquenes con distinto grado de desarrollo recogidos en la alta Galilea (Israel). *Lecidea olivacea* Hoffm de talo fino y muy adherido al sustrato es el más primitivo de los estudiados. Tiene como ficobionte algas del género *Trebouxia*. Observados cortes ultrafinos de este líquen revelan una penetración profunda del haustorio del hongo en el alga (fig. 14).

Lecidea opaca Duf es un líquen saxícola y de una organización más avanzada. Las imágenes observadas (fig. 15) nos muestran únicamente una estrecha relación entre las paredes de los simbiontes. Solamente algunas células degeneradas son invadidas por haustorios.

Lecidea decipiens Hedw tiene el talo más evolucionado de los estudiados. El ficobionte pertenece al género *Myrmecia*. La relación entre

los simbiontes queda en una proximidad entre paredes, pero sin existencia de haustorios (fig. 16). Sólo ocasionalmente alguna célula degenerada o muerta es invadida por el micobionte.

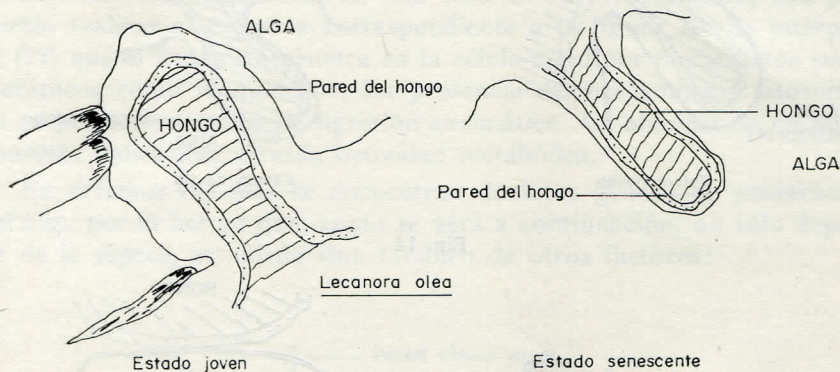


Fig. 17

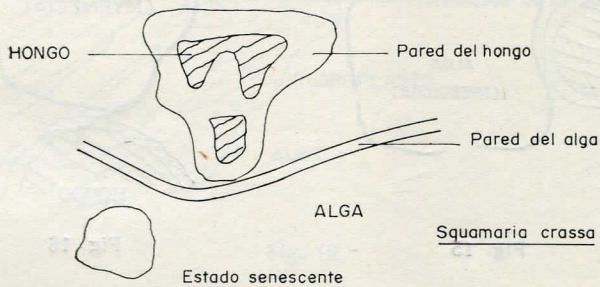


Fig. 18

4.2. La edad del líquen

Plessl (23), en 1963, examinó al microscopio de luz la relación entre los simbiontes. Aprovechando el gran poder de resolución del M. E. han sido múltiples los trabajos que han tratado de estudiar de diferentes maneras este problema (2, 4, 6, 7, 17, 21, 26). Sin embargo, fueron Galun y cols. (1970) (9) los que iniciaron un estudio teniendo en cuenta la edad del líquen. Las fotografías obtenidas en *Lecanora olea* Reich. y Galun, en estado joven y senescente indican las diferencias existentes entre ambos estados (fig. 17). En *Squamaria crassa* (Huds.) Poelt, se observó que, mientras sólo el 0,5 por 100 de las células senescentes eran infectadas por haustorios fúngicos (fig. 18), de las degeneradas lo eran el 40 por 100, no existiendo delimitación clara entre los simbiontes.

4.3. *El ecotipo*

Ha sido estudiada por algunos autores la relación entre los parámetros ecológicos y la estructura de la asociación alga-hongo en algunas especies:

a) *Caloplaca aurantia* var. *aurantia*

Han sido investigados tres ecotipos de este líquen (3):

- i. Se han considerado ecotipo I los especímenes de localidades desérticas de Negev y Península del Sinaí.
- ii. Especímenes de regiones montañosas del territorio Mediterráneo se denominaron ecotipos II.
- iii. Especímenes que crecen bajo condiciones intermedias son considerados como ecotipo III.

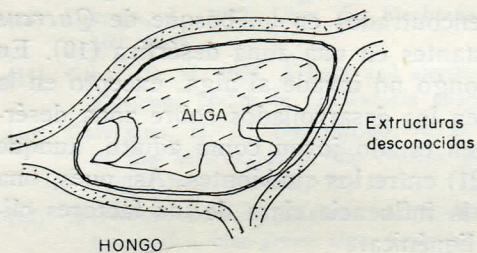
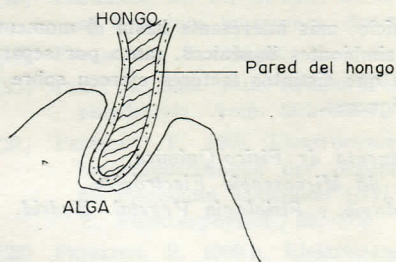


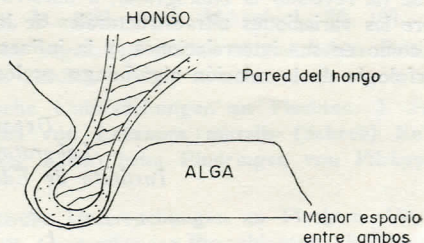
Fig. 19



Fig. 20



Estado joven



Estado maduro

Fig. 21

Los estudios ultraestructurales revelan que en el ecotipo I la célula algal está en estrecho contacto con las hifas fúngicas. En el 12 por 100 de los casos la hifa penetra en la célula algal, y la única pared entre el protoplasma del alga y la pared del haustorio es la membrana citoplasmática del alga. Por su parte, en el ecotipo II no revela penetración del hongo en el alga. En el ecotipo III tampoco hay casos de penetración haustorial. En este ecotipo ha sido encontrado un fenómeno especial. Es la existencia en el cloroplasto de depresiones con aspecto vesiculoso, acompañadas por un desplazamiento de la membrana celular (figura 19).

Una vez observados los fenómenos anteriormente expuestos, los autores concluyen que, en condiciones favorables, la unión de paredes es más o menos estrecha, pero es en condiciones desfavorables (altas temperaturas, sequías, fuerte insolación, etc.) cuando se producen las penetraciones haustoriales, invaginándose la pared algal.

b) *Lecanora radiosa* Hoffm

Los especímenes de *L. radiosa* fueron recogidos en dos lugares distintos. Algunos de ellos fueron encontrados en un bosque de *Quercus* con clima mediterráneo y los restantes en una zona desértica (10). En los primeros se observa que el hongo no invade al alga, excepto en la madurez (fig. 20), mientras que en los desarrollados sobre zona desértica la invasión se realiza tanto en estado joven como adulto, aunque varía la distancia existente (fig. 21) entre los simbioses. Así pues, una vez más ha podido comprobarse la influencia clara de los factores climáticos sobre la ultraestructura líquénica.

RESUMEN

Se ha revisado la bibliografía, a nuestro juicio, más interesante hasta el momento sobre las variaciones ultraestructurales de los simbioses líquénicos, tanto por separado como en sus interrelaciones, y la influencia que distintos factores ejercen sobre la morfología de la relación alga-hongo en los líquenes.

*Departamento de Físico-Química.
Laboratorio de Microscopía Electrónica.
Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal. Madrid.*

BIBLIOGRAFÍA

- (1) AHMADJIAN, V. 1965. Lichens. Ann. Rev. Microbiol., 19, 1.
- (2) AHMADJIAN, V. 1966. Lichens. Symbiosis, vol. I (Eds. S. M. Henry), 35. Nueva York.

- (3) BEN-SHAUL, Y., PARAN, N. y GALUN, M. 1969. The ultrastructure of the association between phycobiont and mycobiont in three ecotypes of the lichen *Caloplaca aurantia* var. *aurantia*. J. Microscopie, 8, 415.
- (4) BROWN, R. M. y WILSON, R. 1968. Electron microscopy of the lichen *Physcia aiopolia* (Ehrh) Nyl. J. Phycol., 4, 230.
- (5) BROWN, D. L. y BISALPUTRA, T. 1969. Fine structure of the blue-green algae *Nostoc sphaericum*: the structured granule. Phycol., 8, 119.
- (6) CHERVIN, R. E., BAKER, G. E. y HOHL, H. R. 1969. The ultrastructure of phycobiont and mycobiont in two species of *Usnea*. Can. J. of Bot., 46, 241-245.
- (7) DURRELL, L. W. 1967. An electron microscope study of algae contact in lichens. Mycopathol. Mycol. Appl., 31, 273.
- (8) GALUN, M., PARAN, N. y BEN-SHAUL, Y. 1970. Structural modifications of the phycobiont in the lichen thallus. Protoplasma, 69, 85-96.
- (9) GALUN, M., PARAN, N. y BEN-SHAUL, Y. 1970. The fungus-alga association in the Lecanoraceae: An ultrastructural study. New. Phytol., 69, 599-603.
- (10) GALUN, M., PARAN, N. y BEN-SHAUL, Y. 1970. An ultrastructural study of the fungus alga association in *Lecanora radiosa* growing under different environmental conditions. J. Microscopie, 9, 801-806.
- (11) GALUN, M., PARAN, N. y BEN-SHAUL, Y. 1971. Electron Microscopic Study of the lichen *Dermatocarpon hepaticum* (Ach.) Th. Fr. Protoplasma, 73, 457-458.
- (12) GALUN, M., BEN-SHAUL, Y. y PARAN, N. 1971. The fungus-alga association in the Lecideaceae: An ultrastructural study. New. Phytol., 70, 483-485.
- (13) GEITLER, L. 1962. Über die Flechtenalge *Myrmecia biatorellae*. Ost. Bot. Z., 109, 41-44.
- (14) GIESY, R. M. 1964. A light and electron microscope study of interlamellar polyglucoside bodies in *Oscillatoria chalybia*. Amer. J. Bot., 51, 388-396.
- (15) GRIFFITHS, H. B., GREENWOOD, A. D. y MILBAMK, J. W. 1972. The frequency of the heterocysts in the *Nostoc* phycobiont of the lichen *Peltigera canina* Willd. New. Phytol., 71, 11.
- (16) HOPWOOD, D. A. y GLAUERT, A. M. 1960. The fine structure of the nuclear material of a blue-green alga *Anabaena cylindrica*. J. Biophys. Biochem. Cytol., 8, 813-823.
- (17) MOORE, R. T. y MCALEAR, J. H. 1960. Fine structure of mycota. 2. Demonstration of the haustoria in lichens. Mycologia, 52, 805.
- (18) PANKRATZ, H. S., BOWEN, C. C. 1963. Cytol. of blue-green algae. I. The cells of *Symploca muscorum*. Amer. J. Bot., 50, 387-399.
- (19) PARAN, N., BEN-SHAUL, Y. y GALUN, M. 1971. Arch. Mikrobiol., 76, 103.
- (20) PEAT, A. 1968. Fine structure of the vegetative thallus of the lichen *Peltigera polydactyla*. Arch. Mikrobiol., 61, 212-222.
- (21) PEVELING, E. 1968. Elektronenoptische Untersuchungen an Flechten. I. Strukturveränderungen der Algenzellen von *Lecanora muralis* (Schreb) Rabenh (= *Placodium saxicolom* (Nyl.) sec Klem) beim Eindringen von Pilzhyphen. Z. Pflanzenphysiol., 59, 172.
- (22) PEVELING, E. 1969 b. Elektronenoptische Untersuchungen an Flechten. IV. Die Feinstruktur einiger Flechten mit Cyanophyceen-Phycobionten. Protoplasma (Wien), 68, 209.
- (23) PLESSL, A. 1963. Über die Beziehungen von Haustorien typus und Organisation höherer Flechten. Ost. Bot. Z., 110, 194.
- (24) RIS, H. y SINGH, R. N. 1961. Electron microscope studies on blue-green algae. J. Biophys. Biochem. Cytol., 9, 639.

- (25) SMITH, R. V. y PEAT, A. 1967. Comparative structure of the gas-vacuoles of blue-green algae. Arch. Mikrobiol., 57, 111.
- (26) WALKER, A. T. 1968. Fungus-alga ultrastructure in the lichen *Cornicularia normoerica*. Amr. J. Bot., 55, 641.
- (27) WEBBER, M. M. y WEBBER, P. J. 1970. Ultrastructure of lichen haustoria: Symbiosis in *Parmelia sulcata*. Can. J. Bot., 48, 1521.
- (28) WHITON, A. y PEAT, A. 1968. Heterocyst structure in *Chlorogloea fritschii*. Arch. Mikrobiol., 58, 324.
- (29) WILDON, D. C. y MERCER, F. V. 1963. The ultrastructure of the heterocyst and akinete of the blue-green algae. Arch. Mikrobiol., 47, 19.

Recibido para publicación: 5-IX-73