

*Flujo gamético en poblaciones de un musgo
pleurocárpico dioico,
Anomodon viticulosus (Hedw.)
Hook. & Tayl., mediante
un experimento de trasplante*

IÑIGO GRANZOW DE LA CERDA

Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, E-08193 Bellaterra, Barcelona

Resumen.

GRANZOW DE LA CERDA, I. 1989. Flujo gamético en poblaciones de un musgo pleurocárpico dioico, *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Tayl., mediante un experimento de trasplantes. *Bot. Complutensis* 15: 91-100.

Se realizaron experimentos de trasplante entre colonias masculinas y femeninas del musgo pleurocárpico dioico *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Tayl. en el Prepirineo de Gerona. Con ello se ha pretendido determinar las distancias a que pueden ser transportados, supuestamente por escorrentia, los anterozooides de esta especie. Se dispusieron bloques de 20-30 × 10-15 cm provenientes de colonias con anteridios por encima de colonias con arquegonios exclusivamente y se observó que en éstas últimas se habían desarrollado por primera vez esporófitos al cabo de un año. Al medir las distancias entre dichos esporófitos y los bloques con plantas masculinas situados por encima, se obtuvo que estas eran de al menos 25 cm.

Palabras clave: *Anomodon viticulosus*, anterozooides, dioicos, escorrentia, esporófitos, fecundación, flujo gamético, pleurocárpico, trasplantes.

Abstract.

GRANZOW DE LA CERDA, I. 1989. Sperm flow a dioicous pleurocarpous moss colonies, *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Tayl., by a transplant experiment. *Bot. Complutensis* 15: 91-100 (in Spanish).

Transplant experiments were carried out between male and female colonies of the pleurocarpous moss *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Tayl. in the eastern Pre-Pyrenees (Gerona, Spain). The purpose was to estimate the distance that sperm can be carried downwards by water down-flow or seepage. 20-30 × 10-15 centimeter blocks of colonies with antheridia were placed above unisexual female colonies. After a year, these had produced sporophytes for the first time. The distance between the new sporophytes and the blocks with male plants, above, was found to be at least 25 cm.

Key words: *Anomodon viticulosus*, dioicous, fertilization, pleurocarpous, sperm, sperm flow, sporophytes, stem flow, transplants.

INTRODUCCIÓN

Las especies monoicas de musgos tienden a producir esporófitos con mayor frecuencia que las dioicas debido a la mayor proximidad entre anteridios y arquegonios. En los musgos dioicos el éxito de la fecundación depende, entre otros factores, de si las plantas de distinto sexo crecen lo suficientemente cerca las unas de las otras como para permitir un flujo de anterozoides desde los perigonios hasta los periquecios.

Las distancias que pueden recorrer los anterozoides son relativamente cortas, lo cual es factor limitante para el éxito de la fecundación. ANDERSON & LEMMON (1974) determinaron la distancia mínima que recorrían los anterozoides en el musgo monoico *Weissia controversa* Hedw., mediante un marcador cariológico consistente en la variación del número de cromosomas *m* presentes en distintas colonias de esa especie. Realizaron para ello trasplantes recíprocos con colonias de diferente número de cromosomas *m* (de 0 a 5). A través de los cariotipos de los nuevos esporófitos determinaron la distancia mínima que había recorrido el anterozoide proveniente del bloque contiguo trasplantado. Dicha distancia resultó ser, en *W. controversa*, de al menos 40 mm, siendo la media de 12,2 mm y la mediana 5 mm. LONGTON & GREENE (1969), hallaron que la distancia máxima entre un esporófito y el perigonio más próximo no es superior a los 10 cm. RIEMANN (1972), a su vez, observó un incremento en la frecuencia de fecundación cuando las distancias medias entre plantas masculinas y femeninas de *Rhytidiadelphus triquetrus* (Hedw.) Warnst. es menor de 3 cm, y si la distancia era superior a los 6 cm no llegaba a darse fecundación siquiera. El desplazamiento de los anterozoides dentro de un césped de musgo es, por tanto, mucho más corto de lo que cabría esperar. SHOWALTER (1926) demostró que los anterozoides pueden permanecer vivos un máximo de seis horas, y no se desplazan por sus propios mecanismos de locomoción a distancias superiores a los 10 mm. Estas distancias son, por consiguiente, un tanto cortas, y es que los anterozoides no «nadan» utilizando sus flagelos, sino que son transportados de forma pasiva en un medio acuoso. Los musgos pleurocárpicos están, por otra parte, desprovis-

tos de discos de dispersión, al contrario de lo que ocurre en muchos politricáceos y otros acrocárpicos, de forma que siempre requieren de una lámina de agua continua entre anteridios y arquegonios. Cabe esperar que la forma de crecimiento de los gametófitos de pleurocárpicos, densa y enmarañada, favorezca el desplazamiento de los gametos masculinos por efecto de la tensión superficial, como demuestran los experimentos de MUGGOCH & WALTON (1942, según citan WATSON, 1971 y WYATT & ANDERSON, 1984) y de PAOLILLO (1977a, b, 1979). La tensión superficial actúa cuando la planta se empapa de agua o queda parcialmente sumergida. Según esos autores, los anteridios liberan los anterozoides en una masa, aún envuelta por la pared gametangial.

Todas las especies de *Anomodon* son dioicas. Sin embargo, cuando aparecen poblaciones fructificadas de *A. rostratus* o *A. attenuatus*, en Norteamérica, o de *A. viticulosus*, en Europa, los esporófitos son numerosos, en contra de lo que *a priori* podría predecirse para especies dioicas de musgos. Es más, muy a menudo se encuentran colonias femeninas casi puras, y, sin embargo, producen esporófitos abundantemente. Por otro lado, no se encuentran gametangios masculinos en poblaciones norteamericanas de *A. viticulosus*, y en Asia sólo se ha citado una vez un esporófito (en Japón) para esta especie (IWATSUKI, 1963). Sin embargo, en Europa, *A. viticulosus* fructifica en la práctica totalidad de su área de distribución. El caso más extremo lo hemos observado en una colonia de *A. rostratus* en donde de las 532 inflorescencias ♀ en una extensión de 4 cm², 243 portaban esporófito, no habiéndose encontrado una sola inflorescencia ♂ en los 4 cm². Es obvio que los pies ♂ tienen que existir por alguna parte, pero tal vez a distancias superiores a las predecibles. Para explicar estos casos en que existen zonas de una colonia unisexuales femeninas, pero con esporófitos, se presenta la siguiente hipótesis: la presencia de esporófitos en colonias ♀ en las que no se han encontrado inflorescencias ♂ en una zona de la colonia, a distancias superiores a las que en condiciones normales pueden alcanzar los anterozoides en su desplazamiento, se explica por la presencia de una fuente de anterozoides por encima de ellos, a distancias muy superiores a las que cabría esperar. Sin embargo, los anterozoides pueden alcanzar los arquegonios existentes en la mencionada zona con pies ♀ exclusivamente, gracias al arrastre de los mismos por escorrentía.

La forma más directa de verificar la hipótesis es mediante trasplantes, en los que se sitúen plantas con perigonios por encima de las plantas con periquecios, y entre las que, por supuesto, no existan pies masculinos. Garantía de esto último será la utilización de poblaciones femeninas que no fructifiquen.

El siguiente paso sería investigar en qué medida afecta a la fecundación la eficacia en el transporte de anterozoides; es decir, de qué forma está relacionada la tasa de fecundación con la proximidad a la fuente de anterozoides. En otras palabras, nos interesa conocer las distancias gaméticas

máximas, o al menos cuáles son las distancias máximas dentro de las que cabría esperar arquegonios en los que se ha producido la fecundación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del siguiente experimento se han utilizado colonias de *A. viticulosus*, algunas de ellas con esporófitos, que crecen sobre paredes calizas verticales. Estas paredes se encuentran en las márgenes del río Ges y del Rec de l'Espirau, a unos 2 km al este de Vidrá, en la provincia de Gerona, localidades que nos fueron comunicadas por M. M. Sanz Magrané.

El día 10 de enero de 1987 se efectuaron 11 trasplantes entre ocho colonias, o poblaciones, de *A. viticulosus*, en dos localidades distantes unos 500 metros entre sí, de la siguiente manera: se cortaron bloques de 20 a 30 cm de alto por 10 a 15 cm de ancho en cada colonia, y cada uno se trasplantó a otra colonia. Cada bloque se trasladó, si tenía esporófitos, a otra colonia de esa misma especie en la que no se apreciaban esporófitos, y bloques de una colonia sin esporófitos se dispusieron por debajo de colonias con esporófitos. Los bloques trasplantados se fijaron a la roca. También se realizó un trasplante control, con material fructificado, dentro de una misma colonia. Se tomaron muestras tanto de los bloques trasplantados como de las plantas adyacentes a los trasplantes para determinar en el laboratorio el o los sexos de la colonia, así como las proporciones de perigonios y periquecios, tasa de fecundación (cociente entre el número de esporófitos y el número total de periquecios).

Además, en dichas colonias fructificadas se cortaron bloques de las mismas características para en el laboratorio determinar la distribución y proporción de sexos, siguiendo el método que se describe más adelante.

A la hora de plantear los trasplantes se han postulado dos premisas:

1. La presencia de esporófitos en una colonia, previamente al trasplante, es debida a la existencia en ellas de plantas masculinas con perigonios, o al menos éstos existen en algún punto por encima de tales zonas fructificadas.

2. La ausencia de esporófitos en las colonias que carecen de ellos es debida a una o más de las siguientes causas: (a) ausencia de pies masculinos, (b) ausencia de pies femeninos, o (c) nula producción de periquecios. No obstante estas premisas, se comprobó la presencia o ausencia de perigonios a la hora de hacer los recuentos exhaustivos de las inflorescencias. En base a la premisa 1, la presencia de esporófitos en el bloque de la colonia que se utiliza como fuente de anterozoides constituye una garantía de que existen plantas con perigonios, al menos en parte de ese bloque. En cualquier caso, esto se verificaría al año siguiente, al recoger los bloques trasplantados y sexarlos en el laboratorio.

Un año más tarde, el 18 de enero de 1988, se recolectaron los bloques trasplantados y se llevaron al laboratorio para ser sexados, así como muestras de las plantas situadas a los lados. De la misma forma se recolectaron los bloques de $20-30 \times 10-15$ cm (supuestamente carentes de perigonios) que habían quedado situados inmediatamente debajo de los trasplantados con esporófitos. De los 11 trasplantados, ocho se habían mantenido en sus posiciones al cabo del año, mientras que tres habían caído al suelo.

Una vez en el laboratorio se examinaron las recolecciones a la lupa, para determinar la frecuencia de fructificación (tasa de fecundación), al mismo tiempo que para cerciorarnos de la ausencia de perigonios en las colonias que el año anterior no fructificaron. De estos bloques se tomaron muestras según un transecto vertical. Estas muestras se obtuvieron cortando, a lo largo del transecto, cuadrados de 2×2 cm cada 5 cm, de manera que interesaran las almohadillas del musgo, resultando de cada bloque 3 a 4 de cuadrados-muestra de 4 cm^2 . En uno de los bloques el recuento se llevó a cabo de forma aún más minuciosa, por lo que se cortaron los cuadrados-muestra de 2×2 cm cada 2,5 cm. La totalidad del contenido de cada uno de estos cuadrados-muestra de 2×2 cm fue retirado. Se examinaron a la lupa binocular todos y cada uno de los ejes y ramas del musgo en busca de inflorescencias. Todas las inflorescencias fueron contadas, retiradas y diseccionadas para verificar si se trataba de yemas anteridiales o arquegoniales, y/o si existían arquegonios en los que había tenido lugar la fecundación.

Testigos: Gerona: Vidrà, Vall de Vidrà, Rec de l'Espirau, 1.100 m. 31TDG4365, Granzow de la Cerda 2.316 a 2.320 & Sanz Magrané, 10-I-1987; Les Llances, 1.500 m. 31TDG4366, Granzow de la Cerda 2.321, 2.322 & Sanz Magrané, 10-I-1987. BCB y MA-Musci.

RESULTADOS

Es común encontrar en la zona estudiada colonias unisexuales ♀ o relativamente próximas unas a otras (del orden de decenas de centímetros), sin que por ello en las unisexuales femeninas se apreciaran esporófitos a primera vista.

Tras el recuento de los esporófitos aparecidos en las colonias implicadas en los trasplantes, pudo observarse que, efectivamente, las colonias unisexuales femeninas presentaban esporófitos. Todos los esporófitos encontrados en tales colonias resultaron ser del último año. Ello prueba que por primera vez se habían producido esporófitos, lo cual no había ocurrido antes de efectuar el trasplante. En el control y en los bloques con plantas ♀, pero no unisexuales, aparecieron esporófitos tanto nuevos como de años anteriores.

De los bloques trasplantados y después retirados y examinados en el laboratorio, se redujo a cuatro el número de éstos que cumplían los requisitos de ser unisexuales ♀, de carecer de esporófitos previamente al tras-

plante, y haber quedado, tras el trasplante, por debajo de una colonia portadora de pies ♂. En dichos cuatro bloques se observaron esporófitos, si bien la distribución de éstos dentro de cada bloque no mantiene ninguna relación con la proximidad a la región con plantas masculinas; es decir, que ni el número de esporófitos ni la tasa de fecundación en cada cuadrado-muestra (de 4 cm²) es función de la posición, como muestra la Tabla 1.

DISCUSIÓN

El objetivo de este experimento ha sido determinar si ante la presencia de una fuente de anterozoides, presentes en una colonia por encima de

TABLA I. Tasa de fecundación en un bloque transplantado (sin pies ♂) y en el control (colonia con pies ♂ y ♀) según sus respectivas posiciones (distancia a la fuente potencial de anterozoides), en *Anomodon viticulosus*.

TABLE I. Fertilization rate in a transplanted block (with no ♂ gametophores) and in control (colony with ♂ and ♀ gametophores), arranged according to position (distance from the potential source of sperm) in *Anomodon viticulosus*.

Bloque transplantado (unisexual ♀)					
distancia al bloque con pies ♂ (en cm)	núm. total de pies ♀	núm de pies ♀ fecundadas	tasa de fecundación		
3	141	4	0.028		
8	136	8	0.059		
13	233	12	0.054		
18	213	8	0.037		
23	160	10	0.038		
Bloque control núm. I					
posición de unidad de muestreo (altura en cm)	núm. de pies ♀ *	núm. de pies ♀ totales *	núm. de pies ♀ fecundadas	proporción de sexos **	tasa de fecundación
11	0	37 (+ 9)	20	—	0.540
9	0	75 (+10)	39	—	0.520
7	1	47 (+ 1)	23	0.020	0.490
5	0	60 (+ 4)	36	—	0.600
control 1	19 (+4)	217 (+16)	124	0.010	0.577
control 2	0	129 (+ 6)	71	—	0.550
control 3	4	108 (+ 4)	58	0.034	0.537
media					0.545

* Los números entre paréntesis son inflorescencias inmaduras. Estas se incluyen para calcular la proporción de sexos, pero no para la tasa de fecundación.

** La proporción de sexos se ha tomado con la proporción entre número total de inflorescencias ♂ y número total de inflorescencias ♂ y ♀.

otra con periquecios exclusivamente (unisexual ♀) cabe esperar que se produzca fecundación en los arquegonios de dicha colonia ♀. Dicho de otra forma, el hecho de haber observado en una colonia de *Anomodon rostratus* una tasa de fecundación del 46 % y, además, la ausencia absoluta de gametangios ♂ ¿puede explicarse la presencia de esporófitos en colonias unisexuales ♀ de *Anomodon* por la existencia de plantas ♂ en colonias situadas por encima de la mencionada colonia unisexual ♀? ¿Cómo demostrar que los responsables de la fecundación son los anterozoides de aquéllas? Los anterozoides, en este caso, pueden haber sido arrastrados por escorrentía hasta la colonia unisexual ♀, dado que esas colonias, igual que las de *A. viticulosus* que nos ocupan, viven sobre sustratos verticales.

Con este experimento también se ha verificado que los anterozoides pueden ser transportados hasta arquegonios que se encuentran a distancias superiores a los 25 cm y fecundar sus ovocélulas. Aunque no haya podido determinarse cuál es el límite máximo, puede estimarse que éste probablemente exceda los 35 cm. Las tasas de fecundación (Tabla 1) tienen sus valores máximos entre 8 y 13 cm por debajo de la fuente de anterozoides, y disminuye a partir de los 18 cm. En los 3 cm más próximos a tal fuente de anterozoides, la tasa de fecundación es menor. A pesar de lo reducido de la muestra, estos datos podrían indicar que existe una distancia mínima a la que los anterozoides son transportados por escorrentía: la mayor parte de ellos entre 8 y 13 cm (Tabla 1). Obviamente, los gametangios ♀ han de estar situados por debajo de los ♂ en colonias sobre sustratos verticales o inclinados más de 60°. No obstante, ocasionalmente se observó que también se había dado fecundación en algún gametangio ♀ situado aproximadamente a la misma altura que el bloque trasplantado con gametangios ♂ y a unos 5 cm de él. El que en al menos una de las colonias unisexuales femeninas todos los esporófitos encontrados fuesen recientes (no anteriores a ese mismo verano), es la prueba de que nunca antes de la realización del trasplante se habían producido esporófitos.

En *A. viticulosus*, cuya fenología se conoce bien (SANZ MAGRANÉ, 1984, 1987), el ciclo del esporófito es corto y pueden observarse cápsulas ya maduras en enero e incluso en diciembre. La fecundación se da durante el verano (agosto) e inmediatamente se desarrolla el esporófito para llegar pocos meses después al estadio en que se produce la meiosis (noviembre o diciembre). Por consiguiente, en enero, fecha en que se recolectaron los trasplantes, las cápsulas están maduras y son perfectamente distinguibles a simple vista. No obstante, se da una alta proporción de esporófitos que abortan en las etapas más tempranas de su desarrollo, mucho antes de llegar a formarse las cápsulas.

Se ha podido observar que, en al menos uno de los bloques estudiados, se han formado esporófitos donde no existían gametangios ♂. La prove-

nencia de los anterozoides tiene, obligatoriamente, que ser externa a la colonia, pues previamente se comprobó la ausencia de gametófitos ♂ en tal colonia. Se deduce por tanto que la introducción de bloques con gametangios ♂ fue la causa de que se dieran fecundaciones en esa colonia ♀.

Por otro lado, la abundancia y biomasa de algunas especies pleurocárpicas que no producen esporófitos nos hace plantearnos la cuestión de las «ventajas» evolutivas de la reproducción sexual sobre la vegetativa. En especies autoicas es posible que una colonia conste de un único genoma (BEDFORD, 1938 a, 1938 b; ANDERSON & LEMMON, 1974; WYATT, 1977). Por consiguiente, las ovocélulas de esos arquegonios serán fecundadas por anterozoides con idéntico genoma. Por tanto, es irrelevante que, en especies autoicas, los anterozoides procedan de la misma rama, del mismo gametoforo o de gametóforo distinto al del gametangio ♀, pues, como ya se ha dicho, en esas circunstancias todos tienen idéntico genoma (haploide). Sin embargo, en colonias de especies dioicas en las que ambos sexos estén presentes, puede afirmarse que existen al menos dos genomas distintos, uno femenino y otro masculino. En esas circunstancias la fecundación cruzada está garantizada. Este es el caso de las colonias de una especie dioica que crecen sobre substrato vertical, en las que parte de los anterozoides disponibles proceden de regiones superiores alejadas (en la escala de un briófito) y, además, la probabilidad de que los gametófitos de ambos sexos posean genomas aún más dispares es todavía mayor.

CONCLUSIONES

Se ha comprobado que la presencia de esporófitos en una colonia ♀ unisexual, sobre la que se han colocado gametófitos ♂, tiene como consecuencia la fecundación de las ovocélulas de sus arquegonios. Aunque la tasa de fecundación obtenida en las poblaciones involucradas en los trasplantes es baja (un orden de magnitud inferior a la de las colonias bisexuales de *A. viticulosus* utilizadas como control), se observa que los esporófitos se han producido al emplazar una colonia con anteridios por encima de una con arquegonios (observable esto cuando la colonia ♀ era unisexual). Por consiguiente, puede decirse que los anterozoides, de hecho, se desplazan hacia abajo por escorrentía, llegan hasta los arquegonios y fecundan sus ovocélulas. Sin embargo, sigue sin poder explicarse la alta tasa de fecundación, del 46 %, que se halló en las colonias de *A. rostratus* antes mencionadas. Los mecanismos de flujo gamético y la eficiencia en el transporte entre ambas especies tienen que ser, obviamente, muy diferentes. Podría ocurrir que las distancias a las que se desplazan los anterozoides sean lo bastante grandes como para que la escala que hemos utilizado no aporte apenas información (nos hemos limitado a medir el número de esporófitos a lo largo de un transecto vertical de 20 cm de longitud). La tasa

de fecundación parece que podría seguir un gradiente en función de la distancia entre gametangios ♀ y ♂, pero no de forma lineal.

La introducción de plantas anteridiales emplazadas por encima de colonias unisexuales femeninas, que previamente no fructificaban, tiene como consecuencia la producción de esporófitos, en éstas últimas, en puntos distantes al menos entre 20 y 25 cm. Dado que, de forma aproximativa, la tasa de fructificación es máxima entre los 8 y 13 cm, cabe esperar que sea ésta la distancia óptima entre gametangios ♂ y ♀ para que se verifique la fecundación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, L. E. & B. E. LEMMON. 1974. Gene flow distances in the moss, *Weissia* controversa Hedw. *J. Hattori Bot. Lab.* 38: 67-90.
- BEDFORD, T. H. B. 1938 a. The fruiting of *Climacium dendroides* W. & M. *Naturalist* 1938: 189-195.
- BEDFORD, T. H. B. 1938 b. Sex distribution in colonies of *Climacium dendroides* W. & M. and its relation to fruit bearing. *Northw. Natur.* 13: 213-221.
- IWATSUKI, Z. 1963. A revision of the east Asiatic species of the genus *Anomodon*. *J. Hattori Bot. Lab.* 26: 27-62.
- LONGTON, R. E. & S. W. GREENE. 1969. Relationship between sex distribution and sporophyte production in *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. *Ann Bot.* 33: 107-126.
- MUGGOCH, H. & J. WALTON. 1942. On the dehiscence of the antheridium and the part played by surface tension in spermatocytes in Bryophyta. *Proc. Royal. Soc. London, B*, 130: 448-461.
- PAOLILLO, D. J. 1977a. On the release of the sperms in *Atrichum*. *Am. J. Bot.* 64: 81-85.
- PAOLILLO, D. J. 1977 b. Release of sperm in *Funaria hygrometrica*. *Bryologist* 82: 619-624.
- PAOLILLO, D. J. 1979. On the lipids of the sperm masses of three mosses. *Bryologist* 82: 93-96.
- RIEMANN, B. 1972. On the sex-distribution and the occurrence of sporophytes in *Rhytidiadelphus triquetrus* (Hedw.) Warnst. in Scandinavia. *Lindbergia* 1: 219-224.
- SANZ MAGRANÉ, M. M. 1984. *Contribució al coneixement dels briòfits de la capçalera del riu Ges (Vidrà): Estudi florístic i estudi fenològic de l'espècie Anomodon viticulosus (Hedw.) Hook. & Tayl.* Memoria de licenciatura, Facultat de Biologia. Univ. de Barcelona.
- SANZ MAGRANÉ, M. M. 1987. Estudio fenológico de *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Tayl. *Actas VI Simp. Nac. Bot. Criptogámica*, 397-603. Univ. de Granada.
- SHOWALTER, A. M. 1926. Studies in the cytology of the Anacrogynae. II. Fertilization in *Riccardia pinguis*. *Ann. Bot.* 40: 713-726.

- WATSON, E. V. 1971. *The Structure and Life of Bryophytes*. 3rd. edition. Hutchinson & Co., London.
- WYATT, R. H. 1977. Spatial patterns and gamete dispersal distances in *Atrichum angustatum*, a dioicous moss. *Bryologist* 80: 284-291.
- WYATT, R. H. & L. E. ANDERSON. 1984. Breeding systems in bryophytes. In A. F. Dyer & J. G. Duckett (eds.), *The Experimental Biology of Bryophytes*, pp. 39-64. Academic Press, London.

Aceptado para su publicación: 30-V-1989.