

XYLARIA PUTAMINUM (ASCOMYCOTA, XYLARIACEAE) EN SEVILLA, SUROESTE DE LA PENÍNSULA IBÉRICA.

F. SÁNCHEZ IGLESIAS

C/ Gustavo Doré 7, 41006, Sevilla, España. email: elmirador1357@gmail.com

RESUMEN. *Xylaria putaminum* (Ascomycota, Xylariaceae) en Sevilla, suroeste de la Península Ibérica. En este trabajo se describe el teleomorfo y el anamorfo de *Xylaria putaminum* Maire & Durieu, la primera cita de la especie para el continente europeo. Los estromas recolectados crecían cespitosos sobre los restos de olivas viejas bajo *Olea europaea* var. *sylvestris*. Se aportan datos corológicos y ecológicos.

Palabras clave: Fungi, olivas, *Olea*, Pyrenomycetes, Xylariales, teleomorfo, anamorfo.

ABSTRACT. *Xylaria putaminum* (Ascomycota, Xylariaceae) recorded in Sevilla (SW Spain). In this paper the author describes the teleomorph and the anamorph of *Xylaria putaminum* Maire & Durieu, the first record of this taxon in the European continent. The collected stromata grown caespitose on old olives under *Olea europaea* var. *sylvestris*. Chorological and ecological data are also provided.

Keywords: Fungi, olives, *Olea*, Pyrenomycetes, Xylariales, teleomorph, anamorph.

INTRODUCCIÓN

El género *Xylaria* Colina ex Schrank de la familia *Xylariaceae* Tul. & C. Tul., es un grupo de especies muy amplio y cosmopolita, del que podemos encontrar en la bibliografía más de 700 taxones, con mucha mayor presencia en áreas tropicales (FOURNIER et al, 2014). Dentro de este género encontramos hongos que producen esporas en ascas dentro de diminutos ascocarpos llamados peritecios, que una vez maduros se abren por un ostíolo para dejar salir las ascósporas. Normalmente tienen una fase asexual (anamorfo) en la que se producen esporas en conidios; habitualmente son estromas blanquecinos de aparición primaveral u otoñal. El mismo estroma del anamorfo madura gradualmente desarrollando peritecios, justo debajo de la capa cortical, en cuyo interior aparecen ascas, embebidas en una matriz gelatinosa, que producen ascósporas mediante una reproducción sexual (teleomorfo). En esta fase los estromas suelen tener color negruzco, y se les encuentra entre finales de verano y principios de invierno.

Muchas de las especies de *Xylaria* son descomponedoras de la madera o de otros restos vegetales. Algunas se desarrollan sobre estiércol o en suelos ricos en materia orgánica. Otras especies se desarrollan sobre diversos tipos de frutos leñosos.

El estudio de este género es complicado, ya que muchas especies fueron descritas a partir de ejemplares inmaduros, aun cuando los anamorfos de estas especies son muy difíciles de segregar debido a la inexistencia de caracteres distintivos. Tradicionalmente, pero también por conveniencia y por necesidad, los teleomorfos han asumido el papel central en la toma de decisiones taxonómicas y han sido la fuente de datos para la elaboración de la mayoría de las claves. Hay, sin embargo, casos en que las formas teleomórficas faltan y entonces la identificación sólo puede basarse en los caracteres del anamorfo (WHALLEY et al., 2010).

Cuando se han descrito especies con el estudio de teleomorfos no siempre se han encontrado caracteres morfológicos claros para discriminar los taxones. Jacques Fournier, en su trabajo sobre especies europeas del género *Xylaria*, da gran importancia a la descripción de la textura de la capa externa de los estromas, así como al patrón de rotura por corte de ésta. Considera también

importante el estudio del aparato apical de las ascas, la forma de las esporas, la longitud y la forma de los surcos germinales y la observación de los posibles apéndices celulares y de la capa mucilaginosa externa de las esporas (FOURNIER, 2014).

La quimiotaenología también ha sido utilizada por otros autores en la descripción de sus recolecciones, como el estudio de la liberación de pigmentos (xilaral) al someter fragmentos de estroma a la acción de una solución de NH_3 o KOH (GUNAWAN *et al.*, 1990; STADLER *et al.*, 2008). Así, la liberación de pigmentos amarillo oliváceos, en KOH al 10% y NH_3 acuoso es un carácter taxonómico de *Xylaria violaceorosea* J. Fourn., A. Román, J. Balda & E. Rubio, que la separa de especies próximas (FOURNIER *et al.*, 2014).

En publicaciones recientes sobre especies nuevas de *Xylaria* se incluyen estudios de los anamorfos obtenidos mediante el cultivo del contenido de los peritecios en placas de agar y se describen los conidióforos y las conidiosporas obtenidos (FOURNIER *et al.*, 2011).

MATERIAL Y METODOS.

Las mediciones del estudio microscópico se hicieron sobre preparaciones en agua de material fresco, utilizando el software libre *Piximetre 5.8* diseñado por Alain Heriot (<http://ach.log.free.fr/Piximetre/>, 2014). Se utilizó IKI para observar la amiloididad y Rojo Congo SDS al 1% para teñir las estructuras celulares. En algunas preparaciones se usó tinta china azul diluida para observar los apéndices celulares y los surcos germinales. También se utilizó KOH al 3% para observar la liberación de pigmentos a partir de estroma y para la rehidratación de muestras.

Las macrofotografías fueron tomadas con una cámara Canon EOS 600D y un objetivo Canon 60 mm macro. Las microfotografías se hicieron con una cámara Canon EOS 1100 D montada sobre el triocular del microscopio OPTIKA B353 PLI, utilizando el software CANON EOS UTILITY para controlar la cámara a través del ordenador.

El material se depositó en el herbario del Plan CUSSTA perteneciente a la Junta de Andalucía. Teleomorfo: (JACUSSTA 8076), con un duplicado en el herbario personal del autor de este artículo (FSI2015005) y otro duplicado en el herbario de J. Fournier. Anamorfo: (JACUSSTA8082) y un duplicado en el herbario personal del autor (FSI2015006).

TAXONOMÍA.

Muestras estudiadas: España, Sevilla, Gerena, El Esparragal, Arroyo de la Encarnación, 43 m, 29SQB5558, 7.II.2015 (Teleomorfo), 2.XI.2015 (Anamorfo) bajo acebuche (*Olea europaea* var. *sylvestris*) y estrato herbáceo de *Smyrnium olusatrum*, a pocos metros de un arroyo en zona umbría muy húmeda. Ejemplares muy numerosos que nacían del suelo en relación con olivas viejas semienterradas, compartiendo hábitat con *Tricharina striispora* Rifai, ChinS. Yang & Korf y *Xylaria sicula* Pass.& Beltrani.

Estromas teleomórficos (Fig.1) cespitosos, erectos, fibrosos, de 18-39 × 2-5 mm, habitualmente fusiformes y simples, no ramificados, pero a veces con la zona apical ensanchada espatuliforme y bifurcada o incluso con tres ramificaciones. Generalmente nace un sólo estroma por fruto, algunas veces dos, y normalmente tienen pegados restos de arena del substrato. Estipe estéril de 5-20 × 0,5-1,4 mm de ancho, bien definido, más o menos sinuoso, rara vez bifurcado, con superficie de textura fribilosa, estriado longitudinalmente, de color pardo o pardo rojizo, a veces con reflejos violáceos, con la base algo ensanchada en la zona de inserción con la oliva, a menudo prolongado más allá de ésta a modo de rizomorfo. Clávula fértil visiblemente más ancha que el estipe, habitualmente fusiforme atenuada hacia el ápice, de 8-16 × 0,9-3,5 mm. Superficie estromática al principio de color pardo grisáceo y finalmente negruzca, dejando zonas parduzcas tomentosas en sentido longitudinal, con lo que la superficie adquiere un aspecto estriado. Capa cortical de aspecto



Fig. 1.- *Xylaria putaminum*. Estromas teleomórficos.



Fig. 2.- *Xylaria putaminum*. Estromas anamórficos.

granulado, con abultamientos muy numerosos provenientes de la extrusión de los peritecios, correosa, negra, persistente, delgada ($<60 \mu\text{m}$ de grosor), que adquiere flexibilidad después de rehidratación de material seco. Zona apical de la clavula más o menos bien diferenciada, estéril, blanquecina, de aspecto fibroso, que se estrecha a veces hasta formar un corto bastoncito, de 2-5 mm de longitud. No se ha observado emisión de pigmentos al someter los estromas a NH_4OH al 10% y KOH al 3%. Carne blanquecina, maciza y esponjosa. Peritecios subglobosos, de 0,5-0,7 mm de diámetro, prominentes, densamente agrupados en la cara externa del estroma, con paredes hialinas o poco coloreadas. Ostíolos cónico-papilados, negros, que se abren por un poro circular.

Estromas anamórficos cespitosos (Fig.2), erectos, de $10\text{-}30 \times 0,5\text{-}3 \text{ mm}$, de la misma morfología que los teleomorfos, proliferando sobre los restos de olivas viejas enterradas. Estipe estéril, fibriloso, negruzco con reflejos violáceos, de $5\text{-}20 \times 0,5\text{-}3 \text{ mm}$, extendido frecuentemente más allá del fruto a modo de rizomorfo. Clavula fértil con la superficie del estroma cubierta de una capa blanquecina formada por multitud de conidióforos dispuestos en empalizada, algo más ancha que el estipe, ocupando entre $1/3$ y $2/3$ de la longitud total del estroma. Bajo la capa conidiógena aparece una corteza negruzca de $30\text{-}60 \mu\text{m}$ de grosor. Carne compacta, de color rosado. Peritecios incipientes bajo la corteza de algunos ejemplares, emergiendo a veces de la capa conidiógena en forma de puntos negruzcos.

Ascas cilíndricas (Fig.3A) de $(102,1\text{-})125,4 - 150,9(-174,2) \times (5,3\text{-})6,4 - 7,6(-8,7) \mu\text{m}$; $\text{Me} = 138,1 \times 7 \mu\text{m}$; aparato apical cuboide, hemiamiloide en IKI, de $(1,6\text{-})1,8 - 2,2(-2,3) \times (1,3)1,4 - 2 \mu\text{m}$; $\text{Me} = 1,9 \times 1,7 \mu\text{m}$. Paráfisis muy abundantes, filiformes, acuminadas, mucho más largas que las ascas, hialinas, embebidas en gel mucilaginoso (Fig.3B). Ascósporas maduras elipsoidales, inequiláteras, lisas, con extremos anchamente redondeados (Fig.3C), de $(10,1\text{-})11,5\text{-}12,0(-13,3) \times (5,1\text{-})5,9 - 6,1(-6,9) \mu\text{m}$; $\text{Q} = (1,6\text{-})1,9\text{-}2,0(-2,3)$; $\text{Me} = 11,7 \times 6,0 \mu\text{m}$; $\text{Qe} = 2,0$; primero hialinas o gris hollín, que se oscurecen gradualmente al madurar hasta quedar de color pardo oscuro o negruzco, a menudo con dos gotas lipídicas en los extremos y cubiertas frecuentemente de una vaina mucilaginosa visible al teñir la muestra con tinta; con surco germinal conspicuo, paralelo al lado aplanado, recorriendo casi toda la longitud esporal, de $6,9\text{-}11 \mu\text{m}$ de largo. Esporas inmaduras de fusiformes a elipsoidales, a menudo de mayor longitud que las maduras, con los extremos generalmente acuminados, el distal a veces prolongado y picudo, muchas veces con apéndices celulares apicales visibles en tinta diluída. Conidiósporas (Fig.3D) estrechamente amigdaliformes, hialinas, de $(3,8\text{-})4,6 - 6,6(-8,4) \times (1,9\text{-})2,1 - 2,7(-2,9) \mu\text{m}$; $\text{Q} = (1,7\text{-})1,9 - 2,8(-3,1)$; $\text{Me} = 5,7 \times 2,4 \mu\text{m}$; $\text{Qe} = 2,4$.

DISCUSIÓN.

La descripción original a partir de material de Alger, Argelia (MAIRE, 1920) es manuscrita y ha sido muy difícil su lectura. La recolección fue sobre olivas viejas de *Olea europaea* y no contiene medidas del estudio microscópico.

La única descripción completa de *Xylaria putaminum* a la que se ha tenido acceso es la hecha a partir de material de Cherf el Akab, Tánger, Marruecos (BERTAULT, 1961). En ella se describe el teleomorfo de la especie, desarrollado sobre el pericarpo de frutos viejos de *Olea europaea*. Se describen clavulas de $20 \times 2 \text{ mm}$ con ápice estéril blanquecino; estipes de la mitad de esa longitud separados claramente de la parte fértil, estriados longitudinalmente, con base peluda-tomentosa color púrpura oscuro y algo ensanchada; peritecios subglobosos de $300\text{-}400 \mu\text{m}$ de paredes poco coloreadas; ascas de $100\text{-}110 \times 6\text{-}7 \mu\text{m}$ con aparato apical amiloide; ascósporas elípticas, obtusas, inequiláteras, de color pardo oscuro, lisas, con una gran gútula central, de $11,5\text{-}13,5 \times 5\text{-}6(6,5) \mu\text{m}$; el surco germinal aparece en sus dibujos curvo y ocupando toda la extensión de las espora.

Los caracteres de los estromas de teleomorfo recolectados coinciden muy bien con los de los descritos por BERTAULT (1961). Ambas recolecciones difieren del material tipo (MAIRE, 1920), descrito también con material norteafricano, en la abundancia de esporas, ya que éstos eran ejemplares inmaduros. Sin embargo en este estudio se han observado ascósporas frecuentemente

bigutuladas y la capa externa del estroma, vista con lupa, presenta bandas longitudinales tomentosas pardas que confieren a la corteza un aspecto estriado (Fig. 4).

Xylaria oxyacanthae Tul. & C.Tul., es otra especie que se desarrolla sobre frutos de árboles, en su caso sobre frutos viejos semienterrados de *Crataegus* sp. Su fase teleomórfica tiene estromas filiformes o estrechamente fusiformes, de 34-61 mm de longitud, ascósporas elipsoidales inequiláteras de $Me=10,7 \times 4,9 \mu\text{m}$; $Q=2,2$ con los dos extremos de aguda a estrechamente redondeados o un extremo agudo y otro redondeado, sin vaina gelatinosa ni apéndices visibles en tinta china (FOURNIER, 2014). Tiene peritecios de 400-500 μm (RUBIO, 2015).

Xylaria sicula Pass. & Beltrani, otra especie europea descrita en 1882, crece sobre hojas de *Olea* sp. Tiene estromas teleomórficos filiformes de 10-30 mm de altura, con cabezas fértiles subglobosas y mucronadas. Ha sido inoculada con éxito sobre hojas y frutos de *Olea*, obteniéndose similares estromas estériles en ambos casos, lo que podría inducir a pensar que fuera sinónimo de *X. putaminum* (FOURNIER, 2014). Esta especie ha sido recolectada en compañía de estromas de *X. putaminum* (BERTAULT, 1961). Hay numerosas citas de esta especie en España, como la de Manuel Alvarado (ALVARADO 2012), también de la provincia de Sevilla y sobre hojas de *Olea europaea* var. *sylvestris*, con ascósporas inequiláteras y de extremos redondeados, de $9-15 \times 3-7 \mu\text{m}$.

DISTRIBUCIÓN, ECOLOGÍA, COROLOGÍA.

Resulta llamativo que desde que Maire describiera la especie en 1920 y Bertault describiera su recolección en 1961, ambos a partir de material norteafricano que se desarrollaba sobre *Olea europaea*, no se haya vuelto a citar la especie hasta ahora. En Bunyol (España) se recolectaron anamorfos de *Xylaria* sobre frutos de *Olea* sp. (Carles Poveda & Pablo Chacón, 13-XII-2010). (com. pers.).

Es previsible la presencia de esta especie en zonas del área mediterránea europea, como Italia y España. (FOURNIER, 2014). En esta zona geográfica hay grandes extensiones de cultivo de olivo y aún quedan zonas con maquias de *Olea europaea* var. *sylvestris*. Puede que *X. putaminum* sea una especie de escasa distribución, ligada a la existencia de olivas viejas de *Olea* semienterradas en un ambiente húmedo. La necesidad de combinación de ambos factores quizás dificulte su proliferación, ya que *Olea* suele estar asociado a ambientes áridos y bien expuestos al sol. También se puede suponer que las técnicas agresivas de cultivo intensivo del olivo han podido causar la rarefacción de la especie en este medio. El carácter inconspicuo de la especie, sobre todo en la fase teleomórfica, también podrían explicar la ausencia de hallazgos en hábitat silvestre.

La zona de procedencia del material estudiado está enclava dentro de las primeras estribaciones de la Sierra Morena, en la provincia de Sevilla, y está formada por cerros de altitudes comprendidas entre 80-190 m, con presencia de cambisoles (suelos moderadamente ácidos, poco profundos, de color pardo fuerte a pardo rojizo, textura de limosa-arenosa a limosa arcillosa, los suelos más extendidos en estas sierras). El área pertenece a la cuenca hidrográfica del Río Rivera de Huelva, afluente del Río Guadalquivir. Domina en ella el piso termomediterráneo y se presenta el ombroclima seco.

La recolección se produjo en la base de la ladera este del Cerro del Castillo (156 m) por donde discurre el Arroyo de la Encarnación. Es una zona agrícola de cereales, olivos y naranjos, quedando para uso ganadero vacuno extensivo las zonas contiguas al arroyo, por su pendiente y por los frecuentes afloramientos rocosos. En este punto la vegetación está formada por una maquia poco densa de acebuche (*Olea europaea* var. *sylvestris*) acompañado de lentisco (*Pistacia lentiscos*) y esparraguera (*Asparagus albus*). Cerca del arroyo encontramos álamo negro (*Populus nigra*), fresno (*Fraxinus angustifolia*) y zarza (*Rubus ulmifolius*).

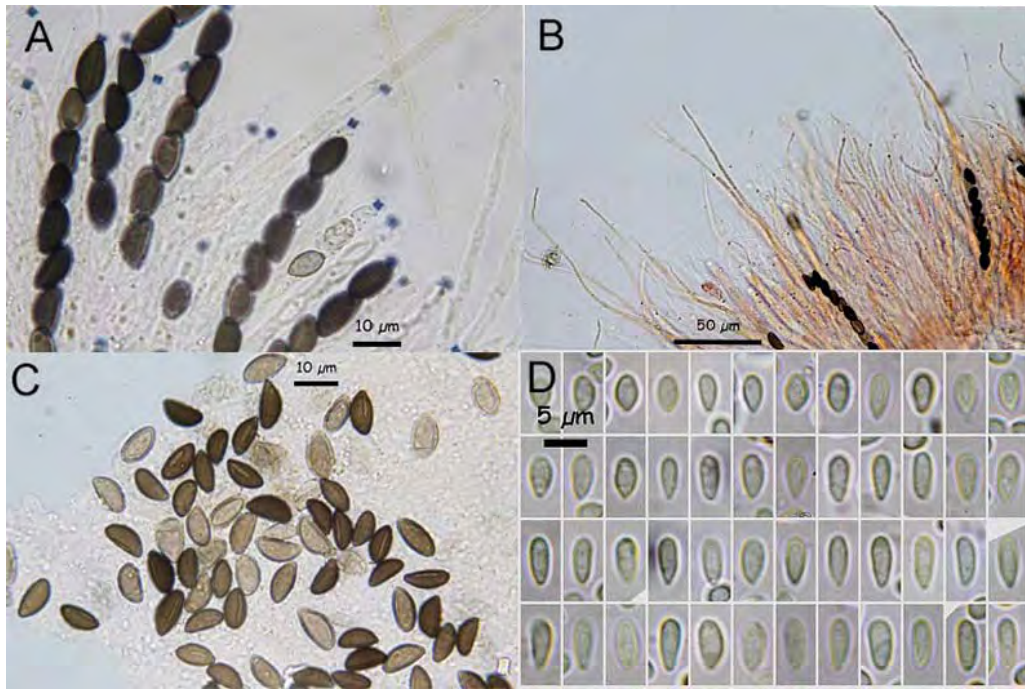


Fig. 3.- A) Ascas. Aparato apical. Esporas. IKI. B) Paráfisis. Rojo Congo SDS 1%. C) Ascósporas. KOH + Tinta china. D) Conidiósporas. Agua.

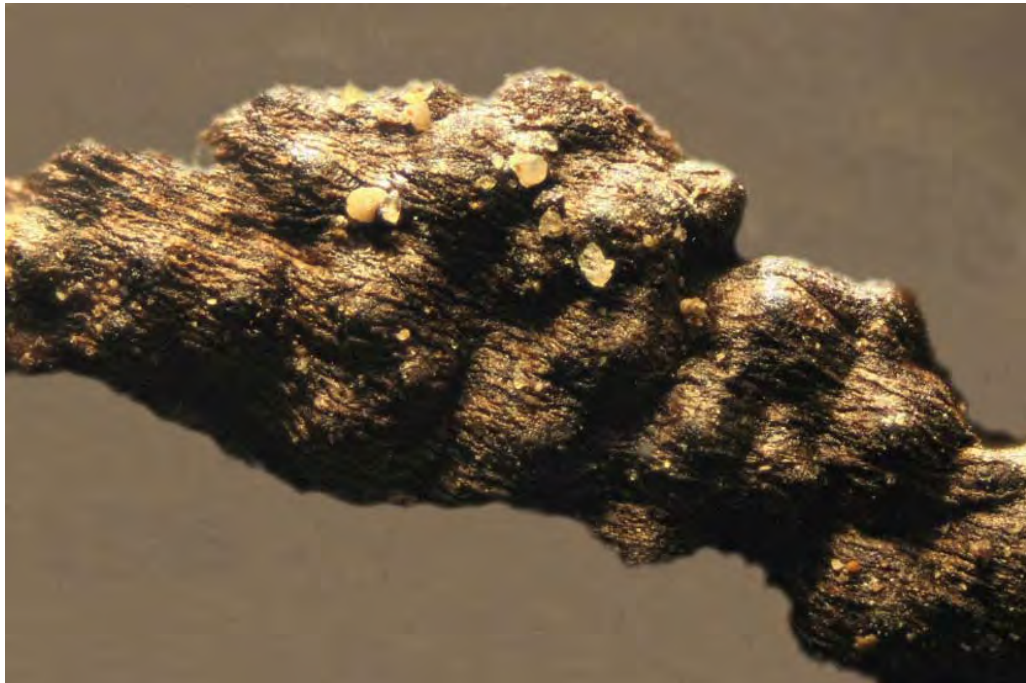


Fig. 4.- Superficie del estroma del teleomorfo.



Fig. 5.- Área de recolección.



Fig. 6.- *Xylaria sicula*. Estromas anamórficos y teleomorfos inmaduros.

El acebuche bajo el que se recolectaron todos los estromas (Fig. 5) está a sólo 5 m del cauce del arroyo, en un área de 6 m de largo y unos 3 m de ancho (alineada en sentido longitudinal con dicho cauce) que probablemente sufra inundaciones durante las avenidas de agua después de lluvias fuertes. La zona está flanqueada por el oeste por un talud hasta de 1 m de altura, abierto por el lado este a la orilla arenosa del arroyo. A primeros de febrero se recolectaron los ejemplares teleomórficos, bajo un denso estrato herbáceo de *Smyrniium olusatrum*. Los estromas proliferaban sobre los restos de olivas viejas semienterradas en suelo arcilloso, sin llegar a penetrar en el hueso, que era prácticamente lo único que quedaba del fruto. A principios de noviembre, cuando estaba empezando a crecer el estrato herbáceo después de las abundantes lluvias otoñales, se recolectaron anamorfos de *Xylaria putaminum* sobre olivas muy viejas enterradas en el sustrato, mezclados con anamorfos y estromas inmaduros de teleomorfo de *X. sicula* (Fig.6) que crecían sobre las hojas, ambos proliferando abundantemente. En ambas ocasiones se recolectaron también ejemplares de *Tricharina striispora*, con quienes compartían hábitat.

La mayoría de las especies de *Xylaria* de zonas templadas producen anamorfos en primavera y maduran a finales de otoño (PERŠOH *et al.*, 2009). El clima de la provincia de Sevilla es mediterráneo levemente continentalizado con precipitaciones variables, siendo el otoño y el final del invierno las épocas más húmedas, lo que explicaría la abundante recolección de los estromas descritos en este artículo en estas épocas del año. Durante el periodo septiembre a noviembre de 2015 las precipitaciones acumuladas y la temperatura en la zona fueron mucho mayores de la media del período 1985-2010.(Fuente: Agencia Española de Meteorología).

AGRADECIMIENTOS

A Jacques Fournier por su interés desde el primer momento con este hallazgo y su ayuda en la determinación. A www.ascofrance.com. A todos los integrantes del foro micológico Micolist. A la Asociación Micobotánica de Jaén por su imprescindible apoyo. A Miguel Angel Ribes por la revisión de este artículo. Y a la Asociación Micológica Hispalense Muscaria de Sevilla, en el seno de la cual he aprendido a estudiar los hongos.

BIBLIOGRAFÍA

- ALVARADO, M. 2012. *Xylaria sicula* Pass. & Beltrani.1882. (on line). <http://www.biodiversidadvirtual.org/hongos/Xylaria-sicula-Pass.-y-Beltrani-188-img76407.html>
- BERTAULT, R. 1961. Champignons de Tanger n°II.162, n°6105. L'Université Montpellier.(on line). <http://www.herbier-mpu.org/hv/wakka.php?wiki=PagePrincipale/iframe&action=recherche&genre=xylaria&espece=putaminum>
- FOURNIER, J. 2014. Update on European species of *Xylaria*. (on line). <http://www.ascofrance.com/uploads/xylaria/201406.pdf>
- FOURNIER, J., A. ROMAN, J. BALDA & E. RUBIO. 2014. *Xylaria violaceorosea* sp. nov. (*Xylariaceae*), a distinctive species discovered in Spain. *Ascomycete.org*, 6 (2): 35-39.
- FOURNIER, J., F. FLESSA, D. PERSOH & M. STADLER. 2011. Three new *Xylaria* species from southwestern Europe. *Mycological Progress*, 10: 33-52.
- GUNAWAN, S., B. STEFFAN & W. STEGLICH. 1990. Xylaral, ein Hydroxyphalid derivat aus Fruchtkorpen von *Xylaria polymorpha* (*Ascomycetes*). *Liebigs Annalen der Chemie*, 8: 825-827.
- PERSOH, D., M. MELCHER, K. GRAF, J. FOURNIER, M. STADLER & G. RAMBOLD. 2009. Molecular and morphological evidence for the delimitation of *Xylaria hypoxylon*. *Mycologia*, 101: 256-268.
- MAIRE, R. 1920. Échantillons n°6768 et 7243 de la collection Afr.Nord. L'Université Montpellier. (on line). <http://www.herbier-mpu.org/hv/wakka.php?wiki=PagePrincipale/iframe&action=detail&ordre=f&codebarre=MPUC04535>.
- RUBIO DOMINGUEZ, E. 2015. "*Xylaria oxyacanthae* Tul. & C. Tul."(en línea). Núm.536. ISSN. 1887-5068. <http://www.astumatura.com/especie/xylaria-oxyacanthae.html>
- STADLER, M. & J. FOURNIER. 2006. Pigment chemistry, taxonomy and phylogeny of the *Hypoxylodeae* (*Xylariaceae*). *Revista Iberoamericana de Micología*, 23: 160-170.

- STADLER, M., J.FOURNIER, T. LÆSSØE, C. LECHAT, H.V. TICHY & M. PIEPENBRING. 2008. Recognition of hypoxyloid and xylarioid Entonaema species and allied *Xylaria* species from a comparison of holomorphic morphology, HPLC profiles and ribosomal DNA sequences. *Mycological Progress*, 7: 53-73.
- WHALLEY, M.A., G.P. SHARPLES & A.J.S. WHALLEY. 2010. Anamorph-Teleomorph connections in the *Xylariaceae*. *The 100 years of MUCL 1894-1994*.