

ESTUDIO AL MICROSCOPIO ÓPTICO DE LOS ASCOS EN ALGUNAS ESPECIES DE ARTHONIALES Y OPEGRAPHALES

por

GUSTAVO RENOBALLES* & EVA BARRENO**

Resumen

RENOBALES, G. & E. BARRENO (1989). Estudio al microscopio óptico de los ascos en algunas especies de Arthoniales y Opegraphales. *Anales Jard. Bot. Madrid* 46(1): 263-271.

Se estudia al microscopio óptico la estructura del asco en tres especies del género *Arthonia* (*A. epiphyscia*, *A. glaucomaria*, *A. meridionalis*), cinco de *Opegrapha* (*O. conferta*, *O. dolomítica*, *O. mougeotii*, *O. saxatilis*, *O. trifurcata*), y en *Lecanactis grumulosa*. La reacción amiloide es en todas ellas similar. Se discute esta semejanza, así como la variabilidad hallada en el seno del género *Opegrapha*, y el significado taxonómico de estos hechos. Se aporta una iconografía original del asco para ocho de las especies estudiadas.

Palabras clave: Asco bitunicado, taxonomía, *Opegraphales*, *Arthoniales*, *Opegrapha*, *Arthonia*, *Lecanactis*.

Abstract

RENOBALES, G. & E. BARRENO (1989). Light microscopic study of the asci of some species of Arthoniales and Opegraphales. *Anales Jard. Bot. Madrid* 46(1): 263-271 (in Spanish).

Ascus structure is studied by means of the optical microscope in three species of *Arthonia* (*Arthoniales*), and compared with *Lecanactis grumulosa* and five species of *Opegrapha* (*Opegraphales*). In spite of some morphological differences between the asci in the two orders, amyloid reaction is similar in both, which is interpreted as an indication of a close relationship between the orders *Arthoniales* and *Opegraphales*. A certain degree of variability is found within the different species of *Opegrapha*, a fact which is also taxonomically significant. Original line-drawings are included depicting the asci in eight of the species studied.

Key words: Bitunicate ascus, taxonomy, *Opegraphales*, *Arthoniales*, *Opegrapha*, *Arthonia*, *Lecanactis*.

INTRODUCCIÓN

La estructura del asco constituye un carácter de importancia crucial para la organización taxonómica de los ascomicetes. Una completa revisión de éste, entre otros caracteres ascomáticos, ha sido realizada por ERIKSSON (1981), estudiando, por diversos procedimientos de microscopía óptica, los tipos de las familias de ascomicetes bitunicados. Si bien, una completa dilucidación estructural y funcional del asco bitunicado y de las posibles homologías entre grupos requiere,

* Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Universidad del País Vasco, UPV/EHU. Apartado 644. 48080 Bilbao.

** Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Valencia. 46071 Burjasot (Valencia).

con seguridad, un análisis ultraestructural, la microscopía óptica, y, en particular, el estudio de la reacción amiloide en la pared ascal puede también revelar semejanzas o discrepancias taxonómicas altamente significativas.

En los últimos años, y debido a las investigaciones florísticas que hemos desarrollado en las rocas carbonatadas del País Vasco, hemos podido estudiar la estructura del asco en diversas especies liquenizadas y liquenícolas de los géneros *Arthonia* Ach. (*Arthoniales* Henssen ex Hawksworth & Eriksson), *Lecanactis* Körb. y *Opegrapha* Ach. (*Opegraphales* Choisy ex Hawksworth & Eriksson). Nuestros resultados difieren en cierta medida de las descripciones que aporta ERIKSSON (1981), y permiten suponer un grado de relación entre ambos órdenes mayor que el que este autor sugiere, así como una interesante variabilidad morfológica, no despreciable taxonómicamente, en el seno del género *Opegrapha*.

METODOLOGÍA

El material estudiado proviene de recolectas efectuadas en el País Vasco y Cantabria (la identificación de los ejemplares que han servido como base para las ilustraciones se detalla en la tabla 1). Para el estudio de los ascos se ha seguido la

TABLA 1

EJEMPLARES UTILIZADOS EN LA ELABORACIÓN DE LAS ILUSTRACIONES
(EL NÚMERO DE PLIEGO CORRESPONDE AL HERBARIO
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO)

-
- A. glaucomaria* (Nyl.) Nyl.: VIZCAYA, Monte Aldamin, 30TWN1865, 1360 m, 3-VIII-1986, sobre *Lecanora muralis* (Schreb.) Rabenh., *G. Renobales*, BIO 1049.
- A. meridionalis* Zahlbr.: VIZCAYA, San Julián de Musques, Pobeña, 30TVN9099, 27-III-1986, supralitoral, *G. Renobales*, BIO 1055.
- L. grumulosa* (Duf.) Fr.: CANTABRIA, Liendo, monte Candina, 30TVP7206, 360 m, 17-VIII-1986, *R. Noya*, *G. Renobales* & *C. Valdovinos*, BIO 1079.
- O. conferta* Anzi: GUIPÚZCOA, Fuenterrabía, monte Jaizquibel, 28-III-1986, supralitoral, *G. Renobales* & *I. Salcedo*, BIO 1124, 1125.
- O. dolomitica* (Arn.) Clauz. & Roux: VIZCAYA, Mundaka, Portuondo, 30TWP2405, 30-III-1986, supralitoral, *E. Grijalvo* & *G. Renobales*, BIO 1123.
- O. mougeotii* Massal.: CANTABRIA, Liendo, monte Candina, 30TVP7106, 100 m, 17-VII-1985, *E. Barreno* & *G. Renobales*, BIO 1084.
- O. saxatilis* DC.: VIZCAYA, Carranza, peñas de Ranero, 30TVN6990, 7-XI-1982, *M. Herrera* & *G. Renobales*, BIO 1085.
- O. trifurcata* Hepp: CANTABRIA, Liendo, monte Candina, 30TVP7205, 300 m, 15-VI-1986, *G. Renobales*, BIO 1102, 1103, 1104, 1105.
-

metodología clásica. Secciones relativamente gruesas de ascoma, obtenidas manualmente, se montan en agua sobre un portaobjetos, y el himenio se disgrega aplicando una ligera presión repetidas veces sobre el cubreobjetos. Una vez que éste se ha desintegrado parcialmente y permite una adecuada visualización de

ascos individualizados se procede a ensayar la reacción amiloide (I) haciendo penetrar el lugol por capilaridad. Después de la reacción con lugol, la preparación se decolora con potasa (solución acuosa de KOH al 10%), que penetra también por capilaridad, y por último se vuelve a introducir lugol (K-I). En todos los casos, las observaciones se realizaron en todas las fases ontogénicas del asco.

Parece conveniente utilizar, como método rutinario para el estudio de la reacción amiloide en los ascos bitunicados, la técnica del lugol después de un pretratamiento con potasa (K-I), en lugar de únicamente lugol (I), ya que los resultados son más homogéneos. Algunos himenios, particularmente dentro de las familias *Verrucariaceae* y *Opegraphaceae*, reaccionan al lugol con diferentes coloraciones rojizas o parcialmente rojo-azuladas y frecuentemente fugaces (primero azul y después rojo). Estos cambios se evitan mediante el pretratamiento con K-I, que produce tonalidades inequívocamente azules siempre que se trate de himenios amiloides. Por otra parte, al menos en algunos casos, el tratamiento con K-I permite la observación, en la pared de los ascos bitunicados, de estructuras amiloides que no son visibles empleando únicamente lugol. Es preciso tener en cuenta que la potasa, al producir un cierto hinchamiento en las paredes celulares, mejora sensiblemente su visualización, pero también puede falsear los resultados si éstos se expresan en forma de medidas. Como norma rutinaria para el estudio de los caracteres ascomáticos puede emplearse la secuencia lugol-potasa-lugol, siempre en medio acuoso, de manera que ambos sistemas puedan compararse, y permitan evaluar el grado de modificación producido por la potasa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las tres especies de *Arthonia* que hemos examinado [*A. epiphyscia* Nyl., *A. glaucomaria* (Nyl.) Nyl. y *A. meridionalis* Zahlbr.] presentan ascos claviformes, relativamente cortos y anchos, con pie corto (fig. 1). Como es habitual en los ascos bitunicados, el ectoasco aparece al microscopio óptico como una capa delgada, refringente e insensible a los reactivos (en la figura no se ha representado su separación del endoasco). El endoasco, más o menos delgado en la mitad inferior del asco, está fuertemente engrosado en su porción apical. En esta región aparece invariablemente una cámara ocular bien desarrollada. No se aprecian reacciones mediante el empleo del lugol únicamente, pero después del tratamiento con K-I pueden observarse dos regiones diferenciadas en el tercio superior del endoasco. Una externa, no amiloide, contigua al ectoasco, y otra interna, contigua al epiplasma, con carácter ligeramente amiloide (coloración azul pálido en K-I), o, a veces, como sucede en *Arthonia meridionalis*, más intensamente amiloide en su parte inferior. Sobre la cámara ocular se diferencia, en el límite entre las regiones amiloide y no amiloide del endoasco, una pequeña estructura anular, más o menos desarrollada, intensamente amiloide (coloración azul intenso en K-I). Cuando el asco está abierto se pueden observar en la parte apical del endoasco expandido dos pequeñas manchas amiloides que probablemente correspondan a esta estructura (fig. 1).

ERIKSSON (1981: 28-29) describe los ascos de *A. radiata* (Pers.) Ach. (tipo del género) y *A. fuscopurpurea* (Tul.) R. Sant. como básicamente similares a éstos, pero, dado que fueron estudiados únicamente en lugol, no se encontraron estructuras anulares en ninguna de las dos especies. Posteriormente, COPPINS (1983: 31)

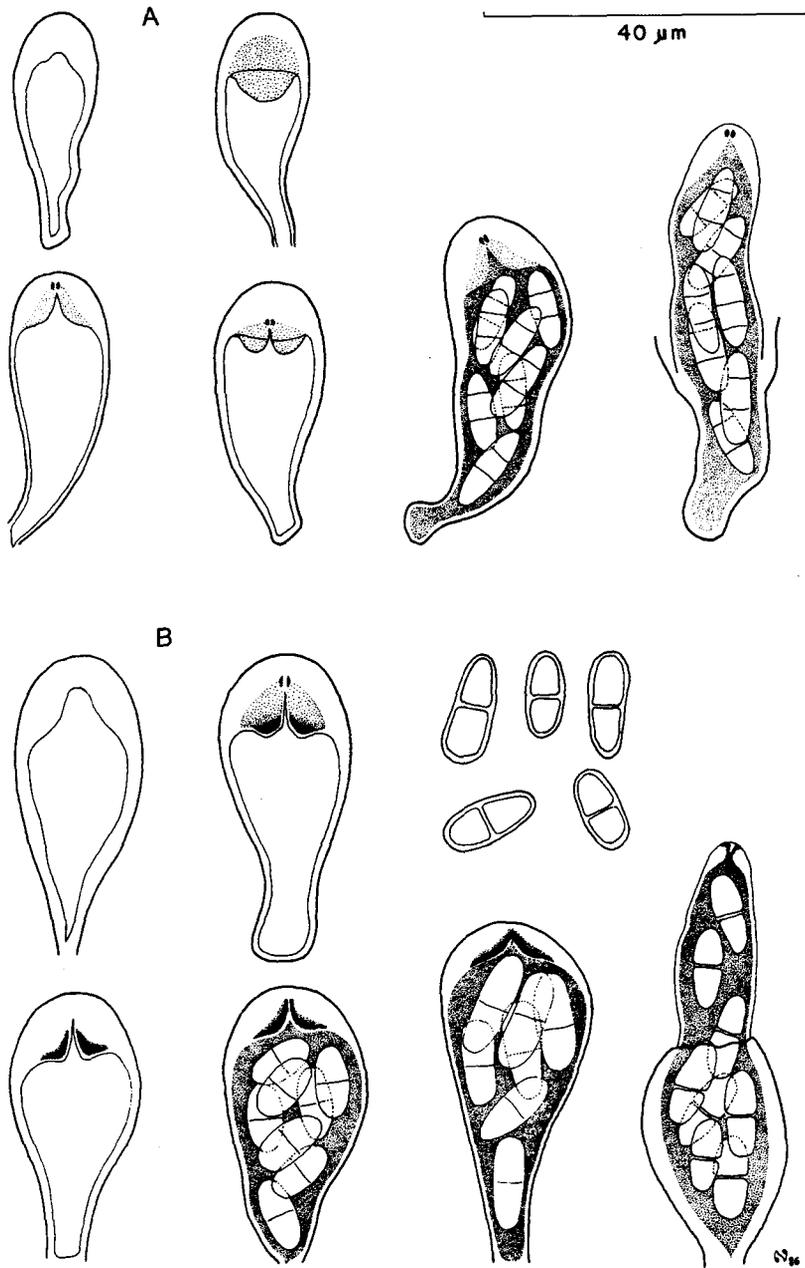


Fig. 1.—A. *Arthonia glaucomaria*: ascos en diversas fases ontogénicas observados en K-I. B. *Arthonia meridionalis*: ascos en diversas fases ontogénicas en K-I, y esporas.

mencionó la presencia de una estructura anular amiloide (observada en K-I) sobre la cámara ocular en ambas especies. Sobre un ejemplar de *A. radiata* de nuestro herbario (BIO 012) hemos podido comprobar que este pequeño anillo es inapreciable utilizando únicamente lugol (ERIKSSON 1981), pero sí se manifiesta, resultando una estructura en todo coincidente con la de COPPINS (1983) en K-I.

En las especies del género *Opegrapha* que nosotros hemos estudiado [*O. conferta* Anzi (fig. 3B), *O. dolomitica* (Arn.) Clauz. & Roux (fig. 3A), *O. mougeotii* Massal. (fig. 4A), *O. saxatilis* DC. (fig. 2A) y *O. trifurcata* Hepp (fig. 4B)], el

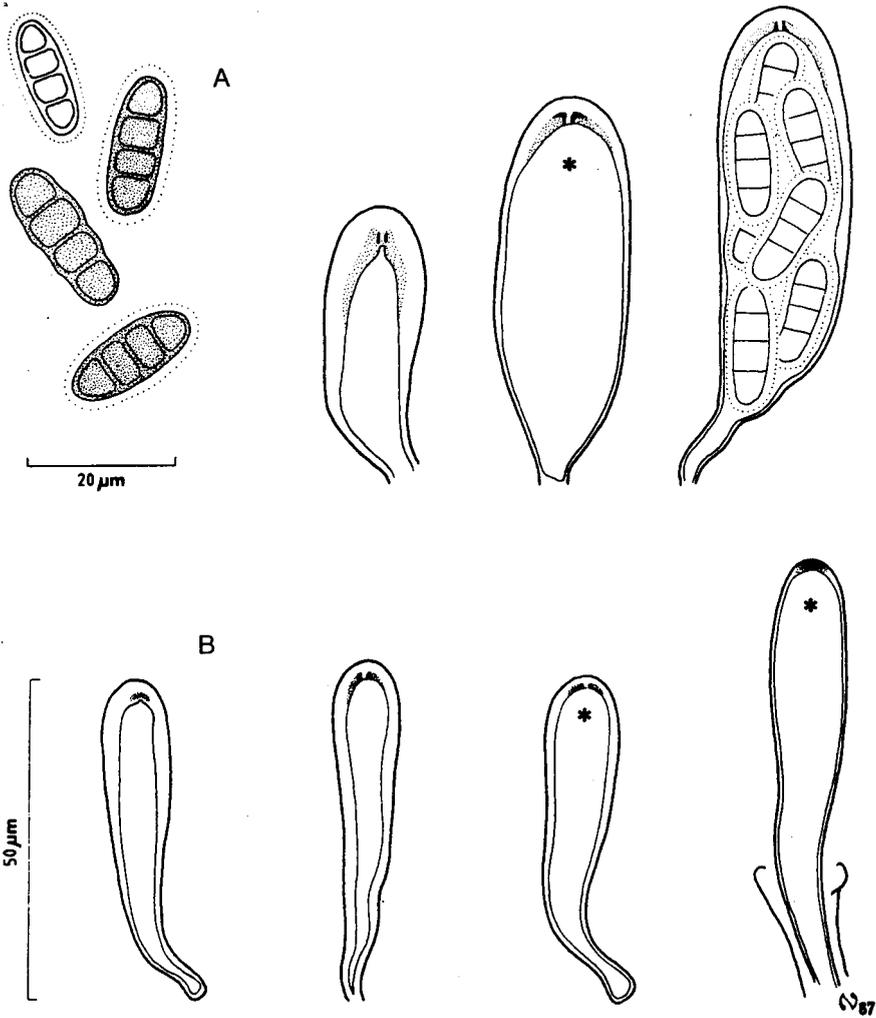


Fig. 2.—A, *Opegrapha saxatilis*: esporas y ascos inmaduro y maduros (*) en K-I. B, *Lecanactis grumulosa*: ascos inmaduros y maduros (*) en K-I.

asco tiene tendencia a ser más alargado que en el género *Arthonia*, con un pie algo más largo, pared más delgada y particularmente menos engrosada en la región apical. En todas ellas puede observarse (al menos en alguna fase de la ontogenia) dos zonas en la porción superior del endoasco: el endoasco externo, no amiloide, y el interno, ligeramente amiloide. Aproximadamente entre ambos y en la parte apical (sobre la cámara ocular) existe un pequeño anillo más intensamente amiloide. Los ascos de *Lecanactis grumulosa* (Duf.) Fr. presentan esta misma estructura

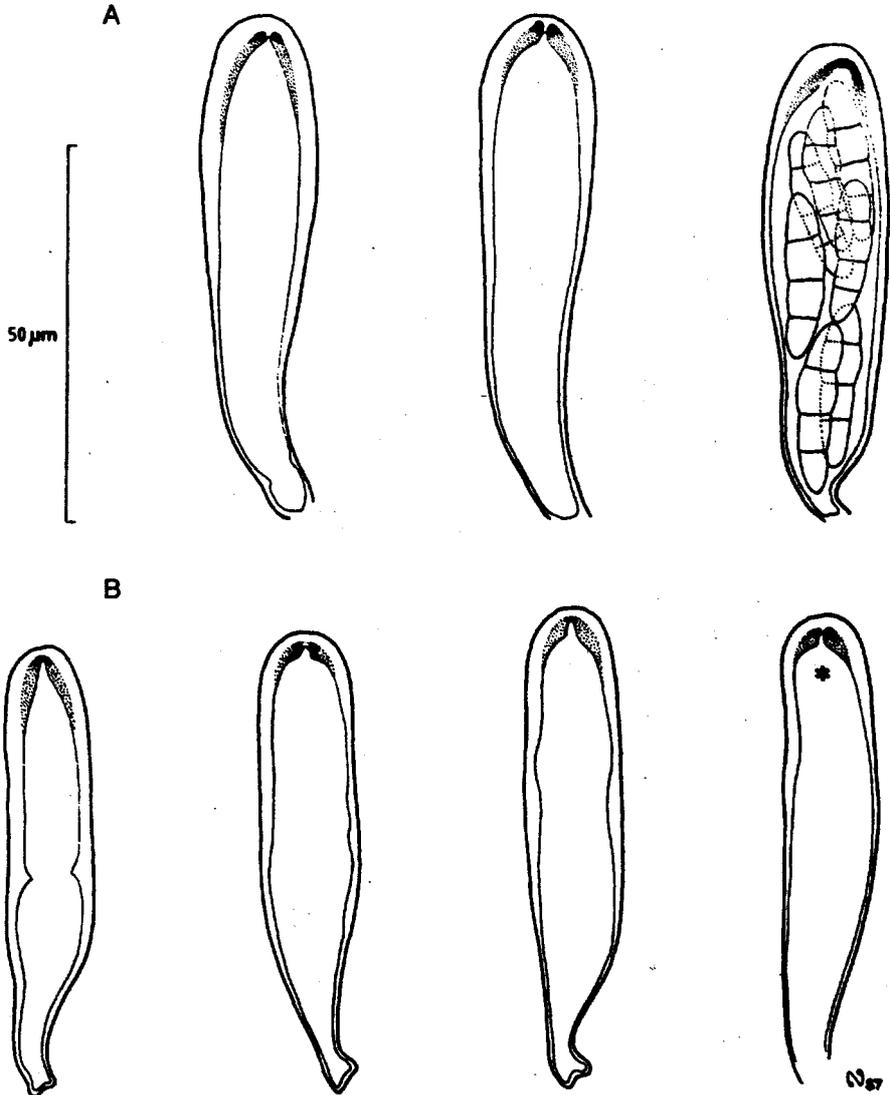


Fig. 3.—A, *Opegrapha dolomitica*: ascos semi y totalmente maduros en K-I. B, *Opegrapha conferta*: ascos en diversas fases ontogénicas (el último, completamente maduro) en K-I.

(endoasco con dos zonas, amiloide interna y no amiloide externa, y anillo amiloide, fig. 2B). En ellos la pared es la más delgada de todas las especies estudiadas, y la cámara ocular, por su parte, está aquí sumamente reducida, siendo prácticamente inconspicua en ascos maduros.

Entre los ascos descritos por ERIKSSON (1981) para otros géneros de *Opegraphales* se menciona un anillo amiloide únicamente en *Bactrospora dryina* (Ach.) Massal., en la que, sin embargo, no se describe endoasco zonado (*op. cit.* 34, 78). En *Dirina repanda* Fr. y *Roccella fimbriata* Darb. (*op. cit.* 57, 149), así como en *Opegrapha vulgata* auct. y *Lecanactis abietina* (Ach.) Korb (*op. cit.* 78, 113), el asco se describe con un endoasco formado por dos zonas, similar al encontrado por nosotros, pero en todos los casos sin estructuras anulares sobre la cámara ocular. La discrepancia de estos datos con nuestros propios resultados es un tanto sorprendente pues este autor ha empleado, con las especies citadas, tanto la técnica con lugol (I) como con potasa-lugol (K-I). Sin embargo, la estructura del asco en el género *Opegrapha* tal y como aquí se ha descrito (con anillo amiloide y endoasco zonado) había sido ya señalada por otros autores tales como SÉRUSIAUX (1985: 16-17), quien la describe en algunas especies folícolas del género, y TORRENTE-PAÑOS (1987a, 1987b). Nos parece interesante llamar la atención sobre la similitud que se observa al microscopio óptico entre los ascos de los géneros *Arthonia* y *Opegrapha*. A nuestro juicio, dado el valor que se concede habitualmente a la estructura del asco como carácter taxonómico, este hecho ha de interpretarse en términos de parentesco, y permite suponer un grado de relación entre los órdenes *Arthoniales* y *Opegraphales* mayor que el que sugiere su mantenimiento como táxones independientes.

Como puede observarse en las ilustraciones, los ascos de *Opegrapha* presentan una interesante variabilidad morfológica interespecífica en cuanto al mayor o menor engrosamiento de la pared en la porción apical y al mayor o menor desarrollo de la cámara ocular. Podemos situar en un extremo a *O. trifurcata*, que presenta como caracteres ascales sobresalientes el engrosamiento apical del endoasco, el más pronunciado de las seis especies consideradas, y el mayor desarrollo de la cámara ocular (¿"Schlauche *Arthonia*-artig"?; REDINGER, 1938: 263). En el extremo opuesto se situaría *O. saxatilis*, con pared delgada y cámara ocular poco desarrollada, caracteres que aparecen más acentuados aún en *L. grumulosa*. El resto de las especies estudiadas se encontraría en situación intermedia.

La variabilidad que se manifiesta dentro del género *Opegrapha*, en lo relativo a la estructura ascal, ha sido también señalada recientemente por TORRENTE-PAÑOS (1987a) en tres especies epífitas: la reacción amiloide en la pared es similar en *O. atra* Pers., *O. betulinoides* B. de Lesd. y *O. vulgata* auct. (tipo del género, cf. CANNON & al. 1985), y concuerda con la que encontramos en las especies examinadas en este trabajo. Sin embargo, la primera de ellas se diferencia de las otras, entre otros caracteres, por el mayor desarrollo de su cámara ocular y la presencia en ella de una nasa apical. Esto revela una neta heterogeneidad intragenérica de interés taxonómico.

El asco de *O. trifurcata* (fig. 4B) ofrece, por otra parte, una interesante variación ontogénica. La estructura "completa", tal y como la hemos descrito, con dos regiones en el endoasco y estructura anular sobre la cámara ocular, solo ha podido ser observada en ascos inmaduros. A medida que éstos van madurando se va primero haciendo inconspicuo el anillo amiloide y posteriormente llega a no poder

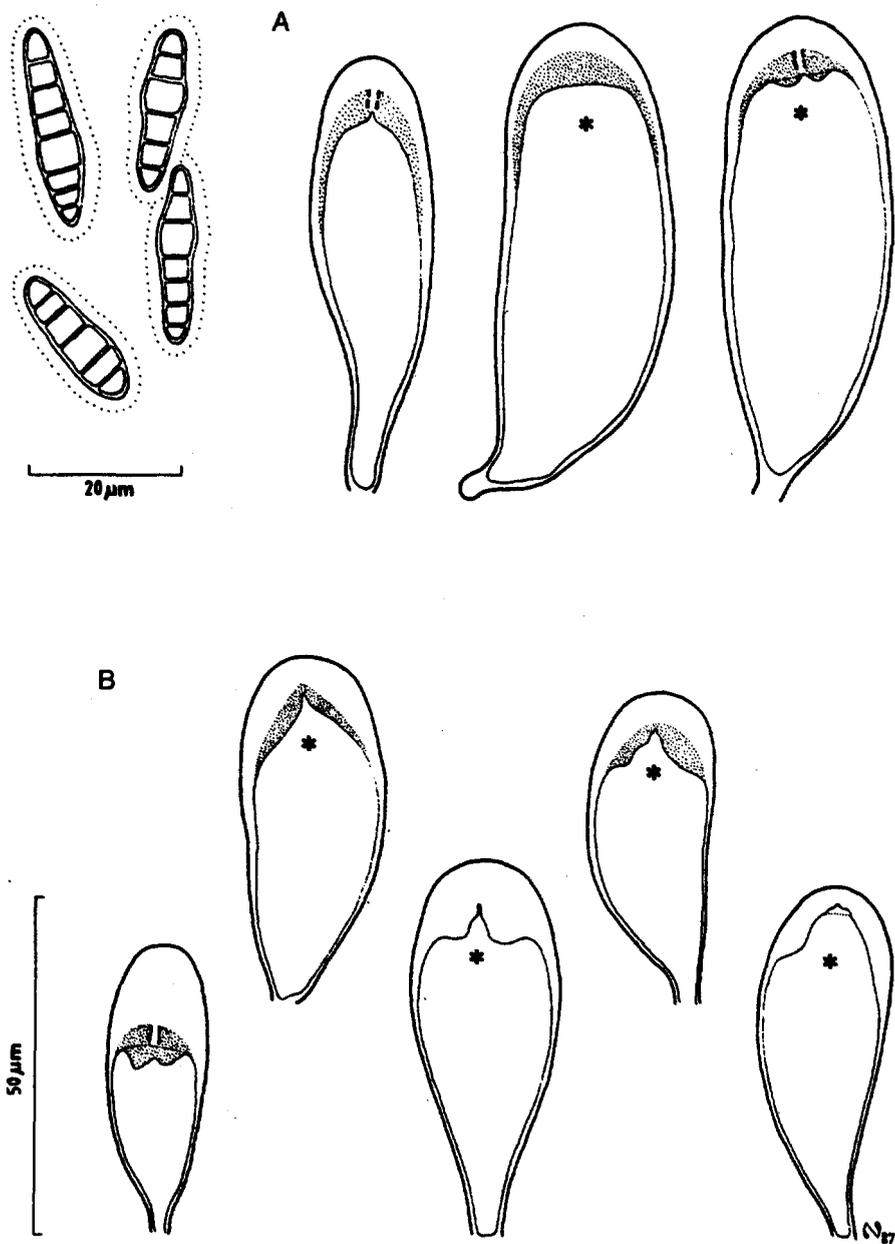


Fig. 4.—A, *Opegrapha mougeotii*: esporas y ascos inmaduros y maduros (*) en K-I. B, *Opegrapha trifurcata*: un ascos joven y varios maduros en K-I, excepto el último, en I.

observarse tampoco la región amiloide interna del endoasco. Sería del mayor interés determinar, mediante un análisis ultraestructural, la naturaleza de los cambios ontogénicos que tienen lugar en la pared de estos ascos, por las implicaciones taxonómicas que ello pudiera tener en relación con otros grupos próximos de ascomicetes con ascos bitunicados.

CONCLUSIÓN

El análisis de un carácter aislado no justifica suficientemente por sí solo la adopción razonada de decisiones taxonómicas. En este trabajo, el examen del asco en algunas especies de los géneros *Arthonia* y *Opegrapha* ha sido, sin embargo, interesante debido a que pone de manifiesto una indudable similitud en la estructura ascual de ambos. Pensamos que este hecho apoya la idea de un parentesco más estrecho entre los órdenes *Arthoniales* y *Opegraphales* que el que sugiere su mantenimiento como táxones independientes. En todo caso, es aún necesaria la revisión de este carácter en otros géneros emparentados, lo que aclararía considerablemente las relaciones taxonómicas en estos grupos aún poco conocidos. En segundo lugar, la existencia de variabilidad intragenérica, que ya había sido indicada por TORRENTE-PAÑOS (1987a), puede ser muy útil para la ordenación taxonómica del género *Opegrapha*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al doctor C. Roux (Marsella) por su inestimable ayuda en la determinación de parte del material incluido en este estudio, y a Ignacio Pérez Núñez, por su cuidadosa labor en la elaboración de las figuras que ilustran este trabajo. Este estudio ha sido parcialmente financiado por la CAICYT, proyecto 2954/83.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CANNON, P. F., D. L. HAWKSWORTH, M. A. SHERWOOD-PIKE (1985). *The British Ascomycotina. An annotated Checklist*. Commonwealth Mycological Institute. Kew.
- COPPINS, B. J. (1983). A taxonomic study of the lichen genus *Micarea* in Europe. *Bull. Brit. Mus. [Nat. Hist.] Bot.* 11: 17-214.
- ERIKSSON, O. (1981). The families of bitunicate ascomycetes. *Opera Bot.* 60: 1-220.
- REDINGER, K. (1938). Graphidaceae. In: L. Rabenhorst (Ed.), *Kryptogamen-Flora*, ed. 2, 9, 2/1(2): [181]-404.
- SÉRUSIAUX, E. (1985). Goniocysts, goniocystangia and *Opegrapha lambionii* and related species. *Lichenologist* 17: 1-25.
- TORRENTE-PAÑOS, P. (1987a). Documentos para la caracterización de los ascos del género *Opegrapha* Ach. *Cryptog. Mycol.* 8: 159-166.
- TORRENTE-PAÑOS, P. (1987b). *La familia Opegraphaceae (sensu Eriksson et Hawksworth 1986) en la Península Ibérica y Norte de África*. Tesis doctoral (iné.). Universidad de Murcia.

Aceptado para publicación: 17-VI-1988