

## NUEVO HALLAZGO DE *BROOMEIA CONGREGATA* (GASTEROMYCETES)<sup>1</sup>

POR JORGE E. WRIGHT<sup>2</sup> E IRMA GAMUNDI<sup>3</sup>

### SUMMARY

#### New find of «*Broomeia congregata*» (Gasteromycetes)

After more than sixty years a new collection of *B. congregata* has been found in the same general area as Spegazzini's var. *argentinensis*. This has allowed a detailed study of the peridial structures, scanning electron micrographs of its peculiar spores and cultural characters. A comparison with Berkeley's type and that of Spegazzini's var. *argentinensis* warrants the conclusion that the latter is unfounded.

El afortunado hallazgo en Catamarca por el señor Kiesling, de un material joven de la especie del epígrafe, después de más de sesenta años desde que fuera coleccionada la última vez, nos ha permitido realizar un estudio detallado de las estructuras peridiales y, merced a la gentileza del doctor Donald Dring, de los Royal Botanic Gardens, Kew (Gran Bretaña), comparar su gleba con la del tipo de Berkeley, depositado en el Herbario de dicha institución.

El género *Broomeia* fue creado por Berkeley (1844) para una especie muy singular procedente de Africa del Sur, caracterizada por poseer numerosas fructificaciones sobre un pie común, columnar, muy desarrollado, y un velo universal también común; durante mucho tiempo fue considerado monotípico. Pocos años más tarde, Berkeley y Curtis (1869) fundaron el género *Diplocystis*, con características semejantes (cfr. Fischer, 1933), pero supuestamente sésil, resupinado o patelado y con cada fructificación envuelta en un velo propio. Zeller (1948) erigió para ambos, junto con *Lycogalopsis*, la familia *Broomeiaceae*, cuyos rasgos serían los de poseer

<sup>1</sup> Trabajo leído en las XII Jornadas Argentinas de Botánica, realizadas en Neuquén, 2-5 de noviembre de 1972.

<sup>2</sup> Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

<sup>3</sup> Instituto de Botánica "C. Spegazzini", Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. Ambos son miembros de la "carrera del investigador científico", Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

“fructificaciones aisladas o numerosas sobre un estroma común, casi ovoides, hemisféricas o subglobosas; exoperidio delgado, total o parcialmente desintegrado en la madurez; endoperidio papiráceo o grueso, expuesto en la madurez y abriéndose por un poro apical; capilicio presente, con hebras más o menos simétricas, sin un filamento principal grueso”. De acuerdo con el presente estudio, se justifica la separación de *Broomeia* en una familia aparte, pero es preciso un estudio de los detalles ontogenéticos y de la composición hifal del peridio de los dos restantes géneros para poder considerarlos afines a *Broomeia*.

Spegazzini (1912) estudió una colección de la misma provincia, que publicó como *B. congregata* var. *argentinensis*, basándose en la menor densidad de la ornamentación esporal, la que Lloyd (1920) supuso había confundido con *Diplocystis wrightii*, y que Long (1948) redescubrió posteriormente. Las diferencias observadas entre los materiales argentinos y el tipo de Berkeley no justifican la variedad.

Pole Evans y Bottomley (1919), Lloyd (1920, 1924), Verwoerd (1925), Fischer (*loc. cit.*), Bottomley (1948), Dissing y Lange (1962) y Dring (1964, 1967), han publicado reseñas sobre especies de este género, prácticamente todas ellas de África.

De toda la literatura conocida, puede deducirse que sólo se reconocen actualmente dos especies: *B. congregata* Berk y *B. ellipospora* v. Höhn., que se diferencian por la forma y ornamentación de las esporas y la naturaleza del estroma. En el caso de este último, es posible que no siempre se lo haya desenterrado cuidadosamente, por lo que en algunas colecciones puede estar incompleto. Otro detalle de interés es la proximidad de los ejemplares con determinadas especies de plantas vasculares. Así, por ejemplo, los citados por Dring (1967) para Kenya, y otra colección sobre la que nos comunicara personalmente, crecían sobre suelo arenoso próximos a *Acacia xanthophloea*, mientras que los hallados en Catamarca crecían próximos a *Prosopis*<sup>1</sup>. Sin entrar a considerar posibles relaciones micorrícicas, es obvio que la circunstancia de tratarse de dos géneros de la misma familia puede indicar algún tipo de relación ecológica; desgraciadamente, suelen faltar datos de esta naturaleza en la mayoría de las colecciones de hongos.

#### ***Broomeia congregata* Berkeley**

(Lám. I, figs. 1 y 2)

in Hooker's, *London J. Bot.* 3: 193. 1844.

*B. congregata* var. *argentinensis* Spegazzini, *Myc. Arg.* VI, *An. Mus. Nac. Hist. Nat. Buenos Aires* 23: 15, n° 1266. 1912.

Basidiocarpos múltiples (10-40), dispuestos sobre un estroma común, con una notoria porción informemente tuberosa, de micelio blanco o cení-

<sup>1</sup> Spegazzini (1912) da el substrato como “*ad truncos emortuos, terra obovolutos, Opuntiae cujusdam...*”.

ciento, cementado con tierra arenosa, enterrada en el substrato, 8,5 x 7 x 5,5 cm (la parte estromática aprox. 6 cm) (Lám. I: A), con gastrocarpos individuales, 1,8-0,9-1,3 cm, ovoides a subglobosos-piriformes, blancos cuando jóvenes, rodeados al principio por una masa hifal blanca, luego tenuemente rosada, que delimita zonas poligonales en las que los gastrocarpos aparecen casi piramidales o mamelonados por la emergencia del futuro ostíolo, de aspecto liso y en partes casi calizo (Lám. I: B); esta capa (*exoperidio* o "velo universal"), luego se rompe y deja en libertad a los gastrocarpos individuales, que huelen a anís y maduran sobre una masa miceliana subicular, finalmente abriéndose por un ostíolo preformado, cuando joven apezonado (Lám. I: C). Nuestras observaciones macroscópicas concuerdan con la minuciosa descripción que diera Murray (1883!), quien dice que el primer punto que debe notarse es la presencia sobre los gastrocarpos de un peridio externo discreto de un "hermoso color blanco" que todavía cubre los individuos inmaduros, pero que luego "se pela". Está unido, agrega, al estroma alrededor del margen, y a partir de allí recubre la parte superior de los peridios internos, hacia centro del grupo. Cada individuo no está completamente recubierto en todos sus puntos, sino que se extiende sobre los ápices como una membrana continua común a toda la masa, tapizando las depresiones entre los peridios internos y, en el caso de ejemplares casi maduros, fácilmente separándose de ellos. Sobre individuos muy jóvenes, se halla estrechamente unido en el margen con el peridio interno; pero al microscopio se observa una línea de debilitamiento entre ellos (cfr. Lám. I: C). En estos casos penetra hacia abajo entre los peridios internos muy jóvenes, y se une con el labio de la depresión cupuliforme del estroma en la cual está asentado cada individuo. Directamente por sobre el ápice de los individuos maduros, en el centro de la masa, se encontrará que el peridio externo ha desaparecido. La dirección del crecimiento es, por tanto, centrífuga. Los individuos centrales son los primeros en madurar; y, en cada caso, por expansión del peridio interno, la porción del externo que se halla directamente por encima, se pela para dejar lugar a la descarga de las esporas a través de un orificio "hermosamente fimbriado", en el ápice del peridio interno. Entre tanto, surgen individuos jóvenes en el margen, y permanecen debajo de la cubierta del peridio externo hasta que ellos, también, alcanzan la madurez y quedan desnudos. Cuando el conjunto está maduro. . . , el peridio externo ya ha desaparecido sin dejar vestigios de su existencia. La capa interna (*endoperidio*), se oscurece al madurar, tornándose más delgada, tenaz, hasta apergamizada. *Gleba* al principio totalmente blanca y homogénea (Lám. I: C), con consistencia carnosa-caseosa, luego corchosa aunque nunca típicamente pulverulenta, oscureciéndose hasta alcanzar un tono castaño atabacado al madurar las esporas, sin vestigio de columela. *Boca* desde el principio insinuada en los gastrocarpos como una punta, formada por un conjunto de hifas dispuestas piramidalmente, más laxas que las restantes, finalmente abriéndose por un orificio y tornándose fibri-

lloso-fimbriada y erosionándose lentamente hasta quedar más o menos plana y con una región peristomática más oscura (Lám. I: B-C).

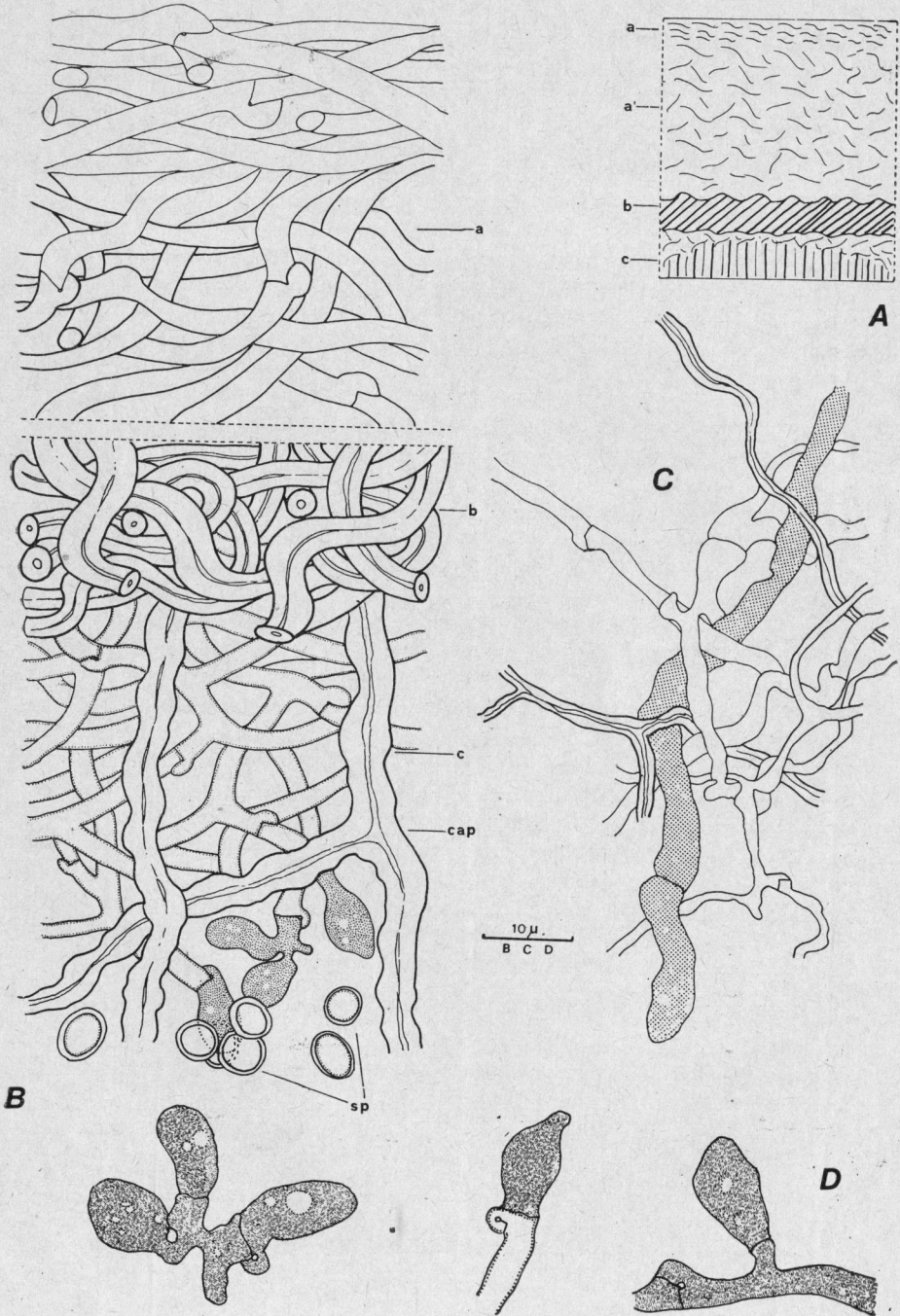
*Basidiosporas* globosas, subglobosas a elipsoidales, muchas deformadas, de tamaño singularmente variable:  $6,1-11,5 \times 5,4-9,7 \mu$  ( $6,8-8,3 \times 6-7,2 \mu$  en el tipo, y  $6,8-8,5 \times 5,1-6,8 \mu$  según Bottomley, 1948), incluida la ornamentación, mientras que el cuerpo celular varía entre  $5,7-9,3 \times 4,6-8 \mu$  con la pared muy engrosada cuando jóvenes, lisa y entonces con una —a veces dos— gúttulas grandes, luego ornamentadas cuando maduras; la ornamentación consistente en una cubierta en forma de panel de abejas, con un retículo de 20-40 mallas por lado, pentagonales a hexagonales,  $0,7-1,8 \mu$  diám, que en el plano óptico y con microscopio óptico aparecen como columnas con terminaciones agudas que no son otra cosa que los nodos de las mallas (Lám. I: E, K-M), y que muchos autores han ilustrado como espinas; éstas, empero, no aparecen en esporas observadas sin líquido de montaje; inamiloides, acianófilas. El examen con microscopio electrónico de barrido ("scanning EM")<sup>1</sup>, muestra claramente la estructura de la ornamentación y revela que ésta consiste en una cubierta a modo de panel de abejas, con celdas aproximadamente hexagonales de  $1 \mu$  diám y pared relativamente gruesa, una profundidad media algo menor de  $1 \mu$  y sin espina de ninguna clase, como lo expresara Dring (1967); en el fondo de las "celdas", o sea sobre la pared esporal propiamente dicha, se observan 1-6 poros —generalmente de mayor tamaño cuanto menor su número— no citados anteriormente. Sería de interés un estudio detallado con ME en cortes de esporas para analizar la posible función de dichos poros, que no parecen ser germinativos (Lám. I: E). Cuando maduras, las esporas son binucleadas (Lám. I: K)<sup>2</sup>. Capilicio formado por hebras nodosas, al principio hialinas, luego castaño amarillentas, poco ramificadas,

<sup>1</sup> Agradecemos al Servicio de Microscopio Electrónico de Barrido, dependiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por la colaboración dispensada.

<sup>2</sup> Para la tinción de núcleos se empleó la técnica de HCl-Giemsas según la marcha recomendada por Rogers (1971).

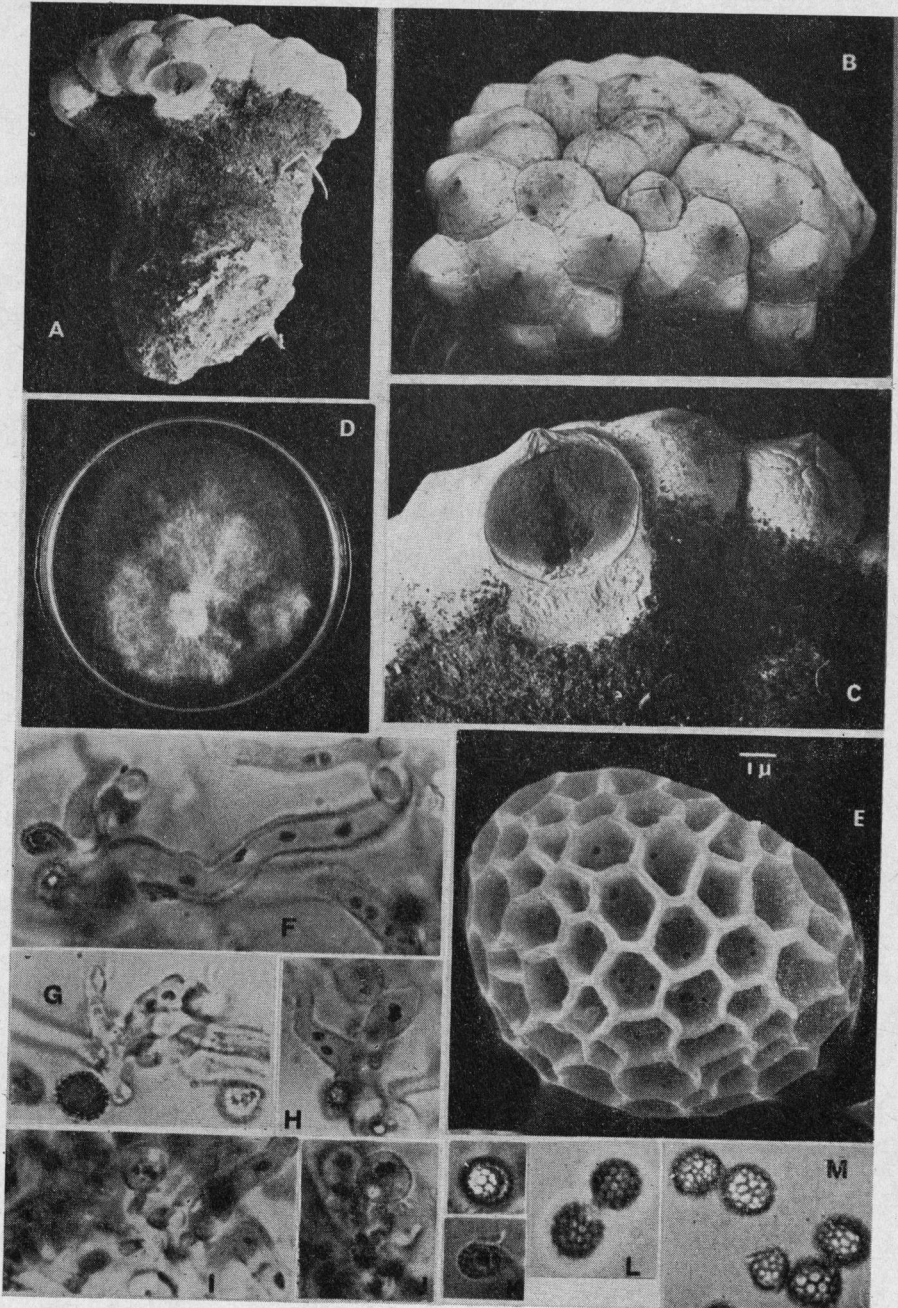
---

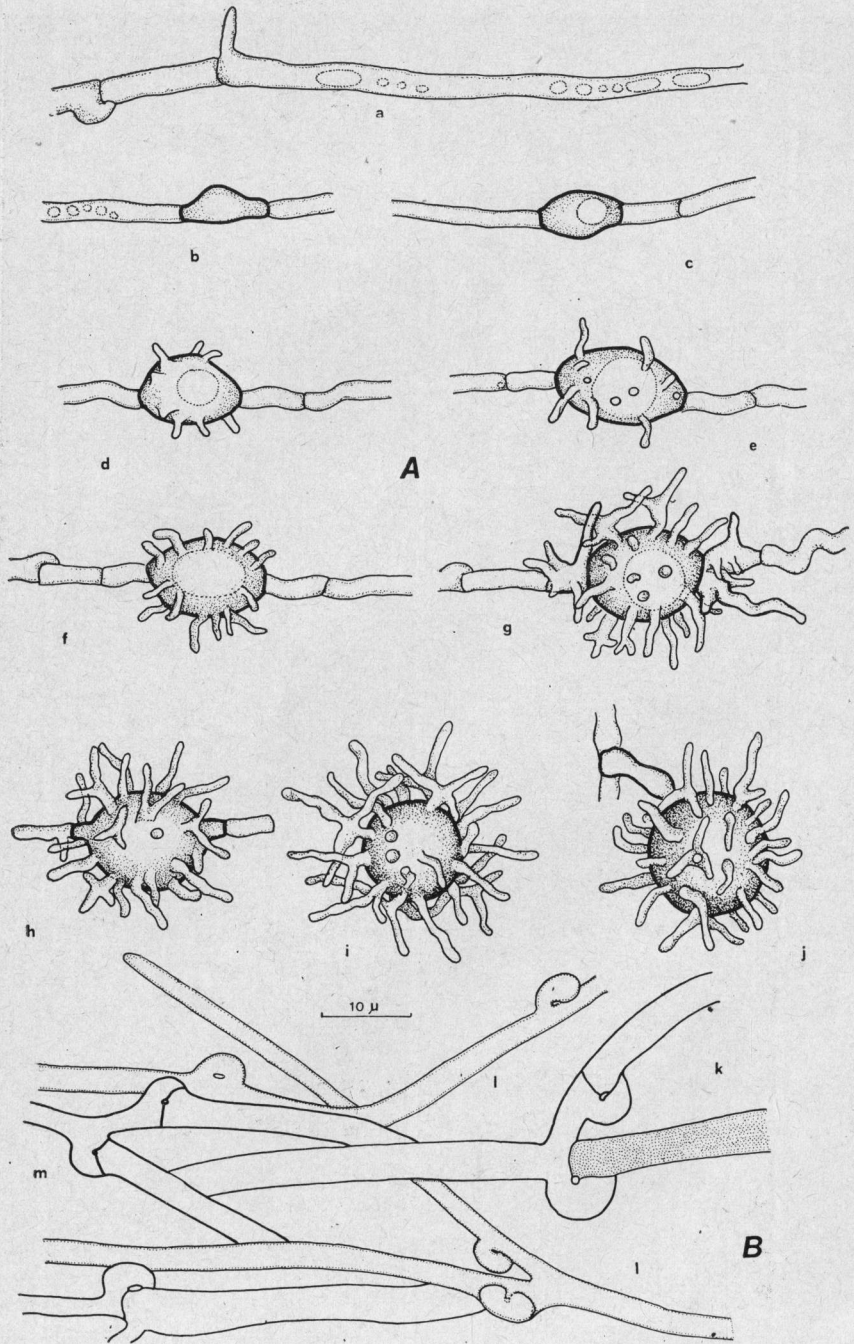
Lám. I. — A - C, Aspecto del gastrocarpio de *Broomeia congregata* A, aspecto general donde puede observarse bien el estroma basal (ca.  $1/2 \times$ ). B, detalle de los gastrocarpios individuales (ca.  $1 \times$ ) C, corte longitudinal de un gastrocarpio individual mostrando el grueso exoperidio, el endoperidio (línea oscura), el colechón basal de hifas similares a las del exoperidio, y la formación del ostíolo (ca.  $2 \times$ ). D, aspecto del cultivo (ca.  $1/5 \times$ ). E, detalle de una espora observada con SEM, pudiendo observarse la naturaleza del retículo y los poros de la pared esporal. F - M, aspectos microscópicos del mismo ( $1000 \times$ ). F, detalle de las hifas plurinucleadas de la porción glebal, con las paredes ya engrosadas. G - J detalle de los basidios en formación, donde se pueden ver los núcleos de las células dicariotes, las fibulas basales, la formación del núcleo diploide y su posterior división en cuatro núcleos hijos (J). K - M detalle de las esporas vistas con el microscopio óptico; en K una binucleada; L, esporas del tipo de *Broomeia congregata* var. *argentinensis* Spag.



sólidas o con luz poco visible y, las más de las veces interrumpida, que se originan en la pared del endoperidio (2,2)-3,2-6,9  $\mu$  diám, en el tipo (Fig. 1, B, cap.). Basidios subglobosos a piriformes o irregulares; el rango de medidas más frecuentes es 8,6-14,4 x 5,4-8  $\mu$ , aislados como una rama lateral de una hifa madre, generalmente dicarionte (Fig. 1, D), y entonces por lo común sin fíbula basal, o en grupos, generalmente fasciculados en un extremo hifal, y entonces casi siempre con una fíbula basal, sin estigmas visibles (Fig. 1, B), y las esporas dispuestas casi lateralmente y cubriendo prácticamente la mitad superior del basidio, que se colapsa rápidamente al adquirir la espora su tamaño adulto (aunque no la ornamentación, que se forma tardíamente) (Fig. 1, B, sp.); los basidios siguen el patrón nuclear usual, con un núcleo  $2n$  (Lám. I: J), que origina 4 núcleos hijos (Lám. I: I). *Sistema hifal*: el *peridio*, cuando joven, se diferencia en tres capas visibles (Fig. 1, B), de las cuales la más externa (*exoperidio*) es sumamente ancha en la juventud, alcanzando casi 2 mm de grosor, y está constituida, a su vez, por dos subzonas de hifas muy semejantes (Fig. 1, B, a), generativas, con grandes fíbulas, colorables, la externa de paredes más delgadas y, en general, con hifas más aplanadas y apretadas, y la interna con hifas de pared más gruesa y algo más laxas y ramificadas, todas 2,1-5,4  $\mu$  diám (hasta 7,2  $\mu$  en las fíbulas), todas muy hialinas, inamiloides, acianófilas. A esta capa sigue una media, el *endoperidio*, compuesto de hifas esqueléticas, afibuladas, apretadamente entrelazadas, de pared muy gruesa y luz casi ausente en muchas, generalmente onduladas, 2,1-6,5  $\mu$  diám; esta capa mide en los ejemplares jóvenes 15,8-35  $\mu$  de grosor, y se reconoce fácilmente en los cortes por sus hifas ligeramente amarillentas, lo que contrasta con el resto, y por formar columnitas terminadas en un aglutinamiento compacto de hifas, a modo de glomérulos, tal como lo observara Dring (1967). La tercera capa, de unos 25  $\mu$  de grosor al tiempo de iniciarse la maduración de las esporas en el centro, forma parte, en rigor, de la *gleba*, y se compone, al menos en la periferia —que podría llamarse *región de hifas basidiógenas*—, por hifas generativas muy similares a las de la capa externa, fibuladas, de pared mediana pero visiblemente engrosada, 2,8-3,6  $\mu$  diám, que originan las hifas madres de los basidios, de pared delgada y muy colorables, entre-

Fig. 1. — Detalles microscópicos del basidicarpo de *Broomeia congregata* Berk. A: Esquema ilustrando la disposición de las capas peridiales en los ejemplares jóvenes (a y a', exoperidio con los dos tipos de hifas; b, endoperidio; c, capa interna que origina las hifas basidiógenas y el capilicio). B: corte longitudinal figurado de todo el peridio hasta la gleba (a, hifas del exoperidio; b<sub>1</sub>, hifas del endoperidio; c, hifas basidiógenas fibuladas; cap, capilicio; sp., esporas jóvenes sobre los basidios; la doble línea de puntos indica que esta capa continúa). C: hifas que componen la porción radicular, observándose las de pared delgada, fibuladas, las de pared gruesa tipo esquelética y las conductoras; D, formación de los basidios; Las escalas están indicadas sólo para B, C y D. La fig. A es sólo esquemática.





mezcladas con hifas sólidas que crecen radialmente hacia el interior a partir de la capa anterior (endoperidio), que eventualmente constituirán el *capicilio* (Fig. 1, B, *b*, *c* y *cap.*, respectivamente); han sido muy bien ilustradas por Dring (*loc. cit.*). La mayor parte de dichas hifas son binucleadas (Lám. I: G, H); sin embargo, parecería que las que no producen basidios se tornan finalmente plurinucleadas (4-6 núcleos) (Lám. I: F). *Base estéril* compuesta por una masa hifal muy compacta, integrada por hifas de pared relativamente delgada a ligeramente engrosada (hasta  $0,5 \mu$ ), fibuladas, y por elementos conductores,  $4,6-10,8 \mu$  diám, que tiñen bien con todos los colorantes usuales; también hay hifas de pared gruesa, con luz escasa, no teñibles, aparentemente aseptadas y afibuladas,  $2,5-3,6 \mu$  (Fig. 1, C). Todos los elementos inamiloides, acianófilos.

#### CARACTERES DE CULTIVO

*Caracteres macroscópicos:* Se logró aislar el hongo en medio de agar extracto de malta, agar papa glucosado y agar zanahoria, creciendo moderada a lentamente en todos ellos a temperatura ambiente (ca.  $20^{\circ} \text{C}$ ), sin luz directa, alcanzando un diámetro de  $5,5-6 \text{ cm}$  en 18 días, y cubriéndose las cajas al mes (Lám. I: D). Capa miceliana blanca hialina a francamente blanca (sobre todo en APG), con un ligero tinte rosado en el centro, al principio afélpada a casi algodonosa, según los medios, con margen ligeramente festoneado y una banda sumergida muy hialina, que finalmente se torna difuso e irregular; luego la capa, con la edad, se hace más apretada y adquiere un aspecto papiráceo con ocasionales elevaciones irregulares aracnoides; desde el inóculo, se observa en las cajas con cultivos viejos la irradiación de hebras micelianas más o menos compactas, tenues pero obvias. Olor suave a anís. Después de más de un mes se observa la formación de pelotones micelianos en los bordes de las cajas, que son primordios de fructificaciones, a juzgar por la transformación que han sufrido los elementos micelianos que las componen; éstos nos prosperan hasta alcanzar una estructura más definida de gastrocarpios, por lo que se prosiguen las investigaciones tendientes a lograrlo.

*Caracteres microscópicos:* MICELIO AÉREO formado por hifas que colorean bien con floxina,  $2,1-4,7 \mu$  diám, con grandes fíbulas abundantes (hasta  $22 \mu$  diám en las fíbulas!) y la pared muy tenue, tornándose luego más gruesa hasta que, finalmente, las hifas generativas se esclerosan y se vacían (Fig. 2, B, *k* y *l*). Pasada esta etapa, aparecen clamidosporas ter-

Fig. 2. — Detalles microscópicos de las hifas y clamidosporas producidas en cultivo por *Broomeia congregata* A: secuencia en la formación de clamidosporas; B, tipos de hifas producidas por el micelio en cultivo (*k*, hifas fibuladas grandes de pared delgada y citoplasma denso, que luego se van esclerosando en *l*, hasta adquirir pared gruesa y, en algunos casos, se vacían, *m*).

minales o, más frecuentemente, intercalares, que se insinúan como porciones hifales de pared más gruesa y contenido denso, que luego van creciendo, tornándose más globosas y de pared muy engrosada (Fig. 2, A, a-c), con una o dos grandes gúttulas lipídicas, que se van oscureciendo hasta adquirir al estado maduro un color castaño sucio y aparecen adornadas de profusas prolongaciones digitiformes que comienzan a evaginarse a modo de verrugas cilíndricas al ensancharse la hifa y luego, mientras prosigue la maduración, se alargan, algunas se bifurcan y entrelazan, extendiéndose a las paredes aledañas de la hifa madre; 29-40 x 26-29  $\mu$  (Fig. 2, A, d-j). Todos los elementos inamiloides y acianófilos. Finalmente, los cultivos prácticamente se resuelven en clamidosporas.

*Material estudiado:* ARGENTINA: *Catamarca:* Río Icaña, leg. R. Kiesling, 2-I-1972, "con olor a anís, bajo algarrobo? en monte espinoso" (LPS 37760), Piedra blanca, leg. Spegazzini, 27-XI-1909 (LPS 13.361, *typus* de la var. *argentinensis* Speg.).

*Observaciones:* Del estudio del nuevo material y su confrontación con el de *B. congregata* var. *argentinensis*, y del tipo de la especie ( $\mathbb{K}$ ) surge que dicha variedad no tiene validez, ya que no ofrece suficientes rasgos diferenciales para mantenerla como tal.

#### BIBLIOGRAFIA

- BERKELEY, M. J., 1844. Decades of Fungi 1-62, in Hooker's, *London J. Bot.* 3: 193.
- BERKELEY, M. J. y M. A. CURTIS, 1869. Fungi Cubenses II. *Jour. Linn. Soc. London* 10: 341.
- BOTTOMLEY, A. M., 1948. The Gasteromycetes of South Africa. *Botthalia* 4: 473-819.
- DRING, D., 1964. Gasteromycetes of West Tropical Africa. *C. M. I. Mycol. Pap.* n° 98: 1-60.
- 1967. Some Gasteromycetes from Eastern Africa. *J. E. Africa Nat. Hist.* 26 (2): 40-42.
- FISCHER, Ed., 1933. Gastromyceteae in Engler u Prantl's *Natürlichen Pflanzenfamilien*, Bd. 7 a. 122 p. Engelmann, Leipzig.
- LLOYD, C. G., 1904. *Mycological Writings* 1, *Myc. Notes* 17: 193-194.
- 1907. *Ibid.* 2, *ibid.* 25: 318.
- 1909. *Ibid.* 3, *ibid.* 33: 436.
- 1920-21. *Ibid.* 6, *ibid.* 62: 917-918; 65: 1048.
- 1924. *Ibid.* 7, *ibid.* 72: 1276-1277.
- LONG, W. G., 1948. Studies in the Gasteromycetes. XVII. Two interesting species from Argentina. *Lloydia* 11 (1): 57-59.
- MURRAY, G., 1883. On the outer peridium of *Broomeia*. *J. Linn. Soc. London* 20: 311, illustr.
- POLE EVANS, J. B. y A. M. BOTTOMLEY, 1919. On the genera *Diplocystis* and *Broomeia*. *Trans. Roy. Soc. S. Afr.* 7: 189-192, tab. XIX.
- ROGERS, J. D., 1971. Observations on the ascogenous system of *Hypoxylon microplacum*. *Can. Journ. Bot.*, 49 (7): 1075-1077.
- SPGAZZINI, C., 1912. *Mycetes argentinensis*. VI. *An. Mus. Nac. Hist. Nat. Buenos Aires* 23: 1-146.
- VERWOERD, L., 1925. \*Suid-Afrikaanse Lycoperdaceae en Nidulariaceae. *Ann. Univ. Stellenbosch* 3 (1): 1-45.
- ZELLER, S. M., 1948. Notes on certain Gasteromycetes, including two new Orders. *Mycologia* 40 (6): 639-668.