

**RUHLANDIELLA RETICULATA COMB. NOV. Y
RUHLANDIELLA TRUNCATA COMB. NOV. (ASCOMYCOTA,
PEZIZALES). NUEVAS COMBINACIONES PARA DOS
RARAS ESPECIES SEMIHIPOGEAS, EUCALIPTÍCOLAS Y
PIRÓFILAS DE ORIGEN AUSTRAL: *MUCITURBO
RETICULATUS* Y *MUCITURBO TRUNCATUS*.**

E. RUBIO ¹, R. TENA ², J. ORMAD ³ y A. SUÁREZ ⁴

1- c/José Cueto 3 5ºB 33407 Avilés (Asturias): enrirubio@mrbit.es

2- c/Arreñales del Portillo B nº 21 1º D 44003 Teruel: raultenalahoz@yahoo.es

3- c/Málaga 13-7ª 46009 Valencia: javormad@telefonica.net

4- c/Fdo. Morán 9 10º D 33400 Avilés (Asturias): angelsuarezaviles@yahoo.es

Summary. *Ruhlandiella truncata* and *Ruhlandiella reticulata*, new combinations for *Muciturbo truncatus* P.H.B. Talbot and *Muciturbo reticulatus* P.H.B. Talbot, two rare australasian semihypogeous, carbonicolous and eucalypticolous fungi recorded in Valencia and Asturias (Spain).

Key words: Fungi, Ascomycota, *Muciturbo*, *Ruhlandiella*, taxonomy, *Eucalyptus*.

Resumen. El presente trabajo da cuenta de la recolección en Valencia y Asturias de dos raras especies semihípogeas australes, pirófilas y eucaliptícolas: *Ruhlandiella truncata* y *Ruhlandiella reticulata*, nuevas combinaciones para *Muciturbo truncatus* P.H.B. Talbot y *Muciturbo reticulatus* P.H.B. Talbot.

Palabras clave: Hongos, *Ascomycota*, *Muciturbo*, *Ruhlandiella*, taxonomía, *Eucalyptus*.

INTRODUCCIÓN

En el transcurso de un paseo otoñal por la valenciana playa de El Saler durante las Jornadas Micológicas de la SOMIVAL en 2008, casualmente avistamos un cierto número de pequeños ascomas de color vinoso, semiinmersos en el suelo arenoso de una antigua hoguera colonizada por musgos y rodeada de *Eucalyptus* spp. Su aspecto recordaba tanto al de las fructificaciones de *Ruhlandiella berolinensis*, una especie común en los eucaliptales norteños, que dimos por seguro que se trataba de dicha especie. La sorpresa fue grande cuando más tarde pudimos observar que sus ascósporas eran espinosas y, por tanto, carecían de las mallas alveoladas típicas de la ornamentación de aquel taxón. Intrigados ante el descubrimiento, seguimos la pista del extraño hongo y tratamos de indagar datos sobre la identidad de otra especie un tanto enigmática, originalmente descrita en Tasmania, que quizá pudiera ser compatible con nuestro hallazgo: *Spragueola mucida* Rodway (RODWAY, 1919-1920), sin poder obtener resultados concluyentes en cuanto a sus analogías con nuestra recolección, especialmente por la existencia de paráfisis lanceoladas descritas por su autor en esta especie. Sin embargo, las anotaciones de HANSFORD (1956) al recombinar este hongo como *Sphaerosoma mucidum* (ut '*mucida*') parecen satisfactorias y, aunque algo sucintas y, en ausencia del pertinente reexamen de material original de *Spragueola mucida* Rodway o *Sphaerosoma mucidum* (Rodway) Hansford, nos parece que podríamos estar ante el mismo hongo más tarde descrito por TALBOT (in WARCUP & TALBOT, 1989) bajo el binomio *Muciturbo truncatus*. Tan sólo resultaba discordante el hábitat: madera enterrada sin

aparente relación de vecindad con plantas de *Eucalyptus*, árbol que por otra parte es muy abundante en la región. Finalmente evacuamos una consulta con M.A.Castellano (Corvallis, Oregon), que amablemente respondió, afirmando que nuestro hongo era concordante con *Muciturbo truncatus* P.H.B. Talbot y que se trataba además de la segunda recolección mundial de este taxón.

Semanas más tarde y en el mismo lugar se hallaron nuevos ascomas, similares a los anteriores pero mucho más pequeños, de apenas 2-3 mm de diámetro. El examen microscópico de las muestras nos hizo ver que estábamos ante otra rara especie del género: *Muciturbo reticulatus* P.H.B. Talbot, un taxón provisto de grandes ascósporas retículo-alveoladas, similares a las de *Ruhlandiella berolinensis* Henn., pero de mayores dimensiones y ornamentación más compleja.

MATERIAL Y MÉTODOS

Han sido los habituales en este tipo de estudios: examen previo con lupa binocular a suficientes aumentos y preparación de las muestras para su estudio microscópico en agua, azul de lactofenol, reactivo de yodo-yodurado de Melzer, Lugol (IKI) y potasa acuosa (KOH 10%), mediante un microscopio Nikon Eclipse E-400. Las fotografías macroscópicas fueron realizadas con una cámara réflex Nikon D-70 s, provista de un objetivo Micro Nikkor de 60 mm y, para las microfotos, se utilizó dicho cuerpo de cámara adaptado a un tubo triocular. Las micrografías al microscopio electrónico de barrido (SEM), se obtuvieron mediante un microscopio JEOL JSM 6100, con pulverización de las muestras desecadas y previo recubrimiento mediante *sputtering* con oro durante 300 s a 28-30 mA, hasta formar una capa de, aproximadamente, 20-30 nm de espesor sobre las muestras. Finalmente, las muestras fueron desecadas, registradas y conservadas en los herbarios personales de los autores (ERD, RT, JOS y AS).

Ruhlandiella reticulata (P.H.B. Talbot) E. Rubio, R. Tena, J. Ormad & A. Suárez, *comb. nov.*

Basionim.- Muciturbo reticulatus P.H.B. Talbot, in Warcup & Talbot, *Mycol. Res.* 92 (1): 95 (1989).

MATERIAL ESTUDIADO. Valencia (V), El Saler. Gola del Pujol, 30SYJ308590, 1 m, en restos carbonizados, bajo *Eucalyptus globulus*, *Myoporum laetum*, *Ficus carica* y *Pinus halepensis*, 24-XII-2008, leg. R. Tena y J. Ormad, RT08122402. *Ibid.*, 3-I-2009, leg. J. Ormad, JOS 20090103.02. *Ibid.*, 6-I-2009, leg. R. Tena, RT09010602. Valencia (V), El Saler. Tallafof de la Rambla, antiguo camping, 30SYJ303618, 1 m, en restos carbonizados colonizados por briófitos, próximos a *Eucalyptus camaldulensis*, *Pinus halepensis* y *Myoporum laetum*, 7-II-2009, leg. R. Tena, RT09020701. Asturias (O), La Candaliiega, Castrillón, 29TTP610260, 100 m, en restos carbonizados, bajo *Eucalyptus globulus*, 9-I-2010, leg. A. Suárez, ERD-5.040/AS-2.710.

Ascomas dispersos, semiinmersos, turbinados o pulvinados, a veces lenticulares, de hasta 3 mm de diámetro y 2 mm de altura, de color púrpura vinoso, pardo púrpura a casi negruzco. Superficie regular, lisa o cubierta de finísimas pústulas oscuras. Margen siempre desbordante. Consistencia cartilaginosa al inicio, resistente a la sección, gelatinosa, blanda y depresible en las fases avanzadas de su desarrollo, delicuescente al final. Contexto gelatinizado, más o menos hialino, recubierto por una estrecha capa cortical periférica, de color intenso, que alberga el himenio. Base del ascoma truncada o ligeramente deprimida, pilosa por la presencia de ralos mechones hifales procedentes del micelio.

Himenio con orientación centrífuga, siempre expuesto, corticalmente dispuesto en una empalizada perpendicular a la superficie de los ascomas. Algunos ascos se muestran claramente operculados, cilíndrico-claviformes en la juventud y entonces de hasta $575 \times 25 \mu\text{m}$, cilíndricos y de menores dimensiones en la madurez ($400-500 \times 30-45 \mu\text{m}$), no alcanzan el nivel de las paráfisis y tienen la base provista de uncínulos, paredes difusamente amiloides (Mlz., IKI, IKI + pretratamiento con KOH) e intenso contenido dextrinoide en fases juveniles. En fases avanzadas del desarrollo, su reacción ante los compuestos yodados, o es muy variable, o no puede ser apreciada con claridad,

dado el oscurecimiento generalizado de la pared y del citoplasma ascales. Dichos ascos contienen ocho ascósporas en disposición habitualmente uniseriada en la madurez e irregularmente biseriada en la juventud. Paráfisis filiformes, de 3-4 μm de anchura en la base, que sobrepasan ampliamente el nivel de los ascos, multiseptadas y ramificadas, hialinas o amarillentas, gelificadas, ocasionalmente anastomosadas, regulares hacia la base, pero con muy frecuentes segmentos moniliformes hacia los ápices, dilatados hasta $\times 25 \mu\text{m}$, que se encuentran aglutinados por una materia amorfa mucilaginoso, de color pardo oscuro o pardo rojizo, que forman un pseudoepitecio de aproximadamente 100 μm de espesor. Ascósporas esféricas de (25)-30-(35) μm de diámetro (ornamentación incluida) (26-36 μm *vide* TALBOT, *in* WARCUP & TALBOT, 1989), (20)-24-(30) μm (sin ornamentación), uninucleadas, hialinas, lisas y monogutuladas al inicio, indextrinoides, de color pardo amarillento o pardo oscuro en la madurez, retículo-alveoladas mediante mallas y alvéolos cianófilos y muy irregulares, de hasta 10 μm de anchura y 5-7 μm de altura. Excípulo medular gelificado, formado por hifas vesiculosas o poligonales hialinas o amarillentas de (17)-45-(120) μm de anchura (*textura globulosa* o *globuloso-angularis*) que ocupan la casi totalidad del interior de la fructificación.

Ruhlandiella truncata (P.H.B. Talbot) E. Rubio, R. Tena, J. Ormad & A. Suárez, *comb. nov.*

Basionim.- *Muciturbo truncatus* P.H.B. Talbot, *in* Warcup & Talbot, *Mycol. Res.* 92 (1): 97 (1989).

=? *Spragueola mucida* Rodway, *Papers of the Royal Society of Tasmania*: 114 (1919) (1920).

=? *Sphaerosoma mucidum* (Rodway) Hansford, *Proc. Linn. Soc. N.S.W.* 81 (1): 38. (1956).

MATERIAL ESTUDIADO. Valencia (V), El Saler. Tallafoc de la Rambla, antiguo camping, 30SYJ304619, 1 m, en restos carbonizados, colonizados por briófitos, próximos a *Eucalyptus camaldulensis*, *Pinus halepensis* y *Myoporum laetum*, 24-XII-2007, *leg.* R. Tena y J. Ormad, JOS 20071224.04. *Ibid.*, 07-II-2009, *leg.* R. Tena, RT090207002. Valencia (V), El Saler. Gola del Pujol, 30SYJ308590, 1 m, en restos carbonizados bajo *Eucalyptus globulus*, *Myoporum laetum*, *Ficus carica* y *Pinus halepensis* 8-XI-2008, *leg.* R. Tena, E. Rubio y J. Ormad, ERD-4.709/RT08110801/ JOS 20081108.01. *Ibid.*, 15-XI-2008, *leg.* J. Ormad, JOS 20081115.01. *Ibid.*, 9-XII-2008, *leg.* J. Ormad, JOS 20081209.01. *Ibid.*, 24-XII-2008, *leg.* R. Tena y J. Ormad, RT08122401. *Ibid.*, 30-XII-2008, *leg.* J. Ormad, JOS 20081230.01. *Ibid.*, 3-I-2009, *leg.* J. Ormad, JOS 20090103.01. *Ibid.*, 6-I-2009, *leg.* R. Tena, RT09010601. *Ibid.*, 10-I-2009, *leg.* J. Ormad, JOS 20090110.01. *Ibid.*, 13-I-2009, *leg.* J. Ormad, JOS 20090113.01. *Ibid.*, 18-I-2009, *leg.* R. Tena, RT09011801. *Ibid.*, 6-II-2009, *leg.* J. Ormad, JOS 20090206.01

Ascomas dispersos, semiinmersos, de 5-9 mm de diámetro y 2-3 mm de altura, con morfología variable pero mayoritariamente esféricos o subesféricos, tuberiformes, con la superficie provista de algunos pliegues irregulares, que delimitan lobulaciones que les confieren un claro aspecto cerebriforme; lisa y homogénea o cubierta de finísimas pústulas oscuras. De color blanquecino o sonrosado vinoso en la juventud, más tarde púrpura vinoso, pardo púrpura a casi negruzco en la madurez extrema, mucho más claro en las superficies enterradas. Consistencia ligeramente cartilaginosa al inicio, gelatinosa, blanda y depresible en las fases avanzadas de su desarrollo, delicuescente al final. Contexto gelatinizado, más o menos hialino, que puede llegar a reabsorberse y cavitarse en la madurez y que está recubierto por una estrecha capa cortical periférica, de color intenso, que alberga el himenio. Peridio ausente. Base del ascoma truncada o ligeramente deprimida, en ocasiones anfractuosa, pilosa por la presencia de ralos mechones hifales procedentes del micelio. Dichos ascomas son, en la práctica, difícilmente distinguibles de los de *Ruhlandiella berolinensis* y *R. reticulata*. Sólo podemos presumir que los ascomas de este último son siempre más pequeños (hasta 2-3 mm), generalmente turbinados o pulvinados e infrecuentemente lobulados y que *Ruhlandiella berolinensis* suele formar ascomas mayores (hasta 15 mm o más), siempre tuberiformes y lobulados, con ascósporas de 24-29 μm (ornamentación incluida) y de 18-20 μm sin contemplar su ornamentación.

Himenio con orientación centrífuga, siempre expuesto, corticalmente dispuesto en una empalizada perpendicular a la superficie de los ascomas. Ascosporas cilíndrico-claviformes en la juventud, y entonces de hasta 500 \times 22 μm , cilíndricas y de menores dimensiones en la madurez, de 300-360 \times

35-50 μm , que no alcanzan el nivel de las paráfisis, con la base provista de uncínulos y paredes difusamente amiloides (Mlz., IKI, IKI + pretratamiento con KOH) e intenso contenido dextrinoide en fases juveniles. Dicha reacción amiloide se muestra muy inconstante, siendo notable en algunas ocasiones y completamente inexistente en otras. En fases avanzadas del desarrollo, su reacción ante los compuestos yodados también es muy variable o no puede ser apreciada con claridad dado el oscurecimiento generalizado de la pared y citoplasma ascales. Dichos ascos contienen habitualmente ocho ascósporas en disposición uniseriada en la madurez e irregularmente bi o triseriada en la juventud. Paráfisis filiformes que sobrepasan ampliamente el nivel de los ascos, de 3-4 μm de anchura, multiseptadas y ramificadas, hialinas o amarillentas, gelificadas, ocasionalmente anastomosadas, regulares hacia la base, pero con muy frecuentes segmentos moniliformes hacia los ápices, dilatados progresivamente hasta $\times 15-20 \mu\text{m}$, que se encuentran

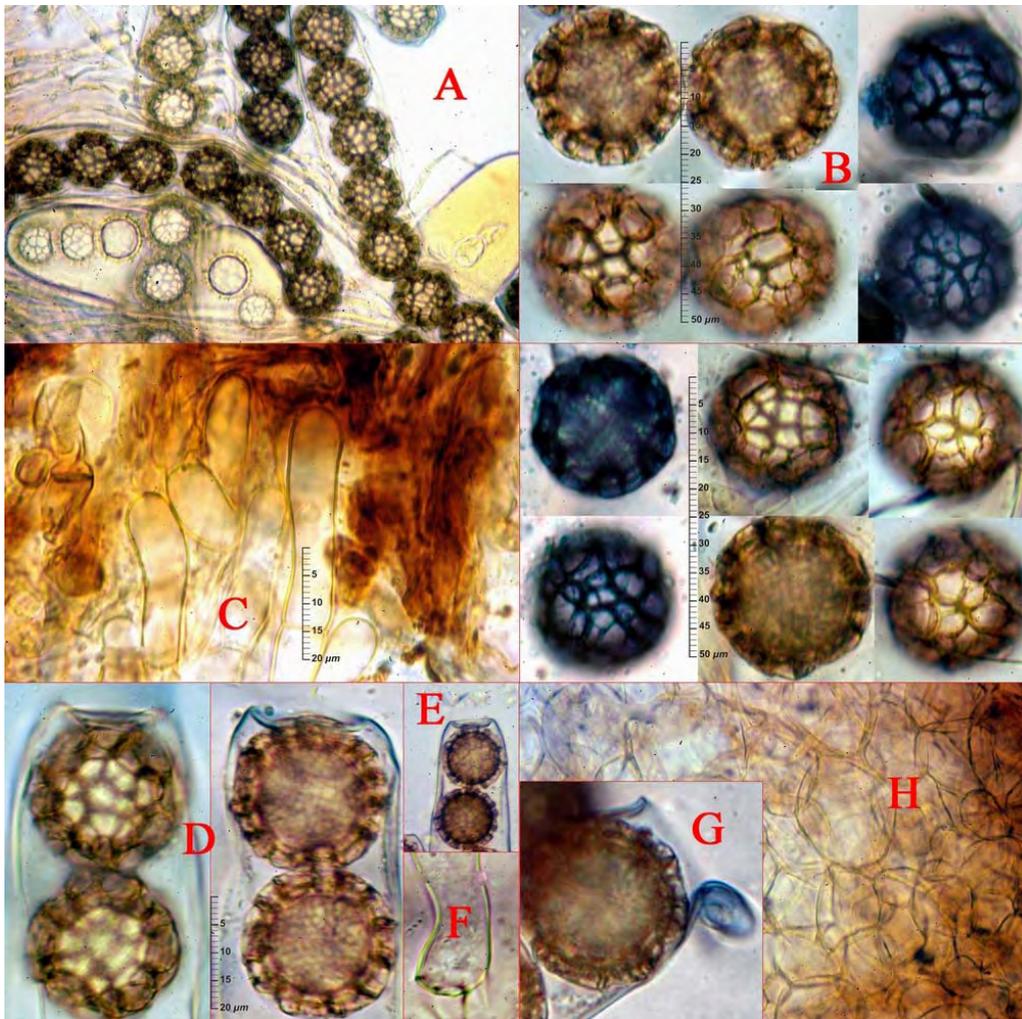


Fig. 1 - *Ruhlandiella reticulata* (RT08122402). A) Himenio; B) Ascósporas (H₂O y azul de algodón); C) Paráfisis; D) Ascos (Melzer); E) Asco (Melzer); F) Uncínulos basilares; G) Opérculo; H) Excípiulo medular.

aglutinados por materia amorfa mucilaginososa, de color pardo oscuro o pardo rojizo, que forma un pseudoepitecio de aproximadamente 100 μm de espesor. Los acúmulos originados por la unión de varios ápices ascales englobados por la materia gelificada oscura generan las pústulas de la superficie del ascoma. Ascósporas esféricas, muy raramente subesféricas, de 19-22,5 μm de diámetro (ornamentación incluida) (28-38 μm , *vide* TALBOT, *in* WARCUP & TALBOT, 1989), 15-18 μm (sin ornamentación), hialinas, lisas y monogutuladas al inicio, indextrinoides, de color pardo amarillento o pardo oscuro en la madurez, ornamentadas mediante espinas hialinas, cianófilas, cónicas y erectas al inicio, oscuras, flexuosas y obtusas al final de su desarrollo. Dichas espinas alcanzan 2-3,5 (4) μm de longitud, por 1-2 μm de anchura en la base, y pueden llegar a unirse parcialmente a las contiguas, creando un cierto aspecto pseudoreticulado. Excípulo medular gelificado, formado por hifas vesiculosas o poligonales, hialinas o amarillentas, de 15-35 μm de anchura (*textura globulosa* o *globuloso-angularis*) que ocupa la casi totalidad del interior de la fructificación.

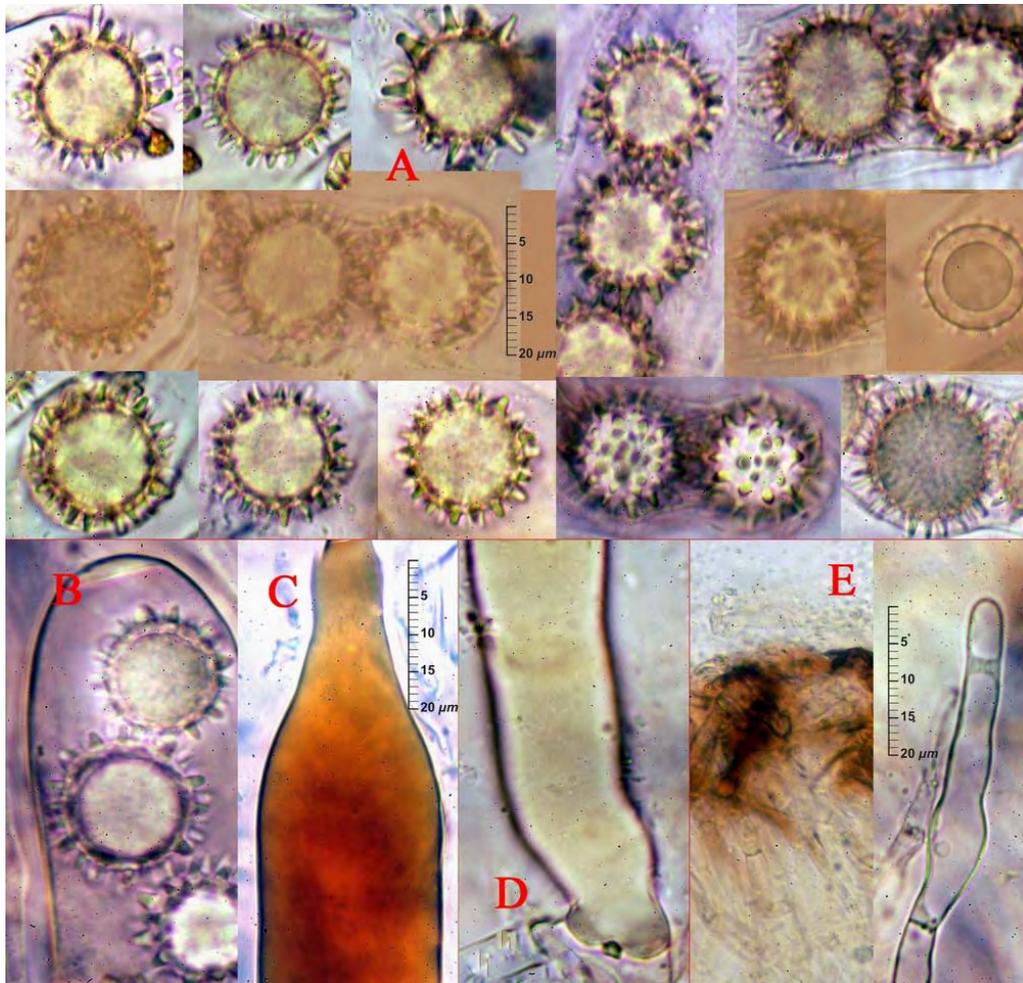


Fig. 2 - *Ruhlandiella truncata* (RT08110801). **A)** Ascósporas; **B)** Asco; **C)** Asco inmaduro (Melzer); **D)** Uncínulo basilar; **E)** Paráfisis.

CONCLUSIONES

En el transcurso de un estudio sobre hongos micorrizógenos de *Eucalyptus*, TALBOT (*in* WARCUP & TALBOT, *op. cit.*), describió su nuevo género *Muciturbo*, en el que introdujo tres especies: *M. truncatus*, *M. verrucosus* (aún no hallado en España) y *M. reticulatus*. En dicho género acoge (*in lit.*) hongos con ascomas pequeños, hipogeos, de forma hemisférica o lenticular, hasta turbinada, aplanados o cóncavos en la base, con un pequeño punto cónico de inserción, o incluso deprimidos en este lugar, lisos o lobulados, firmes y blanquecinos en la juventud, con el himenio periféricamente dispuesto por la superficie de la fructificación, que es de color lila-vinoso, pardo oscuro a negruzco, al igual que las ascósporas en el transcurso de la maduración. Excípulo medular con hifas globulosas o angulosas. Ascosporas que nacen de uncínulos, ligeramente amiloides en la juventud, con ocho ascósporas -a veces menos- irregularmente dispuestas en el ápice de los mismos. Ascosporas maduras subcilíndricas y no amiloides, con paredes delgadas y sin signos evidentes de estructuras apicales de descarga, delicuescentes en la madurez. Ascósporas uniseriadas, mononucleadas, esféricas, hialinas, luego de color púrpura vinoso y finalmente pardo oscuras a negruzcas, ornamentadas y no amiloides. Paráfisis hialinas o de color pajizo pálido, ramificadas desde su base o incluso en toda su longitud, ligeramente más pequeñas en los ápices, con paredes delgadas o engrosadas y gelatinizadas, con frecuentes septos, que se extienden hasta más allá del nivel de los ascos para formar un epitacio, finalmente delicuescentes.

A principios del siglo XX, HENNINGS (1903) definió el nuevo género *Ruhlandiella* para acoger *R. berlinensis*, un nuevo ascomicete semihipogeo hallado en un jardín berlinés. La breve diagnosis genérica, más detallada y complementada por algunos iconos en la descripción específica, nos parece lo suficientemente explícita como para proponer las nuevas combinaciones de las especies de *Muciturbo* en este antiguo género. A nuestro entender, la anatomía e histología de las fructificaciones de ambos géneros nos resultan extremadamente similares, y tan sólo las ornamentaciones esporales nos sirven para poder distinguir estos taxones entre sí. Muchos años más tarde, en la redescrípción y enmienda del género *Ruhlandiella* por parte de DISSING & KORF (1980), en la que estos autores, y dada la inexistencia del holótipo, seleccionaron un nuevo neotipo para la especie tipo del género: *R. berlinensis*, se contempla la evidencia de una reacción amiloide de la capa periascal y la existencia de paráfisis gelificadas, hechos éstos no mencionados en la descripción original de HENNINGS (*op. cit.*).

Tanto TALBOT (*in* WARCUP & TALBOT, *op. cit.*) como DISSING & KORF (1980) y GALÁN & MORENO (1998), afirman que la liberación esporal se produce por lisis de las paredes ascales. Sin embargo nosotros hemos advertido claros opérculos en al menos algunos de los ascos de *Ruhlandiella reticulata*. Con frecuencia podemos observar truncamientos o incluso depresiones del ápice ascal, que suelen indicar la existencia de un aparato apical activo. Esto pondría de manifiesto una clara afinidad del hongo por la dispersión anemocórica de sus esporas. Estos últimos autores señalan asimismo la ausencia de uncínulos basales en los ascos de *R. berlinensis*. Sin embargo, nosotros los hallamos habitualmente en los exámenes microscópicos de las tres especies estudiadas. Como anteriormente hemos comentado, nos parece importante recalcar la volubilidad e inconstancia de la difusa reacción amiloide de las paredes ascales, tanto si se emplea el clásico reactivo de Melzer como el simple IKI y tanto si el estudio se efectúa sobre material fresco como si éste ha sido previamente desecado o pretratado con KOH.

TALBOT (*in* WARCUP & TALBOT, *op. cit.*) se plantea la posibilidad de que *Ruhlandiella berlinensis* y *Muciturbo reticulatus* pudieran ser coespecíficos, pero después de nuestros exámenes, se han mostrado claramente diferentes en lo referente al tamaño de los ascos, más reducidos y turbinados en este último taxón, y en la morfología, dimensiones y tipo de ornamentación esporal: ascósporas más grandes con ornamentación mucho más compleja en *Ruhlandiella reticulata*. GALÁN & MORENO (*op. cit.*) y HANSEN (*in* ERIKSSON, 2000) ya habían sugerido entonces una posible sinonimización de *Muciturbo* y *Ruhlandiella*, lo que, aún a falta de los pertinentes y necesarios estudios moleculares, nos parece ahora claro y evidente.

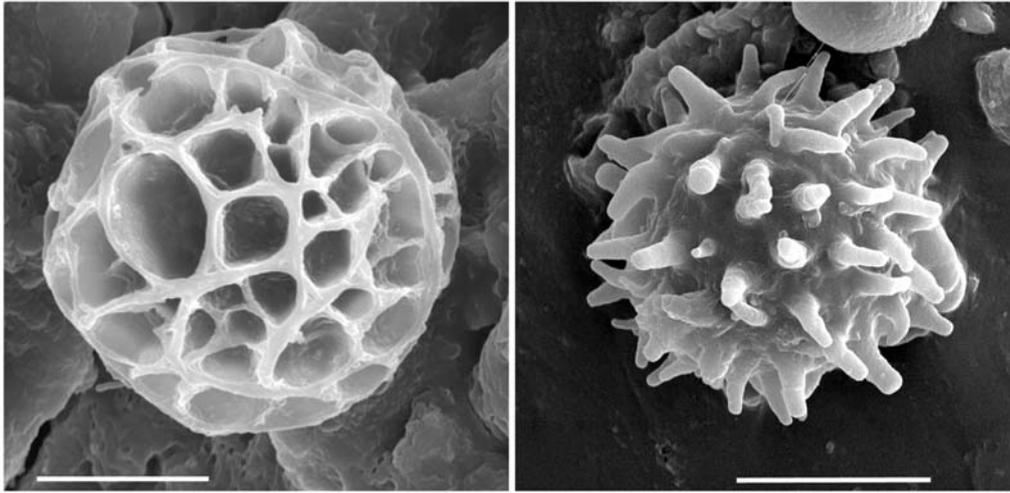


Fig. 3 - Micrografía de las esporas (SEM) de *Ruhlandiella reticulata* (izquierda) y *Ruhlandiella truncata* (derecha). Barra = 10 μ m.

Los tres hongos ahora encuadrados en *Ruhlandiella* parecen formar ectomicorrizas con diferentes especies de *Eucalyptus*, *Acacia*, *Casuarina*, *Melaleuca* y otras plantas alóctonas introducidas. La acción previa del fuego sobre el sustrato pudiera ser determinante, ya que en todos los casos, nuestros hallazgos y otros muchos descritos en la literatura (WARCUP, 1990) ocurren en zonas arboladas previamente incendiadas.

AGRADECIMIENTOS

A M.A. Castellano por su determinación de *Muciturbo truncatus* y a R.P. Korf por sus sugerencias sobre los géneros *Ruhlandiella*, *Smardaea* y *Sphaerosoma*. A A. Rodríguez por sus observaciones sobre *R. berolinensis*; M.A. Miranda por la corrección crítica del texto y finalmente a A.J. Quintana, responsable del Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido y Microanálisis EDS de los Servicios Comunes de Investigación de la Universidad de Oviedo, por su paciente colaboración en el estudio ultramicroscópico de las muestras.

BIBLIOGRAFÍA

- DISSING, H. & R.P. KORF (1980). Preliminary studies in the genera *Ruhlandiella*, *Sphaerosoma* and *Sphaerozone* (Order *Pezizales*). *Mycotaxon* 12 (1): 287-306.
- ERIKSSON, O.E. (2000). Notes on ascomycete systematics. n° 3015. *Muciturbo*. *Myconet* 5: 1-35. http://www.fieldmuseum.org/myconet/printed_v5.asp.
- GALÁN, R. & G. MORENO (1998). *Ruhlandiella berolinensis*, an exotic species in Europe. *Mycotaxon* 68: 265-271.
- HANSFORD, C.G. (1956). Australian fungi III. New species and revisions (continued). *Proc. Linn. Soc. N.S.W.* 81 (1): 38.
- HENNINGS, P. (1903). *Ruhlandiella berolinensis* P. Henn. n. gen. et n. sp., eine neue deutsche *Rhizinaceae*. *Hedwigia* 42: 22-24.
- RODWAY, L. (1919) (1920). *Spragueola mucida* sp. nov. *Papers of the Royal Society of Tasmania*: 114.
- WARCUP, J.H. (1990). Occurrence of ectomycorrhizal and saprophytic discomycetes after a wild fire in a eucalypt forest. *Mycol. Res.* 94 (8): 1065-1069.
- WARCUP, J.H. & P.H.B. TALBOT (1989). *Muciturbo*: a new genus of hypogeous ectomycorrhizal Ascomycetes. *Mycol. Res.* 92 (1): 95-100.



Ruhlandiella reticulata (P.H.B. Talbot) E. Rubio, R. Tena, J. Ormad & A. Suárez



Ruhlandiella truncata (P.H.B. Talbot) E. Rubio, R. Tena, J. Ormad & A. Suárez