

La formación del micropicnidio de *Trybliella elevata* (Pers.) Rehm

por

M. J. de URRIES (1)

En mis herborizaciones por los Pirineos he encontrado repetidas veces sobre ramas de *Buxus sempervirens* L., por lo común más o menos secas, este Discomiceto. Los ejemplares utilizados en este estudio proceden de: Rodellar, al pie de la Sierra de Guara (Huesca) y Villanova (Valle de Benasque). Además de estas localidades, he encontrado el mismo hongo en Panticosa (Huesca) y Carrascal (Navarra).

Las fructificaciones del hongo en cuestión tienen las siguientes características:

Apotecios de 2-5 mm. de largo por 1-2 mm. de ancho, que primero están inmergidos bajo el peridermio y asentados sobre el iño; pero luego se hacen erumpentes y, al desprenderse aquél, resultan en apariencia superficiales; negros, alargados, rectos o algo flexuosos, esparcidos y aún confluentes, con margen abultado. Estando secos, tienen aspecto de histerotecios abiertos por una grieta longitudinal; cuando están humedecidos, en cambio, la abertura se hace más amplia, elíptica, pero nunca llega a ser circular. Excípulo coriáceo, de estructura parenquimática, provisto de una corteza negra más o menos carbonosa. Ascas claviformes, redondeadas en el ápice, de unas $200 \times 12-16 \mu$, octospóricas. Esporas monósticas, elípticas o más frecuentemente ovoideas, bicelulares, de color pardo oscuro cuando están completamente maduras,

(1) Laboratorio de Micología del Jardín Botánico de Madrid.

bastante contraídas a nivel del tabique, generalmente con una gota grande oleaginosa en cada célula, de 22-28 × 12-13 μ . Parafisos ramificados, tabicados, más o menos ensanchados y coloreados en el ápice, formando un epitecio oscuro.

Estos caracteres convienen con los de *Tryblidiella elevata*.

Colocada esta especie primeramente entre los Histeriáceos, Rehm la pasó a los Dermatáceos. Nannfeldt ve en las ascas crasi-tunicadas, esporas grandes y pardas, parafisos cartilaginosos y reacción positiva al yodo, las características de un típico Lecanoral. Según el mismo autor, el género *Tryblidiella* está próximo a *Karschia* (= *Buellia*).

Cultivé esta especie en agar-extracto de malta, así como en agar-patata, agar-zanahoria y en trozos de zanahoria. El cultivo se hizo en Erlenmeyer de 500 cm³ cerrados con celofana, y se mantuvieron en el laboratorio con temperatura muy variable y a la luz del día.

Germinación:

Las esporas oscuras germinaron en todos los medios ensayados. La hinchazón tuvo lugar a las pocas horas (20°), y generalmente en una de las células antes que en la otra. A las veinticuatro horas ya tenían un tubo germinativo de tamaño mayor que el de la espora. En el caso más frecuente, una de las células, la superior o la inferior, indistintamente, germinó antes que la otra, que muchas veces no lo hizo nunca; en estos casos, la célula germinada destaca por su mayor tamaño. La dehiscencia suele ser lateral, especialmente en la célula superior.

La capacidad germinativa de los ejemplares guardados en el laboratorio se conserva aún al cabo de dos años, si bien el porcentaje de esporas germinadas en los ensayos es entonces menor que al principio.

Los tubos germinativos no tienen geotropismo alguno. La experiencia la dispuse así: En cubetas con ranuras, de las usadas en Histología, coloqué en posición vertical unos portas que llevaban en el centro sendas gotas de agar nutritivo, en el que previamente había sembrado una suspensión de esporas; para mantener la humedad dentro de las cubetas cerradas, coloqué en su fondo un pa-

pel de filtro húmedo. Puestas las esporas en estas condiciones, sus tubos germinativos se orientaron en todas direcciones.

Experiencias de regeneración:

Con ayuda de mi micromanipulador he llevado a cabo algunas experiencias de disección del tubo germinativo a mayor o menor distancia de la espora, para averiguar cómo se comportaba en la regeneración.

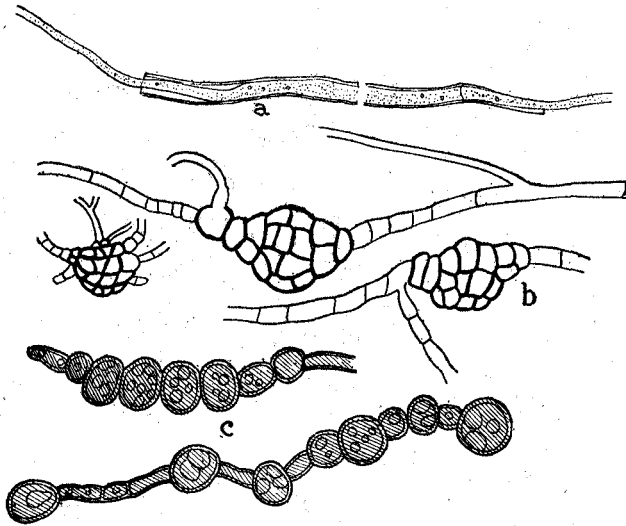


Fig. 1.—*a*: Regeneración en los extremos seccionados.—*b*: Primeros esbozos de picnidios.—*c*: Clamidosporas.

En estas disecciones empleé una aguja que, en vez de tener el extremo plano, como las que utilizo en los aislamientos, lo tiene con un borde cortante.

En ningún caso, y bajo ninguna condición, han revelado polaridad alguna las hifas seccionadas. El trozo terminal de la hifa sigue creciendo por el ápice y regenera una nueva hifa a nivel del extremo seccionado. Los trozos intermedios producen sendas hifas de regeneración en los extremos. Estas hifas de regeneración, como se puede apreciar en la figura 1.^a, se producen precisamente a partir de un tabique transversal, y corren en un principio alojadas dentro de una especie de vaina constituida por las paredes

laterales de la célula, que, como consecuencia de la disección, ha muerto. Además de estas hifas terminales se originan otras laterales.

El micelio:

Las colonias crecieron bastante rápidamente, sin que en esto hubiera diferencias en los distintos medios experimentados. Sus características fueron las siguientes:

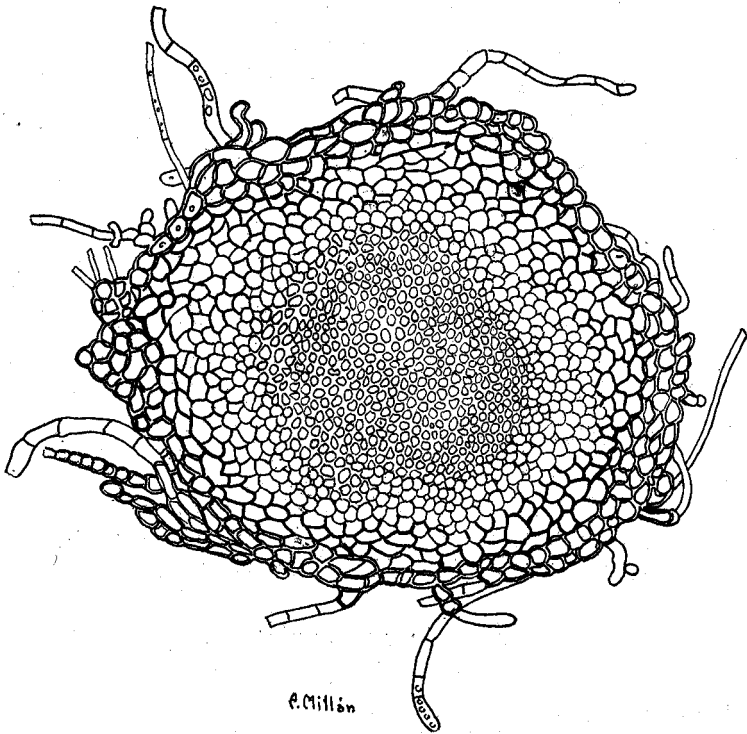


Fig. 2.—Picnidio joven: formación de la cavidad.

En trozos de zanahoria: un abundante micelio aéreo algodonoso, primero blanco, luego grisáceo, cubrió pronto la superficie. El micelio interno era pardo, y también tomó un color pardo oscuro el substrato.

En agar-zanahoria y agar-extracto de malta: Muy escaso el micelio aéreo, de color pardo ocráceo, dependiendo su desarrollo ma-

yor o menor, en cierta medida, de las condiciones de humedad. El estrato superficial está formado por un fieltro denso, pardo oscuro, que determina una ligera elevación del centro de la colonia. El estrato interno está muy desarrollado, con características análogas al anterior, y formando como éste hifas pardas, relativamente gruesas, muy oscuras. El substrato está ennegrecido y llega a tener con el tiempo aspecto píceo. Sobre la superficie del micelio se forman gotas amarillentas.

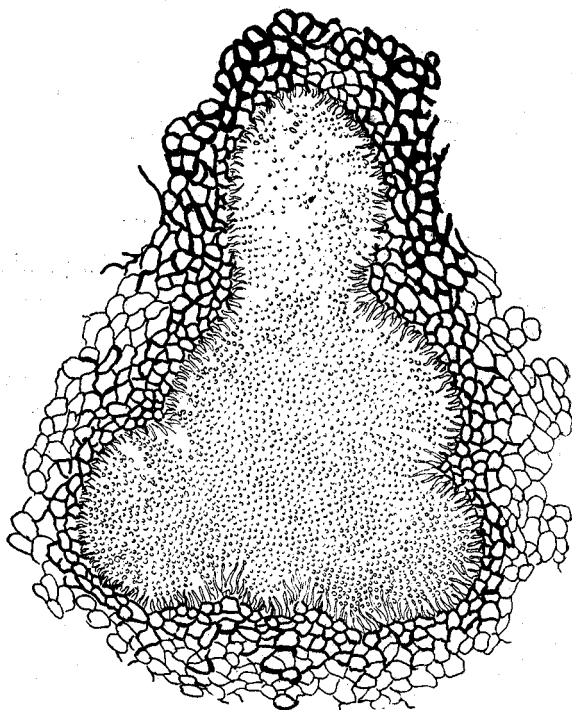


Fig. 3.—Picnidio poco antes de su apertura.

En agar-patata: Las colonias presentan análogas características que en los dos medios últimamente citados, con la excepción de colorearse aquí muy poco el substrato.

Abundantes clamidosporas aparecen en todos los cultivos viejos.

La fructificación:

De algunas especies del género se han ocupado, más o menos recientemente, Shear (1933) y Voorhes (1939). Estos dos autores, en cultivos monosporicos, obtuvieron macropicnidios de tipo *Diplodia*, junto con micropicnidios análogos a los obtenidos por mí.

La única fructificación aparecida en mis cultivos, alguno hasta de dos años de edad, ha sido la micropicnidica, que a continuación detallaré. Estos picnidios se formaron, sin excepción, en todos los medios ensayados, a los 12-15 días de edad.

En las tentativas hechas por lograr la fructificación ascófora en los cultivos, utilicé también los medios que en el caso de *L. Cavalliesii* (1) me dieron resultados positivos, pero no conseguí mi objeto.

La presencia de una colonia de *Actinomyces* en la misma placa sólo determinó en este caso la inhibición del desarrollo del hongo, sin afectar a la fructificación del mismo. Los picnidios, única fructificación aparecida, estaban esparcidos por toda la colonia.

No hubo diferencias entre colonias polispóricas, monospóricas y aún las obtenidas a partir de un segmento de hifa monospórica.

Desarrollo del picnidio:

En la descripción del proceso cabe distinguir cuatro fases: primeros estados, estado de esclerocio, formación de la cavidad, constitución del himenio.

Primeros estados: Los picnidios se inician por segmentación de un artejo hifal, según direcciones aproximadamente perpendiculares en el espacio. Las células periféricas de este primer esbozo crecen a veces en forma de hifas, lo que hace aparecer al conjunto como formado por la aglomeración de hifas de diversa procedencia, cuando en realidad esas no «concurren» a formar la fructificación, sino que «parten» de ella (fig. 1, b).

Estado de esclerocio: En esta fase del desarrollo ya se diferencian dos regiones: la corteza, formada por células que se

(1) J. DE URRIBES, M.—Estudio citológico y experimental de *Leptosphaeria cavalliesii*. Anales del Jardín Botánico. Madrid, VI, 1945.

tiñen débilmente y aparecen dispuestas en series más o menos concéntricas, y la región medular, en la que el parénquima consta de elementos algo menores y muy ávidos de los colorantes protoplásmicos.

Formación de la cavidad: Esta se origina por un proceso mixto de *disgregación de las células y gelificación de las mismas*, lo que determina la formación de lagunas que acaban por fundirse en una sola (fig. 2).

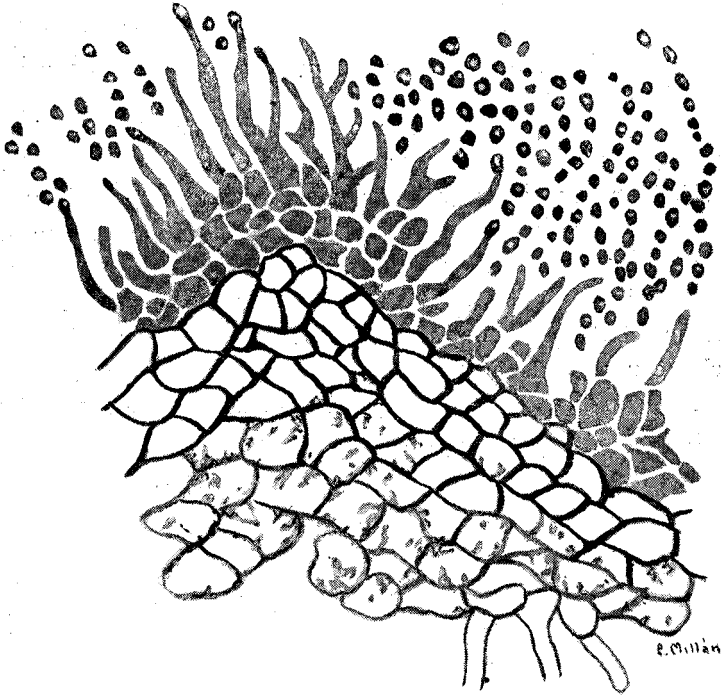


Fig. 4.—Detalle de la pared del picnidio.

Aparición del himenio: Una vez formada la cavidad, las células parietales que la limitan se alargan en sentido centrípeto, y constituyen de ese modo los conidióforos. Al mismo tiempo inicia la formación del ostiolo un acúmulo microcelular, resultante de una rápida división de las células de cierta región parietal; estas células así formadas provocan a su nivel un pequeño desplazamiento de las capas externas de la corteza, lo que determina una

elevación papilar del conjunto. Por disolución posterior de las células situadas en el interior de esta papila, se fragua la cavidad ostiolar.

Descripción del picnidio maduro:

Los picnidios son globosos o más o menos piriformes, negros, de 200-250 μ diám. En su pared, que en conjunto es coriáceo-carbonosa, pueden distinguirse:

a) Una corteza negra formada por células sin contenido protoplásmico, de membrana fuertemente engrosada, especialmente en la región próxima al ostiolo.

b) Un estrato interno, con células hialinas que se tiñen intensamente por los colorantes; de estas células, las limitantes de la cavidad emiten prolongaciones generalmente sencillas, en cuyo extremo adelgazado se forman los microconidios, de los que, a veces, aparecen dos o tres en ordenación arrosariada.

Tales microconidios son globosos, hialinos, sin membrana aparente, de 1,5-2,5 μ diám.; teñidos con azul láctico muestran una mancha central más clara, que no llega a definirse como gota. Los microconidios se acumulan en los picnidios maduros sobre el ostiolo, formando una gota viscosa.