

ALGUNOS ASPECTOS NUTRICIONALES DEL DESARROLLO DE *IODOPHANUS CARNEUS* (FUNGI, ASCOMYCETES)

Por LUIS A. DIORIO y FLAVIA FORCHIASSIN*

Summary *Some nutritional aspects of development of Iodophanus carneus* (Fungi, Ascomycetes). Aspects of the nutrition of *I. carneus* were investigated using a synthetic medium with glucose or fructose and several nitrogen sources. Asparagine, glycine and urea enhanced vegetative growth, while asparagine, glycine and ammonium acetate favoured apothecial production. Concentration of glucose and asparagine were varied, maintaining a constant C/N ratio of 15. Optimum apothecial numbers were obtained with 2 g/l of C and 0.13 g/l of N. Fruit bodies developed on predetermined areas on the colonies. Vegetative growth improved with higher concentrations.

INTRODUCCION

Diversos estudios han demostrado que los hongos filamentosos pueden utilizar una gran variedad de compuestos nitrogenados para su crecimiento vegetativo y su desarrollo sexual, poseyendo cada especie sus propias necesidades para alcanzar un desarrollo óptimo (Yu, 1954; Pateman & Kinghorn, 1976; Ramos, 1994). En un trabajo ya clásico de Robbins (1937) se clasificó a los hongos en cuatro grupos de acuerdo a su capacidad para metabolizar N_2 , NO_3^- , NH_4^+ , y/o nitrógeno orgánico.

Pero muchos autores consideran que, además de la importancia que poseen el tipo y cantidad de la fuente de nitrógeno sobre el desarrollo sexual, se debe tener en cuenta la relación existente entre la cantidad inicial de carbono y la de nitrógeno del medio de cultivo (C/N), la que sería determinante para la obtención de un desarrollo sexual completo del organismo en cuestión. Asimismo, dicha relación sería característica para cada especie. Trabajos como los de Hall (1971) y Smith (1982) ratifican dicho concepto. Pero en otros casos (Vidal et al., 1975) se determinó que la fructificación variaba de acuerdo al tipo de fuente carbonada y no a la relación C/N.

En *Iodophanus carneus* (Pers.: Pers.) Koud fueron analizados distintos aspectos nutricionales. Gamundí y Ranalli (1964) estudiaron la producción de apotecios en medios de cultivo semisintéticos y naturales. Posteriormente (Diorio, 1993) se analizó el crecimiento vegetativo y el desarrollo sexual en

medio sintético, sólido y líquido, con distintos tipos de fuentes carbonadas; determinándose que 3 g C/l de glucosa representaba la cantidad óptima para su completo desarrollo en estos tipos de medios. Danuncio *et al.* (1993) estudiaron su cinética de crecimiento en medio sintético con cinco fuentes de nitrógeno distintas (asparagina, urea, fosfato de amonio, nitrato de potasio y nitrato de amonio); determinando que en una concentración de asparagina de 0,2 g de N/l se encontraba la mayor proporción de apotecios fértiles.

En el presente estudio se analiza el desarrollo sexual, el crecimiento vegetativo y la pigmentación de *I. carneus* ante distintos tipos de fuentes nitrogenadas utilizando glucosa y fructosa como fuentes de carbono. También se investigan las posibles relaciones existentes entre la relación C/N inicial del medio, su crecimiento vegetativo y su desarrollo sexual.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizó la cepa monospórica BAFC 21104 de *Iodophanus carneus* (Pers.: Pers.) Koud.

Medio de cultivo: a) *Medio de cultivo basal:* SO_4 Mg. $7H_2O$, 0,5 g; PO_4H_2K , 0,5 g; PO_4HK_2 , 0,6 g; SO_4Cu . $5H_2O$, 0,4 mg; Cl_2Mn . $4H_2O$, 0,09 mg; BO_3H_3 , 0,07 mg; MoO_2Na . $2H_2O$, 0,02 mg; Cl_3Fe , 1 mg; Cl_2Zn , 10 mg; Biotina, 5 μ m; HCl-Tiamina, 0,1 mg; agua bidestilada, hasta 1000 ml. Para el medio sólido: Agar, 18 g/l. b) *Fuentes de carbono:* glucosa con 5,00 o 7,50 g por 1000 ml de medio basal (2 o 3 g de C/l), o fructosa, 7,50 g por 1000 ml de medio basal (3 g de C/l). c) *Fuentes de nitrógeno:* $NaNO_3$, 1,21 g; KNO_3 , 1,44 g; $(NH_4)_2HPO_4$, 0,94 g; NH_4NO_3 , 0,56 g; acetato de amonio, 1,10 g; tartrato de

* Ciudad Universitaria, Pabellón II, Piso 4°, Dpto. de Cs. Biológicas -1428- Buenos Aires, Argentina.

amonio, 1,31 g; urea, 0,43 g; alanina, 1,27 g; asparagina, 1,08 g; glicina, 1,07 g; glutamina, 1,04 g; metionina, 2,13 g; prolina, 1,64 g; leucina; 1,87 g; fenilalanina, 2,36 g; todas expresadas como g de sustancia por 1000 ml de medio basal (0,2 g de N/l).

Todas las drogas utilizadas fueron de grado analítico.

Los medios fueron esterilizados en autoclave a 121°C, por 20 minutos. La urea se esterilizó por filtrado a través de membrana nitrocelulósica de 0,2 µm de poro.

Condiciones de cultivo: Se realizó en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con 20 ml de medio, y para el medio líquido en frascos Erlenmeyers de 50 ml con 5 ml de medio. Se inoculó con cubos de 3 mm de lado tomados de los bordes de una colonia de dos días de crecimiento sobre agar agua a 23°C y en oscuridad. Se incubó en cámara de cultivo a 23°C, con iluminación constante y en condiciones estáticas para los medios líquidos.

Las determinaciones se realizaron en cultivos de 14 días de crecimiento en medio sólido. El número de apotecios representa el promedio de la totalidad de ascocarpos desarrollados por caja en tres experiencias hechas por duplicado. Los diámetros son el promedio de un máximo de 25 mediciones por caja. Para el medio líquido el peso seco se determinó en el 8° día de crecimiento tras filtrar y secar el micelio a 80°C hasta peso constante, sus promedios representan los resultados de tres experiencias hechas por duplicado.

RESULTADOS

Fructificación con distintas fuentes de nitrógeno en medio sólido

Glucosa como fuente de carbono: El número total de apotecios por caja fue mayor para asparagina, glicina y acetato de amonio, aunque la menor concentración de glucosa en el medio (2 g C/l) favoreció siempre el número de fructificaciones (Tabla 1). La urea resultó una fuente de nitrógeno poco eficaz en cuanto al número de ascocarpos producidos, aunque nuevamente se vio beneficiado por la menor concentración del azúcar. En tartrato de amonio el crecimiento de las colonias se vio inhibido, alcanzando radios de unos 29-35 mm en ambas concentraciones de glucosa.

En nitrato de sodio y en nitrato de potasio la producción de cuerpos fructíferos fue reducida, sin embargo siempre fueron mayores en la menor concentración de glucosa. En nitrato de amonio sólo se detectó crecimiento vegetativo y en fosfato de

amonio sólo se observaron apotecios en una concentración de glucosa de 2 g C/l (Tabla 1).

La mayoría de los aminoácidos ensayados resultaron inefectivos para la producción de apotecios independientemente de las concentraciones de glucosa utilizadas, siendo las únicas excepciones asparagina y glicina.

En términos generales el diámetro de los ascocarpos fue mayor para la concentración de glucosa de 3 g C/l encontrándose como única excepción el nitrato de sodio, en el que el diámetro se vio favorecido por una concentración de 2 g C/l del azúcar (Tabla 1).

Se encontraron numerosos ascos con ascosporas por apotecio en asparagina, acetato de amonio, glicina y urea en 2 y 3 g C/l de glucosa, en nitrato de sodio con 2 g C/l y en nitrato de potasio con 3 g C/l. Para nitrato de sodio con 3 g C/l y fosfato de amonio con 2 g C/l de glucosa, el número de ascos con ascosporas por apotecio fue menor a 40. En nitrato de potasio con 2 g C/l del azúcar no se observaron ascos (Tabla 1).

La pigmentación de las fructificaciones fue muy marcada con todas las fuentes salvo nitrato de sodio, urea y fosfato de amonio en las que fue pobre. La pigmentación del micelio fue muy marcada en fenilalanina seguida por asparagina, glicina, leucina y urea; en nitrato de potasio, urea, acetato de amonio y asparagina fue evidente la mayor acumulación de pigmentos en la concentración de glucosa mayor (Tabla 1). En el caso del triptofano el medio de cultivo mostró una coloración pardo oscura.

Fructosa como fuente de carbono: El mayor número de apotecios totales por caja fue hallado en nitrato de potasio, seguido por nitrato de sodio y asparagina (Tabla 2), aunque estos valores siempre fueron inferiores a los detectados en glucosa. En urea y acetato de amonio se registraron promedios reducidos, y sólo se observó crecimiento vegetativo en alanina y en nitrato y fosfato de amonio. El tartrato de amonio inhibió el crecimiento hifal como en el caso de la glucosa.

El diámetro de las fructificaciones fue semejante para todas las fuentes de nitrógeno ensayadas salvo para urea que evidenció promedios reducidos (Tabla 2). Se encontraron numerosos ascos con esporas por apotecio en asparagina y urea; menos de 40 ascos desarrollados por ascocarpo en acetato de amonio, nitrato de potasio y nitrato de sodio (Tabla 2).

La pigmentación de los apotecios fue en general muy marcada y la de los micelios fue máxima para asparagina, y acetato de amonio (Tabla.2).

Tabla 1.— Desarrollo en medio sólido adicionado con glucosa (2 o 3 g C/l) y distintas fuentes de nitrógeno (0,2 g N/l).

Fuente de nitrógeno	Glucosa (g C/l)	Número de apotecios por caja	Tamaño de apotecios (µm)	Ascos maduros (1)	Color apot. (2)	Color micel. (3)
NaNO ₃	2	53,4	856,8	##	++	-
	3	13,6	619,2	#	++	-
KNO ₃	2	37,2	707,7	N	+++	+
	3	13,4	835,0	##	+++	++
(NH ₄) ₂ HPO ₄	2	33	841,7	#	++	++
	3	0	0	N	N	-
NO ₃ NH ₄	2	0	0	N	N	-
	3	0	0	N	N	-
Urea	2	90,7	527,6	##	++	++
	3	49,0	836,8	##	+++	+++
Acetato de amonio	2	579,1	441,1	##	++	+
	3	453,5	627,8	##	+++	++
Tartrato de amonio	2	0	0	N	N	-
	3	0	0	N	N	-
Asparagina	2	591,3	563,2	##	+++	++
	3	407,0	719,1	##	+++	+++
Alanina	2	0	0	N	N	+
	3	0	0	N	N	+
Fenilalanina	3	0	0	N	N	++++
Gilcina	3	383,2	685,4	##	+++	+++
Glutamina	3	0	0	N	N	+
Leucina	3	0	0	N	N	+++
Metionina	3	0	0	N	N	+
Prolina	3	0	0	N	N	-
Triptofano	3	0	0	N	N	-
Testigos/N	3	0	0	N	N	-

¹ Número de ascos maduros por apotecio: #, con menos de 40 ascos por apotecio; ##, 40 o más ascos por apotecio. ² y ³ Color relativo de los apotecios y del micelio: - sin color; +, color pobre; ++, color marcado; +++, color muy marcado; +++++, color extremadamente marcado. N, ausencia del carácter. Error estándar menor al 5%.

Tabla 2.— Desarrollo en medio sólido adicionado con fructosa (3 g C/l) y distintas fuentes de nitrógeno (0,2 g N/l).

Fuente de nitrógeno	Número de apotecios por caja	Tamaño de apotecios (µm)	Ascos maduros (1)	Color apot. (2)	Color micel. (3)
NaNO ₃	156,5	724,4	#	++	++
KNO ₃	210,7	741,7	#	++	++
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0	0	N	N	-
NO ₃ NH ₄	0	0	N	N	-
Urea	39,2	593,8	##	++	++
Acetato de amonio	29,4	788,9	#	+++	+++
Tartrato de amonio	0	0	N	N	-
Asparagina	111,6	638,3	##	+++	+++
Alanina	0	0	N	N	-

¹ Número de ascos maduros por apotecio: #, con menos de 40 ascos por apotecio; ##, 40 o más ascos por apotecio. ² y ³ Color relativo de los apotecios y del micelio: - sin color; +, color pobre; ++, color marcado; +++, color muy marcado. N, ausencia del carácter. Error estándar menor al 5%.

Crecimiento en medios con glucosa y distintas fuentes de nitrógeno

Sólo en asparagina y en glicina se detectaron crecimientos superiores a los 3 mg/ml (Tabla 3) seguidas por urea y acetato de amonio con unos 2 mg/ml, las restantes fuentes mostraron crecimientos menores salvo el testigo sin fuente de nitrógeno y el triptofano que no mostraron desarrollo hifal.

El pH inicial (6,2) no mostró modificaciones significativas en asparagina, glicina, alanina, metionina, urea, triptofano y prolina (Tabla 3); en cambio sufrió aumentos de importancia en nitrato de sodio y en nitrato de potasio, o importantes disminuciones en las sales inorgánicas de amonio, acetato de amonio, tartrato de amonio, glutamina, fenilalanina y leucina.

El micelio filtrado mostró coloraciones semejantes a las observadas en el medio de cultivo sólido incluyendo la pigmentación parda con el triptofano.

Variación de las concentraciones de glucosa y asparagina, manteniendo C/N constante

Se determinó que glucosa y asparagina son fuentes de carbono y de nitrógeno favorables para el

desarrollo completo de *I. carneus* en medio sintético en concentraciones de 3 g de C/l y de 0,2 g de N/l respectivamente. Dichos valores definen una relación C/N de 15 (sin tener en cuenta el C aportado por la asparagina). Con estos datos se variaron las concentraciones de una y otra fuente manteniendo siempre la misma C/N.

Medio sólido: El número de cuerpos fructíferos fue máximo en una concentración de glucosa de 2 g de C/l y asparagina 0,13 g de N/l con valores un 26% mayores a los observados en 1 g de C/l y 0,07 g de N/l, y un 46% superiores a los de 3 g de C/l y 0,2 g de N/l (Fig. 1). En las concentraciones de 4 y 5 g de C/l (0,27 y 0,33 g de N/l respectivamente) el número de apotecios disminuyó aún más.

La distribución de los cuerpos fructíferos sobre la colonia demostró la existencia de tres zonas claramente definidas de acuerdo a la edad o grado de desarrollo del micelio (Fig. 2). La primera entre los 0 y 23-26 mm de radio de la colonia comprendiendo a los 3 primeros días de crecimiento, en ella las fructificaciones se distribuyeron homogéneamente y su número fue reducido independientemente de las concentraciones de glucosa y asparagina. La segunda se prolongó hasta unos 30-33 mm de radio incluyendo así al micelio crecido durante el 4º día, y fue la de mayor cantidad de apotecios maduros. La tercera se desarrolló hasta el borde de la caja de Petri y coincidió con el micelio crecido durante el 5º día, dentro de ella los cuerpos fructíferos aparecieron en los últimos 5-6 mm y su número fue reducido.

Tabla 3.— Desarrollo en medio líquido adicionado con glucosa (3 g C/l) y distintas fuentes de nitrógeno (0,2 g N/l). Peso seco del micelio (mg de micelio/ml de medio, pH inicial, final (pHi, pHf) y su variación.

Fuente de nitrógeno	Peso seco del micelio (mg/ml)	pHi	pHf	Var. pH
NaNO ₃	1,8 (0,02)	6,2	7,1	0,9
KNO ₃	1,3 (0,25)	6,2	7,6	1,4
(NH ₄) ₂ HPO ₄	1,3 (0,06)	6,6	3,6	-3,0
NO ₃ NH ₄	0,5 (0,16)	6,2	3,7	-2,5
Acetato	2,1 (0,03)	6,2	4,9	-1,3
Tartrato	0,4 (0,03)	6,2	4,0	-2,2
Urea	2,4 (0,25)	6,2	6,0	-0,2
Alanina	1,5 (0,19)	6,2	6,2	0
Asparagina	3,6 (0,05)	6,2	6,1	-0,1
Glicina	3,8 (0,18)	6,2	6,2	0
Glutamina	0,6 (0,08)	6,2	3,7	-2,5
Metionina	0,5 (0,09)	6,1	5,9	-0,2
Prolina	0,2 (0,11)	6,2	6,3	0,1
Leucina	1,1 (0,19)	6,2	5,5	-0,7
Fenilalanina	0,6 (0,01)	6,2	5,2	-1,0
Triptofano	0	6,2	6,3	0,1
Testigo s/N	0	6,2	6,2	0

Entre paréntesis se indican los errores estándar.

□ Nro. Apotecios ▨ Diám. Apotecios

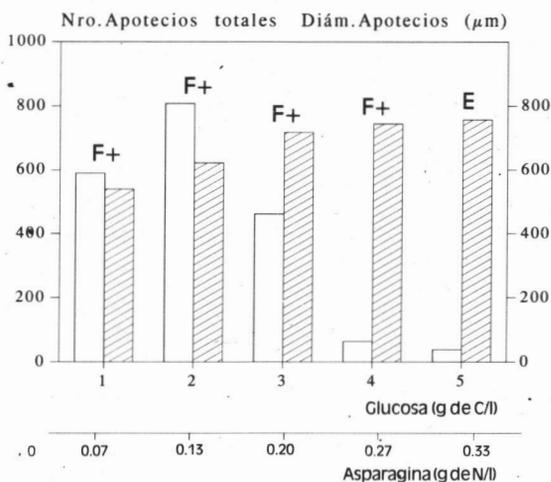


Fig. 1.— Número de apotecios totales y sus diámetros (μm) en medio sólido con distintas concentraciones de glucosa y asparagina, manteniendo la relación C/N constante (15). E, sin ascos; F+, con 40 o más ascos desarrollados por apotecio.

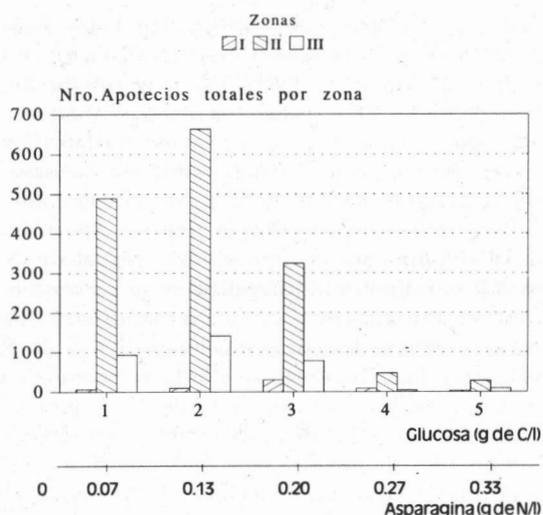


Fig. 2.— Número de apotecios en cada una de las 3 áreas de las colonias crecidas en medio sólido con distintas concentraciones de glucosa y asparagina, manteniendo la relación C/N constante (15).

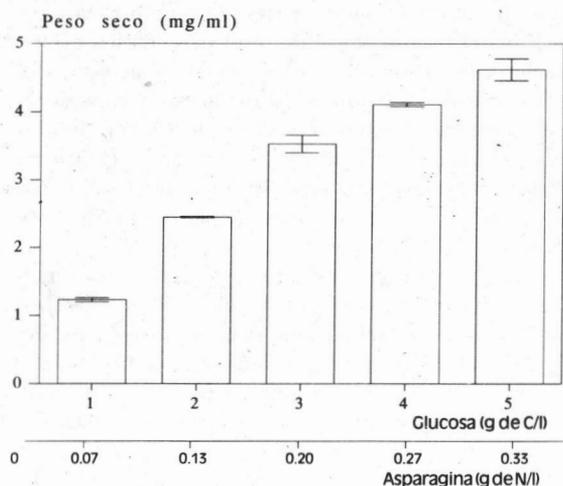


Fig. 3.— Crecimiento en medio líquido con distintas concentraciones de glucosa y asparagina manteniendo la relación C/N constante (15).

El diámetro de las fructificaciones aumentó gradualmente desde las menores concentraciones hacia las mayores (Fig. 1).

En todas las concentraciones los apotecios presentaron ascos maduros salvo en 5 g de C/l, donde se hallaron ascos muy vacuolados y sin esporas (Fig. 1).

No hubo variaciones de importancia en la pigmentación de los micelios ni en la de las fructificaciones, siendo siempre muy marcadas.

Medio líquido: Los resultados se muestran en la figura 3. En ella se puede observar que el crecimiento vegetativo del organismo aumenta en la medida que lo hacen las concentraciones de glucosa y de asparagina. No se registraron variaciones significativas del pH inicial (6,2) y el color del micelio siempre fue naranja intenso.

En cuanto al desarrollo sexual se detectaron cuerpos fructíferos únicamente en una concentración de Glucosa 3 g de C/l (0,2 g de N/l).

DISCUSION

El estudio del desarrollo de *Iodophanus carneus* ante distintas fuentes nitrogenadas reveló que la mayoría de los aminoácidos probados resultaron inhábiles para generar un buen crecimiento vegetativo y desarrollo sexual. Sólo en asparagina y glicina el desarrollo fue completo, siendo finalmente las mejores fuentes nitrogenadas.

En general los aminoácidos suelen representar buenas fuentes de nitrógeno y no se ha registrado en la bibliografía una especificidad como la demostrada en *I. carneus*. Así, en *Monascus purpureus* (McHan y Johnson, 1979) hubo un crecimiento equiparable en arginina, glicina, tirosina, glutamina, ácido aspártico, valina, leucina y treonina; en *Leptolegnia sp.* (Nolan, 1983) se detectaron buenos crecimientos vegetativos en glutamina, alanina, ácido glutámico, prolina y ácido aspártico. Para *Phytophthora* (Elliott, 1989) glutamato, glicina, asparagina y valina fueron efectivas induciendo la producción de oosporas.

El triptofano inhibió el crecimiento vegetativo alterando la coloración del medio de cultivo, aunque este resultado no puede ser relacionado con el pH ya que su variación fue despreciable.

Para la mayoría de los aminoácidos el pH del medio no varió por lo que la influencia sobre el desarrollo de *I. carneus* sería ejercida sólo por su mayor o menor eficacia metabólica. Solamente se encontraron disminuciones significativas en glutamina, fenilalanina y leucina, por lo que en estos casos, además del posible papel metabólico podría existir una influencia importante del pH sobre el desarrollo. Disminuciones de un orden semejante fueron detectadas en *Trametes trogii* (Levin *et al.*, 1992) creciendo en prolina o ácido aspártico.

Un hecho importante fue el bajo crecimiento y producción de apotecios en urea, fuente que en

general resulta positiva para el desarrollo sexual. En *Ascobolus crenulatus* (Galvagno, 1976) urea fue la mejor fuente de nitrógeno, seguida con un número de apotecios 50% menor por asparagina y nitrato de potasio, otras fuentes como ácido aspártico, ácido glutámico y caseína hidrolizada mostraron números inferiores. En *A. biguttulatus* (Pardo y Forchiassin, 1993a) se observaron niveles de crecimiento vegetativo y fructificación superiores a los detectados con asparagina. Para *Saccobolus longeviporus* (Ramos, 1994) en cambio, no representó una buena fuente para su desarrollo. Estos estudios indicarían un buen aprovechamiento de la urea en los integrantes del género *Ascobolus* contra una baja utilización en *Saccobolus* y *Iodophanus*, aunque deben analizarse más especies para corroborar esta hipótesis.

Las sales inorgánicas de amonio resultaron ineficaces para el desarrollo sexual y el crecimiento debido probablemente al brusco descenso del pH que se observa frecuentemente en ellas debido a la más rápida incorporación del amonio que la del anión correspondiente (Lima y Mercuri, 1984; Kraft y Erwin, 1967; Nicholas, 1965). Las fuentes orgánicas, en cambio, dieron resultados distintos: mientras en tartrato el desarrollo fue pobre y se observó una importante disminución del pH del medio, en acetato la disminución fue menor y se produjeron apotecios fértiles, demostrando una utilización más efectiva de esta última.

Las sales de nitrato favorecieron el desarrollo completo con un leve aumento del pH debido a que el anión sería incorporado con mayor rapidez que el catión correspondiente, provocando el aumento de OH⁻ de intercambio (Lima y Mercuri, *op. cit.*; Morton y MacMillan, 1954). *A. biguttulatus* (Pardo y Forchiassin, 1993b) mostró una pobre fructificación en nitrato de sodio, mientras que para *Saccobolus platensis* (Forchiassin, 1989) ésta fue una buena fuente.

Cuando se comparan los resultados obtenidos para una misma fuente nitrogenada con glucosa o con fructosa como fuente de carbono y en iguales concentraciones, se observan importantes diferencias. Así, por ejemplo, en nitrato de potasio se manifestó un número de apotecios 16 veces mayor con fructosa que con glucosa; por el contrario, en acetato de amonio el número de fructificaciones fue 15 veces mayor con glucosa. De esta manera el aprovechamiento de una fuente de nitrógeno determinada por parte de *I. carneus* dependería de la fuente de carbono presente en el medio de cultivo y no de la relación C/N, como fuera remarcado en *Leptosphaeria typhae* por Vidal *et al.* (1975).

La relación C/N óptima para el completo desarrollo de *I. carneus* fue de 15: 1 (Diorio, 1993) y con

límites muy acotados de fructificación. Estos valores son similares a los registrados en *Sordaria fimicola* (Hall, 1971) de 5: 1 a 10: 1, *Pisolithus tinctorius* (Smith, 1982) de 10: 1 a 20: 1, *Calonectria camelliae* (Shipton, 1977) de 10: 1 a 20: 1 y *Pleospora gaudefrogi* y *Camarosporium roumeguerii* (Crabtree y Gessner, 1982) con óptimos en 5: 1 y 20: 1 respectivamente.

Para Hall (*op. cit.*) existiría una relación C/N inicial óptima para la reproducción sexual de *S. fimicola*, con límites independientes de las concentraciones absolutas de C y N. Pero cuando se variaron en *I. carneus* las concentraciones de C y de N manteniendo C/N constante (15: 1), se produjeron apotecios fértiles sólo entre 1 y 4 g de C/l de glucosa (0,07 y 0,27 g de N/l de asparagina), por lo que en este caso los límites del rango que permitirían el desarrollo sexual son estrechos, no concordando con lo propuesto por Hall en cuanto a las concentraciones absolutas de C y N.

Siempre que se aumentó la concentración de carbono también lo hizo el diámetro de los apotecios, poniéndose así de manifiesto una estrecha relación entre el crecimiento vegetativo, el tamaño de las fructificaciones y la cantidad de carbono disponible. Relaciones semejantes se encuentran en *Sclerotinia sclerotiorum* donde el peso fresco de los esclerocios aumentó junto con el peso seco del micelio a medida que se aumentaba la concentración de sacarosa (Budge y Whipps, 1991) o de glucosa (Wang y Le Torneau, 1971). En *Clavicornia pyxidata* (James y McLaughlin, 1988) ocurrió lo mismo con el peso seco de las fructificaciones ante glucosa, fructosa y celulosa.

En términos generales los apotecios se desarrollaron sobre áreas en forma de anillos estrechos ubicados a distancias determinadas del inoculo, hecho que marca con claridad los distintos grados de madurez, y por consiguiente de respuestas fisiológicas, de las células de las colonias. La existencia de áreas con distintos grados de madurez fueron halladas en *Coprinus congregatus* (Ross, 1982) y en *Schizophyllum commune* (Raudaskoski e Yli-Mattila, 1985) relacionadas con la inducción de la fructificación. Si bien en *I. carneus* se halló una mayor respuesta en la producción de apotecios en la zona II es necesario el análisis más profundo de este hecho para poder comprender sus mecanismos fisiológicos y sus posibles valores adaptativos.

CONCLUSIONES

De los aminoácidos utilizados sólo dos (glicina y asparagina) permitieron el desarrollo completo de *Iodophanus carneus*.

La urea resultó una mala fuente a diferencia de otras Ascobolaceas.

En lo referente a las fuentes inorgánicas, el ión nitrato fue mejor aprovechado que el amonio.

Se pudo determinar que la fuente de C condiciona el uso de la fuente de N.

Al aumentar la concentración de las fuentes de C y de N, manteniendo C/N constante, se incrementó el crecimiento vegetativo pero la producción de apotecios fértiles sólo ocurrió entre concentraciones de glucosa de 1 y 4 g C/l (asparagina 0,07 y 0,27 de N/l).

BIBLIOGRAFIA

- BUDGE, S. P. & J. M. WHIPPS. 1991. Effect of sucrose concentration on sclerotia production and subsequent apothecial formation by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Mycol. Res.* 95: 195-198.
- CRABTREE, S. L. y R. V. GESSNER. 1982. Growth and nutrition of the salt-marsh fungi *Pleospora gaudefreyi* and *Camarosporium roumegerii*. *Mycologia* 74: 640-647.
- DANUNCIO, G. L., L. A. DIORIO y F. FORCHIASSIN. 1993. Desarrollo de *Iodophanus carneus* (Ascobolaceae). II. Nutrición nitrogenada. *Parodiana* 8: 177-184.
- DIORIO, L. A. 1993. Desarrollo de *Iodophanus carneus* (Ascobolaceae). I. Influencia de distintas fuentes carbonadas sobre la fructificación. *Parodiana* 8: 167-175.
- ELLIOTT, C. G. 1989. Some aspects of nitrogen nutrition and reproduction in *Phytophthora*. *Mycol. Res.* 92: 34-44.
- FORCHIASSIN, F. 1989. Estudios fotobiológicos en *Saccobolus platensis*. Tesis Doctoral. U.B.A. pp. 153.
- GALVAGNO, M. A. 1976. Ensayos de nutrición en *Ascobolus crenalatus* P. Karst. (*Fungi, Ascomycetes*). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 17: 95-118.
- GAMUNDI, I. J. y M. E. RANALLI. 1964. Estudio sistemático y biológico de las Ascoboláceas de Argentina. I. *Nova Hedwigia* 7: 517-533.
- HALL, R. 1971. Effect of carbon-nitrogen ratios on production of perithecia by *Sordaria fimicola*. *Can. J. Microbiol.* 17: 132-134.
- JAMES, S. W. & D. J. McLAUGHLIN. 1988. The influence of carbohydrate source and concentration and light on fruit body development in *Clavicornia pyxidata*. *Mycologia* 80: 89-98.
- KRAFT, J. M. & D. C. ERWIN. 1967. Effects of nitrogen source on growth of *Pythium ultimum* and *P. aphanidermatum*. *Phytopathol.* 57: 374-376.
- LEVIN, L., M. S. NADAL, F. FORCHIASSIN y M. A. GALVAGNO. 1992. Estudios nutricionales en *Trametes trogii* (Aphyllophorales, Basidiomycetes). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 28: 19-25.
- LIMA, C. E. y O. A. MERCURI. 1984. Ensayos de nutrición en *Ascobolus furfuraceus*. *Rev. Arg. Microbiol.* 16: 177-186.
- McHAN, F. & G. T. JOHNSON. 1979. Some effects of zinc on the utilization of nitrogen sources by *Monascus purpureus*. *Mycologia* 71: 160-169.
- MORTON, A. G. & A. MacMILLAN. 1954. The assimilation of nitrogen from ammonium salt and nitrate by fungi. *J. Exper. Bot.* 5: 232-252.
- NICHOLAS, D. J. D. 1965. Utilization of inorganic nitrogen compounds and aminoacids by fungi. En: Ainsworth & Sussman (Eds.) «The Fungi». Vol. 1, pp. 349-376. Academic Press, New York.
- NOLAN, R. A., 1983. Physiological and nutritional studies with an isolate of *Leptolegnia* sp. from the freshwater nematode *Neomesomermis fluminalis*. *Mycologia* 75: 472-486.
- PARDO, A. G. y F. FORCHIASSIN. 1993a. Estudios nutricionales en *Ascobolus biguttulatus* (*Fungi, Ascomycetes*). Crecimiento vegetativo. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 29: 233-239.
- PARDO, A. G. & F. FORCHIASSIN. 1993b. Effect of light and nutrition on fruiting of *Ascobolus biguttulatus*. *Curr. Microbiol.* 27: 69-72.
- PATEMAN, J. A. & J. R. KINGHORN. 1976. Nitrogen Metabolism. En: J. E. Smith & Berry D. E. (Eds.) «The Filamentous Fungi». Vol. 2, pp 159-237. Wiley. New York.
- RAMOS, A. M. 1994. Desarrollo de *Saccobolus longeviporus* (*Fungi, Ascomycetes*) con distintas fuentes de nitrógeno. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 30: 71-76.
- RAUDASKOSKI, M. & T. YLI-MATTILA. 1985. Capacity for photoinduced fruiting in a dikaryon of *Schizophyllum commune*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 85: 145-151.
- ROBBINS, W. J. 1937. The assimilation by plants of various forms of nitrogen. *Am. J. Bot.* 24: 243-250.
- ROSS, I. K. 1982. Localization of carpophore initiation in *Coprinus congregatus*. *J. Gen Microbiol.* 128: 2755-2762.
- SHIPTON, W. A. 1977. Some nutritional factors regulating formation of perithecia of *Calonectria camelliae*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 69: 59-62.
- SMITH, R. A. 1982. Nutritional study of *Pisolithus tinctorius*. *Mycologia* 74: 54-58.
- VIDAL, G., T. LEBBE et L. LACOSTE. 1975. Etude des conditions de developement et de reproduction sexuée du *Leptosphaeria typhae*. Mise au point d' un milieu de culture chimiquement defini. *Rev. Mycologie* 34: 43-52.
- WANG, S. Y. C. & D. Le TOURNEAU. 1971. Carbon sources, growth, sclerotium formation and carbohydrate composition of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Arch. Microbiol.* 80: 219-233.
- YU, C. C. 1954. The culture and spore germination of *Ascobolus* with emphasis on *A. magnificus*. *Am. Jour. Bot.* 41: 21-30.