

## CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LA ESPORA DE *BRACHYTHECIUM VELUTINUM* (HEDW.) B., S. & G.

por

PALOMA HERGUIDO & M.<sup>a</sup> EUGENIA RON\*

### Resumen

HERGUIDO, P. & M.<sup>a</sup> E. RON (1990). Contribución al estudio de la espora de *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B., S. & G. *Anales Jard. Bot. Madrid*. 46(2): 413-420.

A partir de la observación de 3.000 esporas de ejemplares de *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B., S. & G. herborizados en el Puerto del Pico (Ávila) en febrero de 1985, se abordan aspectos de vitalidad, morfología, germinación, número de esporas por cápsula y longevidad. Finalmente, un análisis estadístico de la variación del tamaño de la espora rechaza una estrategia vital isospórica para esta especie.

Palabras clave: Briófitos, *Brachythecium velutinum*, palinología, esporas, estrategia vital.

### Abstract

HERGUIDO, P. & M.<sup>a</sup> E. RON (1990). Contribution to the study of the spores of *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B., S. & G. *Anales Jard. Bot. Madrid*. 46(2): 413-420 (in Spanish).

From the observation of 3.000 spore samples of *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B., S. & G. collected in Puerto del Pico (Ávila) in 1985, some aspects such as vitality, morphology, germination, number of spores per capsule and longevity were studied. From the statistical analysis of the size of the spores we concluded that this species does not behave as isosporic.

Key words: Bryophytes, *Brachythecium velutinum*, palynology, spores, life strategy.

## INTRODUCCIÓN

Las esporas de briófitos han sido objeto de investigaciones con diferentes finalidades. Destacan los trabajos de BOROS & JÁRAY-KOMLÓDY (1975) en morfología; NEHIRA (1976), en germinación; MOGENSEN (1981), en latencia; LONGTON & SCHUSTER (1983), en longevidad; VITT (1968), RAMSAY (1979) y DURING (1979), en estrategia vital; ZANTEN & PÓCS (1981), en dispersión, y WIGH (1973) y ANDERSON (1984), en citogenética. MOGENSEN (1981) intentó conocer la estrategia vital de una especie a partir del estudio de sus esporas en diferentes frentes de investigación.

Siguiendo este planteamiento de enfoque global de la palinología de briófitos, se aborda en este trabajo el estudio de la espora de *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B., S. & G., especie cosmopolita y frecuente en España, bajo los siguien-

\* Departamento de Biología Vegetal I, Facultad de Biología, Universidad Complutense. 28040 Madrid.

tes aspectos: vitalidad, morfología, germinación, número de esporas por cápsula, longevidad, dimensiones (estrategia vital).

### MATERIAL DE ESTUDIO

El material briológico utilizado fue herborizado en febrero de 1985 en el Puerto del Pico (Sierra de Gredos, Ávila). Estaba formado por cinco grupos independientes de céspedes que no procedían de la misma espora, si bien el desarrollo de los ejemplares transcurrió en condiciones ambientales homogéneas.

Una muestra testigo está depositada en el herbario del Departamento de Biología Vegetal I de la Facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid (MACB 13836).

### METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

*Vitalidad:* Observación al microscopio óptico (M. O.) ( $\times 100$ ) de la respuesta de colonización que experimenta el citoplasma del díodo al ser sometido a la acción de un colorante vital: orceína acética (2%).

*Morfología:* Observación al M. O. ( $\times 400$ ) del material embebido en agua y al microscopio electrónico de barrido (M. E. B.) ( $\times 5000$  y  $\times 15000$ ) del material sombreado en alto vacío con una película de oro-paladio y posteriormente metalizado.

*Germinación y longevidad:* Siembra en una placa de Petri con 5 ml de agua destilada, situada en lugar fijo y cercana a un foco de luz natural. El seguimiento de las etapas de germinación se realizó a la lupa ( $\times 40$ ) y las observaciones al M. O. ( $\times 32$ ,  $\times 100$ ,  $\times 400$  y  $\times 400$  inmersión) fueron recogidas a cámara clara.

*Número de esporas por cápsula:* Recuento con el M. O. ( $\times 40$ ) de las esporas contenidas en 20 campos de  $1 \text{ mm}^2$  de superficie, hallando la media aritmética y multiplicando por la superficie total de la preparación.

*Dimensiones:* Toma de medidas del perímetro de una muestra aleatoria de díodos mediante una lectora de imagen que utilizaba fotografías del material esporígeno tomadas al M. O. ( $\times 100$ ). El proceso se repetía en cada esporangio.

*Selección de campos en la preparación:* Se elegían cuatro campos laterales y dos centrales, con una proporción de díodos en cada zona del 50%.

*Prueba para conocer el número de datos que era necesario tomar en el estudio de la variabilidad del perímetro en un esporangio:* Se representaba mediante diagrama de frecuencias relativas las medidas del perímetro de un número creciente de esporas, observando en qué momento la curva se estabilizaba.

*Tratamiento estadístico:* Exploración de la distribución que presentaban los valores del perímetro para cada uno de los esporangios (= muestras), según la representación gráfica de diagrama de barras.

Contraste de la hipótesis de normalidad en cada una de las muestras según un test de Kolmogorov-Smirnov (KOLMOGOROV, 1933 & SMIRNOV, 1939).

Contraste de la hipótesis de homogeneidad de varianzas de las muestras según un test de Barlett (BARLETT & KENDALL, 1946).

Análisis de la varianza modificado para muestras con varianzas heterogéneas (JAMES, 1951; WELCH, 1951).

## RESULTADOS

**Vitalidad:** De las 30 cápsulas estudiadas solo dos presentaron alguna espora muerta (de color amarillo después de ser sometidas a la acción del colorante). En las 28 restantes todas las esporas mostraban una tinción roja completa del contenido celular 10 minutos después de haber añadido unas gotas de orceína acética al 2%; por tanto, la vitalidad podía considerarse del 100%.

**Morfología:** Observaciones al M. O. y al M. E. B. (fig. 2) descritas según terminología de KREMP (1968) y ERDTMAN (1969):

M. O.	M. E. B.
Eje mayor: $x = 14,54 \mu$ Eje menor: $x = 12,84 \mu$ Esporas pequeñas	ATREMAS
$\frac{\text{Longitud}}{\text{Anchura}} = 1,16-1,80$ Forma subprolada	
Finamente ornamentada	Agregados constituidos por acumulación de un elemento estructural (GEMA) y dispuestos regularmente en el exosporio, formando una superficie escábrida.

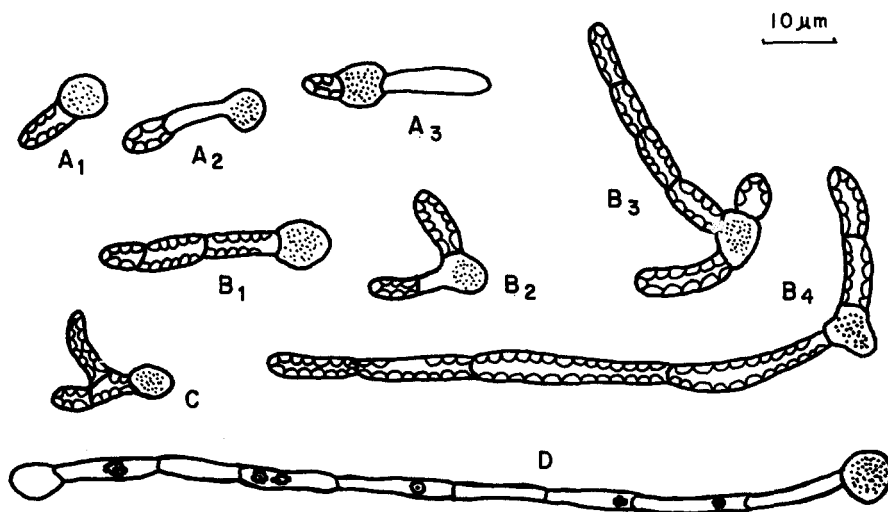


Fig. 1.—A, Estados iniciales de la germinación de la espóra: A<sub>1</sub>, a los 39 días; A<sub>2</sub>, a los 43 días; A<sub>3</sub>, a los 50 días. B, Fase de cloronema: B<sub>1</sub>, a los 60 días; B<sub>2</sub>, a los 75 días; B<sub>3</sub>, a los 80 días; B<sub>4</sub>, a los 90 días. C, Protonema desarrollando un filamento secundario (a los 52 días). D, Protonema degenerado (a los 200 días).

**Germinación:** BECQUEREL (1904) y KOFLER (1959) dieron valores de 2 meses y 4-5 días, respectivamente, para el tiempo que transcurría entre la siembra y la germinación de las esporas de *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B., S. & G. en un medio de sales minerales.

La relación de siembras efectuadas en este experimento y sus fechas de germinación fue la siguiente:

Siembra	Germinación	Tiempo
9-XII-1985	10-I-1986	39 días
25-II-1986	10-III-1986	13 días
16-VIII-1986	24-IX-1986	36 días

Aunque la heterogeneidad de las condiciones ambientales no permita comparar los valores obtenidos para las distintas siembras, sí es posible apuntar que es una especie de germinación lenta.

La figura 1 muestra las distintas etapas de la germinación de la espora.

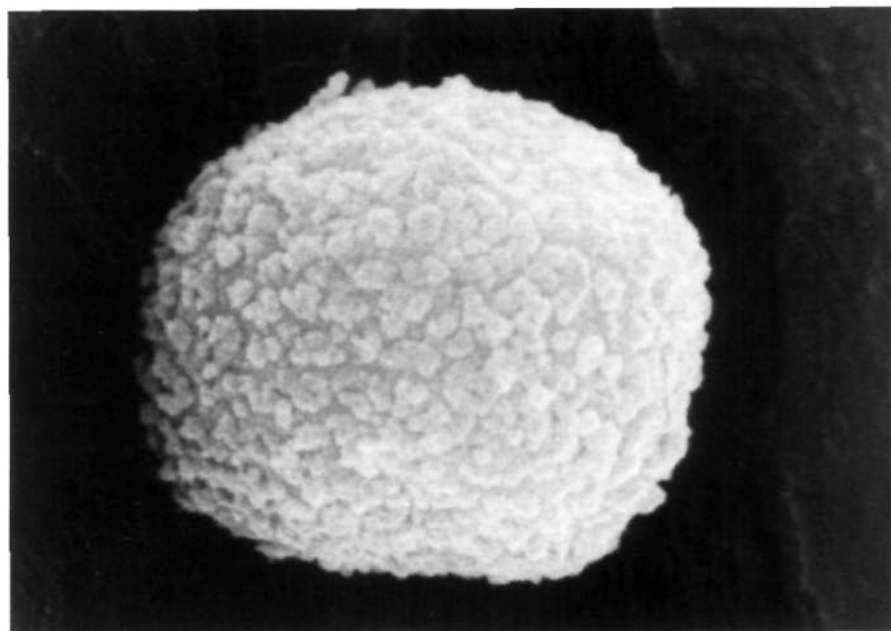


Fig. 2.—Aspecto general de una espora a M.E.B. ( $\times 5000$ ).

Los caracteres generales de la fase de cloronema de los protonemas son:

- Tabiques perpendiculares de separación entre las células (fig. 3).
- Posición irregular de las ramificaciones.
- Abundancia de cloroplastos ovoideos de distribución regular y cercanos a la pared celular.
- Sin formación de yemas.
- Polarotropismo (DOYLE, 1970) observado el 27 de enero de 1986 en los protonemas de la siembra del 9 de diciembre de 1985.

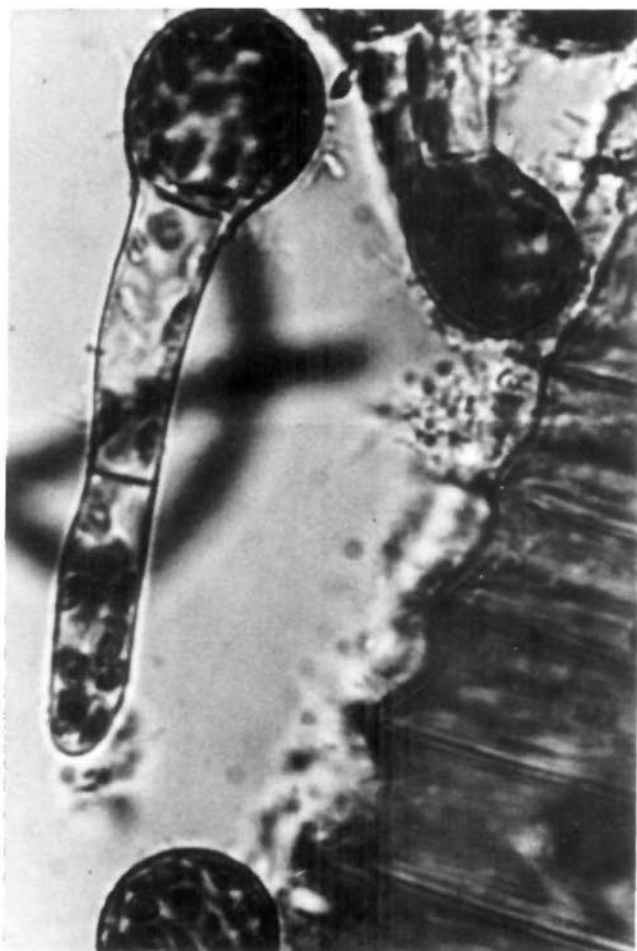


Fig. 3.—Germinación de espora e inicio de la fase de protonema ( $\times 4000$ ).

Como ya había señalado NEHIRA (1983), la germinación de *Brachythecium velutinum* por su protonema filamentososo y de células tubulares pertenece al “tipo *Bryum*”.

*Número de esporas por cápsula:* Los resultados del recuento de las esporas contenidas en cinco cápsulas procedentes de las distintas muestras fueron:

	Esporas/Cápsula
Muestra 1 .....	6.700
Muestra 2 .....	7.130
Muestra 4 .....	8.120
Muestra 3 .....	10.235
Muestra 5 .....	11.550

El número de esporas/cápsula para este musgo queda por el momento estimado entre 6.700 y 11.500 esporas/espangio, que según la relación de especies de LONGTON & SCHUSTER (1983) se sitúa en el mismo grupo que los acrocárpicos efimeros, en una posición muy baja en la tabla.

*Longevidad:* Las tres muestras esporígenas sembradas el 25 de febrero de 1986 procedían de los siguientes ejemplares:

Lugar de herborización	Fecha de herborización
Campa de la Contienda (Navarra)	2-IX-1973
Castañar de Ibor (Cáceres)	15-XI-1980
Montejo de la Sierra (Madrid)	2-III-1982

Ninguna de las esporas experimentadas presentaron indicios de germinación durante su seguimiento. La última observación, realizada el 30 de septiembre de 1986, mostraba esporas amarillentas y arrugadas.

Recopilando los datos obtenidos en el capítulo de germinación, se observó que el último cultivo efectuado con las esporas recolectadas el 23 de febrero de 1985 germinó el 19 de agosto de 1986, por lo que parece posible adelantar que el período de longevidad en *Brachythecium velutinum* está entre 1,5 y 4 años.

*Dimensiones:* MOGENSEN (1981) reunió las posibles situaciones presentes en la masa esporígena de *Embriobionta*; de todas ellas solo tres (conocida la variabilidad del material) eran posibles en *Brachythecium velutinum*: isosporia, plurisporia y anisosporia.

La variabilidad del perímetro de la espora en el espangio quedaba determinada midiendo un número mínimo total de 100 esporas por cápsula. El estudio de dicha variabilidad en la población biológica se realizó sobre 30 cápsulas (= muestras), seis de cada uno de los cinco grupos de céspedes.

En total se midió el perímetro de 3.000 esporas, de las que 15 fueron rechazadas por presentar valores extremadamente alejados del resto y que no correspondían a la realidad mostrada en las fotografías.

*Hipótesis de normalidad:* Se acepta la hipótesis nula (para  $\alpha = 0,05$ ) en 29 muestras.

Se acepta la hipótesis alternativa (para  $\alpha = 0,05$ ) en una muestra (la n.º 26).

Los valores del estadístico K-S  $D_{\max}$  observados y teóricos de los índices de posición (media y mediana) y de dispersión (desviación tipo).

*Hipótesis de homogeneidad de varianzas:*

$$\chi^2 = 137,79 \quad \chi^2_{28,005} = 41,23$$

Este valor permite aceptar (para  $\alpha = 0,05$ ) la hipótesis alternativa: las varianzas de las 29 muestras consideradas son heterogéneas.

*Análisis de la varianza modificado para muestras con varianzas heterogéneas:*

$$F_s = 86,61 \quad F_s^{0,05}_{28,1019} = 1,41$$

Este valor permite aceptar la hipótesis alternativa (para  $\alpha = 0,05$ ): al menos existían dos medidas muestrales entre las 29 consideradas.

Esta presencia permite rechazar una estrategia dispersiva isospórica para esta especie.

### CONCLUSIONES

Se aportan los siguientes datos sobre la espora de *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B., S. & G.:

— Presenta respuesta uniforme y positiva a la coloración vital que indica un 100% de fertilidad.

— Pertenece al grupo de las esporas pequeñas, presenta forma subprolada y es atrema con gemas de distribución homogénea formando una superficie escábrida.

— Germina según el "tipo *Bryum*" y los protonemas presentan respuesta fototáctica a la luz polarizada.

El número de esporas por esporangio alcanza un mínimo de 6.700 esporas y un máximo de 11.500, situando esta especie en el mismo grupo en que están los musgos acrocárpicos efímeros y en una posición muy baja en la relación de LONGTON & SCHUSTER (1983).

Longevidad estimada en un intervalo entre 1,5 y 4 años en espera de conseguir datos más concluyentes.

Rechazo de una estrategia isospórica en la especie después del estudio del tamaño de la espora a través de una prueba de comparación de perímetros medios.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos muy sinceramente a los doctores Ascaso y López de Ipiña su valiosa ayuda en la realización de este trabajo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, L. E. (1984). Chromosome studies of bryophytes: An assesment. *J. Hattori Bot. Lab.* 55: 187-197.
- BARLETT, M. S. & D. G. KENDALL (1946). The statistical analysis of variance-heterogeneity and the logarithmic transformation. *J. Royal. Stat. Soc., Series B*, 8: 128-138.
- BECQUEREL, M. P. (1904). Les éléments chimiques biogénétiques necessaires á la germination des spores et á la nutrition des protonémas des mousses en cultures pures. *Compt. Rend. Acad. (Paris)* 139: 745-47.
- BOROS, A. & M. JÁRAI-KOMLÓDI (1975). *An atlas of recent european moss spores*. Budapest.
- DOYLE, T. W. (1970). *The biology of higher cryptogams*. London.
- DURING, H. J. (1979). Life strategies of bryophytes: A preliminary review. *Lindbergia* 5(1): 2-18.
- ERDTMAN, G. (1969). *Handbook of Palynology*. Copenhagen.
- JAMES, G. S. (1951). The comparison of several groups of observations when the ratios of the population variances are unknown. *Biometrika* 38: 324-329.
- KOFLER, L. (1959). Contribution á l'étude biologique des Mousses cultivées in vitro: germination des spores croissance et développement du protonéma chez *F. hygrometrica*. *Rev. Bryol. Lichenol.* 28(1-2): 3-201.
- KOLMOGOROV, A. N. (1933). Sulla determinazione empirica di una legge di distribuzione. *Giornale Istituto Italiano Attuari* 4: 83-91.
- KREMP, G. O. W. (1968). *Morphologic Encyclopedia of Palynology*. Tucson.
- LONGTON, R. E. & R. M. SCHUSTER (1983). Reproductive biology. In: R. M. Schuster (Ed.), *New Manual of Bryology*, vol. 1. Japan.

- MOGENSEN, G. S. (1981). The biological significance of morphological characters in bryophytes: the spore. *Bryologist* 84: 182-207.
- NEHIRA, K. (1976). Protonema development in mosses. *J. Hattori Bot. lab.* 41: 157-65.
- NEHIRA, K. (1983). Spore germination, Protonema Development and Sporeling Development. In: R. M. Schuster (Ed.), *New Manual of Bryology*, vol. 1. Japan.
- RAMSAY, H. P. (1979). Anisospory and sexual dimorphism in the Musci. In: G. C. S. Clarke & J. G. Duckett (Eds.), *Bryophyte systematics*. London.
- SMIRNOV, N. W. (1939). On the estimation of the discrepancy between empirical curves of distribution for two independent samples. *Bull. Université Moskov. Ser. Internat., Sect. A*, 2(2): 3-8.
- VITT, D. H. (1968). Sex determination in mosses. *Mich. Bot.* 7: 195-203.
- WELCH, B. L. (1951). On the comparison of several mean values: An alternative approach. *Biometrika* 38: 330-336.
- WIGH, K. (1973). Accessory chromosomes in some mosses. *Hereditas* 74: 211-224.
- ZANTEN, B. O. & T. POCS (1981). Distribution and Dispersal of Bryophytes. In: W. Schultze-Motel (Ed.), *Advances in Bryology*, vol. 1. Vaduz.

*Aceptado para publicación:* 17-VI-1988