

# Aportación al conocimiento de los hongos del S.E. de España. IV. Tres citas nuevas para la microflora española:

*Pustularia insignis*, *Tuber borchii*, *Leucogaster* cf. *floccosus*. (\*\*)

POR

M. HONRUBIA (\*) y X. LLIMONA (\*)

## RESUMEN

Dentro de los resultados de nuestro programa de estudio de los hongos del SE español, presentamos en esta nota tres citas nuevas para el catálogo micológico español: dos ascomicetes, *Pustularia insignis* Berthet & Rioussset (Pecizales) y *Tuber borchii* Vittadini (Tuberales), y un basidiomicete, género nuevo para España, *Leucogaster* cf. *floccosus* Hesse (Melanogasterales). Realizamos estudio macro y microscópico de las tres especies. Se incluyen dibujos y fotografías, así como un mapa en el que se indican las localidades donde se han encontrado cada una de las tres especies.

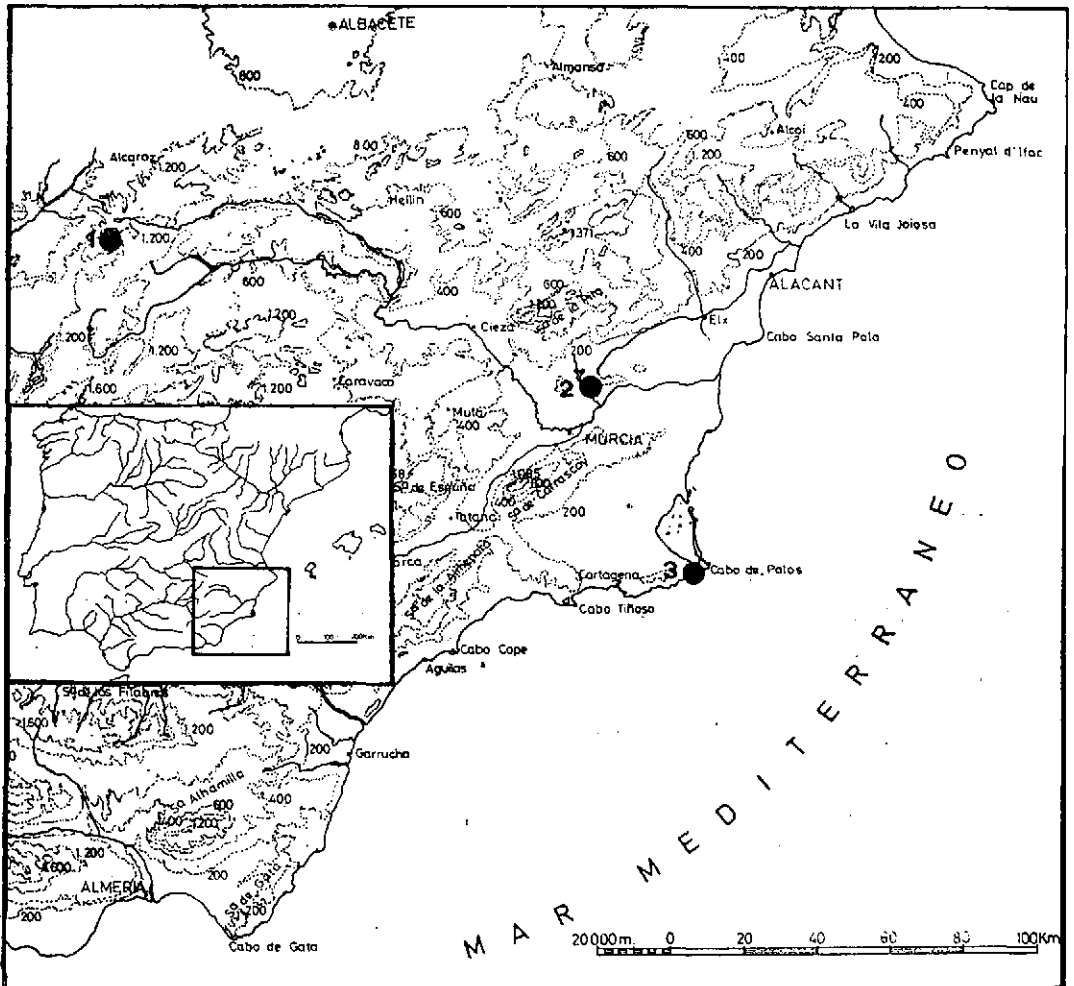
## SUMMARY

We report the finding in SE Spain of three species new to Spain, two ascomycetes: *Pustularia insignis* Berthet & Rioussset (Pecizales) and *Tuber borchii* Vittadini (Tuberales) and a basidiomycete: *Leucogaster* cf. *floccosus* Hesse (Melanogasterales). Detailed macro- and microscopic original description of the three taxa, with drawings and light and scanning micrographs are given.

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

(\*\*) Este trabajo fue presentado en el III Congreso de OPTIMA que se celebró en Madrid en septiembre de 1980.

El material estudiado se encuentra incluido en el herbario MHG, de la Universidad de Murcia, con los números de registro que se indican.



#### LOCALIDADES DE RECOLECCION DE LAS ESPECIES CITADAS:

- 1.—Srra. del Calar del Mundo, Cañada de los Mojones (Albacete). WH 4855. 1250 msm. Pinar aclarado de *P. nigra* ssp. *salzmannii* y *P. pinaster*, en el área potencial del *Paeonio-Quercetum rotundifoliae* Riv. Martnz. 1964.—*Pustularia insignis*.
- 2.—Santomera, el campo de la Matanza, (Murcia). XH 6918. *Pinus halepensis*, en el área potencial del *Chamaeropo-Rhamnetum lycioidis* O. Bolòs 1957.—*Tuber borchii*.
- 3.—Cala Reona, cerca de Cabo de Palos (Murcia). YG 0166. Suelo nitrificado en el área potencial del *Chamaeropo-Rhamnetum lycioidis* O. Bolòs 1957.—*Leucogaster* cf. *floccosus*.



*PUSTULARIA INSIGNIS* P. Berthet et L. Rioussset

Sierra del Calar del Mundo, Cañada de los Mojones (Albacete), WH 4855, 1250 msm, ver 1 en mapa de distribución. Leg.-M. Honrubia, 28/V/78, MHG 236, véanse figs. 2, 3, 4 y 5.

Se trata de una rara especie que sólo ha sido citada en la bibliografía, por sus autores, de Vaucluse (Provenza, Francia). Nuestra recolección, por lo tanto, amplía el área de distribución, manteniendo su carácter mediterráneo. Es la segunda cita hasta la fecha.

*Caracteres macroscópicos*

Ejemplar aislado, de 3,5 cm de diámetro, acopado, no pedicelado, ondulado-lobulado, con el margen involuto y algo estrellado-dentado.

Superficie externa granulosa, cubierta de pequeñas pustulitas que le dan aspecto farinoso. Granulaciones dispuestas homogéneamente; más o menos cónico-piramidales, apretadas. En esta zona la coloración es blanquecina, cremoso-amarillenta (Methuen Handbook of Colour 4A3; 4A4).

Himenio de color algo más claro (1A2, 2A2, 2A3).

Carne delgada.

Olor intenso de hongo.

*Caracteres microscópicos*

Carne constituida por una capa externa de células irregularmente globulosas, groseramente rectangulares (como indican Berthet y Rioussset, 1963), de hasta  $45 \times 27 \mu\text{m}$ , y por una capa interna, más gruesa, de hifas alargadas, fuertemente intrincadas, de diámetro muy variable en una misma hifa, llegando hasta  $11 \mu\text{m}$ . Puede distinguirse aún una capa subhimenal, la más delgada, formada por células entrelazadas. (En conjunto, caracteres bien conformes con la descripción del tipo.)

Paráfisis delgadas, débilmente ensanchadas a nivel de los septos; multiseptadas, ramificadas, anastomosadas a veces, hialinas, de pared delgada, finamente capitadas; midiendo en el ápice (3)-4-4,5-5  $\mu\text{m}$  de diámetro; de longitud parecida a la de los ascos o algo mayor.

Ascos octosporados, II-, estrechamente cilíndricos, fuertemente atenuados hacia el pie, operculados, con opérculo bien desarrollado. Dimensiones:  $350-380 \times 15,5-19,5 \mu\text{m}$ .

Esporas uniseriadas, elípticas, lisas, con dos gruesas gúttulas, a veces sólo una, que ocupan gran parte del citoplasma. Dimensiones: (19,5)-22,6-25,5-27,3  $\times$  10-15,6  $\mu\text{m}$ .

### Hábitat

Nosotros la hemos encontrado en el sotobosque de pinar aclarado de *P. nigra* ssp. *salzmannii* y *P. pinaster* en el mes de mayo, en el área potencial del *Paeonio-Quercetum rotundifoliae* Riv. Martnz. 1964.

### Observaciones

Nuestro ejemplar presenta algunas diferencias con la descripción del holotipo dada por sus autores. En efecto, el nuestro es de menor tamaño, aunque corresponde a un ejemplar adulto, ya que es la presencia de estipe lo que caracteriza a los ejemplares jóvenes y el nuestro carece de este carácter.

Respecto de las pustulitas de la superficie externa, no hemos apreciado diferencia alguna en su tamaño. Son coincidentes con las dadas para el margen del holotipo (menores de 0,5 mm y apretadas, a diferencia de las próximas al pie, que son mayores y más separadas).

Respecto de los caracteres microscópicos, sólo el tamaño de los ascos, de menor longitud los de nuestro material y el diámetro de las paráfisis, de mayor grosor en el ápice, difieren de la descripción original.

Una diferencia se encuentra en el hábitat. Nosotros la encontramos bajo *P. pinaster*, lo cual parece hacer pensar que esta rara especie puede estar asociada con pináceas, dado que P. Berthet y L. Rioussset la encuentran bajo cedros. Pero el factor que condiciona el desarrollo de sus ascocarpos es la coincidencia de unas condiciones atmosféricas óptimas de humedad y temperatura, ya que nosotros la hemos buscado en los dos años siguientes, en el mismo lugar, con resultados negativos. Esta apreciación coincide con la comunicación personal que nos hizo Malençon, refiriéndose a que, sobre todo en hongos con influencia mediterránea, es frecuente encontrar una floración abundante en un determinado año y, por no repetirse anualmente las condiciones atmosféricas, pueden transcurrir varios años hasta que se vuelva a presentar una floración parecida.

Finalmente, el carácter definitivo que nos conduce a referir nuestro ejemplar a *Pustularia insignis* es la reacción positiva de los núcleos frente al carmín acético. Esta prueba fue personalmente realizada por M. Berthet, quien nos confirmó que se trataba de la especie por él descrita, aclarándonos que solamente el género *Pustularia*, dentro de los Discomicetes, presenta una coloración intensa de sus núcleos frente a este reactivo, incluso en material seco como el nuestro. En otros Discomicetes, sobre todo *Sepultaria sumneriana* (Cooke) Massée, los

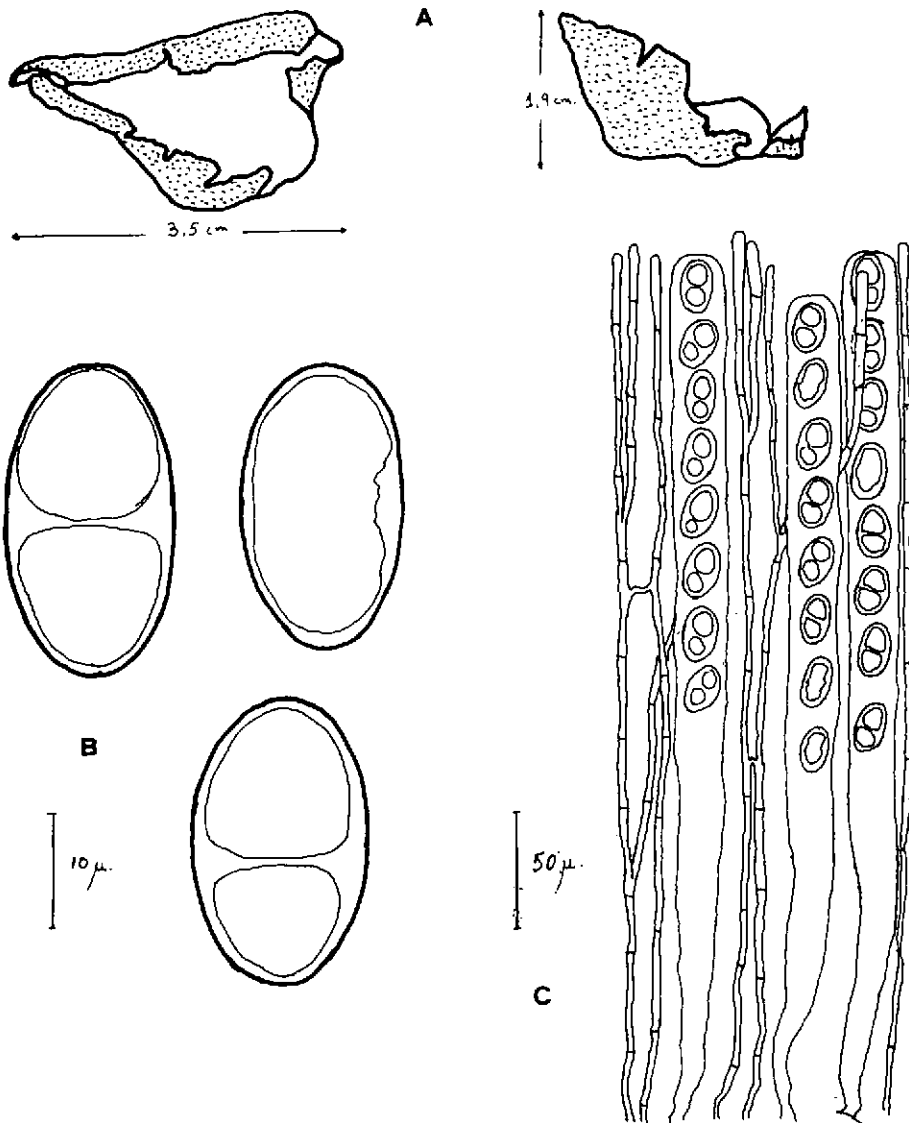


Fig. 2.—*Pustularia insignis* Berthet et Rioussel. A: apotecios, mostrando pustulitas en la superficie externa. B: ascosporas con gruesas gútulas internas. C: ascos octosporados y paráfisis (a veces anastomosadas).

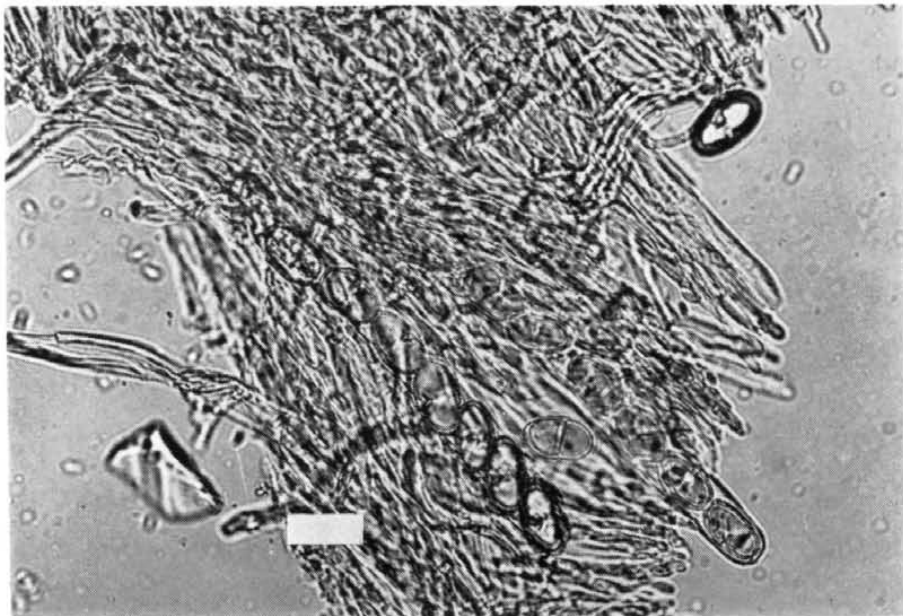


Fig. 3.—*Pustularia insignis* Berthet et Rioussset MHG 236: ascos, esporas y paráfisis.  
El trazo corresponde a 25  $\mu$ m.

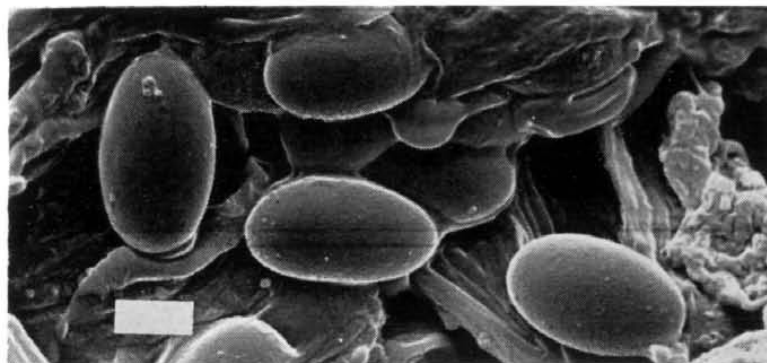
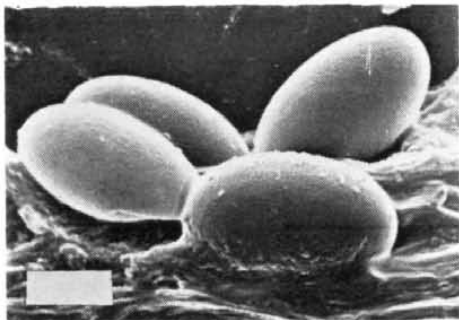


Fig. 4.—*Pustularia insignis* Berthet et Rioussset MHG 236: Ascosporas vistas al microscopio de barrido. El trazo corresponde a 10  $\mu$ m.

Fig. 5.—*Pustularia insignis* Berthet et Rioussset ex P.B. 345: ( ) Ascosporas vistas al microscopio de barrido. El trazo corresponde a 10  $\mu$ m.

núcleos reaccionan también con el carmín acético, pero siempre mucho más débilmente (Berthet et Rioussset, 1963).

Hemos podido comparar nuestro material con un topotipo, amablemente suministrado por P. Berthet (ex P. B. 345). Es conforme con el nuestro. Al microscopio de barrido, las esporas son sensiblemente iguales (véanse figs. 4 y 5).

### *TUBER BORCHII* Vittadini

Santomera, el campo de la Matanza (Murcia), XH 6918; ver 2 en mapa de distribución. Leg.-T. Lozano, 20/IV/80, MHG 3187, véanse figuras 6, 7 y 8.

Esta trufa blanquecina es, muy verosímilmente, nueva para España, pues en la bibliografía de que disponemos no hemos encontrado ninguna cita para el catálogo micológico español, sobre todo después de Calonge, de la Torre y Lawrynowicz, 1977, que hacen una excelente puesta al día de los hongos hipogeos españoles.

#### *Caracteres macroscópicos*

Cuerpo fructífero de talla media,  $4,5 \times 3$  cm, elipsoide, tuberculado, no regular, abollado, de consistencia dura, desprovisto de base excavada. Superficie glabra, no tomentosa, de color blanquecino sucio, algo cremoso, con reflejos rosados. Sabor poco apreciable, no a pimienta. Carne no amarga. Olor poco apreciable, pero no desagradable, no asimilable a los de ajo, queso, aceite rancio ni rábano.

Peridio liso, adnato, blanquecino, glabro, que no enrojece al frotarlo. Gleba blanca, amarilleando o pardeando débilmente por zonas, sobre todo hacia el centro, compacta. Venación poco apreciable. Venas poco patentes, por tratarse de material no del todo maduro.

#### *Caracteres microscópicos*

El peridio está formado por hifas alargadas y apretadas, tabicadas, hialinas, formando un pseudoparénquima. Estas hifas, de 5-8  $\mu\text{m}$  de diámetro, se estrechan hacia sus ápices y es frecuente encontrarlas incrustadas, en especial las más periféricas.

La gleba está formada por hifas alargadas, más laxamente dispuestas que en el peridio, de pared delgada, tabicadas, de 5-8  $\mu\text{m}$  de diámetro.



Ascos dispuestos desordenadamente en himenio irregular, subglobosos o brevemente piriformes, de  $80-100 \times 70-80 \mu\text{m}$ , cortamente pedicelados, rodeados por paráfisis delgadas, ramificadas y septadas.

Esporas elíptico-globulosas, fuertemente ornamentadas en la madurez por un grueso retículo. Distintamente alveoladas, 5-8 alvéolos por longitud de espora, normalmente 5-6-7, llegando muy raramente a tener 9 alvéolos. Alvéolos penta o hexagonales de  $3,5-4,5 \mu\text{m}$  de alto por  $5,5-7 \mu\text{m}$  de ancho. Normalmente, una o dos esporas por asco, raramente tres. Hialinas al principio, luego amarillentas o algo parduzcas, de  $35-40-43-(47) \times 30-35-40 \mu\text{m}$ , incluido el retículo.

### Hábitat

Bajo *Pinus halepensis*, en suelo calizo no pedregoso, en el área potencial del *Chamaeropo-Rhamnetum lycioidis* O. Bolós 1957.

### Observaciones

La presencia de una gleba blanca con venas poco patentes corresponde a ejemplares inmaduros. Efectivamente, en nuestro caso, las venas aeríferas, blancas, que parecen nacer del peridio, no están paralelamente rodeadas de himenio maduro. Es decir, las venas oscuras que se forman en las trufas cuando el himenio está maduro no se han formado en nuestro material.

En principio, este ejemplar no parecía obedecer al carácter macroscópico de las verdaderas trufas, simulando una gleba homogéneamente dispuesta. Sólo bajo la lupa binocular y dejando madurar el material en cámara húmeda pudimos apreciar la aparición paulatina de esas líneas más oscuras que representan el tejido de sostén del himenio (cf. Malençon, 1938).

Finalmente, los caracteres microscópicos, principalmente la reticulación esporal, nos conduce al grupo de *Tuber borchii* Vitt. Grupo especialmente difícil cuando se trata de material inmaduro. En este grupo tenemos: *T. scruposum* Hesse, cuya coloración del peridio (amarillo azufre o amarillo limón) lo hace fácilmente reconocible. Sin embargo, *T. dryophilum* Tulasne y *T. borchii* Vittadini, cuando se trata de material joven, son de difícil separación. En estado adulto, *T. borchii* presenta un peridio finalmente rojo (jamás amarillo), mientras que en *T. dryophilum* el peridio queda amarillento. Ambas especies se diferencian, macroscópicamente, siendo jóvenes, por la forma de los carpóforos, irregulares en *T. borchii*, regulares-globulosos en *T. dryophilum*. Microscópicamente, se separan por la reticulación esporal, número de alvéolos



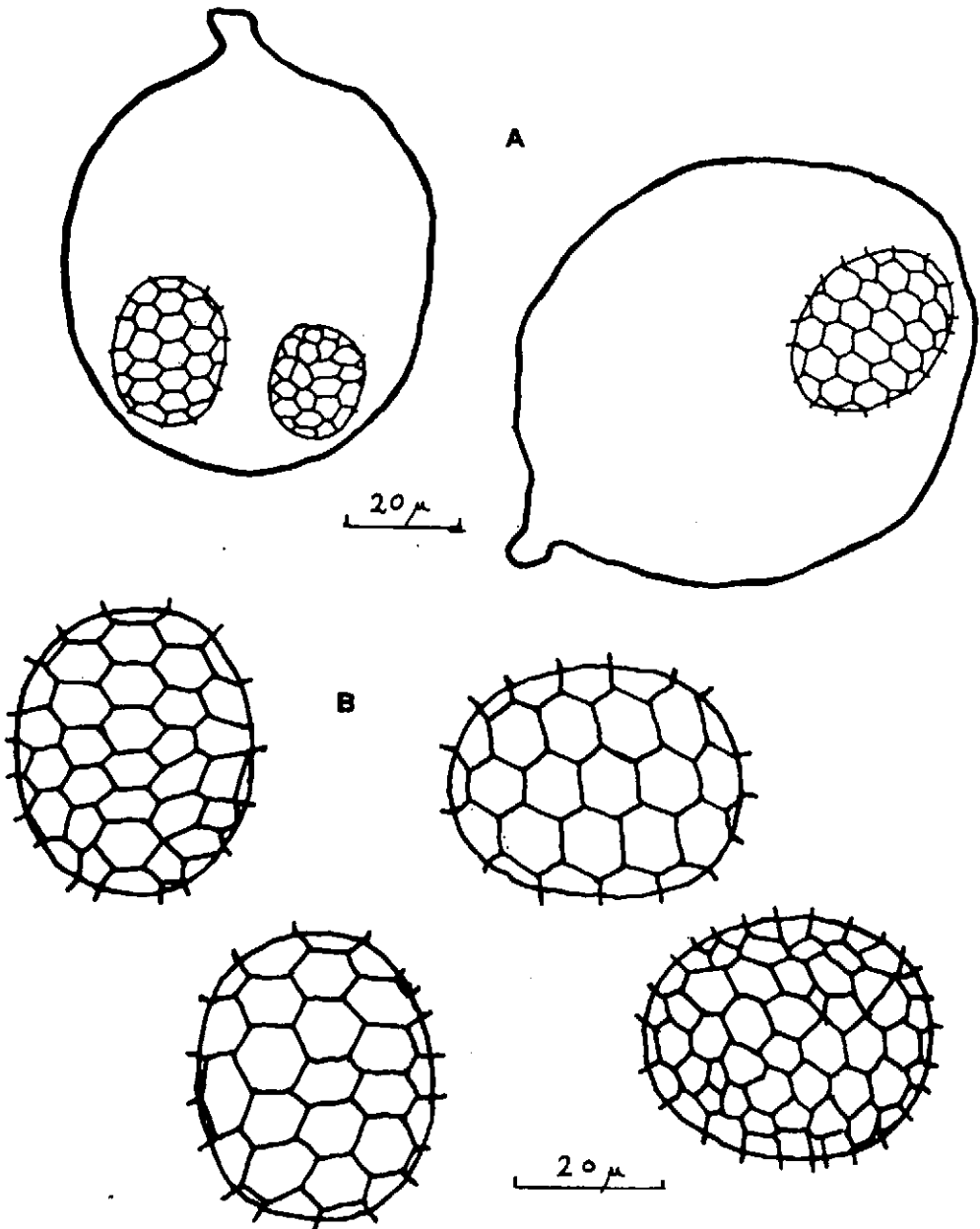


Fig. 6.—*Tuber borchii* Vittadini. A: ascos globulosos con una o dos ascosporas. B: ascosporas reticuladas (5-8 alvéolos por longitud esporal).

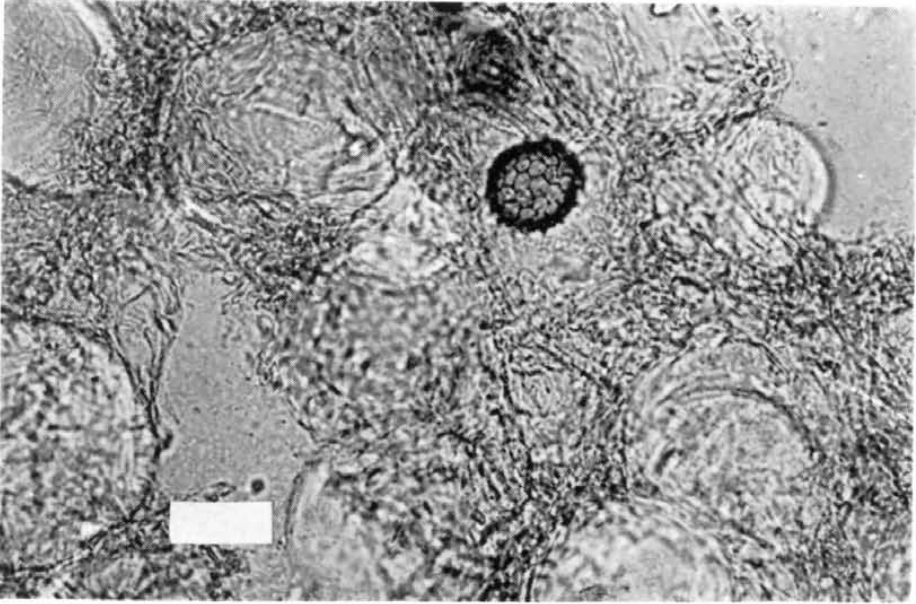


Fig. 7.—*Tuber borchii* Vittadini MHG 3187: ascos globulosos y ascospora reticulada, entre paráfisis e hifas de la gleba. El trazo corresponde a 40  $\mu$  m.

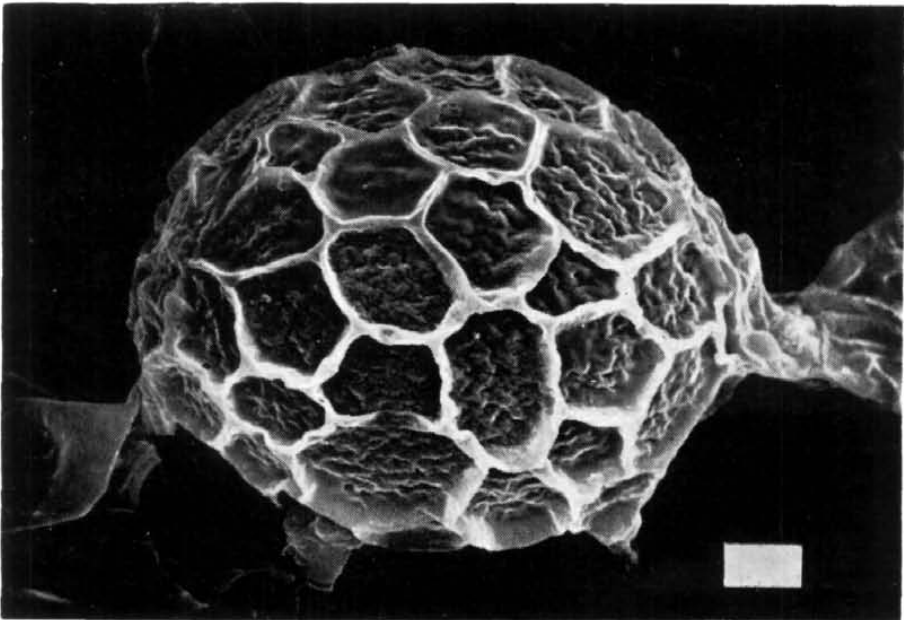


Fig. 8.—*Tuber borchii* Vittadini MHG 3187: Detalle de la reticulación de una ascospora. El trazo corresponde a 5  $\mu$  m.

por longitud de espora y grosor del retículo. Los alvéolos de *T. dryophilum* son gruesos y nunca sobrepasan los 4-6 por la longitud esporal. En *T. borchii* los alvéolos son menores, menos gruesos y llegan a ser de 8-10 por la longitud esporal.

Nuestro material presenta las más veces 5-6-7 alvéolos, siendo fácil que alcance 8 (a veces 9, pero nunca 4 o menos de 4 como es propio de *T. dryophilum*); además, presenta cuerpo fructífero de forma irregular, por lo cual, aún sin haber podido comprobar la coloración final del peridio, nos inclinamos a pensar que nuestro ejemplar corresponde a *T. borchii* Vittadini (no *T. borchii* Corda que es precisamente *T. dryophilum*, según nos aclaró M. G. Malençon *in litt.*, al confirmarnos nuestra determinación).

#### *LEUCOGASTER* cf. *FLOCCOSUS* Hesse

Cala Reona, cerca de Cabo de Palos (Murcia), YG 0166; ver 3 en mapa de distribución. Leg.-T. Lozano, 3/XI/79; MHG 2559. Véanse figuras 9, 10, 11.

Este género nunca ha sido citado de España. Se caracteriza principalmente por la persistencia del color blanquecino de la gleba, siempre pálido coloreada; el carposoma globoso o irregularmente tuberoso, blanquecino-amarillento; el peridio tenue, frágil, pseudoprosenquimatoso o pseudoparenquimatoso; basidios ovoide-claviformes, tetrasporados y esporas globulosas o débilmente elipsoides, hialinas, de pared gruesa.

#### *Caracteres macroscópicos*

Basidiomicete hipogeo con cuerpo fructífero aislado, más o menos globuloso, blanquecino hasta amarillento-cremoso (Methuen Handbook of Colour, 3A3, 4A3), de 2,5 cm de diámetro. Peridio liso o finamente piloso, sin llegar a tomentoso, delgado, no separable de la gleba. Gleba blanca.

#### *Caracteres microscópicos*

Peridio formado por hifas alargadas de pared delgada, tabicadas, apretadamente dispuestas, raramente anastomosadas, de 4-5  $\mu\text{m}$  de diámetro.

Basidios largamente estipitados, ápice fuertemente clavado-capitado, tetrasporados, de 12-15  $\mu\text{m}$  de diámetro.

Esporas hemisférico-globulosas hasta algo elipsoides, lisas, de pared gruesa, hialinas, con una gruesa gútula central, apiculadas (de 2-4  $\mu\text{m}$  de longitud el apículo), de (8)-10-12,5  $\mu\text{m}$  de diámetro.

### Hábitat

Suelo algo nitrificado entre *Dittrichia viscosa* (= *Inula v.*) en el área potencial del *Chamaeropo-Rhamnetum lycioidis* O. Bolós 1957.

### Observaciones

Se trata de material todavía joven, con gleba y peridio aún blancos y esporas no completamente maduras. El hecho de que las esporas sean lisas nos lleva a pensar que se trata de *Leucogaster floccosus* Hesse (R. Hesse, *Die Hypogaeen Deutschlands*, t. I, p. 68, tab. III, fig. 8-13, 1890). Por su parte, Szemere László no admite más que *Leucogaster nudus* (Haszl.) Hollós, al cual añade como «formas» todas las otras especies, tales como: *L. badius* Matt., *L. citrinus* Harkn., *L. floccosus* Hess., *L. liospermus* Tul., etc. (Szemere László, *Die unterirdischen Pilze des Karpatenbeckens*, pp. 204-206, Budapest, 1965), según nos aclara M. G. Malençon en comunicación epistolar al determinarnos nuestro material.

Caracteres como el hábitat nos acercan todavía más a esta denominación, dado que A. Pilát lo cita para Alemania, Suiza, Checoslovaquia, en regiones térmicas, lo cual concuerda con nuestra región. Otros caracteres como el olor, ingrato para Pilát, aliáceo para Saccardo, no hemos podido confirmarlos.

Por nuestra parte, intentaremos recolectar nuevamente material de esta especie para poder aclarar nuestras sospechas de que se trata efectivamente de *Leucogaster floccosus* Hesse.

Por último, el microscopio electrónico nos revela el principio de la deposición de gránulos perispóricos en una espora no del todo madura (véase fig. 11). Esto explica que A. Pilát señale, para esta especie, esporas maduras reticuladas.

### AGRADECIMIENTOS

En primer lugar queremos expresar nuestro agradecimiento al Servicio Científico de la Embajada de Francia en España por la concesión de una beca-estancia a uno de nosotros (M. H.) para trabajar en los laboratorios de Micología de la Universidad de Lyon.

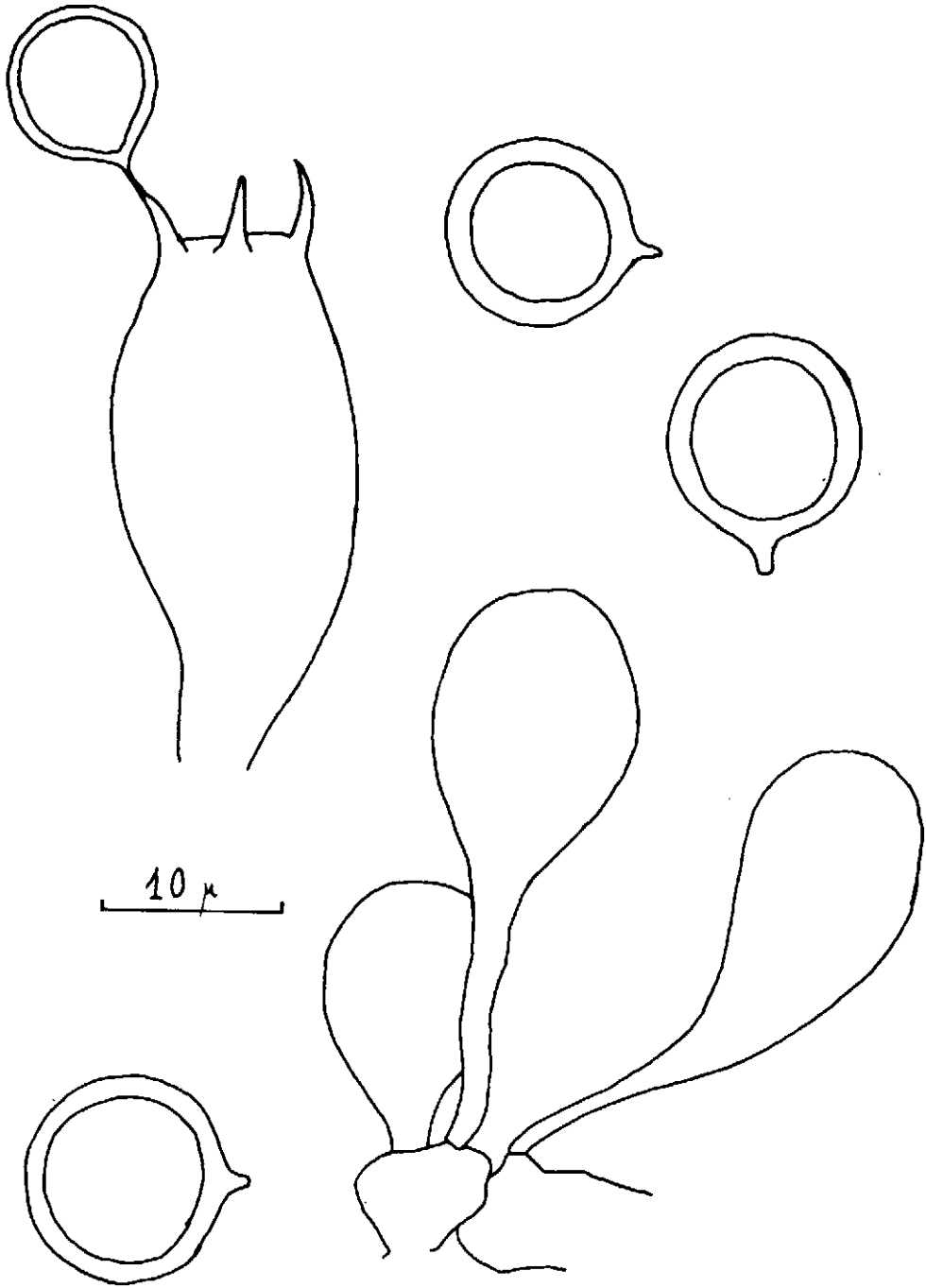


Fig. 9.—*Leucogaster* cf. *floccosus* Hesse. Basidio con basidiospora, basidios inmaduros y basidiósporas con apículo y gruesa gútula interna.

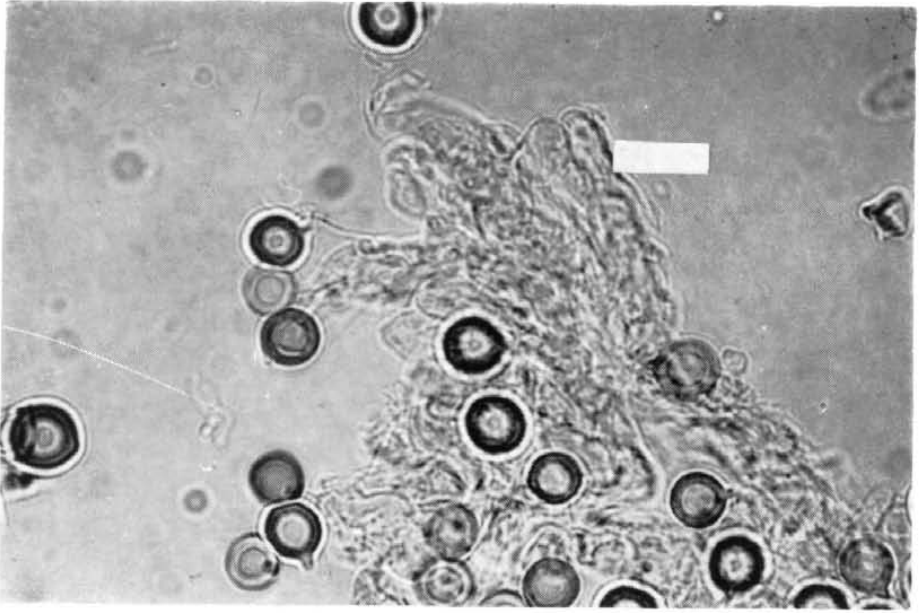


Fig. 10.—*Leucogaster cf. floccosus* Hesse. MHG 2559: basidio con basidiosporas y basidiosporas libres, gútula interna, pared gruesa y apículo. El trazo corresponde a 20  $\mu$ m.

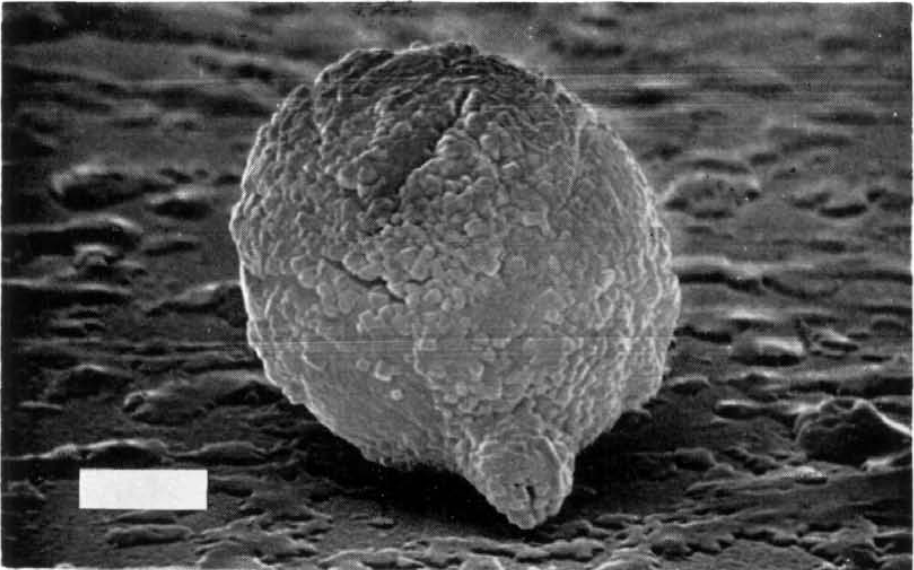


Fig. 11.—*Leucogaster cf. floccosus* Hesse MHG 2559: Basidiospora inmadura mostrando el inicio de la deposición de gránulos perispóricos. El trazo corresponde a 3  $\mu$ m.

Al doctor P. Berthet por su ayuda en la determinación de *Pustularia insignis*.

A. M. G. Malençon por su ayuda en la confirmación de los hongos hipogeos que en este trabajo presentamos.

A E. Gracia y al Departamento de Microscopía electrónica de la Universidad Central de Barcelona por la realización de las fotografías al microscopio de barrido.

Al doctor F. Torrella, del Departamento de Microbiología de la Universidad de Murcia, por la ayuda prestada en la realización de fotografías al microscopio óptico.

A T. Lozano, antes alumna y actualmente colaboradora del Departamento de Botánica de Murcia, por las valiosas aportaciones de material que nos ha proporcionado.



## BIBLIOGRAFIA

- BERTHET, P., et RIOUSSET, L.-(1963), «Un *Pustularia* nouveau: *P. insignis*. Description de l'espèce et remarque sur un caractère cytologique du genre *Pustularia*», *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 79 (3), págs. 392-398
- CALONGE, F. D.; DE LA TORRE, M., y LAWRYNOWICZ, M. (1977), «Contribución al estudio de los hongos hipogeos de España», *Ann. Inst. Bot. A. J. Cav.*, 34 (1), páginas 15-31.
- MALENÇON, G. (1938), «Les truffes européennes», *Rev. de Myc.*, 3, págs. 1-92, París (N. S.).
- MALENÇON, G. (1973), «Champignons hypogés du nord de l'Afrique I. Ascomycètes», *Persoonia*, 7 (2), págs. 261-288.
- MALENÇON, G. (1974-75), «Champignons hypogés du nord de l'Afrique II. Basidiomycètes», *Rev. de Mycologie*, 39, págs. 279-306.
- PILÁT, A. (1958), «Gasteromycetes, Houby-Brichatky», *Flora CSR*, B, págs. 1-863, Česk. Akad. Ved. Praha.
- SACCARDO, P. A. (1889), *Sylloge Fungorum*, 8, pág. 889.
- SACCARDO, P. A. (1891), *Syolle Fungorum*, 9, pág. 281.