

**“*SPHAGNUM* Y SUS MICROBIONTES, UNA FUENTE
PROLÍFICA DE APLICACIONES”**

**“*SPHAGNUM* AND ITS MICROORGANISMS, A PROLIFIC
SOURCE OF APPLICATIONS”**



Trabajo de Fin de Grado Biología

**DESIRÉE SAN NICOLÁS
HERNÁNDEZ**

Septiembre 2017.

Tutoras:

**Dra. M Carmen Alfayate Casañas y
Dra. Emma Suárez Toste.**

ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	1
Introducción.....	2
• Los briófitos colonizan el medio terrestre.....	2
• Linajes en briófitos.....	3
• Ecología de briófitos.....	5
• Ciclo de vida de briófitos.....	5
• Histología de briófitos.....	7
• Briófitos asociados a microorganismos y sus implicaciones.....	8
Objetivos.....	9
Material y métodos.....	9
Revisión Bibliográfica: Resultados.....	10
• Clase Sphagnosida: esfagnos y turberas.....	10
• Microorganismos asociados a <i>Sphagnum</i> y aplicaciones.....	11
- Esfagnos y las bacterias.....	11
Esfagnos y bacterias antifúngicas, sus aplicaciones.....	12
Esfagnos, un reservorio de patógenos humanos.....	13
Esfagnos y el género <i>Burkholderia</i> , sus aplicaciones.....	14
Esfagnos y bacterias metanótrofas y metanógenas, sus aplicaciones.....	15
Esfagnos y cianobacterias, sus aplicaciones.....	17
- Esfagnos y la comunidad fúngica, mecanismos defensivos.....	19
Esfagnos y hongos patógenos.....	20
Esfagnos y hongos parásitos.....	22
Esfagnos y micorrizas.....	23
Esfagnos y otras relaciones con hongos.....	23
Conclusiones.....	25
Conclusions.....	26
Bibliografía.....	27
Agradecimientos.....	30

RESUMEN:

Los briófitos son las primeras plantas terrestres, caracterizados por una alternancia de generaciones: el gametófito haploide (generación dominante) y el esporófito matrotrófico diploide. Entre ellos, destacan los musgos pertenecientes al género *Sphagnum*, formados fundamentalmente por dos tipos de células: los clorocistos y los hialocistos. Estas últimas, son células muertas que permiten el almacenamiento de agua y representan el micronicho de los microorganismos asociados a ellos. Los esfagnos pueden albergar diferentes tipos de microbios: simbioses, comensales, parásitos o patógenos. Estas relaciones son altamente específicas y pueden ser tanto intracelulares como epífitas. Los principales microorganismos encontrados en los esfagnos son bacterias antifúngicas, patógenos facultativos humanos, bacterias metanótropas y metanógenas, cianobacterias y diferentes tipos de hongos. Cada una de estas asociaciones esconde aplicaciones de gran importancia en la agricultura, la medicina y la biotecnología. Éstas ponen de manifiesto que los esfagnos son una fuente de fungicidas naturales, biofertilizantes, hormonas como el ácido indolacético (IAA) que promueven el crecimiento vegetal, herramientas para disminuir el cambio climático y combatir enfermedades humanas, entre otras. Los esfagnos y su microbiota, son de gran interés para la ciencia e incluyen múltiples aplicaciones.

ABSTRACT:

The bryophytes are the first terrestrial plants, characterized by an alternation of generations: the haploid gametophyte (dominant generation) and the diploid sporophyte, which depends nutritionally on the gametophyte. Among them, stands out the genus *Sphagnum*, formed by two types of cells: chlorocysts and hyalocysts. The hyalocysts are dead cells which accumulate water and are the niche of microorganisms associated with them. *Sphagnum* mosses can host different types of microbionts: symbionts, commensals, parasites or pathogens. These relationships are highly specific and may be both intracellular and epiphytic. The main microorganisms found in *Sphagnum* mosses are antifungal bacteria, facultative human pathogens, methanotrophic and methanogenic bacteria as well as cyanobacteria and different types of fungi. Each of these associations hide applications of great importance in agriculture, medicine and biotechnology. These show that sphagnages are a source of natural fungicides, biofertilizers, hormones such as indoleacetic acid (IAA) that promote plant growth, and even tools to reduce climate change and combat human diseases. Therefore, *Sphagnum* and its microbiota are of great interest to science and hides multiple applications.

INTRODUCCIÓN:

Los briófitos colonizan el medio terrestre

Un paso fundamental en la transición de la vida desde el medio marino al terrestre, fue la aparición de seres vivos fotosintéticos capaces de sobrevivir fuera del agua. Las plantas terrestres o embriófitos [1] forman un grupo monofilético [2], que se separaron muy pronto, en base al desarrollo del esporofito y los tejidos, en dos líneas evolutivas: plantas vasculares y briófitos (plantas no vasculares). Ambas líneas tienen características comunes, pero algunas de las mostradas por los briófitos son heredadas de algas y otras son propias del grupo (Tabla 1) [3].

Tabla 1. Características heredadas, compartidas y exclusivas de briófitos. (Esquema modificado de [4]).

Características de briófitos posiblemente heredadas de algas verdes	
<ul style="list-style-type: none">● Clorofila a y b, almidón intraplástico● Plasmodesmos, división celular por fragmoplasto● Sustancias fenólicas en la pared celular● Gametangios verdaderos (con cubierta de células estériles)● Oogamia con retención del gameto femenino● Gameto masculino biflagelado, raíces flagelares multiestratificadas● Matrotrofia de la fase diploide	<ul style="list-style-type: none">➔ Toda la línea verde➔ Clase (Cl.) Charophyceae➔ Familia (Fam.) Characeae➔ Fam. Characeae➔ Cl. Charophyceae➔ Cl. Prasinophyceae y Cl. Charophyceae➔ Fam. Coleochaetaceae
Características de briófitos comunes con plantas vasculares	
<ul style="list-style-type: none">● Acusada diferenciación histológica● Alternancia de generaciones heteromorfa● Embrión	
Características exclusivas de briófitos	
<ul style="list-style-type: none">● Esporofito monosporangiado, sin ramificar● Asociación permanente entre esporofito y gametofito	

La adaptación de los briófitos al medio terrestre sigue diferentes estrategias:

- Son poiquilohidros, toleran grandes cambios en la disponibilidad de agua. Si el ambiente es muy seco, se deshidratan sin sufrir daños y pueden permanecer en un estado latente deteniendo prácticamente su metabolismo. Cuando las condiciones vuelven a ser favorables, se rehidratan y recuperan sus funciones, son reviviscentes [5-7].
- Carecen de mecanismos eficaces de regulación de los niveles internos de agua, la absorben a través de toda la superficie de la planta, sin una direccionalidad marcada. Sus tejidos conductores no alcanzan la complejidad y el desarrollo del xilema y floema por lo que necesitan una conducción externa capilar [5-7].
- El sistema de aislamiento e impermeabilización es poco desarrollado, de manera que, se hidratan y secan rápidamente [7].
- El cigoto permanece en el gametangio femenino (arqueogonio) con desarrollo “in situ” para formar el embrión [7].
- Llevan a cabo la fotosíntesis, el transporte de sustancias y la fijación al sustrato sin necesidad de raíz, tallo y hojas, presentando rizoides (no son raíces verdaderas), filidios con una cutícula fina, y caulidios, si están presentes, con un sistema conductor formado por células especializadas [5-7].

Linajes en briófitos

Los briófitos se han diversificado dando lugar a tres linajes diferenciados (Fig.1): División Anthocerotophyta (Antoceros), División Marchantiophyta (Hepáticas) y División Bryophyta (Musgos).



Figura 1. Imágenes de los tres linajes de briófitos, a) antoceros, b) hepáticas y c) musgos, en las que se aprecian las diferencias morfológicas de los tres grupos [8-10].

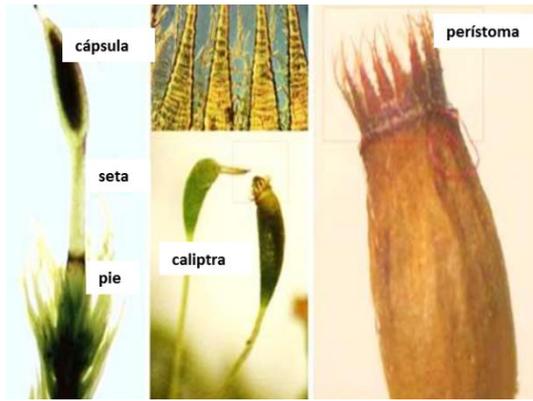
Las características generales de cada grupo son las siguientes:

* Antoceros.- 300 especies; distribuidos por todo el mundo, con mayor abundancia en zonas tropicales y templadas. El gametófito es taloso y formado por láminas lobuladas que se disponen en rosetas cóncavas que forman masas de color verde compactas (Fig. 1a). Se fijan al sustrato gracias a rizoides unicelulares lisos. El gametófito no dispone de espacios aeríferos, pero algunas especies poseen cavidades mucilaginosas que frecuentemente están colonizadas por cianobacterias del género *Nostoc*, muy importantes en la fijación de nitrógeno. El esporófito no tiene seta, posee un pie bulboso y una cápsula cilíndrica (Fig. 1a). El esporangio está cubierto por una cutícula que puede poseer estomas. La apertura de la cápsula tiene lugar por dos fisuras longitudinales [5-7].

* Hepáticas: 6000 especies; este grupo comprende especímenes que habitan en sitios húmedos y sombríos, aunque a veces pueden crecer en lugares secos y abiertos. El gametófito puede ser aplanado (hepática talosa; Fig. 1b) o con caulidios y filidios (hepática foliosa). En ambos casos, poseen unos rizoides unicelulares por los que permanecen unidos al sustrato. El esporófito es menos complejo en comparación con el de musgos y antoceros. Está formado por un pie, una seta y una cápsula que normalmente se abre en cuatro valvas y nunca posee estomas (Fig. 1b). El protonema que se origina tras la germinación de una espora, es tubular y de vida muy corta [5-7].

* Musgos: alrededor de 15000 especies, siendo la división más extensa. El gametófito siempre es folioso (Fig. 1c). Dispone de un caulidio que puede ser erecto o rastrero, y se fija al sustrato a través de rizoides pluricelulares. Los filidios se encuentran dispuestos de forma helicoidal a su alrededor, ordenándose en tres hileras a lo largo del caulidio (Fig. 1c). A nivel celular, las secciones transversales de los filidios, son generalmente simples, a excepción de la parte central correspondiente a la nervadura donde algunas células pueden estar especializadas en la conducción de sustancias, mientras que otras con paredes engrosadas, tienen función de sostén.

Los esporófitos son los más complejos y variados dentro de los briófitos (Fig. 1c). La seta posee una longitud variable. El esporangio consta de una pared estratificada y a menudo con estomas. En su interior se puede diferenciar una columna central de tejido estéril que conduce los nutrientes (columela) rodeada por el saco esporífero con las esporas. La cápsula (donde ocurre la meiosis) en las primeras fases del desarrollo está cubierta por la caliptra (Fig. 2). La dehiscencia de la cápsula se origina por una fisura circular en la parte apical formando lo que



se conoce como opérculo. Cuando éste se desprende, queda al descubierto el perístoma (Fig. 2), formado por dientes que se abren cuando el ambiente es seco para permitir la salida de las esporas que originan un protonema pluricelular y filamentoso [5-7].

Figura 2. Imagen donde se pueden apreciar las diferentes partes en los musgos (Bryophyta) [11].

Esta división Bryophyta comprende tres clases: Andreaeopsida, Bryopsida y Sphagnopsida (esfagnos) [5-7].

Dentro de los musgos, nos centraremos en la clase Sphagnopsida en la que se basará el presente TFG.

Ecología de briófitos

Los briófitos pueden vivir en cualquier ambiente donde puedan aparecer las plantas vasculares, a excepción del medio marino. Normalmente prefieren ambientes húmedos y sombríos. Son capaces de regular la humedad del ambiente en el que viven, absorbiendo el exceso de agua durante las lluvias y liberándola posteriormente, cuando el ambiente se vuelve seco. Al ser reviviscentes, pueden resistir a temperaturas que les serían letales si estuvieran en estado activo, permaneciendo para ello en estado latente. Además de tomar minerales del sustrato, son capaces de captar y acumular los nutrientes presentes en el polvo atmosférico y la precipitación. Esto les permite crecer sobre sustratos en los que no podrían hacerlo muchas de las plantas vasculares, como troncos, rocas, conchas de invertebrados, etc. Por ello, en los bosques, se les consideran fertilizantes de liberación lenta, transfiriendo los nutrientes que acumulan tras varios años a las capas que los rodean y ayudando así, en la formación y estabilización del suelo, permitiendo el posterior crecimiento de plantas vasculares [3-4].

Ciclo de vida de briófitos

Los briófitos son embriobiontes con alternancia de generaciones de diferente dotación cromosómica: el gametófito haploide y el esporófito diploide (Fig. 1). En el gametófito se encuentran los gametangios femeninos (arquegonios) y masculinos (anteridios) que producen las células sexuales o gametos haploides (n). La fecundación requiere agua, al menos en

forma de gotas, para que el gameto masculino pueda llegar hasta el femenino (oogamia), siendo esta una de las razones que limita a los briófitos a ambientes húmedos. Los gametos se fusionan y dan un embrión diploide ($2n$) que se desarrolla protegido dentro del gametangio femenino para finalmente formar el esporófito ($2n$). Luego éste produce por meiosis esporas haploides que tras ser liberadas germinan, dando lugar al protonema haploide, que por mitosis vuelve a formar un gametófito (n) y se reinicia el ciclo (Fig. 3) [3-7,12].

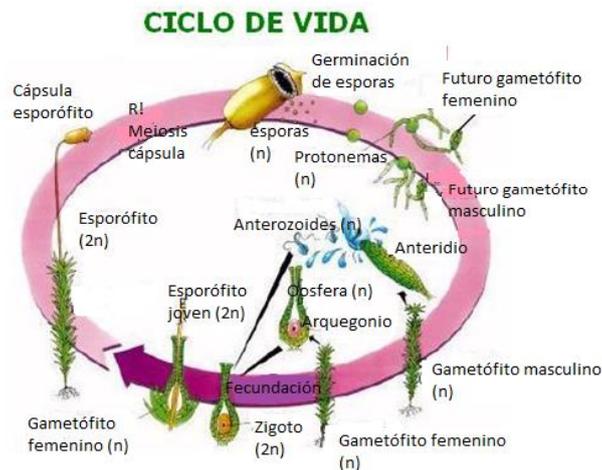


Figura 3. Ciclo de vida de briófitos por reproducción sexual, concretamente en musgos (División Bryophyta). (Imagen adaptada de [13]).

Los briófitos también pueden reproducirse asexualmente, por fragmentación al azar del cuerpo vegetativo, o por estructuras diferenciadas como yemas. El desarrollo de estas estructuras conlleva el crecimiento de un protonema no obtenido a partir de esporas. Esta capacidad de reproducción asexual es uno de los factores clave en el éxito de su expansión [4,6].

El gametófito de los briófitos (generación dominante) se forma a partir de un meristemo apical que da lugar a patrones repetidos. Es fotosintético y puede ser taloso (talo aplanado, exteriormente poco diferenciado, lobulado y provisto de rizoides en su cara inferior y con crecimiento bilateral) o folioso (un tallito o caulidio, provisto de hojitas o filidios y rizoides, con crecimiento trilateral) [3-6].

Los esporófitos son sencillos, de crecimiento limitado, no ramificados y con un único esporangio (cápsula) (Fig. 1 y 2). En el esporófito se distinguen tres regiones: pie, que les permite tomar los nutrientes necesarios del gametófito femenino, seta y cápsula con esporas (Fig. 2), las cuales pueden ser de igual tamaño: isosporia, o diferente tamaño: anisosporia. La germinación de las esporas puede ser endospórica (se inicia antes de que las esporas se

dispersen) o exospórica (después de la dehiscencia de la cápsula). Realiza muy poca fotosíntesis, por lo que depende nutricionalmente del gametófito (matrotrofia) [4-6,12].

Histología de briófitos

Los briófitos, conocidos como plantas no vasculares, sí poseen tejidos conductores, además de tejidos aislantes o de sostén como las células paquidermas. El nivel de desarrollo que alcanzan sus tejidos es diferente al de los tejidos de las plantas vasculares. Así se pueden observar diversos tipos:

* Tejido conductor de agua y sales inorgánicas: **HIDROMA**.- Constituido por células muertas, sin citoplasma ni lignina en su pared celular, retienen la lámina media y la pared primaria en las zonas de ángulo (Fig. 4a), pero en el resto, la pared se hidroliza; llamadas hidroides, con un papel similar al xilema de plantas vasculares [4,12].

* Tejido conductor de sustancias orgánicas: **LEPTOMA**.- Formado por células con citoplasma vivo, sin degradación nuclear, numerosos plasmodesmos en sus paredes que permiten que las células permanezcan conectadas entre sí (Fig. 4b); llamadas leptoides, con un papel similar al del floema de vasculares [12].

* Células de transferencia (TCs): Entre los tejidos conductores de nutrientes orgánicos a corta distancia se encuentran estas células, caracterizadas por una pared celular engrosada y que forma unos repliegues laberínticos (Fig. 4d-e). Se encargan de permitir el paso de nutrientes desde el gametófito al esporófito, participando así en la matrotrofia. Las TCs pueden estar en la generación n , $2n$ o en ambas. En algunas especies de musgos de forma excepcional no están presentes [4,12].

* **Parénquima**: Se puede observar en filidios, caulidios y esporófitos el parénquima conductor. Este tejido está formado por células que conservan protoplasto vivo y paredes intactas con o sin plasmodesmos (Fig. 4c) [12].

* **Tejidos de sostén**: Caracterizado por células con un enorme engrosamiento de su pared celular que puede ocupar casi todo el lumen celular. El citoplasma es poco denso, contiene inclusiones lipídicas y remanentes protoplasmáticos. Se encuentran en la zona que correspondería con la epidermis [4,12].

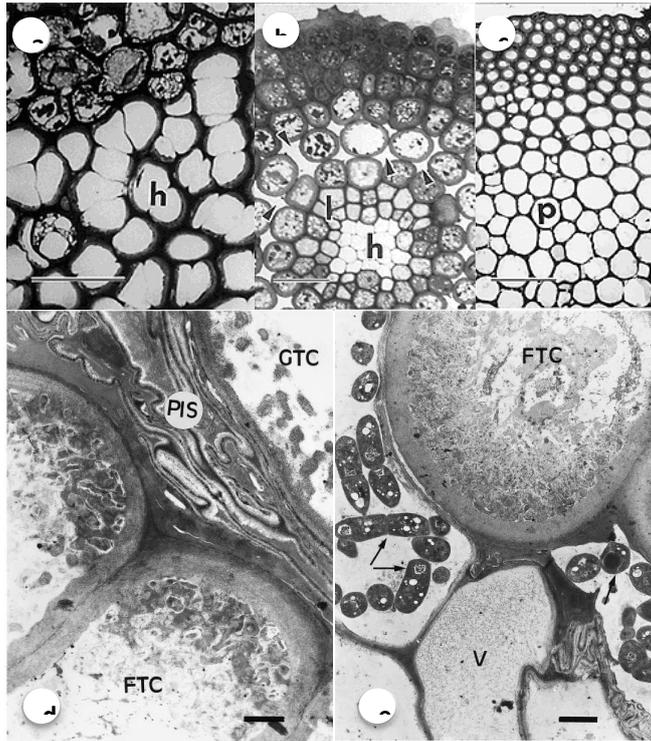


Figura 4. Fotomicrográficas al microscopio electrónico de transmisión (MET) de los diferentes tejidos en musgos. a) Hidroides (h) en *Polytrichum commune*. b) Hidroides (h) y leptoides (l) en *Pogonatum aloides*. c) Parénquima (p) en *Neckera crispa*. d-e) Células de transferencia en gametófito (GTC) y en esporófito (FTC) en *Isohetecium myosuroides*; espacio placentar: Pls; vagínula:V; organismos procariotas (bacterias: flechas). (a-c: [1]); (d-e: [14]).

Bríofitos asociados a microorganismos y sus implicaciones

Cada vez son más numerosos los estudios que demuestran la asociación de los briófitos con diferentes microorganismos [4]. Estas asociaciones pueden resultar beneficiosas, o no, para los briófitos, por lo que es de gran interés examinar a fondo las relaciones entre ambos biontes. Cuanto más investiguemos acerca de dichas asociaciones, más podremos saber sobre los mecanismos empleados por los briófitos, si es produciendo compuestos activos de tipo antifúngicos, antibacterianos, o antidepredación por herbívoros, además de otros aspectos y aplicaciones que se comentarán en este TFG.

Los briófitos pueden asociarse con diferentes tipos de bacterias, como las bacterias patógenas en plantas vasculares u oportunistas en humanos. Con cianobacterias epífitas que aumentan la fijación del nitrógeno en el briófito [4], y con algunas metilobacterias capaces de usar determinados compuestos liberados por el briófito para producir fitohormonas que permiten el crecimiento del mismo.

Además, se ha demostrado la asociación de los briófitos con una gran variedad de hongos, siendo los más usuales, los ascomicetes, que pueden actuar como parásitos, saprobiontes o

comensales. Cabe destacar que los briófitos casi nunca son atacados por hongos, por lo que es un motivo más de interés para su estudio. Algunos ascomicetes pueden contribuir a la degradación de la parte basal de los briófitos, que entran en senescencia y se descomponen, sin afectar al crecimiento activo de la parte apical de los mismos. También pueden asociarse con glomeromicetes para formar estructuras micorrizógenas como en *Aneura mirabilis* (hepática) que le permite obtener los nutrientes de los abedules, motivo por el cual no posee clorofila [4,12,15].

Las asociaciones con los diferentes microorganismos procariotas y eucariotas pueden ser inter e intracelulares en ambas generaciones, en el gametófito o en el esporófito (Fig. 4d-e) [12, 16].

OBJETIVOS

Los briófitos son el grupo más antiguo de plantas terrestres y el segundo en número de especies, resistiendo durante eras sucesivas los cambios climáticos que han ocurrido a lo largo de millones de años. Este grupo de plantas muestra capacidad para vivir en diferentes ecosistemas, con diversas morfologías, reproducción sexual y asexual, y es productor de sustancias del metabolismo secundario, además de asociarse con diversos microorganismos.

Teniendo en cuenta estos datos el principal objetivo de este TFG es recabar la información sobre los microorganismos que se asocian a los briófitos y las posibles aplicaciones de los mismos, y que correspondería al tema propuesto. Sin embargo, debido a la gran cantidad de información encontrada sobre ello, hemos decidido centrarnos sólo en un grupo dentro de los musgos, el género *Sphagnum*, y mostrar una visión general sobre los microbiontes asociados a los esfagnos y sus relaciones, así como los posibles destinos de las sustancias que se produzcan de esta convivencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente TFG es una revisión bibliográfica de la literatura más reciente (finales del siglo XX y XXI), usando las bases de datos PUBMED del NCBI (National Center for Biotechnology Information), diferentes revistas indexadas en el punto Q, de la página web de la biblioteca de la Universidad de La Laguna, así como manuales específicos editados.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA: RESULTADOS

Clase Sphagnopsida: esfagnos y turberas

Los esfagnos son un grupo de musgos muy antiguo, con ejemplares que pueden llegar a tener un metro de alto, aunque normalmente no son mayores de 30 cm. El género *Sphagnum* (Cl. Sphagnopsida; Fig. 5) comprende unas 300 especies.

Los esfagnos forman céspedes en las turberas de color verde claro, amarillento, parduzco o rojizo; se caracterizan por vivir en un ambiente extremo, con acidez (pH 3.5-5.0), bajas temperaturas, saturación de agua y condiciones anóxicas (Fig. 5). El gametófito se forma a partir de un protonema taloso, sin rizoides y con un crecimiento ilimitado por el ápice, mientras que va muriendo por la base y se acumulan restos vegetales muertos, que dan lugar a la turba (Fig. 5). Esta materia orgánica proviene del dióxido de carbono atmosférico, formando un importante sumidero de carbono.



Figura 5. Imagen de una turbera (a), con céspedes de esfagnos (b) y detalles del gametófito folioso y el esporófito (c) [17].

El caulidio parenquimatoso está formado por dos tipos de ramas, unas perpendiculares y otras péndulas, todo ello rodeado por una capa de células muertas y otra capa conocida como hialodermis con poros que permiten la entrada y salida del agua [5-7].

Los filidios caulinares tienen forma rectangular y están dirigidos hacia abajo (Figs. 5-6). Su sección transversal muestra una única capa de células, sin nervadura y se diferencian dos tipos celulares, los hialocistos (Figs. 6b-c): células grandes, muertas, hialinas, con poros y engrosamientos (fibrillas) para evitar el aplastamiento, encargados de almacenar el agua junto con la hialodermis y los clorocistos (Figs. 6b-c): células vivas, estrechas y ricas en cloroplastos que rodean a los hialocistos.

Las cápsulas son casi esféricas y están sujetas gracias a un pseudopodio que forma parte del gametófito (Fig. 6a). La apertura de la cápsula es por medio de un opérculo que salta cuando la pared de la cápsula se contrae, de manera que las esporas son expulsadas de forma violenta llegando a distancias de hasta 20 cm [12,15].

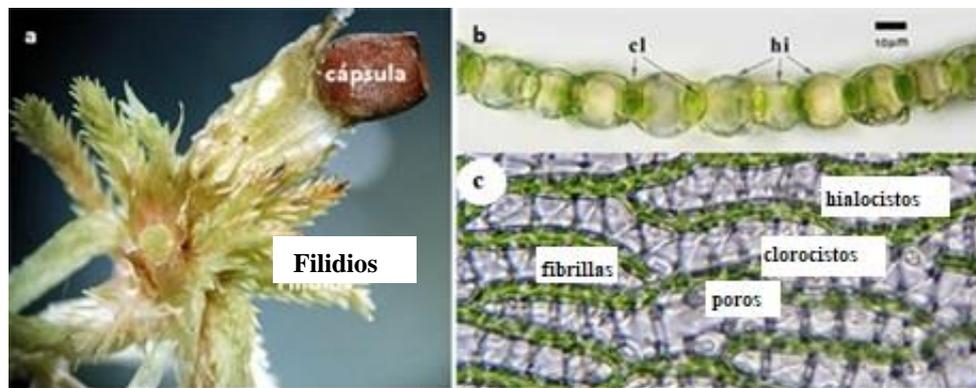


Figura 6. a) Filidios del gametófito y cápsula dehiscente de *Sphagnum*. b-c) Fotomicrografía al microscopio óptico (MO) de un filidio de *Sphagnum* en sección transversal (b) y paradermal (c) con hialocistos (hi) y clorocistos (cl) [11].

Microorganismos asociados a *Sphagnum* y aplicaciones:

Esfagnos y las bacterias

Los musgos del género *Sphagnum* son capaces de asociarse con diferentes bacterias a pesar de las condiciones ambientales extremas en las que viven estas plantas. Esto se debe a que existe una alta especificidad entre los musgos, su hábitat y las bacterias vinculadas a ellos, de manera que, los microorganismos que hacen simbiosis con *Sphagnum*, deben adaptarse a tales características ambientales. Además, según los nutrientes disponibles, la humedad o el pH, la diversidad de bacterias que los colonizan puede ser mayor o menor. Este es el caso de *Sphagnum fallax*, según Opelt, *et al.* (2007) [18] al tener un mayor contenido en nutrientes, posee una mayor diversidad de bacterias que *Sphagnum magellanicum*, lo que proporciona un claro ejemplo de la estrecha relación entre las bacterias y las especies de *Sphagnum* [15,19].

La comunidad bacteriana de *Sphagnum* tiene una gran singularidad por este musgo, y no ocupa cualquier parte del mismo, sino que habita en un micronicho determinado en el gametófito, en los hialocistos (Fig. 7a), que son capaces de almacenar grandes cantidades de agua necesaria para esta comunidad bacteriana. Esto también se ha observado en musgos de otros géneros, como *Tortula ruralis* y *Aulacomnium palustre* [19], en los que se distinguen determinadas estructuras en el gametófito, con morfología papilar compuesta o simple (Figs. 7b-c), que sirven de nicho para las bacterias [19].

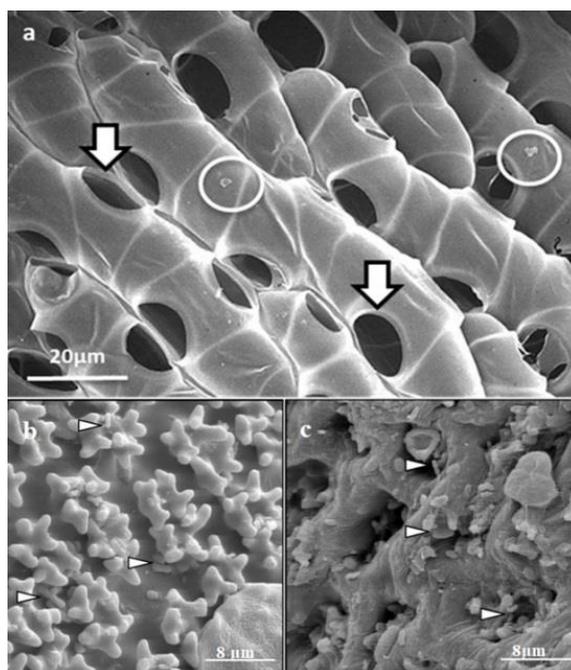


Figura 7. Fotomicrografías al microscopio electrónico de barrido (MEB) de los micronichos en el gametófito y las bacterias en a) los hialocistos de *Sphagnum* (flechas); b) papilas compuestas (cabeza flecha) en *T. Ruralis*; c) papila simple (cabeza flecha) en *A. palustre*. Bacterias: círculos. Imágenes de [11,19].

Esfagnos y bacterias antifúngicas, sus aplicaciones

Una de las características que más llama la atención de los esfagnos (gen. *Sphagnum*) es que casi nunca se ven afectados por enfermedades. Esto se debe a que son un nicho natural de microorganismos especializados en la defensa contra hongos patógenos, y posiblemente, también contra bacterias. Es por ello, que los esfagnos eran utilizados en la antigüedad como apósitos para las heridas en la primera y segunda guerra mundial y como medicina natural en la cultura India y Maya [18].

Los hongos patógenos y no patógenos, poseen cierta preferencia por los hábitats ácidos como los de las turberas de *Sphagnum*, de manera que estos musgos, se asocian con bacterias que poseen propiedades antifúngicas e intervienen como mecanismo de defensa contra estos patógenos, a cambio de los nutrientes y la protección que les ofrece el esfagno [18].

Las bacterias con propiedades antifúngicas que dominan en los musgos de este género, se encuentran en los filidios del mismo, y pertenecen a los géneros *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Serratia* y *Staphylococcus*. También se encuentran otros géneros de bacterias antagonistas de hongos, como *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Chromobacterium*, *Delftia*, *Dyella*, *Fulvimonas*, *Hafnia*, *Micrococcus* y *Plantibacter*. Estas bacterias tienen un alto potencial antifúngico contra *Rhizoctonia solani* (basidiomicete) y *Verticillium dahliae* (ascomicete), dos

patógenos peligrosos que causan grandes pérdidas en el rendimiento de cultivos agrícolas importantes [18,20,21].

Aplicaciones: Estos microorganismos antifúngicos y antagonistas tienen aplicaciones en biotecnología. Estas bacterias de esfagnos pueden ser empleadas en plantas vasculares de interés como biocontrol de patógenos fúngicos de la comunidad vegetal por medio de antagonistas [20,21]. También podrían emplearse para el aislamiento de compuestos bioactivos procedentes de la comunidad bacteriana de la filosfera de *Sphagnum*, que son una fuente de fungicidas naturales. Se sustituirían los fungicidas químicos por compuestos extraídos de microorganismos presentes en *Sphagnum*, los cuales serían ecológicos y respetuosos con el medio ambiente. Un ejemplo de ello, es el empleo de bromuro de metilo como fumigante de amplio espectro para acabar con patógenos vegetales, con consecuencias bastante dañinas para el medio ambiente, y su alternativa los fungicidas naturales procedentes de *Sphagnum* y sus bacterias [18,20,21].

Esfagnos, un reservorio de patógenos humanos

Las turberas de *Sphagnum* son una fuente de patógenos facultativos u oportunistas de los seres humanos, sobre todo en aquellas personas con una alta predisposición a la enfermedad. Esos microorganismos son capaces de enfermar a pacientes inmunocomprometidos con fibrosis quística o infecciones de VIH.

Las principales bacterias oportunistas de humanos que se encuentran asociadas a los briófitos de este género son: *Burkholderia multivorans*, *Hafnia alvei*, *Pantoea agglomerans*, *Rothia amarae*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus pasteurii* y *Yersinia kristensii* [18].

Aplicaciones: En las últimas décadas han aumentado, de forma dramática, las infecciones por este tipo de oportunistas. Además, debido al cada vez mayor número de personas predispuestas a ser afectadas, se prevé que estas infecciones aumenten aún más. Por ello, es de crucial importancia estudiar los reservorios naturales de estos microorganismos, y los *Sphagnum*, son la herramienta clave para ello, pudiendo proporcionar los conocimientos necesarios para desarrollar importantes avances en la salud humana. Cuanto más se investigue sobre la interacción de estas bacterias oportunistas y los briófitos de este género, más podremos saber sobre las relaciones que pueden tener con los seres humanos, cómo desarrollan su patogenicidad, y en base a ello, ser capaces de combatir a estos patógenos y

evitar las enfermedades humanas. Incluso, es posible llevar a cabo un genotipado de este tipo de patógenos aislados de *Sphagnum*, para estudiar cuáles son sus factores de patogenicidad y cómo reprimirlos [18].

Esfagnos y el género *Burkholderia*, sus aplicaciones

Entre el grupo de oportunistas, cabe destacar, las bacterias del género *Burkholderia* presentes en *Sphagnum*, las cuales se pueden dividir en dos grupos, las patógenas como *Burkholderia cepacia* [12] y las no patógenas, capaces de promover el crecimiento vegetal y la rizoremediación como *Burkholderia phytofirmans* [18,19,22,23].

Este grupo de bacterias no patógenas, con potencial antifúngico y promotoras del crecimiento, son dominantes en los musgos *Sphagnum*; son moderadamente acidófilas, psicrófilas y fijadoras de dinitrógeno y están estrechamente adaptadas a las condiciones de las turberas. Presentes en una proporción de unas 10³-10⁵ células por gramo de turba húmeda (aunque este número podría ser mucho mayor), convierten a los esfagnos en un reservorio de este tipo de microorganismos. Además, son capaces de utilizar como fuente de carbono y energía una amplia gama de sustratos: ácidos orgánicos, azúcares, polialcoholes y algunos compuestos aromáticos. Por ello, algunas especies de esta bacteria pueden ser utilizadas como biodegradantes eficaces, lo que tiene especial interés en procesos de biorremediación [23].

Aplicaciones: Las bacterias del género *Burkholderia* presentes en los esfagnos, pueden ser de gran utilidad en la agricultura por comportarse como bacterias promotoras del desarrollo de la planta, y por lo tanto, en perfectos biofertilizantes. Tienen capacidad para fijar el nitrógeno (un elemento limitante en el crecimiento de la mayoría de las plantas agrícolas); producen sideróforos y compuestos volátiles que actúan a modo de biocontroladores de hongos y nemátodos; tienen capacidad para producir exopolisacáridos y solubilizar fosfatos otorgando a las plantas las condiciones adecuadas para su crecimiento (Fig. 8) [22,23].

De hecho, se ha comenzado a inocular cultivos de arroz con la bacteria *Burkholderia vietnamiensis*, dando como resultado un aumento final del 13-22% en el rendimiento y llenado de grano. Un resultado mucho mejor que el obtenido con fertilizantes nitrogenados, representando una alternativa más ecológica para la agricultura y actuando de forma similar a una hormona que estimula el crecimiento de los vegetales (Fig.8) [24].

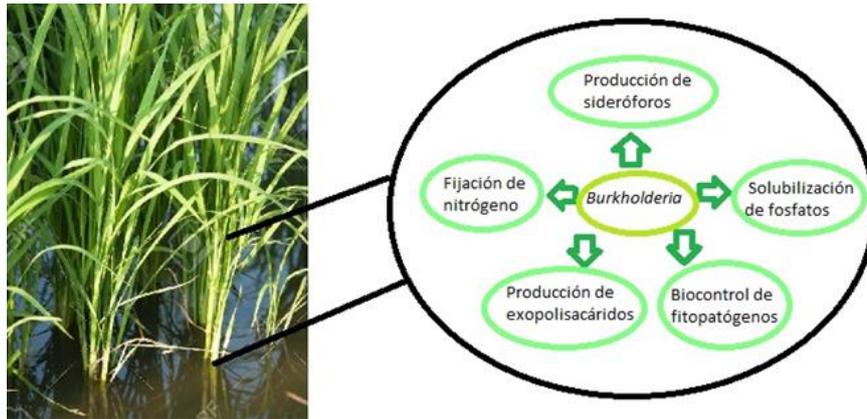


Figura 8. Imagen de un arrozal en el que se han utilizado bacterias del género *Burkholderia* aisladas de *Sphagnum*, y los efectos beneficiosos de estos microorganismos promotores del crecimiento sobre el cultivo comercial. Imagen de [22].

Esfagnos y bacterias metanótrofas y metanógenas, sus aplicaciones

Los esfagnos son capaces de establecer simbiosis con dos tipos de microorganismos relacionados con la producción y consumo del metano. Por un lado, en las zonas anaeróbicas del pantano o la turba se asocian a bacterias y arqueas metanógenas, y éstas producen metano que liberan a la atmósfera. Y por otro lado, en las partes aeróbicas se asocian con bacterias metanótrofas que consumen gran parte del metano producido por las anteriores. Por lo tanto, el balance final de emisión de metano a la atmósfera, es relativamente pequeño, gracias a la acción de la comunidad bacteriana metanótrofa de *Sphagnum* [25-27].

Además, los metanótrofos asociados con *Sphagnum*, no solo consumen metano, sino que ayudan en la fijación de CO₂. Entre el 10-30% del carbono de *Sphagnum*, procede del CO₂ derivado de la oxidación del metano, y se incorpora como un esteroide específico (sitosterol) de este musgo [28,29].

Todas las especies de *Sphagnum* contienen bacterias metanótrofas, que se encuentran en los hialocistos y filidios del musgo, siendo microorganismos endófitos que crecen de forma activa en su interior (Fig. 9). El nivel de agua es el determinante ambiental que origina las diferencias de bacterias metanótrofas entre los diferentes hábitats y los metanótrofos pueden moverse de un musgo a otro. Esto demuestra que *Sphagnum* es un “fondo” de este tipo de bacterias. [28,29].

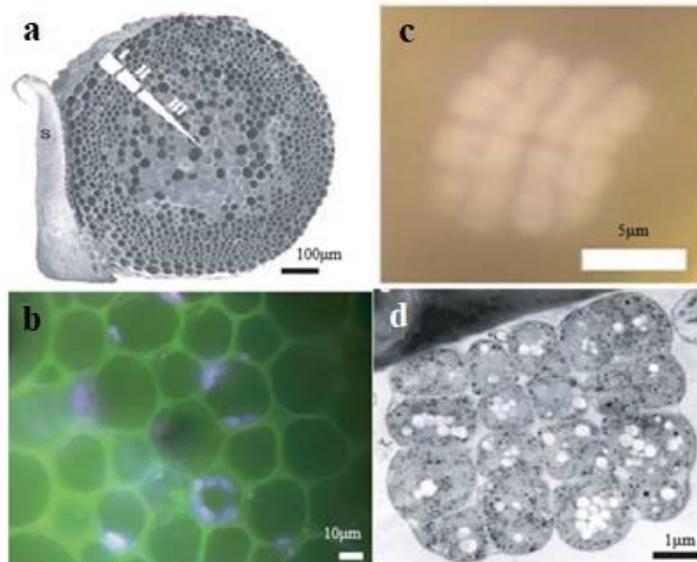


Figura 9. Imágenes de metanótrofos observados en *Sphagnum cuspidatum* con sondas oligonucleotídicas, dirigidas por ARNr, específicas para la hibridación *in situ* flouorescente (FISH). a) Fotomicrografía al MEB de una sección transversal de un caulidio de *Sphagnum*; S: filidio; I: corteza externa del caulidio; II: cilindro interno; III: médula interna. b) Fotomicrografía de epifluorescencia de las células del nuevo metanótrofo en la corteza externa de los caulidios de *Sphagnum*. c y d) Hibridación de las sondas con bacterias de aspecto de densos cúmulos geométricos y fotomicrografía al MET, estrechamente unidos a las células vegetales vivas en los filidios caulinares de *Sphagnum*. Imágenes de [28].

Los representantes dominantes de la comunidad de metanótrofos de *Sphagnum*, son las especies *Methylocapsa acidiphila* y *Methylocella palustris*, con una proporción de 105-106 células por gramo de turba (Fig. 10). Sin embargo, también se ha encontrado una población más abundante de metanótrofos, que están filogenéticamente próximos al género *Methylocyst*. Su especie aún es desconocida, por lo que son necesarios más estudios sobre este tipo de microorganismos [30].

Existe una estrecha relación entre estas bacterias y el musgo *Sphagnum*, ya que durante mucho tiempo ha sido difícil aislar este tipo de microorganismos en el laboratorio, debido a la alta especificidad entre ellos y las condiciones naturales en las que viven. Sólo ha sido posible aislarlos y cultivarlos en medios de cultivo que recrean a la perfección las condiciones que poseen las turberas de *Sphagnum* [30,31].

Aplicaciones: Las bacterias metanótrofas de *Sphagnum* son capaces de limpiar, de manera eficiente, algunos gases del efecto invernadero, como el metano que tiene un efecto en el calentamiento global, 20 veces mayor que el CO₂ y así reducir la contaminación. Por lo tanto pueden ser utilizadas para disminuir los niveles de metano en la atmósfera y así luchar contra el cambio climático. De hecho, en los últimos años se ha aislado *Methylocella silvestris*, una bacteria que promete ser una herramienta eficaz en el control y disminución de este problema. Posiblemente, con una mayor investigación, podría llevarse a cabo un estudio de los genes implicados en la oxidación del metano y tratar de manipular genéticamente otras bacterias más comunes y que crezcan en ambientes menos extremos para que también sean capaces de oxidar el metano [28,29,32].

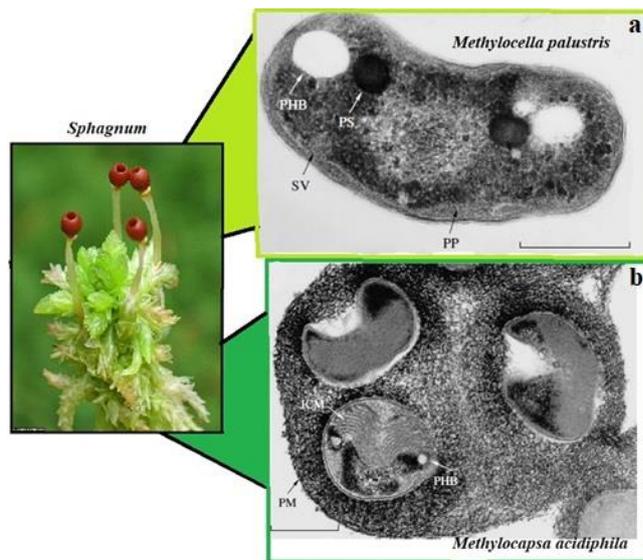


Figura 10. Fotomicrografías al MET de dos bacterias metanótrofas dominantes en *Sphagnum*. a) *Methylocella palustris*, con forma de barra bipolar pequeña; carece de membranas intracitoplasmáticas (típico de los metanótrofos), con amplio espacio periplásmico (PS), sistema de vesículas esféricas de invaginaciones de la membrana plasmática (SV) y gránulos de poli- β -hidroxibutirato (PHB) y polifosfato (PP). b) *Methylocapsa acidiphila*, coccobacilos que forman agregados de células rodeadas por una matriz de polisacáridos (PM); con un sistema bien desarrollado de membranas intracitoplasmáticas (ICM) y gránulos de poli- β -hidroxibutirato (PHB). Imágenes de [30].

Esfagnos y cianobacterias, sus aplicaciones

Las cianobacterias, algas cianofíceas o algas verdeazuladas, son los únicos procariontes fotosintéticos, y responsables de una gran proporción de la fijación de nitrógeno y dióxido de carbono a nivel mundial. Pueden ser de vida libre o establecer simbiosis con una amplia gama de organismos: plantas vasculares, líquenes y briófitos, destacando la que establecen con los esfagnos. Los musgos del género *Sphagnum*, pueden asociarse tanto a cianobacterias epífitas como endófitas, principalmente del género *Nostoc*. Estas ocupan los hialocistos del musgo, ya que el principal factor abiótico que puede influir en la fijación de nitrógeno, es la humedad. Otro factor abiótico condicionante de esta simbiosis, es el pH. A valores de pH 4.2 y 4.9, como los que caracterizan a *Sphagnum lindebergii* y *S. riparium*, las cianobacterias establecen relaciones intracelulares con el musgo, para escapar del pH desfavorable. A pH en torno a 3.8, donde crecen los musgos *Sphagnum balticum*, *S. fuscum* y *S. annulatum*, no se encuentran cianobacterias endófitas, pero sí epífitas [33-36].

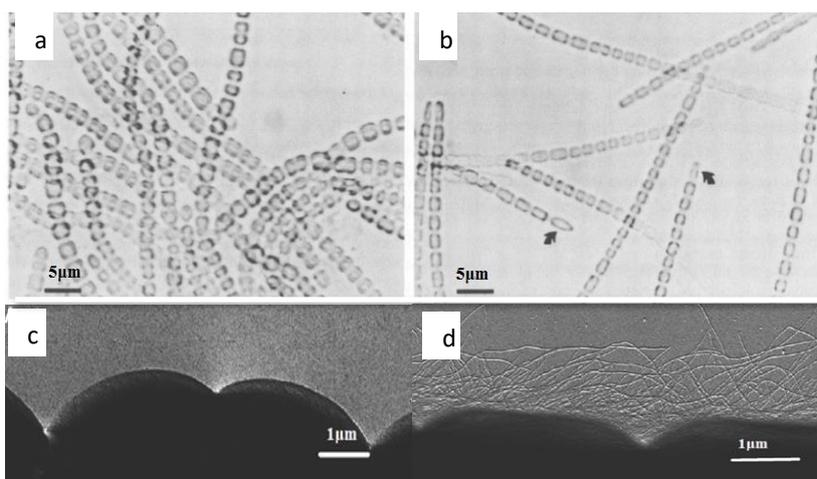
Cuando las cianobacterias se encuentran en estado libre fijan nitrógeno y dióxido de carbono, pero en simbiosis con *Sphagnum*, interrumpen la fotosíntesis en los filidios, obteniendo carbohidratos, refugio y protección del musgo, a cambio de nitrógeno. Además, producen toxinas como las microcistinas, unos péptidos pequeños, cíclicos y altamente tóxicos que son responsables de la intoxicación animal, proporcionando así cierta protección a su huésped [33,36].

Estas cianobacterias también son capaces de producir ácido indolacético (IAA), liberando una mayor cantidad de esta fitohormona en simbiosis, que en vida libre. La síntesis de esta

fitohormona parece estar regulada por el triptófano. Es posible que la liberación de IAA proporcione a bacterias que interactúan con *Sphagnum*, una herramienta para promover su crecimiento y la división de las células vegetales del propio briófito, garantizando que el cianobionte no supere al huésped. Aún no está del todo claro el papel que juegan estas fitohormonas en las simbiosis entre cianobacterias y musgos por lo que se requiere una mayor investigación [37].

Para establecer la simbiosis con el musgo, las cianobacterias desarrollan dos estructuras celulares diferentes: la hormogonia y los heterocistos [33,34]. La hormogonia son unos filamentos cortos móviles que desarrollan para llegar hasta el tejido vegetal del musgo (Figs. 11a-b), al que entran a través de los poros de los hialocistos. Son dirigidas por el *Sphagnum* hasta el punto de entrada al tejido vegetal, gracias a la liberación de sustancias quimioatrayentes y factores inductores de la hormogonia (HIF) [33]. Estas sustancias son liberadas por los esfagnos en condiciones limitantes de nitrógeno, siendo una herramienta de estos para inducir la simbiosis con cianobacterias. Una vez que la hormogonia entra en el *Sphagnum* pierde movilidad y se empiezan a diferenciar los heterocistos, que son células especializadas en la fijación de nitrógeno. Inmediatamente después de la infección, la fijación de dióxido de carbono del cianobionte disminuye, mientras que la tasa de fijación de nitrógeno es mayor que en vida libre [33,34]. Según Adams y Duggan (2008) [33] sólo un 20% del nitrógeno es mantenido por el cianobionte, y el resto es transferido al huésped [33].

Nostoc punctiforme puede presentar en sus filamentos vegetativos unas estructuras a modo de



“pili” (Figs. 11 c-d) [33], que se producen durante la diferenciación y ayudan al movimiento de la hormogonia para alcanzar al huésped, siendo fundamentales para que tenga lugar la simbiosis [38].

Figura 11. a) Fotomicrografía de campo claro de las células cuadradas de los filamentos vegetativos de *Nostoc* sp y células de la hormogonia. b) Células terminales a modo de huso (flechas) de la hormogonia. Imágenes de [38]. c-d) Fotomicrografías al MEB de *Nostoc punctiforme*. c) Filamentos vegetativos sin pili. d) Hormogonia con pili. Imágenes de [33].

Aplicaciones: En los bosques boreales (característicamente nitrógeno limitantes) los musgos y cianobacterias asociadas pueden ocupar el 80% de la cobertura del suelo y juegan un papel fundamental en el ciclo del nitrógeno de este ecosistema [33,34]. Esto implica que los musgos *Sphagnum*, reservorios de cianobacterias, podrían proporcionar dichas bacterias con las que poder llevar a cabo nuevas asociaciones con plantas cultivadas, mejorando la incorporación de nitrógeno y como alternativa ecológica a fertilizantes nitrogenados [33]. Además, debido a su capacidad para producir auxina, la simbiosis de cianobacterias y plantas agrícolas, no solo mejoraría la fijación de nitrógeno sino también el crecimiento y desarrollo de los vegetales. De ahí la importancia de estudiar la simbiosis de las cianobacterias y *Sphagnum*, sobre todo las sustancias HIF liberadas por el musgo, que podrían aplicarse en los cultivos para favorecer la simbiosis. Además, podrían utilizarse en la sucesión de bosques quemados [34,35]. Otra posible aplicación biotecnológica puede ser el análisis del genoma de estas bacterias para comprender qué genes están implicados en la simbiosis y manipularlos, y conseguir las relaciones deseadas con las plantas agrícolas. A este respecto, ya se ha descrito la secuencia del genoma de *N. punctiforme* simbionte y se han mutado algunas variantes que permiten obtener hormogonias que expresen la cantidad adecuada de pilis, para favorecer las simbiosis. Esto demuestra el valor, de estos conocimientos y los avances que se podrían lograr con ellos en esta área [36-40].

Esfagnos y la comunidad fúngica, mecanismos defensivos

Los musgos del género *Sphagnum* son capaces de establecer relaciones con una amplia variedad de hongos, pero aún no se han descubierto las claves de la mayoría de estas interacciones. A pesar de la escasez de enfermedades que pueden padecer estos musgos, como ya hemos comentado, se han establecido relaciones con hongos fundamentalmente de tipo patógena y parásita, que pueden causar ciertos daños como clorosis y necrosis en los tejidos briológicos. Otros interactúan estableciendo asociación con cianobacterias, algunos son micorrizógenos y de otros no se conoce su mecanismo [41,42].

Los hongos que pueden causar infección, cuando atacan a musgos de géneros diferentes de *Sphagnum*, permanecen en los espacios intercelulares, en cambio, la mayoría de los asociados a *Sphagnum* forman hifas o haustorios que tratan de introducirse en las células vegetales. Así, cuando las hifas de los hongos *Erysiphe cichoracearum* y *Uromyces vignae* (Fig. 12), logran romper la pared celular del hospedador, comienzan a desarrollarse en el interior, y la célula epidérmica del musgo muere rápidamente disminuyendo así el crecimiento del hongo.

A esto se le conoce como respuesta de hipersensibilidad (HR). En este sentido, parecen existir una serie de respuestas defensivas asociadas a la pared celular del *Sphagnum*, al igual que en otros musgos, que actúan como la primera línea de defensa contra la penetración directa del hongo. Estos mecanismos son: la reticulación de las proteínas de la pared, la impregnación de la pared con compuestos fenólicos o sílice, la deposición de calosa entre la pared celular y la membrana plasmática, y la liberación extracelular de especies reactivas de oxígeno, como el H₂O₂. Además, parece necesaria la adhesión de la pared celular y la membrana plasmática en las células de los musgos, para desarrollar esos mecanismos de defensa (Fig. 12). De esta manera, la susceptibilidad o no, a la infección se determina cuando el hongo está en contacto con la pared celular del musgo [41,42].

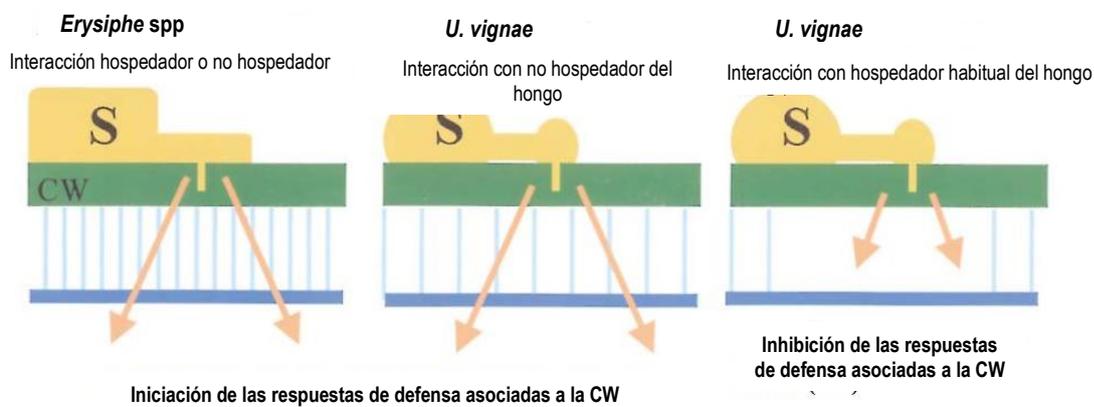


Figura 12. Dibujo esquemático en el que se muestra la adhesión entre la pared celular (CW) y la membrana plasmática para desencadenar los mecanismos de defensa frente a hongos como *Erysiphe* y *Uromyces*. Imagen de [41].

Como hemos citado en este TFG, existen diversos mecanismos de interacción entre los musgos *Sphagnum* y la comunidad fúngica, a continuación presentaremos algunas de las asociaciones más destacadas en relación con este briófito.

Esfagnos y hongos patógenos

El hongo patógeno necrotrófico, *Scleroconidioma sphagnicola*, causa una de las pocas enfermedades conocidas en *Sphagnum*, colonizando específicamente a *Sphagnum fuscum*, ya que está adaptado para su dispersión en los pantanos de este briófito. El hongo produce unos parches parduscos en la turbera y corresponde a los musgos enfermos que sufren clorosis y necrosis. Según observaron Tsuneda, *et al.* (2001) [43], la etapa inicial de la infección comienza con la aparición de microesclerocios en los que las hifas del hongo crecen en la superficie de los filidios y exudan un material viscoso que rodea las hifas individuales (Fig. 13a), permaneciendo las paredes del musgo intactas. A continuación, las hifas penetran en los

clorocistos de los filidios y los cloroplastos degeneran, causando la clorosis (Fig. 13b). En la etapa avanzada se aprecia una gran extensión de hifas y microsclerocios bien desarrollados, sobre todo en las regiones terminales (Figs. 13c-d). Dichas estructuras tienen como función el almacenamiento de nutrientes lo que facilita la supervivencia del hongo bajo condiciones ambientales adversas y dispersión de la enfermedad [44,45]. Cuando se vuelven metabólicamente inactivas, se transforman en conidiomas (Fig. 13e), que producen conidios adaptados al agua para la dispersión, cuyas gruesas paredes están impregnadas con grandes cantidades de melanina y un alto contenido en cuerpos lipídicos. El hongo descompone la pared celular de *Sphagnum*, hecho que es casi imposible para muchos microbiontes debido a la alta resistencia de las paredes celulares de este musgo, basado en su contenido en compuestos fenólicos y otras estructuras de la pared relatado anteriormente. Al penetrar y digerir los componentes de la pared, generan unas deformaciones onduladas (Fig. 13f), de las cuales se desconoce, si se trata de un efecto de la infección o una respuesta defensiva del musgo ante este hecho [43-45].

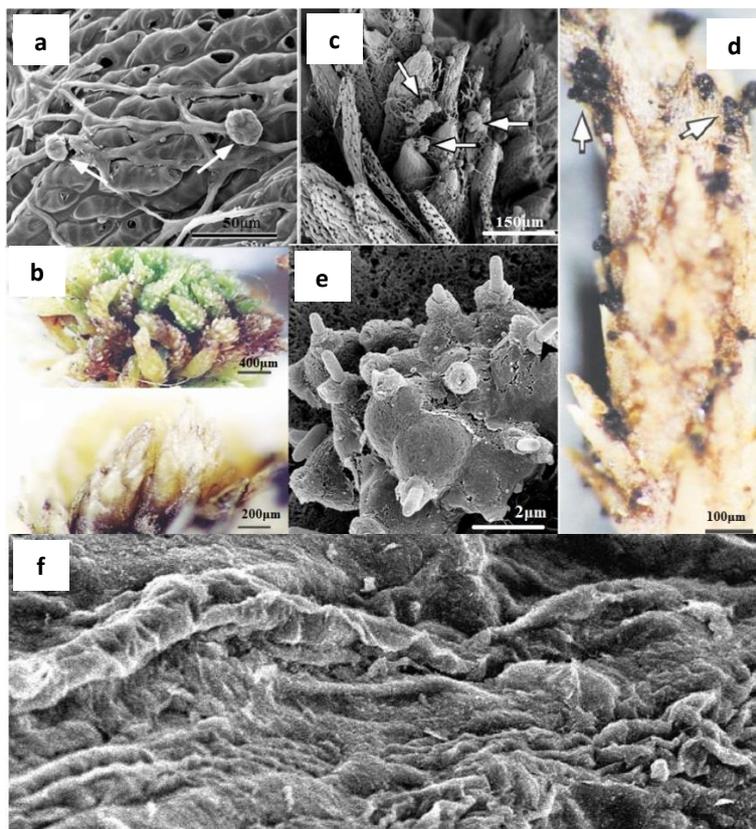


Figura 13. a) Fotomicrografía al MEB de microsclerocios (flechas) e hifas rodeadas por una vaina viscosa. b) Clorosis en los filidios. c-d) Microsclerocios (flechas) en la partes terminales del filidio; c: MEB. e) Fotomicrografía al MEB de células conidiogénicas en la superficie de microsclerocios que producen conidios. f) Fotomicrografía al MEB de la superficie ondulada de la pared celular del musgo, tras la infección. Imagen de [43,45].

Además del hongo *S. sphagnicola*, los musgos del género *Sphagnum*, sobre todo *S. fuscum*, se asocian a otro hongo patógeno que también posee microscleriosos de color negro como es *Capnobotryella renispora*, formador de colonias cerebriformes negras, sin conidios y con crecimiento hifal (Fig. 14a), que a diferencia de *S. sphagnicola* crece por subdivisiones de la célula madre (Fig. 14b). Las células de microsclerocios maduros presentan alto contenido en melanina, lípidos y orgánulos poco definidos (Fig. 14c) como en *S. sphagnicola*. Estas estructuras permanecen en reposo hasta que las condiciones ambientales del *Sphagnum* sean favorables para su crecimiento, ya que la melanina desempeña un importante papel en la absorción de rayos UV y X, tolerancia al estrés y cambios físicos de temperaturas extremas y desecación y los cambios biológicos de lisis causadas por enzimas degradantes de la pared celular liberadas por otros microorganismos [45].

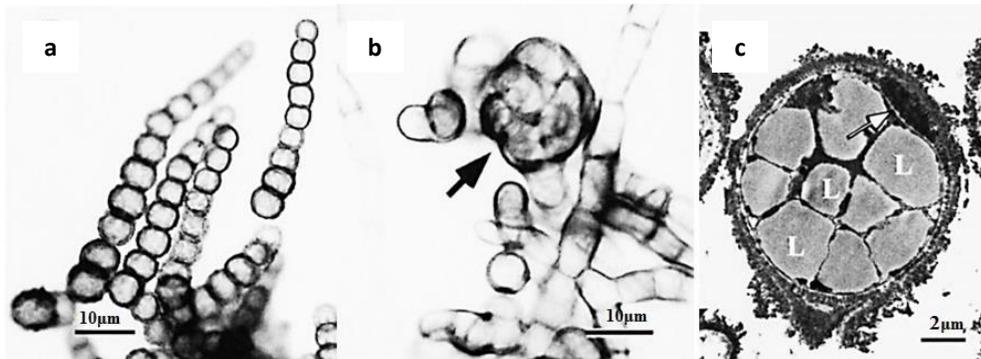


Figura 14. a-b) Fotomicrografías al MO de a) cadenas de células globosas de *C. renispora*; b) microsclerocio de subdivisiones celulares. c) Fotomicrografía al MET del microsclerocio con cuerpos lipídicos (L) y zona de separación ocupada por melanina (flecha) Imágenes de [45].

Otros patógenos en *Sphagnum* son: *Tephroclybe palustris*, que produce unas estructuras a modo de “clavijas” que liberan pectinasas para digerir la lámina media de las células foliares de *Sphagnum fallax*, penetrando en ellas y deteriorando el protoplasto, y *Bryophytomyces sphagni*, que se desarrolla en el interior de las cápsulas del esporófito, reemplazando las esporas del musgo y utilizando el mecanismo de dispersión del mismo para extender la enfermedad. Esto es un indicio de la alta especificidad entre ambos organismos [44].

Esfagnos y hongos parásitos

Algunos *Sphagnum* se asocian con hongos parásitos. Es el caso de *Sphagnum squarrosum* en el que el hongo *Discinella schimperi* ocupa sólo las células mucilaginosas en los pelos del caulonema del musgo, por medio de apresorios muy ramificados, lo que sugiere una relación parasitaria especializada. Otro parásito fúngico es *Galerina paludosa* que forma haustorios pegajosos dentro de las células del protonema de *S. capillaceum* [44].

Esfagnos y micorrizas

Las micorrizas son asociaciones entre las raíces de plantas y hongos que mejoran el crecimiento de las plantas, aumentan las tasas de supervivencia y de desarrollo de las mismas, mejora la resistencia a las tensiones bióticas y abióticas, además de disminuir los requerimientos nutricionales y aumentar la producción de frutos [46]. Este tipo de relación también se observa en *Sphagnum*, y los hongos micorrízicos de la familia Glomaceae. Estos hongos (p.e. *Glomus fasciculatum*) [47] forman micorrizas arbusculares (MA) que facilitan la absorción y transferencia de nutrientes en los esfagnos, aunque aún no se puede determinar con exactitud si desempeñan las mismas funciones que tienen con la plantas vasculares, siendo necesaria una mayor investigación en este campo, ya que podría esconder varias aplicaciones aún no descubiertas [46-49].

Esfagnos y otras relaciones con hongos

Los esfagnos pueden establecer otras asociaciones con microhongos como *Oidiodendron maius*, *O. periconioides* y *Pochonia bulbilosa* que liberan una variedad de enzimas extracelulares para degradar las paredes celulares de *Sphagnum fuscum*, y que son muy particulares, de los que se desconocen los detalles de cómo la realizan [44].

Cabe destacar la presencia del género *Trizodia* en algunos *Shagnum* que realizan simbiosis con cianobacterias y sólo cuando dichos procariotas están presentes. En estos casos, el crecimiento fúngico se localiza exclusivamente, en los ápices vivos del caulonema del musgo, formando apotecios blanquecinos e hifas que entran en los hialocistos a través de los poros celulares (Figs. 15a-b). Esta interacción entre *Sphagnum*, *Nostoc* y *Trizodia* es muy especializada y no parece perjudicial para los participantes, pero aún se desconocen los detalles de la misma [50].

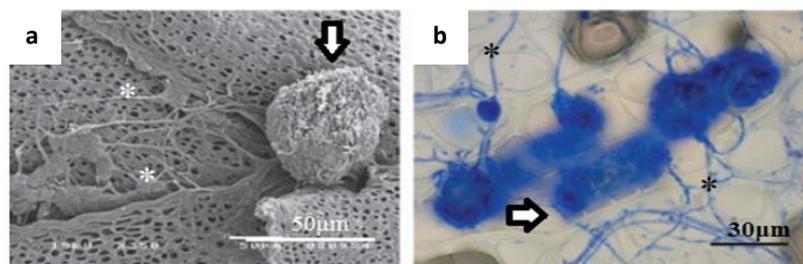


Figura 15. Cianobacterias. a) Fotomicrografía al MEB de colonias de cianobacterias (flechas) e hifas de *Trizodia* (asteriscos). b) Fotomicrografía al MO de una colonia de cianobacterias dentro de una célula hialina de *Sphagnum* envuelta por las hifas de *Trizodia*. Imagen de [51].

Aplicaciones: Algunos de los hongos que hacen simbiosis con *Sphagnum*, son patógenos fúngicos que pueden causar grandes pérdidas económicas en la agricultura y la silvicultura. Por ello, una mayor investigación de los mecanismos de defensa de estos briófitos ante estas infecciones es necesaria, para entender la interacción de los hongos y plantas, sus mecanismos de patogenicidad y poder así, combatir estas enfermedades fúngicas. Además, es de especial interés, la extracción y genotipado de ARNm presente en las células individuales de los musgos *Sphagnum* resistentes o susceptibles a la infección, para crear una biblioteca con los genes que intervienen en el proceso de defensa. De hecho, ya se están llevando a cabo, este tipo de estudios. Además, el análisis de los mecanismos de defensa contra hongos de *Sphagnum*, en comparación con los de las plantas vasculares, es similar. Lo que indica que esos mecanismos de defensa, pudieron desarrollarse antes de la diferenciación de vasculares y no vasculares [41,42].

Es necesario mencionar que la mayoría de las relaciones entre los hongos y *Sphagnum* mencionadas en este TFG, parecen ser perjudiciales para el musgo [43-45], por lo que si pretendemos extraer beneficio de estos briófitos con las aplicaciones anteriormente mencionadas, es inevitable saber con exactitud cómo se ven afectados por estos patógenos para poder combatirlos y mantener los *Sphagnum* en unas condiciones sanas y así sacar provecho de su comunidad bacteriana y sus utilidades correspondientes. Por otro lado, no todas las interacciones entre *Sphagnum* y los hongos son perjudiciales, algunas de las que origina necrosis simplemente podrían ayudar al musgo en su descomposición natural [4]. Por otro lado, otra posibilidad sería, que si bien para los esfagnos no es perjudicial, puedan beneficiar a otros organismos como son las cianobacterias y el hongo *Trizodia*, y escondan una aplicación de interés para la agricultura [50]. También se ha observado que algunos especímenes de *Sphagnum* pueden asociarse con hongos del género *Hypocreales*, patógenos vegetales virulentos, productores de antibióticos o fuentes de micotoxinas potentes [50].

Por ello es necesario un mayor conocimiento de estas asociaciones, *Sphagnum* y hongos, puesto que a día de hoy, no se sabe con exactitud las implicaciones de estas relaciones. Una investigación más profunda en este tema permitiría una mejor comprensión de estas asociaciones y sus implicaciones favoreciendo a la agricultura, en la producción de antibióticos contra patógenos humanos o agrícolas, además de favorecer el propio crecimiento de los esfagnos que tantas aplicaciones e interés puede despertar, según lo relatado en este TFG [51,52].

CONCLUSIONES:

Una vez recopilada, completada y examinada la información expuesta en el presente TFG, el análisis de los resultados ha permitido llegar a las siguientes conclusiones:

- Los musgos del género *Sphagnum* muestran dos tipos de células: los clorocistos y los hialocistos, que constituyen un micronicho especializado para los microorganismos asociados debido a las peculiaridades ultraestructurales presentadas.
- Los esfagnos se asocian con diferentes microorganismos: bacterias, cianobacterias y hongos, intracelulares o epífitos, cuya interacción biológica puede ser simbiote, comensal, patógena o parásita, pero altamente específica.
- Los esfagnos son un nicho natural de bacterias antifúngicas, que intervienen en la defensa del briófito frente a hongos patógenos y pueden utilizarse como un mecanismo de biocontrol de patógenos fúngicos o fungicidas naturales en plantas agrícolas de interés, reemplazando a los químicos empleados hasta ahora en la agricultura.
- Los esfagnos constituyen una fuente de patógenos facultativos humanos, cuyo estudio permitirá buscar los factores de patogenicidad y sus mecanismos de acción para ejercer un control sobre las enfermedades que causan en humanos.
- Las bacterias del género *Burkholderia* promueven el crecimiento de los musgos del género *Sphagnum*, pudiendo aplicarse a la agricultura, siendo una alternativa a fertilizantes nitrogenados, mejorando el rendimiento y crecimiento de los cultivos.
- Las turberas de *Sphagnum* presentan bacterias metanótrofas con una importante y futura aplicación en la disminución del calentamiento global.
- Las cianobacterias simbiotes de esfagnos producen IAA, mejorando el crecimiento briológico. Por ello, se podrían utilizar para establecer simbiosis con plantas de interés agrícola, además de biofertilizantes en los cultivos que sustituyan a los perjudiciales fertilizantes químicos.
- Los esfagnos establecen múltiples y complejas relaciones con la comunidad fúngica, albergando algunos patógenos que les provocan daños. El conocimiento de esta relación permitirá combatir la patogenicidad y garantizar la salud del musgo. Además es posible que

alberguen hongos productores de antibióticos o que causen algún posible beneficio a los otros microbios presentes en el musgo.

- Por último, se enfatiza la necesidad de una mayor investigación en este campo apenas descubierto y que parece esconder múltiples aplicaciones de interés para la agricultura y la salud humana, así como para un mayor conocimiento sobre estos seres vivos, que hasta ahora han pasado desapercibidos.

CONCLUSIONS:

Once the information set out in this TFG has been collected, completed and examined, the analysis of the results has led to the following conclusions:

- Mosses of the genus *Sphagnum* show two types of cells: chlorocysts and hyalocysts, which constitute a specialized microniche for the associated microorganisms due to its ultrastructural characteristics.

- *Sphagnum* are associated with different microorganisms: bacteria, cyanobacteria and fungi, both intracellular or epiphytes. Their biological interaction may be symbiotic, commensal, pathogenic or parasitic, but in any case, it is highly specific.

- *Sphagnum* are a natural niche of antifungal bacteria, involved in the defense of bryophytes against pathogenic fungi and can be used as a biocontrol mechanism of fungal pathogens or as natural fungicides in agricultural plants of interest, thus replacing the chemicals currently used in farming.

- *Sphagnum* are a source of human facultative pathogens, which study will allow the search for pathogenicity factors and their action mechanisms to control the diseases they cause in humans.

- Bacteria of the genus *Burkholderia* promote the growth of the mosses of the genus *Sphagnum*, so they could be used in agriculture, being an alternative to nitrogen fertilizers, improving the yield and growth of the crops.

- *Sphagnum* peatlands present methanotrophic bacteria with an important future application in the reduction of global warming.

- Symbiotic cyanobacteria of *Sphagnum* produce IAA, enhancing biological growth. Therefore, they could be used to establish symbiosis with plants of agricultural interest, as well as biofertilizers in crops to substitute chemical fertilizers.
- *Sphagnum* establishes multiple and complex relationships with the fungal community, harbouring some pathogens that cause them damage. The study of this relation will allow us to combat the pathogenicity and to guarantee the health of the moss. In addition, they may also harbour fungi that produce antibiotics or cause some potential benefit to the other microorganisms present in the moss.
- Finally, it is emphasized the need for further research in this barely discovered field, which seems to hide multiple applications of interest for agriculture and human health, as well as for a greater knowledge about these living beings, which until now have gone unnoticed.

BIBLIOGRAFÍA:

*Citada en el manuscrito del TFG

1. **Ligrone, R., Duckett, J.G. y Renzaglia, K.S.** 2000. Conducting tissues and phylogenetic relationships of bryophytes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* **355**: 795-813.
2. **Garbary, D.J., Renzaglia, K.S. y Duckett, J.G.** 1993. The phylogeny of land plants: a cladistic analysis based on male gametogenesis. *Pl. Syst. Evol.* **188**: 7237-269.
3. **Cubas, P.** 2008. Briófitos (musgos, hepáticas y antoceros) [en línea]. [Consulta: 13/06/2017]. Disponible en: https://www.aulados.net/Botanica/Curso_Botanica/Briofitos/11_Briofitos_texto.pdf
4. **Estébanez, B., Draper, I. y Díaz de Aauri, R.** 2011. Briófitos: una aproximación a las plantas terrestres más sencillas. *Memorias R. Soc. Esp. Hist. Nat.* **9**: 19-73.
5. **Díaz, T.E., Fernández-Carvajal, M.C. y Fernández, J.A.** 2004. *Curso de Botánica*. Trea, S.L, Gijón.
6. **Izco, J., Barreno, E., Brugués, M., Costa, y M., Devesa, J., et al.** 2004. *Botánica*. MacGraw-Gill Interamericana, Colombia.
7. **Sitte, P., Weiler, E.W., Kadereit, J.W., Bresinsky, A. y Körner, C.** 2004. *Strasburger. Tratado de Botánica*. Omega, S.A, Barcelona.
8. Embriofitas I [en línea]. [Consulta: 30/06/2017]. [Consulta: 30/06/2017]. Disponible en: <http://embriofitas1.blogspot.com.es/2014/05/division-anthocerotophyta-los-uno-de.html>.
9. Embryophytas [en línea]. [Consulta: 30/06/2017]. Disponible en: <http://embryophytas.blogspot.com.es/2013/04/hepaticas.html>.
10. Pinterest [en línea]. [Consulta:30/06/2017]. Disponible en: <https://es.pinterest.com/pin/516084438528340209/>.
11. **William, B., Choe, G., Ryall, K., Miles, W., y Verma, N.** 2001. *Biology 321 Course Website* [en línea]. [Consulta: 13/06/2017]. Disponible en: http://www3.botany.ubc.ca/bryophyte/pictures/Sphagnum_sporophyte.html.
12. **Alfayate, M.C.** Contribución a la Biología de Musgos Pleurocárpicos Canarios: Anatomía, Palinología y Fitoquímica de Productos Naturales. Tesis doctoral inédita, Universidad de La Laguna, 1995.
13. **Amabis, J.M. y Martho, G.R.** 2005. *Biología de los Organismos*, Moderna LTDA, Sao Paul, Brasil.

14. **Alfayate, M.C., Estébanez, B. y Ron, E.** 2000. The sporophyte-gametophyte junction in five species of pleurocarpous mosses. *The Bryologist* **103**(3): 467-474.
15. **Opel, K., Berg, C., Schönmann, S., Eberl, L. y Berg, G.** 2007. High specificity but contrasting biodiversity of *Sphagnum*-associated bacterial and plant communities in bog ecosystems independent of the geographical region. *The ISME Journal* **1**:502-516.
16. **Alfayate, M.C., Ron, E., Fernández, A., Estébanez, B., y Gómez, D., et al.** 2009. Biontes entrometidos en cápsulas de musgos canarios, p. 509-516. En: Homenaje al Prof. Dr. Wolfredo Wildpret de la Torre. Instituto de Estudios Canarios, La Laguna, Tenerife.
17. **García, M. A.** Parque Natural del Lago de Sanabria (Zamora) [en línea]. [Consulta 30/06/2017]. Disponible en: http://iespoetaclaudio.centros.educa.jcyl.es/sitio/print.cgi?wid_seccion=19&wid_item=1312&wOut=print.
18. **Opelt, K., Berg, C. y Berg, G.** 2007. The bryophyte genus *Sphagnum* is a reservoir for powerful and extraordinary antagonists and potentially facultative human pathogens. *FEMS Microbiol Ecol* **61**: 38-53.
19. **Opelt, K. y Berg, G.** 2004. Diversity and antagonistic potential of bacteria associated with bryophytes from nutrient-poor habitats of the Baltic Sea Coast. *Appl Environ Microbiol* **70**: 6569–6579.
20. **Weller, D.M.** 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu Rev Phytopathol* **26**: 379–407.
21. **Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., Gardener, B.B. y Tomashow, L.S.** 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol* **40**: 309–348.
22. **Bolívar-Anillo, H.J., Contreras-Zentella, M.L. y Teherán-Sierra, L.G.** 2016. *Burkholderia tropica* una bacteria con gran potencial para su uso en la agricultura. *Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas* **19**: 102-108.
23. **Belova, S.E., Pankratov, T.A. y Dedysh, S.N.** 2006. Bacteria of the genus *Burkholderia* as a typical component of the microbial community of *Sphagnum* peat bogs. *Microbiology* **75**: 90–96.
24. **Tran Van, V., Berge, O., Ke, S., Balandreau, J. y Heulin, T.** 2000. Repeated beneficial effects of rice inoculation with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility sulphate acid soils of Vietnam. *Plant Soil* **218**: 273–284.
25. Una Bacteria Que Se Alimenta de Metano Podría Servir Para Combatir el Calentamiento Global [en línea]. [Consulta: 30/06/2017]. Disponible en: <http://www.amazings.com/ciencia/noticias/040208d.html>
26. **Dedysh, S.N., Panikov, N.S. y Tiedje, J.M.** 1998. Acidophilic methanotrophic communities from *Sphagnum* peat bogs. *Appl Environ Microbiol* **64**: 922–929.
27. **Sizova, M.V., Panikov, N.S., Tourova, T.P. y Flanagan, P.W.** 2003. Isolation and characterization of oligotrophic acidotolerant methanogenic consortia from a *Sphagnum* peat bog. *FEMS Microbiol Ecol* **45**: 301–315.
28. **Raghoebarsing, A.A., Smolders, A.J.P., Schmid, M.C., Rijpstra, I.C., y Wolters-Arts, M., et al.** 2005. Methanotrophic symbionts provide carbon for photosynthesis in peat bogs. *Nat Lett* **436**: 1153–1156.
29. **Larmola, T., Tuittila, E., Tirola, M., Nykänen, H., y Martikainen, P.J., et al.** 2010. The role of *Sphagnum* mosses in the methane cycling of a boreal mire. *Ecology* **91**: 2356–2365.
30. **Dedysh, S.N.** 2002. Methanotrophic Bacteria of Acidic *Sphagnum* Peat Bogs. *Microbiology* **71**: 638-650.
31. **Krumholz, L. R., Hollenback, J.L., Roskes, S.J. y Ringelberg, D.B.** 1995. Methanogenesis and methanotrophy within a *Sphagnum* peatland. *FEMS Microbiology Ecology* **18**: 215-224.
32. Una bacteria contra el calentamiento global [en línea]. [Consulta: 30/06/2017]. Disponible en: <http://www.europapress.es/ciencia/habitat-y-clima/noticia-bacteria-contra-calentamiento-global-20140428175757.html>

33. **Adams, D.G. y Duggan, P.S.** 2008. Cyanobacteria-bryophyte symbioses. *Journal of Experimental Botany* **59**: 1047–1058.
34. **Rousk, K., Jones, D.J. y DeLuca, T.H.** 2013. Moss-cyanobacteria associations as biogenic sources of nitrogen in boreal forest ecosystems. *Frontiers in microbiology* **4**(150): 1-10. Doi: 10.3389/fmicb.2013.00150
35. **Solheim, B. y Zielke, M.** 2002. Associations between cyanobacteria and mosses, p.37-152. En: Rai, A.N., Bergman, B., Rasmussen, (eds), *Cyanobacteria in symbiosis*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
36. **Granhall, U. y Hofsten, A.** 1976. Nitrogenase activity in relation to intracellular organisms in *Sphagnum* mosses, *Physiol. Plant.* **36**: 88-94.
37. **Sergeeva, E., Liaimer, A. y Bergman, B.** 2002. Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by cyanobacteria. *Planta* **215**: 229–238.
38. **Campbell, E.L. y Meeks, J.C.** 1989. Characteristics of hormogonia formation by symbiotic *Nostoc spp.* in response to the presence of *Anthoceros punctatus* or its extracellular products. *Applied and Environmental Microbiology* **55**: 125–131.
39. **Kirsten, K., Deane, C. y Stanton, D.** 2017. Functional ecology of cryptogams: scaling from bryophyte, lichen, and soil crust traits to ecosystem processes. *New Phytologist* **213**: 993-995.
40. **Sprent, J.I. y Meeks, J.C.** 2013. Cyanobacterial nitrogen fixation in association with feather mosses: moss as boss? *New Phytologist* **200**: 5–6.
41. **Heath, M.C.** 2002. Cellular interactions between biotrophic fungal pathogens and host or nonhost plants. *Can.J. Plant Pathol.* **24**: 259-264.
42. **Andersson, R.A, Akita, M., Pirhonen, M., Gammelgård, E. y Valkonen, J.P.T.** 2005. Moss-Erwinia pathosystem reveals possible similarities in pathogenesis and pathogen defense in vascular and nonvascular plants. *J Gen Plant Pathol* **71**:23–28.
43. **Tsuneda, A., Chen, M.H. y Currah, R.S.** 2001. Characteristics of a disease of *Sphagnum fuscum* caused by *Scleroconidioma sphagnicola*. *Can. J. Bot.* **79**: 1217–1224.
44. **Davey, M. L. y Currah, R.S.** 2006. Interactions between mosses (Bryophyta) and fungi. *Can. J. Bot.* **84**: 1509–1519.
45. **Hambleton, S., Tsuneda, A. y Currah, R.S.** 2003. Comparative morphology and phylogenetic placement of two microsclerotial black fungi from *Sphagnum*. *Mycologia* **95**: 959–975.
46. **Garmendia, I. y Mangas, V.J.** 2012. Application of arbuscular mycorrhizal fungi on the production of cut flower roses under commercial-like conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research* **10**: 166-174.
47. **Kost, G.** 1988. Interactions between basidiomycetes and bryophyta. *Endocytobiosis & Cell Res.* **5**: 287-308.
48. **Liepiņa, L.** 2012. Occurrence of fungal structures in bryophytes of the boreo-nemoral zone. *Environmental and Experimental Biology* **10**: 35–40.
49. **Zhang, Y. y Guo, L.** 2007. Arbuscular mycorrhizal structure and fungi associated with mosses. *Mycorrhiza* **17**:319–325.
50. **Stenroosa, S., Laukkab, T., Huhtinenb, S., Döbbelerc, P., y Myllysa, L., et al.** 2009. Multiple origins of symbioses between ascomycetes and bryophytes suggested by a five-gene phylogeny. *Cladistics* **25**: 1–20.
51. **Döbbeler, P.** 1997. Biodiversity of bryophilous ascomycetes. *Biodiversity and Conservation* **6**: 721-738.
52. **Döbbeler, P.** 2007. Ascomycetes on *Polytrichadelphus aristatus* (Musci). *Mycological research* **3**: 1406-1421.

*Leída y no citada en el manuscrito del TFG

Döbbeler, P. 2005. Ascospore diversity of bryophilous Hypocreales and two new hepaticolous *Nectria* species. *Mycologia*, **97**: 924–934.

Duckett, J.G., Carafa, A. y Ligrone, R. 2006. A highly differentiated glomeromycotean association with the mucilage-secreting, primitive antipodean liverwort treubia (treubiaceae): clues to the origins of mycorrhizas. *American Journal of Botany* **93**: 797–813.

Duckett, J.G., Renzaglia, K.S. y Pell, K. 1991. A light and electron microscope study of rhizoid-ascomycete associations and flagelliform axes in British hepatics with observations on the effects of the fungi on host morphology. *New Phytol* **118**: 233-257.

Gignac, L.D. 1987. Ecological tolerance and niche structure of *Sphagnum* along a pollution gradient near Sudbury, Ontario, Canada. *Can J Bot* **65**: 1268–1274.

Hiroyuki, I., Hiroya, Y. y Yasuyoshi, S. 2015. Interactions of Methylootrophs with Plants and Other Heterotrophic Bacteria. *Microorganisms* **3**:137-151.

Hornschuh, M., Grotha, R. y Kutschera, U. 2002. Epiphytic bacteria associated with the bryophyte *Funaria hygrometrica*: effects of *Methylobacterium* strains on protonema development. *Plant Biol* **4**:682-687.

Hornschuh, M., Grotha, R. y Kutschera, U. 2006. Moss-associated methylobacteria as phytosymbionts: an experimental study. *Naturwissenschaften* **93**: 480-486.

Kottkel, I., Beiter, A., Weiss, M., Haug, I., y Oberwinkler, F., et al. 2003. Heterobasidiomycetes form symbiotic associations with hepatics: Jungermanniales have sebacinoid mycobionts while *Aneura pinguis* (Metzgeriales) is associated with a *Tulasnella* species. *Mycol. Res.* **107**: 957–968.

Ligrone, R., Carafa, A., Lumini, E., Bianciotto, V., y Bonfante, P., et al. 2007. Glomeromycotean associations in liverworts: a molecular, cellular, and taxonomic analysis. *American Journal of Botany* **94**: 1756–1777.

Ligrone, R. y Lopes, C. 1989. Cytology and development of a mycorrhiza-like infection in the gametophyte of *Conocephalum conicum* (L.) Dum. (Marchantiales, Hepatophyta). *New Phytol.* **111**: 423- 433.

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.

Schauer, S. y Kutschera, U. 2011. A novel growth-promoting microbe, *Methylobacterium funariae* sp. nov., isolated from the leaf surface of a common moss. *Plant Signal Behav* **6**:510-515.

Schauer, S. y Kutschera, U. 2013. *Methylobacteria* isolated from bryophytes and the 2-fold description of the same microbial species. *Plant Signaling & Behavior* **8**(2): e23091-4. Doi: 10.4161/psb.23091.

Una bacteria podría frenar el proceso del calentamiento global [en línea]. [Consulta: 01/07/2017]. Disponible en: <https://actualidad.rt.com/ciencias/view/126636-bacterias-frenar-calentamiento-global> .

AGRADECIMIENTOS:

Me gustaría agradecer a las tutoras del presente TFG, las doctoras M. Carmen Alfayate Casañas y Emma Suárez Toste, su ayuda, consejos y el tiempo dedicado a las correcciones y dudas. Además, agradezco el apoyo y la ayuda de mi compañera Laura Pulido Suárez en la elaboración del abstract y conclusiones en inglés de este manuscrito.