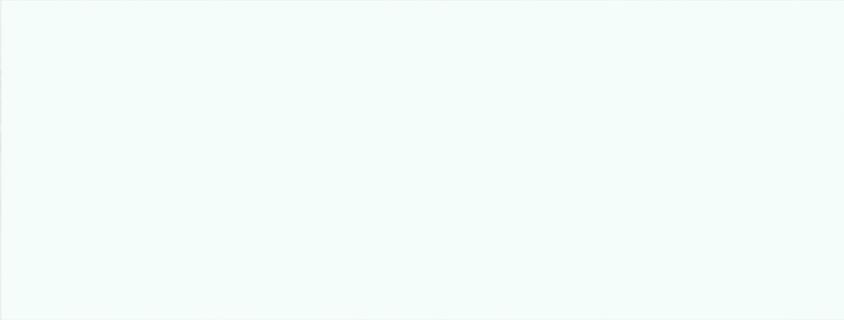


UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

REVISTA DEL MUSEO DE LA PLATA
(NUEVA SERIE)

TOMO XIV

Botánica n° 109



**ONTOGENIA Y CITOLOGÍA DEL ASCO DE LAS
ESPECIES ARGENTINAS DE *CITTARIA*
(ASCOMYCOTINA-CYTTARIALES)**

Teresita P. Mengoni

ONTOGENIA Y CITOLOGÍA DEL ASCO DE LAS ESPECIES ARGENTINAS DE CYTTARIA (ASCOMYCOTINA-CYTTARIALES).*

Teresita P. Mengoni**

RESUMEN

Se estudia la ontogenia y la citología del asco de las siete especies sudamericanas de *Cyttaria*: *C. harioti*, *C. darwinii*, *C. espinosae*, *C. berteroi*, *C. hookeri*, *C. johowii* y *C. exigua*. Se pretende dilucidar el mecanismo de formación del asco; estudiar las fases de la meiosis y mitosis y efectuar recuento de cromosomas.

El material se fijó en fijador de Lu: alcohol absoluto, ácido acético glacial y solución de ácido crómico. Se coloreó con colorante de Lu: hematoxilina-propióninco-férrica. Se realizaron aplastados.

Las observaciones permitieron concluir que los ascos se forman por medio de tres mecanismos, uno con gancho y los otros dos sin gancho. La ontogenia y las divisiones nucleares en el asco en general, son semejantes a las de otros *Ascomycotina*, entre ellos: *Gelasinospora calospora*, *Ascobolus magnificus*, *Neurospora crassa* y *Saccobolus pseudodepauperatus*. Se forman placa metafásica, placas centriolares y huso acromático. El número haploide en las siete especies argentinas es $n \sim 5-6$.

ABSTRACT

This contribution deals with *ontogeny and cytology of ascus development of south american species of Cyttaria*: *C. harioti*, *C. darwinii*, *C. espinosae*, *C. berteroi*, *C. hookeri*, *C. johowii* and *C. exigua*. Meiosis and mitosis in the asci are described. The haploid number is demonstrated.

The material was fixed with Lu fixative: absolute alcohol, pure acetic acid and solution of chromic acid. The stain employed was propionic-iron-haematoxylin. Afterwards the material was squashed.

Ontogenetic studies showed that ascus development may be with or without crozier. The nuclear divisions are similar to other *Ascomycotina* such as: *Gelasinospora calospora*, *Ascobolus magnificus*, *Neurospora crassa* and *Saccobolus pseudodepauperatus*. Equatorial plate, centriolar plates and spindle are formed. The haploid number of chromosomes in the seven species is $n \sim 5-6$.

INTRODUCCION

Cyttaria Berk. es el único género de la fam. *Cyttariaceae* Lév. a su vez monotípico del O. *Cyttariales* Luttrell ex Gamundí, perteneciente a la Sub-División *Ascomycotina*. El origen del nombre *Cyttaria* proviene del griego y significa "alvéolo, celdilla, panal".

Es parásito exclusivo de los *Nothofagus*, género constituido por árboles y arbustos, que forman bosques en la cordillera de Argentina y Chile, S.E. de Australia y Nueva Zelandia.

Cyttaria es un *Ascomycotina* Discos-tromiano, su cuerpo está constituido por un estroma con apotecios inmersos. La forma y el tamaño del mismo varía en las

* Parte del trabajo de tesis con el cual se obtuvo el título de Doctor en Ciencias Naturales.

** Instituto Spegazzini de Botánica. Calle 53 n° 477, 1900 La Plata - Buenos Aires - Argentina

distintas especies. Sobre el hospedante forman agallas o tumores, vulgarmente llamados "nudos".

El género consta de once especies. *C. harioi* Fisch., *C. darwinii* Berk., *C. johowii* Espinosa, *C. exigua* Gamundí son endémicas de Sud-América (las siete se encuentran en Argentina y algunas en Chile). Las otras cuatro especies son endémicas de Australasia.

La mayoría de los trabajos sobre *Cyttaria* se refieren a estudios anatómico-morfológicos o de distribución geográfica. Son muy pocos los realizados sobre el desarrollo del cuerpo fructífero; sólo White (1954) lo estudió en *C. gummii* (una especie de Australasia) y posteriormente Gamundí (1971) lo hizo en las especies sudamericanas. En cuanto a la citología del asco sólo Korf (1983) efectúa algunas consideraciones en su tratado sobre coevolución de *Cyttaria* y *Nothofagus*. En una de las publicaciones más recientes, Minter (1987) menciona la forma de desarrollo del asco.

Considerado lo dicho anteriormente, los objetivos del presente trabajo son: estudiar la ontogenia y citología del asco, meiosis, mitosis y recuento de cromosomas en las siete especies argentinas de *Cyttaria*.

MATERIALES Y METODOS

Las especies sudamericanas se ubican en la provincia Subantártica, Dominio Subantártico, Región Antártica de acuerdo con Cabrera (1971). El material se recolectó en San Martín de los Andes (provincia de Neuquén) y en San Carlos de Bariloche (provincia de Río Negro).

La ontogenia y la citología del asco se estudió en todas las especies argentinas salvo en *C. darwinii*, por carecer de material en estado maduro.

Lista del material utilizado, incorporado al Herbario del Instituto Spaggiari:

- C. hookeri* Berk.: LPS 44242; LPS 44354.
C. johowii Esp.: LPS 44344; LPS 44346; LPS 44350; LPS 44351; LPS 44352.
C. darwinii Berk.: LPS 44327.

- C. harioi* Fisch.: LPS 44243; LPS 44244; LPS 44245; LPS 44246; LPS 44247; LPS 44248; LPS 44310; LPS 44213; LPS 44343.
C. espinosae Lloyd: LPS 44249; LPS 44250; LPS 44320; LPS 44321; LPS 44323; LPS 44324; LPS 44325; LPS 44326.
C. berteroi Berk.: LPS 44317; LPS 44348; LPS 44349.
C. exigua Gamundí: LPS 44209; LPS 44311; LPS 44312; LPS 44314; LPS 44319.

El material se fijó en alcohol 96° cuando se usó para observaciones generales. Para realizar la tinción nuclear se hizo en fijador de Lu (Lu, 1962, 1967): alcohol absoluto, ácido acético glacial y solución de ácido crómico (9:6:2 partes, respectivamente), se conserva en heladera y puede permanecer en buen estado hasta 12 meses.

Para las observaciones generales se coloreó con azul de algodón al lactofenol (Stevens, 1974: 651). Para el estudio citológico se utilizó hematoxilina-propiónico-férrica (Lu, op. cit.).

Se utilizó un microscopio Wild M20 cámara clara. Las fotografías se tomaron con una cámara Nikon Microflex EFM semiautomática incorporada a un microscopio Nikon S-Ke. Se utilizó película fotográfica Kodak panatomic-X, grano fino, 32 ASA.

RESULTADOS

Ontogenia del asco. El mecanismo de desarrollo del asco es similar en todas las especies estudiadas, por eso se toma a *C. harioi* a modo de ejemplo.

El asco se forma a partir de la zeugita dicariótica donde ocurre la cariogamia, lam. 1A. La fusión nuclear no es inmediata. En *C. harioi* la zeugita puede medir entre 18 y 36 μ m de longitud. Durante la mayor parte del estado diploide del asco, solamente se tiñe el nucleolo, el cual es perfectamente esférico. Con la coloración de Lu el nucleolo se tiñe de pardo y los cromosomas de negro.

El asco diploide comienza su crecimiento. El nucleolo también crece, hasta alcanzar su máximo tamaño de 3.6 μm o más, según el ancho del asco, ocupándolo totalmente, lam. 2A. Cuando el asco está por alcanzar su máxima elongación, el nucleolo disminuye algo de tamaño, antes de comenzar a dividirse. Cuando el núcleo comienza a dividirse, entonces el crecimiento del asco se detiene. En *C. harioti* eso ocurre cuando el asco mide 150-190 μm de longitud. Desde este momento hasta alcanzar el estado de 8 núcleos haploides, el tamaño casi no varía. Recién después de formadas las esporas el asco se puede estirar un poco más, llegando a 200 μm .

El núcleo diploide ocupa siempre la parte superior del asco. Primero ocurre la meiosis. La primera división es reduccional y pasa a haber 2 núcleos haploides que también ocupan la mitad superior. Se deduce que la primera división es reduccional porque los núcleos haploides son de tamaño mucho menor que los diploides y esto permite diferenciarlos fácilmente; así el diámetro de los nucleolos haploides puede variar entre 1.5 y 2.0 μm (comparar con los diploides que llegan a 3.6 μm). Luego de iniciarse la meiosis, el proceso de división ocurre sin interrupción, en forma relativamente rápida. La rapidez con que se desarrollan los procesos se puede evaluar de acuerdo a la frecuencia con que se encuentran las distintas etapas. Así los ascos de hasta 150 μm de longitud, son todos diploides, mientras que los de 150-190 μm son algunos de 2, otros de 4 o de 8 núcleos haploides, y se los halla a todos por igual sin que predomine ningún estadio.

La segunda división meiótica es la ecuacional, dando origen a 4 núcleos haploides. En general siempre los núcleos se disponen hacia la parte superior del asco. Finalmente tiene lugar una división mitótica, formando 8 núcleos haploides. Luego mediante la esporogénesis, se originan 8 esporas uninucleadas. El huso de la división nuclear generalmente es para-

lelo al eje principal del asco, y por ello las esporas quedan alineadas una debajo de la otra.

Se trató de buscar una relación entre el tamaño de los estromas y el estado de desarrollo de los ascos. Se observó que en general no existe tal relación y que la madurez del apotecio no depende del tamaño del estroma. Se encuentran estromas "pequeños" con apotecios con todos los ascos maduros, con esporas; así como estromas "grandes" en donde los ascos aún están inmaduros, sin esporas.

Las esporas después de formadas pasan por un estado de maduración hasta que están listas para ser expulsadas. Los apotecios permanecen cerrados (sus bocas cubiertas por ectostroma) hasta el momento en que se descargan las esporas.

Los ascos se forman en el subhimenio a partir de las hifas ascógenas dicarióticas, de 3 μm de ancho. El subhimenio es de "textura intricata" compacta, con tendencia de las hifas a dirigirse hacia arriba. Las hifas ascógenas se entrelazan formando una trama completamente cerrada, muy difícil de disecar; son hifas muy "tortuosas".

Variantes de la formación del asco

Caso I. En todas las especies estudiadas se presenta el mecanismo "tipo gancho" para la formación del asco. El asco surge del segmento dicariótico subapical que constituye la zeugita. Fig. 1A.

Siempre que el asco se origine de esta manera, en la base del mismo se diferencia el gancho, aunque se trate de un asco maduro, lam. 1C.

Caso II. En *C. harioti* es frecuente encontrar ascos sin ganchos en la base, y que parecen originarse juntos, lam. 1B. Este tipo de ontogenia también se encontró aunque menos frecuentemente, en *C. exigua*. Una posible interpretación es que después de formado el primer asco, el segmento inferior dicariótico sigue creciendo y en lugar de dar otro gancho, se fusionan sus núcleos y origina directa-

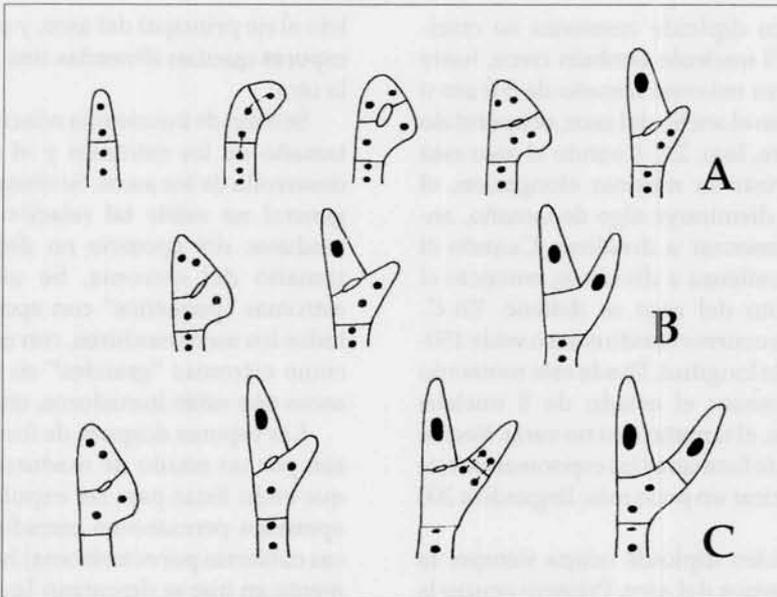


Figura 1: A: Ontogenia del ascó "tipo gancho", caso I. B: Ontogenia del ascó sin gancho, caso II. C: Ontogenia del ascó sin gancho, caso III.

mente un segundo ascó. Fig. 1B.

Caso III. En *C. harti* y en ocasiones en *C. exigua*, se observó otra variante. Se encuentran también dos ascos sin ganchos en la base. Pero a diferencia del caso anterior, en la base del segundo ascó hay un septo. Se puede interpretar que en el segmento inferior dicariótico los núcleos se dividen en forma conjugada, y como consecuencia se forma un septo (a diferencia del caso II); en el segmento superior se fusionan los núcleos y se origina así el segundo ascó. Fig. 1C.

Cima de ascos

Se forman en todas las especies estudiadas, lam. 1C-D. Hay cimas donde se originan dos ascos de un mismo gancho, lam. 1E. El mecanismo de formación de cimas de ascos hace que en el himenio se encuentren ascos en distintos estados de desarrollo.

Dentro del sistema ascógeno se encontraron algunos casos "anómalos". Por ejemplo, se observó que después de formado el primer ascó, en el segmento

dicariótico que queda debajo hay una cariogamia temprana; a veces el segmento deja de crecer; otras veces crece y el núcleo diploide queda en la parte inferior del mismo.

Normalmente, el segmento inferior dicariótico del gancho, crece hacia el lado en que se fusionaron la célula del ápice y del pie del gancho. Sin embargo, en ocasiones el segmento crece hacia el lado opuesto; puede seguir su crecimiento u originar directamente otro ascó, lam. 1E.

Divisiones nucleares en el ascó

Es similar en todas las especies estudiadas. Los nucleolos son siempre esféricos, céntricos o más frecuentemente ex-céntricos. Los núcleos generalmente son ovoides.

Meiosis

Profase I: Una profase larga es característica de la primera división meiótica, por eso se la divide en 5 etapas para su mejor comprensión: leptotene, cigotene,

paquitene, diplotene y diacinesis. En las especies estudiadas de *Cyttaria* no se observaron *leptotene* y *cigotene*, lam. 2A. Cuando el asco deja de crecer y el núcleo está en *paquitene*, se colorean los cromosomas. Se puede identificar al cromosoma organizador del nucleolo, lam. 2B. Los cromosomas están apareados, lam. 2C. En ocasiones se disponen sobre la membrana nuclear y la delimitan. El asco de *C. harioti* en paquitene mide 90 μm de largo x 9 μm de ancho, el nucleolo es de 3 μm . El asco continúa su crecimiento un poco más y el núcleo sigue en paquitene, pero los cromosomas cambian notablemente de aspecto. En conjunto parecen formar una "mancha" de cromatina, lam. 2D. Luego el asco detiene su crecimiento cuando alcanza 158 μm de largo. El nucleolo es de 3.5 μm . Hasta aquí los bivalentes están enrollados unos con otros; cuando comienza la *diplotene* se separan los pares de homólogos. Los cromosomas están muy elongados y forman una tétrada, son dos cromátides de cada cromosoma homólogo, lam. 2E. Se deduce que esta etapa es corta por la escasa frecuencia con que se la encontró. Luego el núcleo entra a diplotene difusa, una etapa característica de los hongos, lam. 2F. Los cromosomas se elongan en su máximo y se tiñen ligeramente, los homólogos están bien separados. El núcleo tiene un aspecto inconfundible ya que queda muy "largo", mide 16 μm y el nucleolo 4 μm . El nucleolo aún está asociado al cromosoma nucleolar. En *diacinesis* los cromosomas se espiralizan, llegan a su máximo de condensación, son puntiformes, lam. 3A. Sin embargo en *C. hookeri* se vieron cromosomas con forma alantoide y elipsoide, lam. 3B. El nucleolo reduce marcadamente su tamaño, es de 2 μm . A la diacinesis se le suele llamar profase I. Aquí es donde mejor se pueden contar los cromosomas; aunque sólo miden 0.7 μm aproximadamente y se superponen entre sí. **Metafase I:** Los homólogos de cada bivalente se disponen para su segregación. El huso se forma antes de la disolución de la membrana

nuclear. Se forma placa ecuatorial. Se forman placas centriolares; persiste el nucleolo, lam. 3C. **Anafase I:** Los homólogos migran hacia los polos reduciéndose el número cromosómico a la mitad. La separación parece sincrónica, no obstante, se pueden encontrar cromosomas rezagados, que no han migrado a tiempo. Los cromosomas ahora son elipsoidamente alargados. La lam. 3D muestra el final de una anafase, no hay huso (aunque éste puede persistir), el nucleolo se mantiene con tamaño reducido. **Telofase I:** Los cromosomas alcanzan sus respectivos polos. En general no se los puede individualizar pues forman un conjunto compacto, disponiéndose uno al lado del otro. Los nucleolos pueden o no persistir. **Interfase:** Período muy corto de desespiralización de los cromosomas. En un mismo asco cuando hay dos o más núcleos no necesariamente se dividen todos en forma simultánea, de modo que se los puede encontrar en distintas fases. **Profase II:** Tiene las características de la profase I. Pero los núcleos son más chicos, miden 9 μm . **Prometafase II:** tiene características similares a la prometafase I, pero el número de cromosomas está reducido a la mitad. El nucleolo es más pequeño, mide 1.2 - 1.5 μm . **Metafase II:** La orientación del huso no es constante, lam. 3E, aunque en general es paralela al eje principal del asco. **Anafase II:** Tiene características semejantes a la anafase I, lam. 3F. **Telofase II:** Los cromosomas llegan a los polos y forman 4 grupos compactos. Generalmente no se observa nucleolo.

Mitosis

Las características generales de la división son las mismas que en la meiosis, pero no hay reducción del número cromosómico. En la profase III los núcleos ovoides miden 7 μm . Los nucleolos miden 2 μm . Los cromosomas pueden estar dispersos por toda la cariolinfa o desplazarse hacia la membrana dejando un espacio central de tonalidad más clara. Las placas

centriolares se tiñen con más nitidez y son más grandes que en las divisiones anteriores. La metafase III es probablemente más larga que las anteriores pues se la encuentra con más frecuencia. En telofase III no se observaron nucleolos. En la lám. 3G se observan 6 grupos muy compactos de cromosomas en telofase, los 2 grupos centrales aún están muy juntos.

Esporogénesis

Reaparecen la membrana nuclear y los nucleolos, los cromosomas se desespiralizan. Quedan formados 8 núcleos haploides. El citoplasma del asco se fragmenta alrededor de los núcleos y las esporas comienzan a diferenciarse, lám. 4A. Al principio la pared de la spora es muy delgada; luego se engrosa pero aún es hialina, lám. 4B; finalmente se forma la pared externa oscura y rugosa.

Es de destacar que los ascos de un mismo apotecio no dividen sus núcleos en forma sincrónica. De modo que se pueden encontrar ascos diploides o haploides con 2, 4 u 8 núcleos, también ascos con esporas, lám. 4C-D. Si hay homogeneidad cuando todos los ascos tienen esporas maduras, éstas permanecen uninucleadas, lám. 4E.

Ganchos fallidos

En todas las especies estudiadas hay formación de "ganchos fallidos". Son hifas ascógenas que producen 2, 3 o más ganchos en cadena, donde sólo del último deriva un asco, lám. 4F.

DISCUSION

Ontogenia del asco

El proceso de ontogenia del asco en *Cyttaria* se comparó con el de otros *Ascomycotina* (Alexopoulos, 1985; Chadefaud, 1960), especialmente con *Gelasinospora calospora* (*O. Sphaeriales*), ya que es la especie que Lu (1967) estudia

cuando desarrolla su técnica de fijación y coloración.

El mayor crecimiento del asco se realiza durante la profase de la primera división meiótica y también el nucleolo alcanza su mayor tamaño. Esto también se observa en *G. calospora*. Se coincide con Lu, quien consideró que el asco al crecer necesita mayor cantidad de proteínas y nucleoproteínas y como el nucleolo es en parte responsable de la síntesis se desarrolla más en esta etapa.

El mecanismo "tipo gancho" de formación del asco es el que se encuentra más frecuentemente entre los *Ascomycotina*. Sin embargo pocos autores se expidieron acerca de la función del "gancho". Algunos (Buller, 1933:33) consideran que es un mecanismo que permite cubrir una mayor superficie cóncava, a partir de una única plamogamia. Sin embargo, ¿qué diferencia habría si las cimas de ascos en lugar de formarse por medio de los ganchos lo hicieran por simples ramificaciones de las hifas? Al buscar una respuesta se podría plantear la relación que existe entre las fíbulas de los *Basidiomycotina* y los ganchos de los *Ascomycotina*. Hay autores que los consideran homólogos, así Gäumann (1952:399) supuso que las fíbulas son relicto de los ganchos de los *Ascomycotina*. Pero Buller (*op. cit.*: 40) considera que no es así ya que entre ellos hay marcadas diferencias:

a. "Mientras que las fíbulas ocurren en series a lo largo de una hifa vegetativa de micelio, los ganchos no ocurren en micelio vegetativo sino en las ramas terminales de hifas ascógenas".

b. "Mientras que una fíbula se forma en el medio de una célula terminal de una hifa, un gancho se forma en el extremo último de una célula terminal de una hifa".

c. "Mientras que en una fíbula la célula en la cual temporariamente hay un solo núcleo se forma de una rama lateral de la hifa principal, en un gancho la célula correspondiente se corta del extremo final de la hifa principal después de que se ha curvado en el ápice".

d. "Mientras que una fíbula conecta dos células sucesivas, y como regla, no son punto de partida de una nueva rama lateral, la última célula de un gancho, después de la fusión con la tercera célula del mismo, inmediatamente crece para formar una pequeña rama lateral la cual pronto convierte su ápice en un nuevo gancho".

Además consideró que las funciones son distintas: "El gancho es para producir numerosos ascos que se dispondrán en forma compacta en una superficie cóncava. En tanto que las fíbulas ocurren para facilitar el fluir del citoplasma entre las células".

Analizando lo postulado por Buller se podría argumentar que: Tanto las fíbulas como los ganchos se forman en micelio dicariótico que tienen un mismo origen, ya que ambos son producto de una plasmogamia, es decir de un proceso sexual y de allí se formarán los cuerpos fructíferos. Buller también destaca que las hifas se forman en serie y los ganchos no. Sin embargo los ganchos sí se pueden formar en serie y en las especies argentinas de *Cyttaria* se encuentran ejemplos de ello. Con respecto a los argumentos b y c, son similares, se refieren a lo mismo; y aquí se considera que el carácter citado no es de importancia (ya que sólo se refiere a la ubicación de la "curvatura" de la fíbula y el gancho) comparado con el planteado en a. En el punto d, Buller considera que las fíbulas no son origen de ramificaciones; sin embargo esto no es así y se pueden encontrar ejemplos en Chadeffaud (*op. cit.*: 508); ya que también se pueden formar "cimas de basidios". En cuanto a la función de ambas estructuras aún no está establecida con certeza en ninguno de los dos casos. De modo que no se cree válido diferenciar a los ganchos de las fíbulas por su función.

Según Chadeffaud (*op. cit.*: fig. 508), "el basidio es un asco modificado, son estructuras homólogos; el basidio se origina de un probasidio dicariótico al igual que el asco se origina de una célula "proascal"

también dicariótica". También consideró comparables la cariogamia que se produce en el probasidio con la que se produce en la célula proascal (zeugita o célula madre del asco). Luego en ambos casos hay reducción meiótica que en basidios origina 4 núcleos haploides (aunque a veces se forman 8 basidiosporas), mientras que en los ascos generalmente sigue una mitosis y finalmente se forman 8 núcleos haploides (aunque a veces se forman sólo 4 ascósporas).

Hay otros micólogos que también consideran al gancho y a la fíbula estructuras afines. Según Ranalli (comunicación personal) tanto en los *Ascomycotina* como en los *Basidiomycotina* las hifas dicarióticas son relativamente angostas, tanto es así que los núcleos del dicarion se ubican uno encima del otro ya que no pueden entrar juntos en el ancho de la hifa. Al ocurrir una división conjugada de los núcleos del dicarion, éstos quedan alineados y los núcleos hijos se separan por dos septos, originando una sola célula dicariótica que es la del medio. Tanto el gancho como la fíbula tendrían la función principal de ensanchar las hifas y por medio de una curvatura de las mismas acercar los segmentos uninucleados y generar así otro dicarion.

Con respecto a los tres mecanismos hallados en la formación del asco: el caso II, para *C. hariatii* y *C. exigua* es descripto por Chadeffaud (*op. cit.*: 475): "la célula principal de un dangerdie secundario produce un primer asco, y la célula del pie también binucleada puede derivar directamente en una zeugita dando un segundo asco aunque esto es poco frecuente...". Del caso III, en Chadeffaud (*op. cit.*: fig. 354, 6-7) se encuentran casos semejantes. También se puede interpretar como una formación de dos ascos sin ningún gancho. O como lo llamó Chadeffaud "dangerdies ascógenos sin ansas". Aquí vale considerar lo que Chadeffaud llamó "elementos dangerdies" tipo "pleurorrinco" y tipo "aporrinco". Pleurorrinco es cuando en la base de un asco hay un gancho y aporrinco

cuando en la base sólo se encuentra un segmento dicariótico pero sin rastros de gancho. Considerando esta nomenclatura el caso I de *Cyttaria* sería del tipo pleurorinco y los casos II y III del tipo aporrinco.

Chadefaud describió otras variantes en la formación de los ascos y de las cimas que también se encontraron en algunas especies de *Cyttaria*: cuando el "dangerdie secundario ascógeno" no crece del pie del "dangerdie primario" sino del lado opuesto, en *C. hariatii*, lám. 1E y en *Bulgaria inquinans* (Chadefaud, loc. cit.: fig. 354-4). Cuando un "filamento ascógeno secundario" en vez de derivar en un asco deriva en otro "dangerdie ascógeno", en *C. hariatii* y en *B. inquinans* (Chadefaud, loc. cit.: fig. 354-3). En todas las especies estudiadas de *Cyttaria* se encuentran los que Müller (1976) llama "ganchos fallidos". Para Chadefaud (*op. cit.*: 463, fig. 344, 1-2) son "dangerdies no ascógenos". El caso de "filamentos dangerdies ramificados lateralmente con ansas" (Chadefaud loc. cit.: fig. 344-4) también se encuentra en *Cyttaria*; al igual que la variante en que la ramificación del "filamento dangerdie" es opuesta al pie del gancho que le da origen (Chadefaud, loc. cit.: fig. 344-5).

Divisiones nucleares en el asco

El proceso de divisiones nucleares en el asco de las especies estudiadas de *Cyttaria* se comparó con el que tiene lugar en otros *Ascomycotina*, entre ellos: *Neurospora crassa* (Singleton, 1953), *Melanospora tiffanii* (Kowalski, 1965 a), *Didymocrea sadasavanii* (Kowalski, 1965 b), *Sordaria brevicollis* (Furtado, 1970) y *Saccobolus pseudodepauperatus* (Ranalli et. al., 1975), haciendo hincapié en *Gelasinospora calospora* (Lu, *op. cit.*)

En *G. calospora* al igual que en *Cyttaria*, los cromosomas no son visibles en el núcleo de post-fusión. También en ambos el proceso de condensación es muy rápido pues no se observan estadios intermedios entre diplotene difusa y diacinesis. En los

dos casos, se forma placa metafásica y el huso acromático puede persistir un momento más después de finalizar la anafase. También coinciden en que la profase II es breve y la profase III es más larga; en que las placas centriolares son más grandes y colorean mejor en la tercera división y en que el nuceolo persiste hasta la telofase. Respecto a la diplotene difusa es un estadio que en *Basidiomycotina* aún no se encontró. Según Lu (*op. cit.*) es otra característica que está asociada con la marcada elongación del asco en esta etapa. Sería característico de una mayor actividad de los genes. Los cromosomas estarían muy estirados para permitir un funcionamiento más eficiente.

Cuando los ascos de un mismo apotecio comienzan a dividir sus núcleos, estas divisiones no son sincrónicas. Esto se contrapone con lo que opinó Korf (1983:84) al respecto en su trabajo sobre coevolución de *Cyttaria* y *Nothofagus*. Se coincide con Korf en que los ascos pueden estar todos en el mismo estado pero sólo si son diploides o si tienen esporas maduras. También se coincide con Korf en que en un típico *Pyrenomycete* o *Discomycete* las divisiones de los núcleos de los ascos no son sincrónicas. Basándose en sus observaciones, Korf relacionó a las *Cyttariales* con la tribu *Boedijnopezizae* de la familia *Sarcoscyphaceae* (*Discomycetes* Operculados) ya que serían los únicos grupos en que las divisiones nucleares de los ascos en un mismo apotecio serían sincrónicas. Hay otro carácter fundamental que es diferente en los dos grupos y que Korf no mencionó: la fam. *Sarcoscyphaceae* tiene ascos operculados y la fam. *Cyttariaceae* los tiene inoperculados (Mengoni, 1986).

CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente trabajo se pueden elaborar respondiendo a los objetivos planteados en el mismo.

La ontogenia del asco de *Cyttaria* (en las especies estudiadas) es en líneas generales similar a la descrita en otros

Ascomycotina. Se encuentran tres mecanismos de formación del asco, uno con gancho y los otros dos sin gancho. Planteada la discusión acerca de la relación entre las filulas y los ganchos, aquí se considera que ambas son estructuras homólogas y que su función se semejante.

La meiosis y la mitosis en el asco si-

guen el patrón general descrito también en otros *Ascomycotina*. En la profase I de la meiosis no se observan leptotene y cigotene. En las divisiones nucleares se forman placa metafásica, huso cromático y placas centriolares.

El número haploide en las siete especies argentinas es $n = 5 - 6$.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Irma Gamundí de Amos por la dirección del trabajo. A la Dra. María Esther Ranalli por enseñarme las técnicas citológicas y por sus críticas. Al Sr. Mario Gentili quien me envió parte del material desde San Martín de los Andes. A la Dra. Angélica Arambarri por sus aportes a mis consultas. A los revisores anónimos, por las valiosas sugerencias. A la Lic. Miriam Macías por su colaboración en la preparación de las ilustraciones.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Alexopoulos, C. J. & C. W. Mims, 1985. *Introducción a la Micología*. 638 pp. Omega, Barcelona.
- Buller, A. H. R., 1933. *Researches on Fungi*. Vol. V, 416 pp. Longmans. London.
- Cabrera, A., 1971. Fitogeografía de la República Argentina. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 14(1-2): 1-42.
- Chadefaud, M., 1960. Les vegetaux non vasculaires (Cryptogamie). En Chadefaud et Emberger. *Traité de Botanique*. 1018 pp. Masson. Paris.
- Furtado, J., 1970. Ascus cytology of *Sordaria brevicollis*. *Mycologia* 62(3): 453-461.
- Gamundí, I. J., 1971. Las *Cyttariales* sudamericanas (*Fungi-Ascomycetes*). *Darwiniana* 16 (3-4): 461-510.
- Gäumann, E. A. M., 1952. *The Fungi*. 420 pp. Haf. Pub. Co. New York - London.
- Korf, R. P., 1983. *Cyttaria* (*Cyttariales*): Coevolution with *Nothofagus*, and Evolutionary Relationship to the *Boedijnopezizae* (*Pezizales, Sarcoscyphaceae*). *Austral. J. Bot.* 10: 77-87.
- Kowalski, D. T., 1965 a. The development and cytology of *Melanospora tiffanii*. *Mycologia* 57 (3): 279-290.
- 1965 b. The development and cytology of *Didymocrea sadasavanii*. *Mycologia* 57 (3): 404-416.
- Lu, B. C., 1962. A new fixative and improved propionocarmine squash technique for staining fungus nuclei. *Can. Jour. Bot.* 40(6): 843-849.
- 1967. The course of meiosis and centriole behaviour during the ascus development of the *Ascomycete*. *Gelasinospora calospora*. *Chromosoma* 22: 210-226.
- Mengoni, T. P., 1986. El aparato apical del asco de *Cyttaria harioti* (*Ascomycetes - Cyttariales*) con microscopía fotónica y electrónica. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 24 (3-4): 393-401.
- Minter, D. W., 1987. South American species of *Cyttaria*. *The Mycologist*, January, 7-11 pp. *Bull. Br. Myc. Soc.* 21 (1).
- Müller, E & W. Loeffler, 1976. *Micología. Manual para naturalistas y médicos*. 340 pp. Omega, Barcelona.
- Ranalli, M. E. & I. Gamundí, 1975. *Ascobolus biguttulatus* sp. nov. (*Ascomycetes, Pezizales*). *Estudios de cultivo y citología*. *Physis* Sec. C 34 (88): 1-15.
- Singleton, J. R., 1953. Chromosome morphology and the chromosome cycle in the ascus of *Neurospora crassa*. *Am. Jour. Bot.* 40: 124-144.
- Stevens, R. B., 1974. *Mycology Guide Book*. Editor Russel B. Stevens. University of Washington Press.
- White, N. H., 1954. The development of the ascocarp of *Cyttaria gunnii* Berk. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 37: 431-436.
- Wood, J. L., 1953. A cytological study of ascus development in *Ascobolus magnificus* Dodge. *Bull. Torrey Bot. Club.* 80 (1): 1-15.

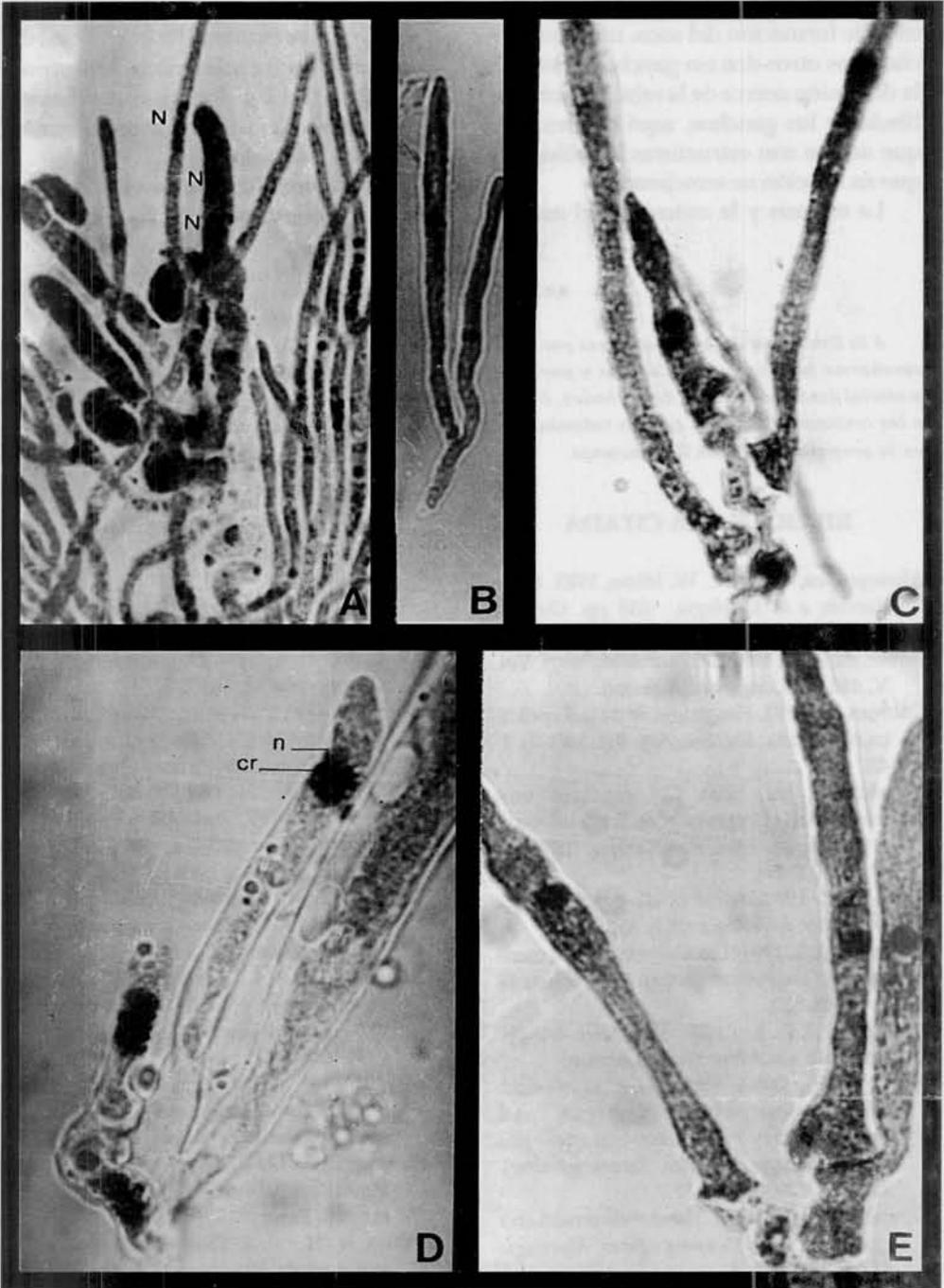


Lámina I: A: Zeugita dicariótica y paráfisis. Núcleos (N). *C. harioi*, x 2 000. B: Ascos diploides sin gancho basal. *C. harioi*, x 350. C: Cima de ascos diploides, *C. harioi*, x 1000. D: Semejante a la anterior. Nucleolo (n), cromosomas (cr). *C. exigua*, x 1000. E: Dos ascos se forman de un solo gancho. *C. harioi*, x 1000.

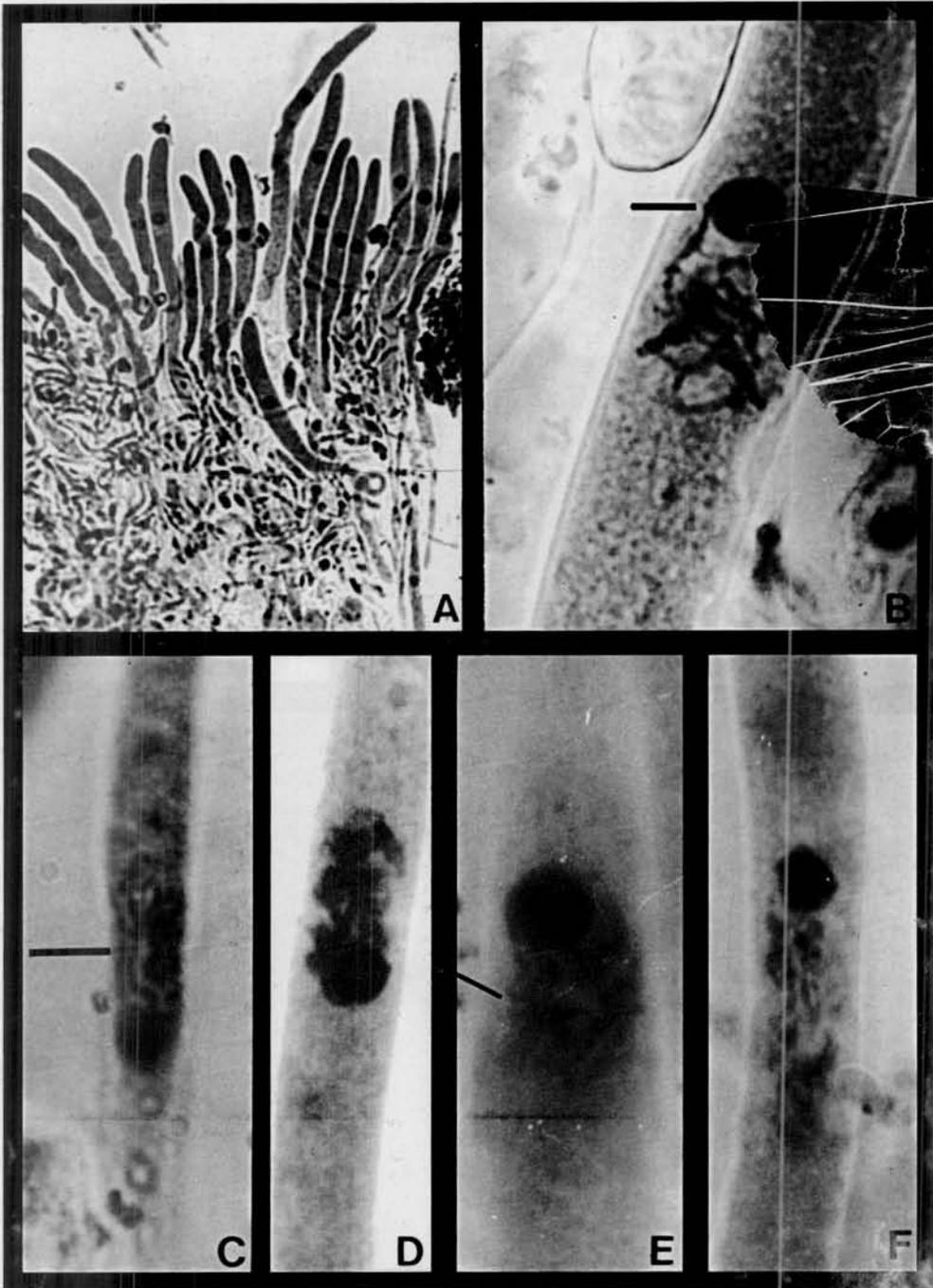


Lámina 2: A: Ascospores diploides. *C. spinosae*, x 500. B: Paquitene, se diferencia el cromosoma organizador del nucleolo. *C. hookeri*, x 1500. C: Paquitene, los homólogos están apareados. *C. harti*, x 1500. D: Post-paquitene. *C. harti*, x 1500. E: Diplotene, se diferencia la tétrada de cromosomas. *C. berteroi*, x 1500. F: Diplotene difusa. *C. berteroi*, x 1500.

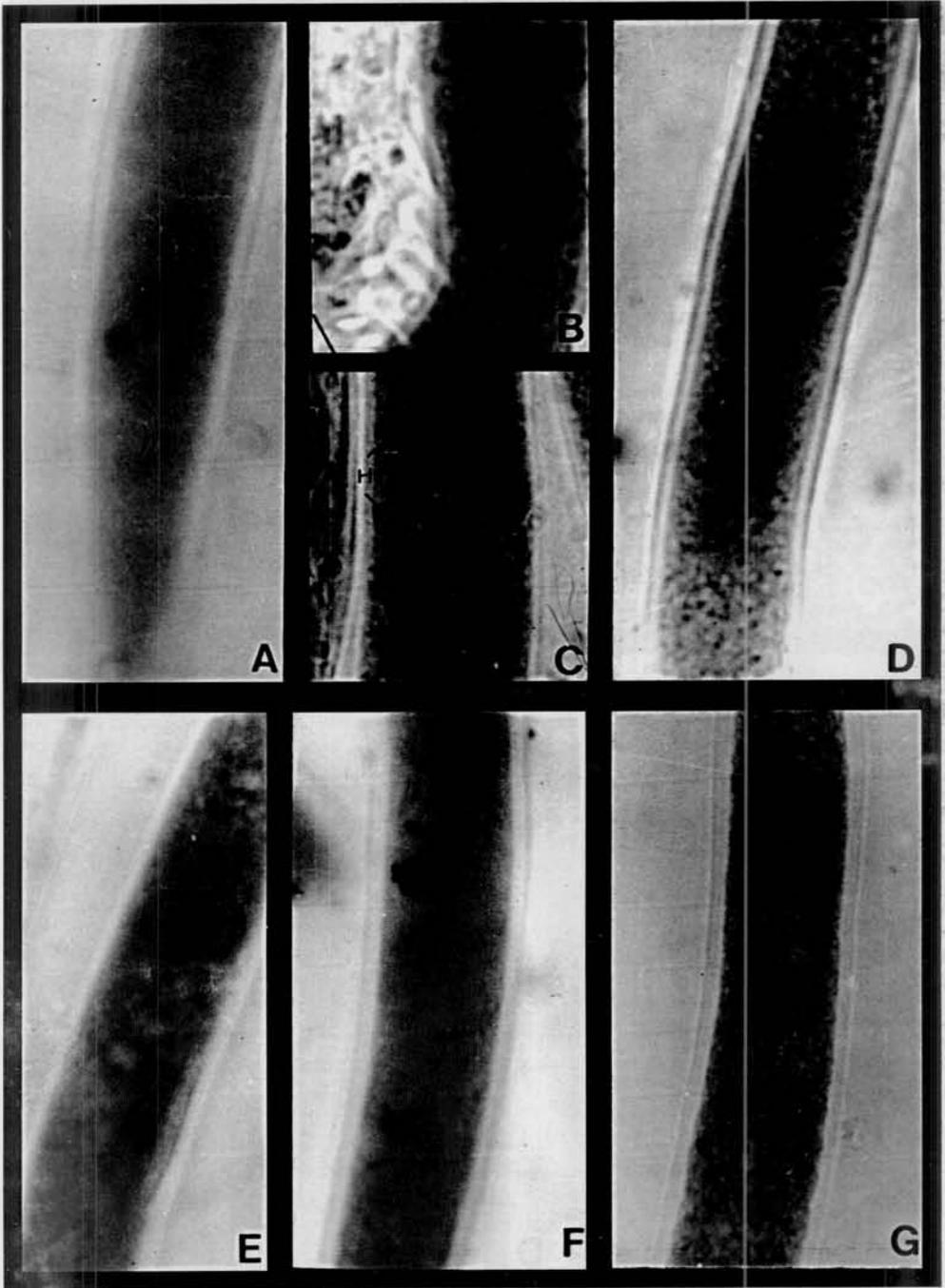


Lámina 3: A: Asco diploide con núcleo en diacinesis. *C. harioi*, x 1500. B: Prometáfase, nucleolo (n) y cromosomas (cr). *C. hookeri*, x 1500. C: Asco con núcleo en metafase I, placa centriolar (pc), huso (H) y cromosomas (cr). *C. hookeri*, x 1500. D: Asco con núcleo en fines de anafase I. *C. hookeri*, x 1500. E: Asco con núcleo en metafase II. *C. harioi*, x 1500. F: Asco con núcleos en anafase II. *C. harioi*, x 1500. G: Asco con núcleos en telofase III. *C. harioi*, x 1500.

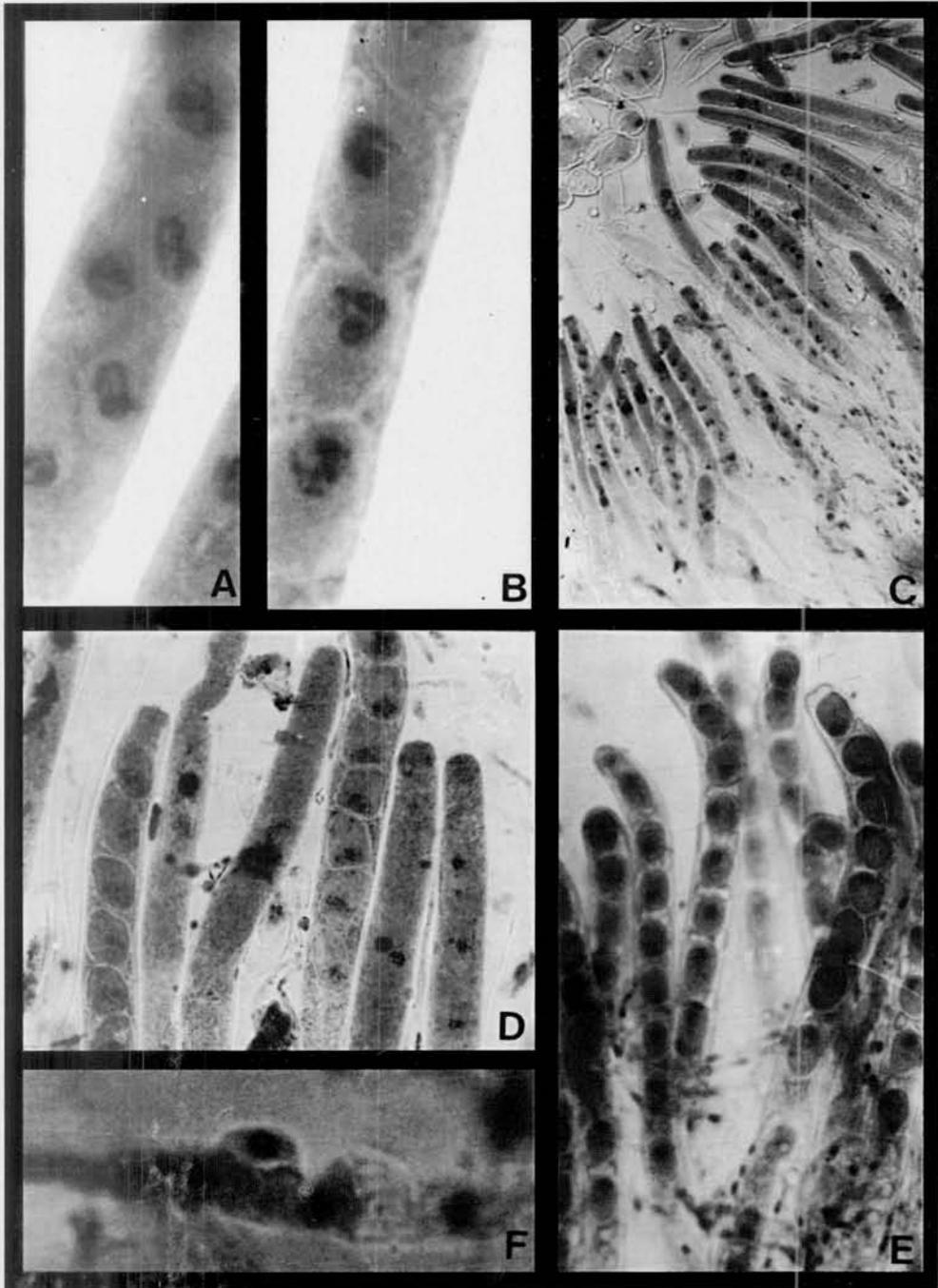


Lámina 4: A: Esporogénesis. *C. berteroi*, x 1500. B: Asco con esporas recién formadas. *C. berteroi*, x 1500. C: Ascospores diploides, haploides y con esporas, de un mismo apotecio. *C. berteroi*, x 200. D: Semejante a la anterior. Se observan dos ascospores diploides, uno en diacinesis, uno en prometafase III y dos con esporas. *C. harioti*, x 500. E: Ascospores con esporas uninucleadas maduras. Los ascospores están curvados porque son fototrópicos positivo. *C. harioti*, x 500. F: Ganchos fallidos de una hifa dicariótica. *C. harioti*, x 1500.