

## ESTUDIO DE LOS MIXOMICETOS QUE FRUCTIFICAN SOBRE *OPUNTIA FICUS-INDICA* L. EN EL S.E. DE ESPAÑA PENINSULAR

E. López-Sánchez\*, M. Honrubia\*, E. Gràcia\*\* & F. J. Gea\*

Recibido: mayo 1986

### SUMMARY

#### Study of myxomycetes that grow on *Opuntia ficus-indica* L., in southeast Spain

Fifteen species of *Myxomycetes* that grow on *Opuntia ficus-indica*, in South-East Spain are cited. One of them (*Stemonitis virginiensis*) in this substrate is collected only in moist-chamber. According to the abundance and frequency with which the other fourteen species are registered, three groups of species are distinguished: five «characteristic» species, three «frequent» species and six «occasional» species. *Badhamia gracilis* is the most common one. When cultures in moist chambers were prepared sporocarps of *Badhamia gracilis*, *Stemonitis virginiensis* and *Perichaena minor* developed. Three species considered as «characteristic»: *Badhamia gracilis*, *Physarum compressum* and *P. straminipes* have been cultivated *in vitro*. Three species widely distributed in the area studied, but that have never been collected on *O. ficus-indica*, were used to compare with the ones isolated in the *Opuntia*. Three media of culture: CM, CM/2 and carrot-agar have been used and also a new medium, prickly-agar, has been put to test.

**Keywords:** *Myxomycetes*. *Opuntia ficus-indica*. Ecology. Culture. SE Spain.

### RESUMEN

Quince especies de Mixomicetos fructifican sobre *Opuntia ficus-indica*, en el S.E. de España. Una de ellas sólo se ha encontrado, sobre chumbera, en cámara húmeda (*Stemonitis virginiensis*). Las otras catorce, atendiendo a la abundancia y frecuencia con que son registradas, se han dividido en tres grupos: cinco características, tres frecuentes y seis ocasionales. *Badhamia gracilis* es la más abundante. Se realizan cultivos en cámara húmeda que dan como resultado la formación de esporocarpos de: *Badhamia gracilis*, *Physarum straminipes*, *Perichaena minor* y *Stemonitis virginiensis*. Se cultivan «*in vitro*» tres de las especies consideradas como «características»: *Badhamia gracilis*, *Physarum compressum* y *P. straminipes*. Se utilizan otras tres especies, ampliamente distribuidas en la zona de estudio, y que nunca han sido recogidas sobre chumbera, como patrón de comparación. Se han utilizado tres medios de cultivo: CM, CM/2 y agar-zanahoria. Se pone a prueba un nuevo medio de cultivo: agar-chumbera.

**Palabras clave:** *Myxomycetes*. *Opuntia ficus-indica*. Ecología. Cultivos. SE España.

### INTRODUCCIÓN

GRACIA & LLIMONA (1980) resaltan el interés que presentan los cladodios en descomposición de *Opuntia ficus-indica*, en el S.E. de España peninsular, como sustrato particular sobre el que se desarrolla una flora específica de Mixomicetos. En trabajos posteriores: GRACIA *et al.* (1981, 1982, 1983), GRACIA (1983), HON-

RUBIA *et al.* (1984) y LÓPEZ-SÁNCHEZ *et al.* (1986), se aportan numerosos datos para la zona de estudio, sobre Mixomicetos que fructifican sobre chumbera.

Los cladodios de *Opuntia ficus-indica*, la cactácea más extendida en esta zona, son un hábitat muy favorable para el desarrollo de ciertas especies de Mixomicetos. En cualquier época del año es posible recoger sus fructifica-

\* Departamento Botánica, Facultad Biología, Universidad de Murcia (España).

\*\* Departamento Botánica, Facultad Biología, Universidad Central Barcelona (España).

ciones, que suelen formar grupos de gran extensión.

El tiempo transcurrido desde que los cladodios caen al suelo hasta su completa desecación es bastante prolongado. Los Mixomicetos pueden completar normalmente su ciclo vital. En cuentan para ello la suficiente humedad y alimento durante los procesos de descomposición. La humedad proviene, sobre todo, del agua almacenada en los tejidos de dichos cladodios. Es por esto que se crea un microclima óptimo para su desarrollo, a pesar de la generalizada sequedad ambiental, que impide el crecimiento de estos organismos en otros hábitats.

Por otro lado, la flora mixomicetológica de este sustrato es, en gran medida, muy específica. Hay táxones que sólo han sido registrados sobre él en el territorio prospectado.

El estudio realizado sobre los Mixomicetos de chumbera en el S.E. de España, se ha centrado básicamente en cuatro aspectos: a) detección de las especies que fructifican, en condiciones ambientales, sobre este sustrato; b) utilización de cultivos en cámara húmeda, con el fin de completar la flora mixomicetológica de chumberas; c) realización de cultivos en medios sintéticos para estudiar el comportamiento «*in vitro*» de especies de chumbera, en comparación con otras especies, abundantes en la zona de estudio y no detectadas sobre *Opuntia ficus-indica*; d) ensayar con un nuevo medio de cultivo, agar-chumbera, para comprobar el grado de selectividad de especies características para este sustrato.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El cultivo en cámara húmeda se ha realizado según el método tradicional, descrito por GILBERT & MARTIN (1933), modificado por KELLER & BROOKS (1973), MITCHELL (1977) y WHITNEY (1980). Como sustrato se han utilizado cladodios de *Opuntia ficus-indica* en descomposición. Estos se disponen, sobre papel de filtro, en bandejas. Se cubren, en principio, de una capa de agua, cuyo sobrante se elimina a las 24 horas. Los cultivos se mantienen humedecidos de 3 a 6 meses, con períodos de desecación graduales, para facilitar la fructificación. Se disponen en condiciones de semioscuridad y a temperatura de laboratorio.

Para los cultivos «*in vitro*» se han seleccionado tres medios sintéticos, agar-harina de maíz (CM), agar harina de maíz diluido al 50% (CM/2) y agar-zanahoria al 3%. Según GRAY & ALEXOPOULOS (1968) e INDIRA (1969), estos dos últimos resultan muy adecuados para el desarrollo y fructificación de Mixomicetos.

Además, se ha ensayado un nuevo medio, agar-chumbera al 3%, cuya composición es la siguiente: 30 gr de chumbera, 20 gr de agar, 1 l de agua destilada. Su preparación se lleva a cabo según los métodos tradicionales.

Para la realización de los cultivos se ha utilizado material de herbario, procedente de la *Mycotheca* del Herbario de la Universidad de Murcia (MUB). Los números de registro que corresponden a las especies ensayadas para cultivo son:

### *Arcyria obvelata*

MH 3078. Murcia, Srta. España. XG 29. 9-III-80.

MH 3079. Murcia, Srta. España. XG 29. 9-III-80.

### *Badhamia gracilis*

MH 2572. Murcia, Totana, Tazona. XG 38. 4-II-79.

EL-S 8081. Murcia, Rambla del Sordo. XH 60. 15-XII-83.

### *Comatricha nigra*

EL-S 8090. Albacete, Riópar, Campamento San Juan. WH 45. 26-V-84.

EL-S 8185. Albacete, Mesones. WH 55. 18-XI-84.

### *Physarum compressum*

EL-S 8080. Murcia, Rambla del Sordo. XH 60. 11-XII-83.

### *Physarum nutans*

MH 2658. Murcia, Srta. España, Valle de Leiva. XG 39. 23-XII-84.

### *Physarum straminipes*

EL-S 8256. Murcia, Rambla del Sordo. XH 60. 23-XII-84.

EL-S 8232. Albacete, Socovos, WH 94. 7-XII-84.

Para cada uno de los ejemplares indicados se dispusieron series de 5-10 cajas Petri de los cuatro medios utilizados. La siembra de esporas se realizó directamente a partir de esporocarpos. Todos los medios se cubrieron con una película de agua estéril, la cual es fundamental, sobre todo, para el desarrollo de *Trichiales* y *Stemonitales*.

Inoculadas las distintas series de cajas, fueron mantenidas en condiciones de laboratorio. Se sometieron a períodos diarios de luz/oscuridad. La luz fue, en todo momento, indirecta y difusa.

Cada uno de los cultivos fue revisado diariamente mediante un microscopio OLYMPUS T03 de luz invertida.

## RESULTADOS

### ESPECIES QUE FRUCTIFICAN DE FORMA NATURAL SOBRE *OPUNTIA FICUS-INDICA*

En los cladodios en descomposición, se suelen formar los plasmodios por debajo de la epidermis, sobre la trama vegetal empapada en agua; o bien, en la zona de contacto con el suelo, donde se conserva mucha humedad. Sin embargo, las fructificaciones se detectan principalmente sobre la epidermis o sobre la trama interna, una vez que ésta se encuentra totalmente desecada.

Conforme a la abundancia y frecuencia con que han sido recolectadas se puede distinguir entre especies características, frecuentes y ocasionales, según aparezcan fructificaciones en más del 25%, entre el 5-25% y menos del 5% de los cladodios prospectados (tabla 1).

TABLA 1. Taxones recolectados sobre cladodios en descomposición de *Opuntia ficus-indica* en el S.E. de España.

Taxa of *Myxomycetes* found on *Opuntia ficus-indica* from South-East Spain.

CARACTERÍSTICOS	FRECUINTES	OCASIONALES	CÁMARA HÚMEDA
<i>Badhamia gracilis</i>	<i>Physarum cinereum</i>	<i>Badhamia foliicola</i>	<i>Stemonitis virginensis</i>
<i>Physarum straminipes</i>	<i>Physarum pusillum</i>	<i>Didymium squamulosum</i>	
<i>Didymium vaccinum</i>	<i>Perichaena vermicularis</i>	<i>Stemonitis flavogenita</i>	
<i>Perichaena minor</i>		<i>Stemonitis pallida</i>	
<i>Physarum compressum</i>		<i>Didymium bahiense</i>	
		<i>Badhamia panicea</i>	

Entre las especies «características», *Badhamia gracilis* es, sin duda, la más abundante. Forma extensas fructificaciones, especialmente sobre la epidermis seca de los cladodios. Este taxon, poco frecuente en latitudes más septentrionales, está ampliamente distribuido en la zona de estudio. Las cuatro «características» restantes aparecen casi exclusivamente sobre chumbera. Ocasionalmente han sido recogidas sobre otros sustratos. Las consideradas como «frecuentes» son taxones que, en la zona de estudio, se presentan, generalmente, sobre cladodios de *Opuntia ficus-indica*, aunque también han sido encontrados sobre otros sustratos con bastante asiduidad. *Physarum cinereum* y *P. pusillum* son las que tienen mayor porcentaje de registros sobre chumbera. Las especies «ocasionales» son de rango ecológico más amplio, y sólo han aparecido una vez, en el S.E. español, sobre el sustrato indicado.

#### CULTIVOS EN CÁMARA HÚMEDA

Se han utilizado cladodios de chumbera en distintos estados de descomposición. En los más descompuestos se comienzan a detectar fructificaciones entre los 5 y 7 días de iniciado

el cultivo. Si lo están poco, no se obtienen fructificaciones hasta pasados 30 días. En ocasiones, no llegan a desarrollarse.

Las fructificaciones se forman tanto sobre el sustrato como sobre el papel de filtro. Se han observado modificaciones morfológicas en los esporocarpos de algunas de las especies, respecto de los recolectados directamente en el campo, especialmente en los formados sobre el papel de filtro.

En cualquier caso, en cultivos de chumbera en cámara húmeda se detectaron esporocarpos de las siguientes especies: *Badhamia gracilis*, *Physarum straminipes*, *Perichaena minor* y *Stemonitis virginensis*. Este último taxon sólo ha sido encontrado sobre chumbera en cultivo, nunca en el medio natural.

#### CULTIVOS EN MEDIOS SINTÉTICOS

Se eligieron *Badhamia gracilis*, *Physarum straminipes* y *P. compressum*, como especies «características» que crecen en chumberas, para comprobar su desarrollo en medios sintéticos y constatar, en su caso, su capacidad selectiva respecto de este sustrato en cultivos puros (tabla 2).

TABLA 2. Respuesta de crecimiento de cultivos en medios sintéticos de especies características de chumbera (*Badhamia gracilis*, *Physarum straminipes*, *Physarum compressum*) y otras de comparación (*Physarum nutans*, *Arcyria obvelata*, *Comatricha nigra*).

+ = completa ciclo vital; - = no completa ciclo vital.

Growth of *B. gracilis*, *P. straminipes* and *P. compressum* in pure culture, in comparison with *P. nutans*, *A. obvelata* and *C. nigra*.  
+ = life cycle complete; - = life cycle incomplete

MEDIOS	AGAR-MAÍZ (CM)	AGAR-MAÍZ DILUIDO (CM/2)	AGAR-ZANAHORIA	AGAR-CHUMBERA
ESPECIES				
<i>Badhamia gracilis</i>	+	-	-	+
<i>Physarum straminipes</i>	-	-	-	+
<i>Physarum compressum</i>	-	-	-	+
<i>Physarum nutans</i>	-	-	-	-
<i>Arcyria obvelata</i>	-	-	-	-
<i>Comatricha nigra</i>	-	-	-	-

Como especies de comparación, se seleccionaron otros tres táxones de entre los más frecuentes en el S.E. de España, que nunca han sido encontrados sobre *Opuntia ficus-indica*: *Comatricha nigra*, *Physarum nutans* y *Arcyria obvelata* (tabla 2).

Los resultados obtenidos, para cada una de las especies ensayadas, en los distintos medios de cultivo, fueron los siguientes:

#### **BADHAMIA GRACILIS**

—*Agar-chumbera*: Se ha completado el ciclo biológico en el 75% de las cajas Petri sembradas. El tiempo transcurrido hasta completar el ciclo oscila entre los 12 y 27 días.

El proceso comienza con la siembra de esporas. Se observan síntomas de germinación esporal a las 24 horas de haberse iniciado el cultivo. Las esporas se rasgan por una hendidura. Originan, en principio, protoplastos ameboides, que pronto se transforman en células flageladas. Estas, granulares y generalmente alargadas, sólo presentan un flagelo evidente. El segundo flagelo es muy corto, apenas perceptible con el microscopio óptico.

La población de células nadadoras aumenta considerablemente hasta el quinto día. A partir de este momento, se detectan plasmodios incipientes, desarrollados bajo la película superficial de agua, que aún perdura. Son masas protoplasmáticas sin forma definida, en las que ya se insinúan, de modo casi imperceptible, las corrientes protoplasmáticas.

Entre los días quinto y décimoquinto se desarrollan los plasmodios y se originan otros nuevos. Al cabo de este tiempo, se puede observar una media de 1-3 plasmodios grandes y vigorosos y 3-5 pequeños, por caja Petri.

Los plasmodios cambian de coloración a medida que maduran. Inicialmente son de color blanco-crema. Posteriormente pasan a color pardo-crema, de igual tonalidad al medio de cultivo. Los más pequeños pueden perdurar en su tamaño durante todo su desarrollo. Los mayores presentan la típica forma en abanico. Se ramifican, normalmente, adquiriendo varios frentes de avance. Se observan corrientes protoplasmáticas reversibles en todas las venas plasmodiales, si bien son más rápidas y evidentes en las próximas al frente de avance.

La velocidad de desplazamiento de los plasmodios sobre la superficie del medio de cultivo es muy variable. En algunos, sólo se observan ligeros cambios de posición durante días; mientras otros recorren la superficie, dejando tras de sí un evidente rastro de venas vacías.

En este movimiento, la fusión de plasmodios es factible.

En los medios inoculados con esporas procedentes de material antiguo, se presentan numerosas masas protoplasmáticas enquistadas.

A partir del décimo día, los plasmodios tienden a alejarse del punto de inoculación. Se dirigen hacia el margen, donde es menor el espesor del medio. Durante todo el tiempo transcurrido, los plasmodios mantienen su vigor. En este momento, se transplantaron algunos plasmodios a otras cajas con medio de cultivo fresco, para ser mantenidos el mayor tiempo posible en estado plasmodial. Los trasplantes mantienen las características de los plasmodios maduros, sin observarse alteraciones fisiológicas.

A partir del doceavo día de iniciado el cultivo, comienza la fase de fructificación. En principio es esporádica, posteriormente masiva. La frecuencia de formación de esporocarpos es notablemente superior durante el período de oscuridad.

Los plasmodios de mayor tamaño originan grupos de esporangios, especialmente a nivel del frente de avance. Los plasmodios menores dan lugar a uno o dos esporocarpos, que quedan dispersos por la superficie del medio.

Es de resaltar que los plasmodios transplantados inician, a la vez que los demás, el período de fructificación. El cambio a medios de cultivo nuevos no parece influir, en este caso, en el desarrollo del ciclo biológico. Los plasmodios transplantados debían estar ya predeterminados para fructificar.

Morfológicamente, todos los esporocarpos son similares a los recolectados directamente sobre chumbera. Sin embargo, se han observado, ocasionalmente, algunos esporocarpos con maduración defectuosa, cuyas esporas presentan tamaños y formas atípicos.

—*Agar-harina de maíz (CM)*: Se ha completado el ciclo biológico de *Badhamia gracilis* en el 50% de los casos.

El seguimiento del proceso de desarrollo, por microscopio invertido, se ha visto dificultado por la turbidez del propio medio.

El tiempo de formación, desarrollo y maduración de plasmodios y el de fructificación es similar al descrito en el caso anterior. Los esporocarpos originados son completamente normales. Sin embargo, los plasmodios formados presentan color amarillo-huevo, similar al del medio, y venas gruesas y patentes. Además, su velocidad de desplazamiento sobre la superficie del medio es mucho menor que la descrita en el anterior caso de agar-chumbera.

—*Agar-harina de maíz, diluido al 50% (CM/2)* y *Agar-zanahoria*: En ambos medios sólo se llegó a detectar indicios de germinación

de esporas en algunos casos, que, posteriormente, quedaban interrumpidos. La formación de plasmodios no tuvo lugar en ningún caso.

#### PHYSARUM COMPRESSUM

—*Agar-chumbera*: Se ha completado el ciclo biológico en el 40% de las cajas sembradas.

Hasta el cuarto día, después de iniciado el cultivo, no se detectan células nadadoras. Estas surgen de las esporas como formas ameboides, que adquieren flagelos en poco tiempo.

Al noveno día se observan plasmodios, que se desarrollan hasta alcanzar un tamaño considerable. Presentan la coloración típica del medio. El tiempo de flujo rítmico de las corrientes protoplasmática, detectado en las venas plasmodiales de mayor tamaño, oscila entre 45" y 1'20". El contenido plasmodial permanece detenido entre 4 y 20" antes de iniciar su desplazamiento en la dirección contraria.

La etapa de fructificación comienza a partir del veintavo día de iniciado el cultivo. Los esporocarpos formados presentan diferencias respecto de los recolectados en hábitat natural. Son estipitados y suelen estar impregnados en material calcáreo cristalino. Se han detectado numerosos esporocarpos con esporas defectuosamente formadas.

—*CM, CM2 y agar-zanahoria: Physarum compressum* no ha formado plasmodios en ninguna de las series sembradas con estos tres medios de cultivo ensayados.

#### PHYSARUM STRAMINIPES

—*Agar-chumbera*: Se ha completado el ciclo biológico en el 50% de los casos.

El desarrollo del proceso es similar al de *B. gracilis*. Las esporas germinan a partir del primer día. La población de células flageladas aumenta hasta el quinto día. A partir de este momento, comienzan a aparecer plasmodios, mientras el número de células nadadoras decrece hasta desaparecer. En esta especie, predomina la formación de plasmodios de pequeño tamaño.

La fase de fructificación se inicia a partir del quinceavo día. Los esporocarpos se presentan dispersos o formando pequeños grupos, sobre la superficie del medio. La mayoría maduran normalmente, aunque presentan un tamaño ligeramente menor al del típico de la especie. Por otra parte, suelen ser estipitados, lo que contrasta con los recolectados directamente sobre chumbera, que, casi siempre, son sésiles.

—*CM, CM2 y agar-zanahoria*: Esta especie

no ha llegado a formar plasmodios en ninguno de los medios de cultivo utilizados, excepto en el ya indicado, agar-chumbera.

#### ARCYRIA OBVELATA, COMATRICHA NIGRA Y PHYSARUM NUTANS

En ninguno de los medios de cultivo utilizados se ha completado el ciclo biológico de estas especies. Solamente, con *A. obvelata* se observaron, de forma esporádica, síntomas de germinación esporal.

#### DISCUSIÓN

##### ESPECIES QUE FRUCTIFICAN DE FORMA NATURAL SOBRE *OPUNTIA FICUS-INDICA*

Es de resaltar la notable afinidad que presentan las cinco especies «características» de chumbera, respecto de este sustrato y, en general, sobre otras plantas crasas.

MARTIN & ALEXOPOULOS (1969) señalan las preferencias ecológicas de *Badhamia gracilis*, por restos de *Yucca* sp.pl. y otras plantas cactiformes. BLACKWELL & GILBERTSON (1980), en su trabajo sobre Mixomicetos del desierto de Sonora, indican la presencia de numerosas fructificaciones de esta especie, en todos los lugares donde fueron examinados restos de cactáceas. FAUREL *et al.* (1965) la citan, del Norte de Africa, sobre *Opuntia ficus-indica*.

*Badhamia gracilis* no está citada del interior de España peninsular. Sin embargo, GRACIA (1979) recoge su presencia en las Islas Baleares y LADO & MORENO (1981) de Gran Canaria. En ambos casos, aparece registrada sobre chumberas. En la zona de estudio, se presenta eventualmente sobre *Agave americana*.

Tampoco se conocen datos sobre la presencia de *Perichaena minor* en el interior de España peninsular. Su registro se limita al litoral mediterráneo: Valencia (GRACIA, 1981), Ibiza (GRACIA, 1979), y Gerona (GRACIA, 1981). En esta última cita, está referida sobre restos de gramíneas. Sin embargo, en el S.E. peninsular ibérico siempre ha sido hallada sobre chumbera. Solamente ha sido detectado una vez, en cultivo de cámara húmeda, sobre restos de *Ziziphus lotus*.

*Didymium vaccinum* no ha sido hallado, hasta la fecha, en el interior peninsular. Ha sido registrado, en el S.E. de España, sobre cladodios de *Opuntia ficus-indica* y en Gran Canaria (LADO & MORENO, 1981), sobre el mismo tipo de sustrato. MARTIN & ALEXOPOULOS (1969)

indican, en el apartado referido a ecología de esta especie, que aparece sobre plantas «suculentas del desierto». FAUREL *et al.* (1965) la encuentran sobre plantas crasas (*Opuntia* sp. y *Euphorbia* sp.) en el Norte de África.

Las otras dos especies, consideradas como «características»: *Physarum compressum* y *P. straminipes*, están registradas de las provincias de Madrid y Segovia, respectivamente, sobre restos de chopo (LADO, 1984). En la zona de estudio, *P. straminipes* se ha hallado, exclusivamente, sobre *Opuntia ficus-indica*. GRACIA (1981) señala su presencia en Valencia, sobre el mismo sustrato. *P. compressum* se presenta, predominantemente, sobre chumberas y, ocasionalmente, sobre *Agave americana*. GRACIA (1979, 1981), lo encuentra sobre diversos sustratos, incluido *Opuntia ficus-indica*, en las islas de Formentera e Ibiza, y en las provincias de Tarragona y Gerona. FAUREL *et al.* (1965) indican su presencia sobre *Opuntia* sp. y *Agave* sp., lo que confirma la idea de su relación con plantas crasas, en zonas áridas o semiáridas.

Otros táxones citados sobre *Opuntia* sp., que no han sido encontrados en la zona de estudio, son: *Badhamia affinis*, *B. utricularis*, *Didymium melanospermum*, *Hemitrichia serpula*, *Physarum bivalve* y *Trichia lutescens* (FAUREL *et al.*, 1965) del Norte de África, y *Physarum lividum* (LADO & MORENO, 1981) de las Islas Canarias.

#### CULTIVOS EN CÁMARA HÚMEDA

Los esporocarpos de *Badhamia gracilis*, obtenidos por este tipo de cultivo, no difieren de los observados en su hábitat natural. Se suelen presentar grandes fructificaciones, que incluso se desarrollan fuera de los cladodios y que se extienden por el papel de filtro.

En las numerosas muestras de *Physarum straminipes*, obtenidas en cámara húmeda, los esporocarpos son siempre sésiles y, generalmente, algo comprimidos lateralmente. Esto es también frecuente en las recolecciones de campo. Este carácter, ausencia de estípites, es ya señalado para esta especie por BLACKWELL & GILBERTSON (1980), aunque estos autores indican que los ejemplares desarrollados en cámara húmeda suelen presentar un estípite corto y delgado. Los esporocarpos suelen desarrollarse directamente sobre los cladodios, en cultivo.

Las fructificaciones de *Perichaena minor*, obtenidas en cámara húmeda, presentan frecuentemente diferencias morfológicas respecto de las muestras de campo. Los esporocarpos encontrados en hábitat natural son sésiles y globosos. En

los desarrollados en cultivo, se observa una tendencia a formar fructificaciones plasmodiocárpicas, las cuales adquieren tonalidades pardo oscuro, que recuerdan, macroscópicamente, las fructificaciones de *Perichaena vermicularis*. Sin embargo, las características microscópicas, especialmente el capilicio ornamentado por una débil banda helicoidal, se corresponden con las propias de *Perichaena minor*. Hay que señalar que las fructificaciones desarrolladas directamente sobre el sustrato, en cámara húmeda, suelen ser esporangiadas. En cambio, las que maduran sobre el papel de filtro son predominantemente formas plasmodiocárpicas.

Por último, *Stemonitis virginiensis* ha desarrollado, una sola vez, esporocarpos morfológica y estructuralmente típicos, sobre cladodios de *Opuntia ficus-indica*, tras un proceso de cultivo en cámara húmeda. En hábitat natural, este taxon no había sido registrado anteriormente sobre este sustrato.

#### CULTIVOS EN MEDIOS SINTÉTICOS

GRAY & ALEXOPOULOS (1968) indican que *Badhamia gracilis* ha sido cultivada, por el último autor, en medios con agar. Añaden que los datos no han sido publicados. BLACKWELL & GILBERTSON (1980) señalan haber cultivado el taxon, sin especificar el medio empleado. Se limitan a decir que *B. gracilis* ha sido cultivado en «agar cultured media».

Las pruebas realizadas con material del S.E. ibérico, muestran la buena adaptación que presenta esta especie al cultivo «*in vitro*», principalmente en medio agar-chumbera. En él, todas las fases del ciclo biológico se suceden con normalidad. En dos de los otros medios empleados sólo se han detectado procesos de germinación esporal, sin llegar a desarrollar la fase plasmodial. En cambio, en el medio CM se han obtenido fructificaciones. Los plasmodios formados en este medio presentan coloración diferente a la de aquellos desarrollados en agar-chumbera. Además, su velocidad de desplazamiento sobre CM es inferior a la observada sobre agar-chumbera. Esto puede atribuirse a que el medio agar-harina de maíz es muy rico, y los plasmodios no tienen necesidad de realizar grandes desplazamientos en busca de alimentos.

El alto porcentaje de fructificaciones de *B. gracilis* obtenidas en cultivo agar-chumbera, es indicativo de las preferencias de esta especie por dicho sustrato. Sus requerimientos nutricionales parecen estar íntimamente ligados a las

chumberas y, en general, a plantas crasas. Esto queda refrendado por el hecho de que dicho taxon casi siempre ha sido referido sobre este tipo de plantas, en zonas semiáridas.

Su dependencia por las plantas crasas puede tener relación con la particular microflora, causante de la progresiva descomposición de estos sustratos, y/o por una preferencia de los elementos abióticos existentes en tales plantas. Esta última observación estaría apoyada por los resultados obtenidos. En iguales condiciones, *B. gracilis* se ha desarrollado sobre el medio agar-chumbera con pocas dificultades, lo que no ha ocurrido en los demás medios de cultivo.

*Physarum compressum* fue cultivado *in vitro* por primera vez por GRAY (1938). Posteriormente, INDIRA (1969) indica su cultivo en los medios agar-avena (3-3'5%) y agar-zanahoria (3-4%). En ambos medios se desarrollan plasmodios, pero sólo en el segundo llega a fructificar (INDIRA, 1969).

Sin embargo, en los ensayos realizados con material de esta especie del S.E. español solamente se ha completado el ciclo vital de *P. compressum* en agar-chumbera. Las fases del ciclo se suceden normalmente. El 40% de las muestras han originado fructificaciones.

Los esporocarpos formados son notablemente diferentes de los recolectados en el medio natural. Suelen ser estipitados y presentan, frecuentemente, material calcáreo cristalino. Ambos caracteres son inusuales en las muestras recogidas sobre chumbera, en la zona de estudio. Sin embargo, GRACIA (1979) señala la formación de esporocarpos estipitados sobre chumbera en épocas estivales, con temperaturas altas y escasez de alimento. La cristalización del material calcáreo puede ser debida, quizás, a su parcial disolución por el rocío y recristalización por el calor y a la presencia de oxalato cálcico en los cladodios. No obstante, la presencia de material calcáreo cristalino es un hecho insólito para un fisaráceo.

Por otro lado, las esporas de *Physarum compressum*, obtenidas mediante cultivo *in vitro*, maduran anormalmente, lo cual es indicativo de alteraciones metabólicas, posiblemente producidas por algunos condicionantes fisiológicos o requerimientos nutricionales no disponibles en cultivo puro. Estas alteraciones en los esporocarpos verifican la alta variabilidad morfológica de muchas especies de Mixomicetos dependiendo del ambiente y el sustrato donde se desarrollan.

*Physarum straminipes* había sido cultivado, anteriormente, por BLACKWELL & GILBERTON (1980) en medio no señalado. Se ha comprobado la buena adaptación de esta especie, en medio agar-chumbera. Se han obtenido

fructificaciones en el 50% de los cultivos sembrados. Los esporocarpos maduran normalmente, si bien son de tamaño ligeramente menor y, frecuentemente, presentan estípites, a diferencia de los que fructifican directamente, en el campo, sobre cladodios de *Opuntia ficus-indica*, que suelen ser sésiles. Este carácter puede atribuirse, sencillamente, a la variabilidad morfológica de la propia especie.

Finalmente, según la bibliografía consultada, no se dispone de datos referentes al comportamiento en cultivo puro de *Arcyria obvelata*, *Comatricha nigra* y *Physarum nutans*. Se ha ensayado el cultivo de estas tres especies en los cuatro medios utilizados. En todos los casos, el resultado ha sido negativo, sin llegar a observar formación de plasmodios.

## CONCLUSIONES

Los cladodios en descomposición de *Opuntia ficus-indica* son un sustrato peculiar para el S.E. de España peninsular, altamente selectivo respecto de su mixomicetoflora. Sólo se han detectado esporocarpos correspondientes a 15 especies, de las cuales, *Stemonitis virginensis*, únicamente apareció en cultivos en cámara húmeda. En estas condiciones, se obtuvieron fructificaciones, además, de: *Badhamia gracilis*, *Physarum straminipes* y *Perichaena minor*. Los esporocarpos de *Perichaena minor*, presentan gran variabilidad; tienden a formar fructificaciones plasmodiocárpicas.

Por otro lado, con el objeto de tipificar biológicamente algunas de las especies consideradas como características de chumberas, se realizaron cultivos en medios sintéticos. Se eligieron, además, a modo de ensayo comparativo, otras tres especies, ampliamente distribuidas en la zona de estudio, que no han fructificado sobre este sustrato. Fueron utilizados tres medios estandarizados (CM, CM/2 y agar-zanahoria) normalmente usados para cultivos de hongos. Se puso a prueba un nuevo medio: agar-chumbera. Los resultados obtenidos son altamente indicativos.

*Badhamia gracilis* denota una elevada preferencia por este medio, donde completa el ciclo en el 75% de las pruebas realizadas. En CM fructifica en el 50% de los casos; en tanto que en los otros medios ensayados no llega a formar plasmodios. *Physarum compressum* y *P. straminipes* sólo fructifican en medio agar-chumbera, en el 40% y 50% respectivamente de las pruebas realizadas. Los esporocarpos de *P. compressum* son frecuentemente distintos a los recolectados directamente sobre cladodios de *O. ficus-indica*, en el campo. Esto puede atribuirse a la variabilidad

morfológica de la especie, que depende de las condiciones ecológicas de donde se desarrolle. Los esporocarpos de *P. straminipes* son morfológicamente normales.

Las especies seleccionadas como patrón de comparación no han registrado, en ningún caso, síntomas de formación de plasmodio.

Por tanto, se pone de manifiesto, el alto nivel selectivo de los cladodios de *Opuntia ficus-indica* y, en general, de las plantas crasas respecto del tipo de mixomicetoflora que sobre ellas pueden desarrollarse. Asimismo, se aprecia una notable preferencia de las especies que, normalmente fructifican sobre *Opuntia ficus-indica*, en el S.E. ibérico, con respecto al medio de cultivo agar-chumbera, frente a los otros tres medios ensayados.

#### AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento al Dr. C. Lado (Alcalá de Henares) por los datos proporcionados respecto de la presencia de *Stemonitis pallida*, sobre chumberas, en la provincia de Almería. Al Dr. F. Torrella y a P. P. Moreno y E. Ciller (Murcia) por la ayuda prestada en la puesta a punto de los cultivos *in vitro*.

#### BIBLIOGRAFÍA

- BLACKWELL, M. & GILBERTSON, R. L. 1980. Sonoran desert Myxomycetes. *Mycotaxon*, 11(1): 139-149.
- FAUREL, L.; FELDMANN, J. & SCHOTTER, G. 1965. Catalogue des Myxomycètes de l'Afrique du Nord. *Bull. Soc. Hist. Nat. de l'Afrique du Nord*, 55: 7-39.
- GILBERT, H. C. & MARTIN, G. W. 1933. Myxomycetes found on the bark of living trees. *Stud. Nat. Hist. Iowa Univ.* 15(3): 3-8.
- GRACIA, E. 1979. Contribució al coneixement de la flora i distribució dels mixomicets a la mediterrània occidental, I: Eivissa i Formentera (pitiuses): *Fol. Bot. Misc.*, 1: 37-44.
- 1981. *Estudio sobre la Flora, Fitosociología, Ecología y Corología de los Mixomicetos de España*. Tesis Doctoral Inédita. Fac. Biología, Univ. Central Barcelona.
- 1983. Mixomicetes nuevos o interesantes para la flora ibérica y balear. III. *Collectanea Botanica*, 14: 281-284. Barcelona.
- GRACIA, E. & LLIMONA, X. 1980. Contribució al conocimiento de la flora y distribución de los mixomicetes en el Mediterráneo occidental. III. Sureste de España: Murcia. *Anales Univ. Murcia, Ciencias*, 34 (1-2-3-4): 3-21.
- GRACIA, E.; HONRUBIA, M. & LADO, C. 1982. Mixomicets nous o interessants per a la flora ibérica i balear. *Fol. Bot. Misc.*, 3: 95-99.
- GRACIA, E.; HONRUBIA, M. & LLIMONA, X. 1981. Aportación al conocimiento de los hongos del S.E. de España II. Mixomicetes de la provincia de Albacete. *Anales de la Universidad de Murcia, Ciencias*, 37 (1-4).
- 1983. Mixomicetes nuevos o interesantes para la flora Ibérica y Balear. II. *Collect. Botanica*, 14: 275-279. Barcelona.
- GRAY, W. D. & ALEXOPOULOS, C. J. 1968. *Biology of the Myxomycetes*. The Ronald Press Company, New York. 288 pp.
- HONRUBIA, M.; GRACIA, E. & LLIMONA, X. 1984. Aportación al conocimiento de los hongos del S.E. de España. III. Mixomicetes de Murcia. *Anales de Biología*, 1 (Sec. Esp. 1): 25-34. Murcia.
- INDIRA, P. U. 1969. In vitro cultivation of some myxomycetes. *Nova Hedwigia*, 18: 627-636.
- KELLER, H. W. & BROOKS, T. E. 1977. Corticolous myxomycetes. VII: Contribution toward a monograph of *Licea*, five new species. *Mycologia*, 69(4): 667-684.
- LADO, C. & MORENO, G. 1981. Estudios sobre Myxomycetes. V. Notas sobre Gran Canaria. Islas Canarias. *Botanica Macaronésica*, 8, 9: 59-69.
- LADO, C. 1984. *Estudio taxonómico, florístico y corológico de la clase Myxomycetes en las provincias de Avila, Madrid y Segovia (España peninsular)*. Tesis Doctoral Inédita. Univ. Alcalá de Henares.
- LÓPEZ-SÁNCHEZ, E.; HONRUBIA, M.; GRACIA, E. & GEA, F. J. 1986. Notas sobre los Mixomicetos del S.E. de España. *Bol. Soc. Micol.* Madrid 11(1): 11-19.
- MARTIN, G. W. & ALEXOPOULOS, C. J. 1969. *The Myxomycetes*. University of Iowa Press. 479 pp. 61 pl.
- MITCHELL, D. W. 1977. The bark Myxomycetes. Their collection, culture and identification. *School. Sci. Rev.* 58: 81-90.
- WHITNEY, K. D. 1980. The Myxomycete genus *Echinostelium*. *Mycologia*, 72: 950-987.