

PROBLEMAS TAXONOMICOS EN EL ORDEN DIATRYPALES. CONTRIBUCION A SU ESCLARECIMIENTO I.¹

Por CECILIA CARMARAN* y ANDREA I. ROMERO*

Summary *Taxonomic problems in the order Diatrypales. Contribution to its elucidation I.* This study looks for new or no well-known characters in an attempt to clarify the bounds among the genera. The asci of six species (fresh materials) and other thirty from herbarium were studied with fluorescence microscopy. The stromata with respect to their positions in/on the substratum and the perithecia positions in the stroma were analysed as well. Two basic types of stroma (A, B) and three types of asci (1, 2, 3) were found in the following combinations: A-1, A-3 and B-2. This could be used to separate the genera: A-1 = *Diatrype*, A-3 = *Diatrypella* and B-2 = a genus for which we should propose a new name.

INTRODUCCION

El orden Diatrypales perteneciente a la clase *Hymenoascomycetes*, División *Ascomycotina*, incluye en la actualidad a la familia *Diatrypaceae* (Ainsworth *et al.*, 1983) fundada por Nitschke en 1867. Por su distribución geográfica se la puede considerar cosmopolita. En cuanto a su presencia en Sudamérica, Spegazzini (1898, 1909, 1912) recolectó muestras en Argentina, Brasil, Chile y Paraguay. Los materiales argentinos descriptos proceden de Buenos Aires, Mendoza, Tucumán, Tierra del Fuego e Islas de los Estados.

Identificar organismos pertenecientes a esta familia es una tarea muy fácil, debido a que todos los miembros del grupo exhiben gran homogeneidad en sus caracteres diagnósticos. De esto se desprende que nos hallamos en presencia de un grupo natural y justamente esta condición es la que lo hace fácilmente reconocible como familia, pero hace difícil la individualización de los géneros, de hecho los límites entre éstos son muy confusos en la actualidad.

Las claves realizadas por Rappaz (1987) son un ejemplo representativo de esta situación. En sus claves específicas aparecen no sólo especies del género considerado en dicha clave, sino que podemos encontrar especies pertenecientes a otros géneros. Por ejemplo, *Diatrype patagonica*, se halla tanto en la clave del género *Diatrype*, como también en la de los géneros *Eutypa* y *Eutypella*.

También los estados anamorfos presentan gran uniformidad (Glawe & Rogers 1984). *Libertella*, *Cytosporina* y *Naemospora* son los géneros-forma registrados hasta hoy como anamorfos de esta familia, siendo el primero de ellos el más comúnmente encontrado.

Por todo esto se consideró necesario hacer hincapié en aquellos caracteres que hasta hoy han sido ignorados, o ligeramente estudiados y que permiten mejorar la taxonomía de la familia. Por ello recurrimos a la microscopía de fluorescencia para el estudio de la morfología ascal (Romero & Carmarán, 1990).

El objetivo de este trabajo es dar los primeros pasos hacia el esclarecimiento de la taxonomía del orden *Diatrypales*, realizando un estudio comparativo preliminar de diferentes caracteres, intentando evaluar cuales de éstos son importantes al nivel genérico y cuales al nivel específico, así como la existencia de posibles correlaciones entre ellos.

De los 10 géneros considerados dentro de la familia, en la actualidad (Barr 1989), hemos estudiado en este trabajo, especies pertenecientes a 5 de ellos, siendo 4 los más representativos de la familia: *Diatrype* con 56 especies, *Eutypa* con 26, *Eutypella* con 76 (Rappaz, 1987) y *Diatrypella*, con 30 (Ainsworth, 1983); el quinto, es el género, *Dothideovalsa* Speg., cuya especie tipo es argentina. Los 5 restantes, *Cryptosphaeria*, *Cryptovalsa*, *Rostromitschia*, *Echinomyces* y *Leptoperidia*, son géneros muy pequeños en número de especies, poco frecuentes e incluso, algunos de ellos de ubicación dudosa dentro de esta familia (Rappaz, 1987). Nuestra hipótesis es que este número de géneros puede ser reducido, así como el número de es-

¹ Publicación N° 35 del PRHIDEB, CONICET.

* Laboratorio de Micología, Dpto. de Cs. Biológicas, Facultad de Cs. Exactas y Naturales, UBA.

pecies, una vez esclarecidos los conceptos genéricos.

Historia sinóptica de la familia *Diatrypaceae*

Fries (1849) describe los géneros *Diatrype*, *Enchonoa* y *Valsa* y los ubica en la familia "Pyrenomyces", reconociendo por primera vez la categoría genérica para estos taxones. A partir de este momento varios autores estudiaron este grupo reorganizándolo con diferentes criterios. Entre los más importantes están: Tulasne (1863) y Nitschke (1867) que propone la reunión de los géneros *Calosphaeria*, *Diatrype*, *Quaternaria*, *Scoptria* y *Diatrypella*, en la familia *Diatrypaceae*. Posteriormente Saccardo (1882), von Höhnelt (1918), Clements y Shear (1931), Croxall (1950) y Schrantz (1960) continuaron el estudio del grupo. Por otro lado, existen desacuerdos en cuanto a su composición genérica, su categoría taxonómica y su posición taxonómica en los sistemas de clasificación. Así Müller y Von Arx (en Ainsworth *et al.*, 1973) ubican a la familia *Diatrypaceae* en el orden *Sphaerales*; Vasiljeva (1984-85) realiza un estudio sobre los criterios genéricos en la familia *Diatrypaceae*, pasando a sinonimia algunos géneros. Finalmente Rappaz (1987) hace una revisión de la familia, estudiando detenidamente los géneros octosporados y Barr (1989) en un trabajo general de *Hymenoascomycetes* reconoce el orden *Diatrypales* incluyendo los géneros reconocidos por Rappaz (*op. cit.*).

MATERIALES Y METODOS

Se estudió material fresco y material de herbario. En el primer caso, se trabajó con 29 muestras procedentes de los bosques de Santa Catalina, Llavallol y una de Escobar, provincia de Buenos Aires. Estas localidades pertenecen a la selva marginal de la provincia fitogeográfica Pampeana, distrito pampeano oriental (Cabrera, 1971). En el segundo caso, se utilizaron ejemplares de los herbarios BAFC, LPS y BPI. Las abreviaturas de los herbarios corresponden a Holmgren y Keuken (1974).

Las muestras se obtuvieron a partir de porciones de ramas caídas o vivas en las que se observaron estructuras características del grupo. Estas se colocaron en sobres de papel absorbente para evitar su humedecimiento, y un posible ataque por parte de otros hongos.

Para el estudio sistemático de cada una de las muestras se utilizaron: a) microscopio de campo claro y b) microscopio de fluorescencia. En el caso a) los preparados se realizaron en los medios de montaje usuales para hongos (KOH 5%, floxina 1%, reactivo de Melzer, etc.) y en el caso b) se

efectuaron en una solución de calcofluor 0,05% en buffer fosfato de potasio, pH 8 (Romero & Minter, 1988).

Los fotografías fueron tomadas utilizando películas fotográficas de 100 ASA Ektachrome con una cámara Nikon. Todas las mediciones se realizaron con ocular graduado montando el material en KOH 5%-Floxina. Los dibujos se realizaron con cámara clara.

En algunos casos se intentó el aislamiento y cultivo de las especies recolectadas utilizando para ello medios de cultivo semisintéticos, tales como extracto de malta agarizado (ME) y "corn meal" agar (CM). Los cultivos se obtuvieron por aislamiento directo con aguja estéril a partir de la muestra.

RESULTADOS

En esta primera contribución al estudio de este orden se presentan los resultados concernientes a: I) Estromas y II) Ascos.

Muestra 1: (Fig. 1: A-D; 2: A-D)

I) *Estroma*: se observan pequeños discos de color castaño oscuro. En corte longitudinal se observa un estroma superficial, subperidérmico, que presenta exteriormente una capa castaña por debajo de la cual se halla una zona blanca que conforma el interior del estroma. Peritecios subglobosos a cilíndricos, totalmente inmersos en el estroma, con papilas o cuellos cortos.

II) *Ascos*: fusiformes con un pie fino y largo, su porción subapical se ve atravesada por un canal citoplasmático que puede terminar apical o subapicalmente. En el ápice, romo, puede observarse una pequeña barra refringente con reacción amiloide al utilizarse reactivo de Melzer. Estos ascos son octosporados, acompañados por paráfisis largas y delgadas, ascosporas alantoides, pequeñas, levemente castañas. Con epifluorescencia se pudo observar sin dificultad las paredes del asco, el canal citoplasmático aparece como una zona opaca en medio de una ancha faja fluorescente, también pueden observarse dos puntos fuertemente fluorescentes en el lugar correspondiente a la barra refringente. Pueden distinguirse ascos abiertos, coincidiendo las observaciones con lo informado por Romero & Minter (1988), en éstos los dos puntos observados anteriormente aparecen conformando un anillo apical. Cabe destacar que con éste tipo de reactivo se observan en forma espectacular las hifas ascógenas.

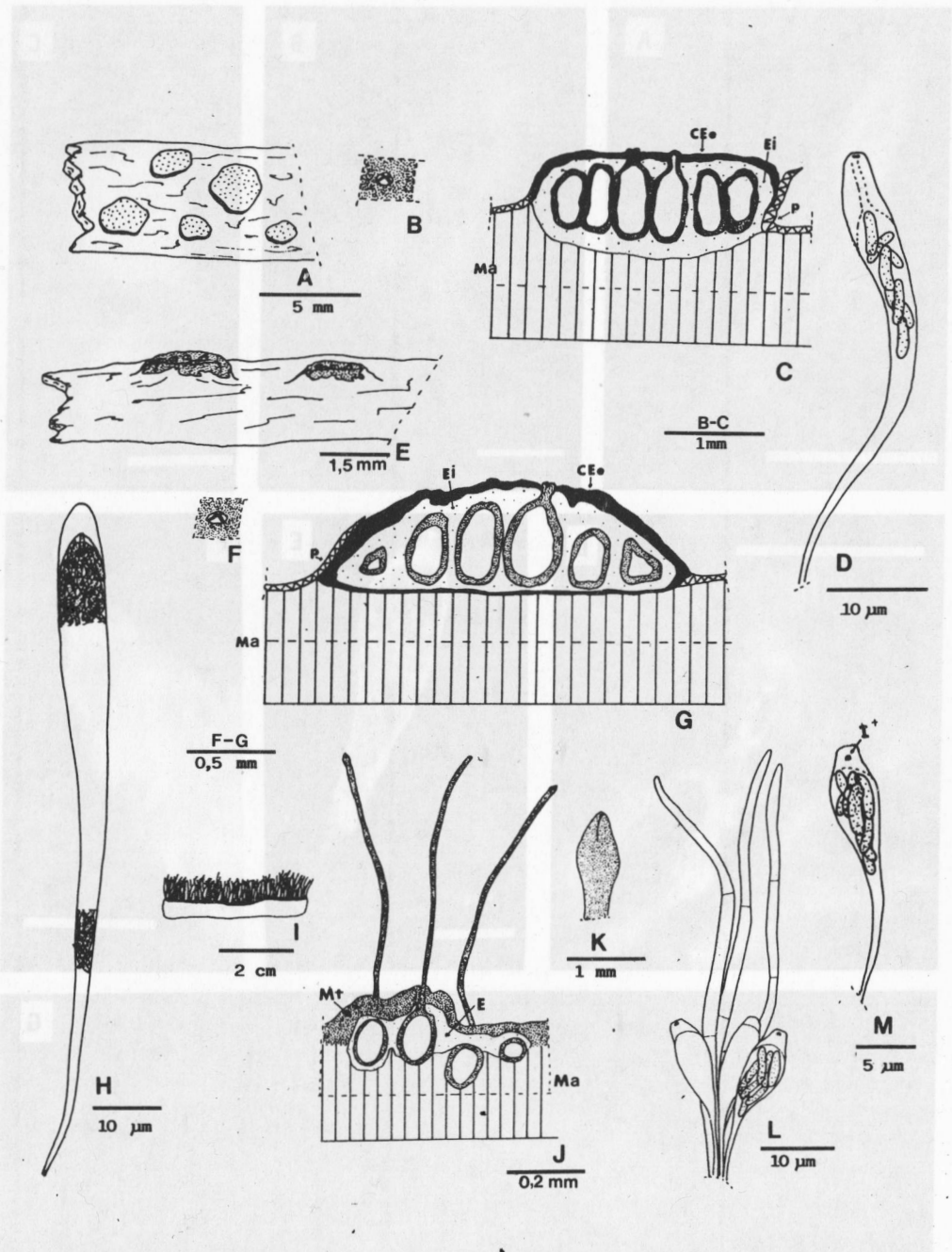


Fig. 1.-- *Diatrype disciformis*: A: aspecto general (esquema), B: detalle del ostiolo; C: estroma en corte longitudinal; D: asco montado en KOH-floxina, observe el canal citoplasmático y la barra apical refringente. *Diatrypella* sp.: E: aspecto general (esquema); F: detalle de ostiolo; G: estroma en corte longitudinal; H: detalle de asco montado en KOH-floxina, observe el citoplasma invadiendo levemente la pared apical. *Eutypella comosa*: I: aspecto general (esquema); J: estroma en corte longitudinal; K: detalle de ostiolo; L: conjunto de ascos y paráfisis; M: asco montado en reactivo de Melzer, I+ estructura amiloide, (Cee: capa estromática externa, Ei: región interna del estroma, p: peridermis, Ma: madera, E: estroma, mt: madera con taninos).

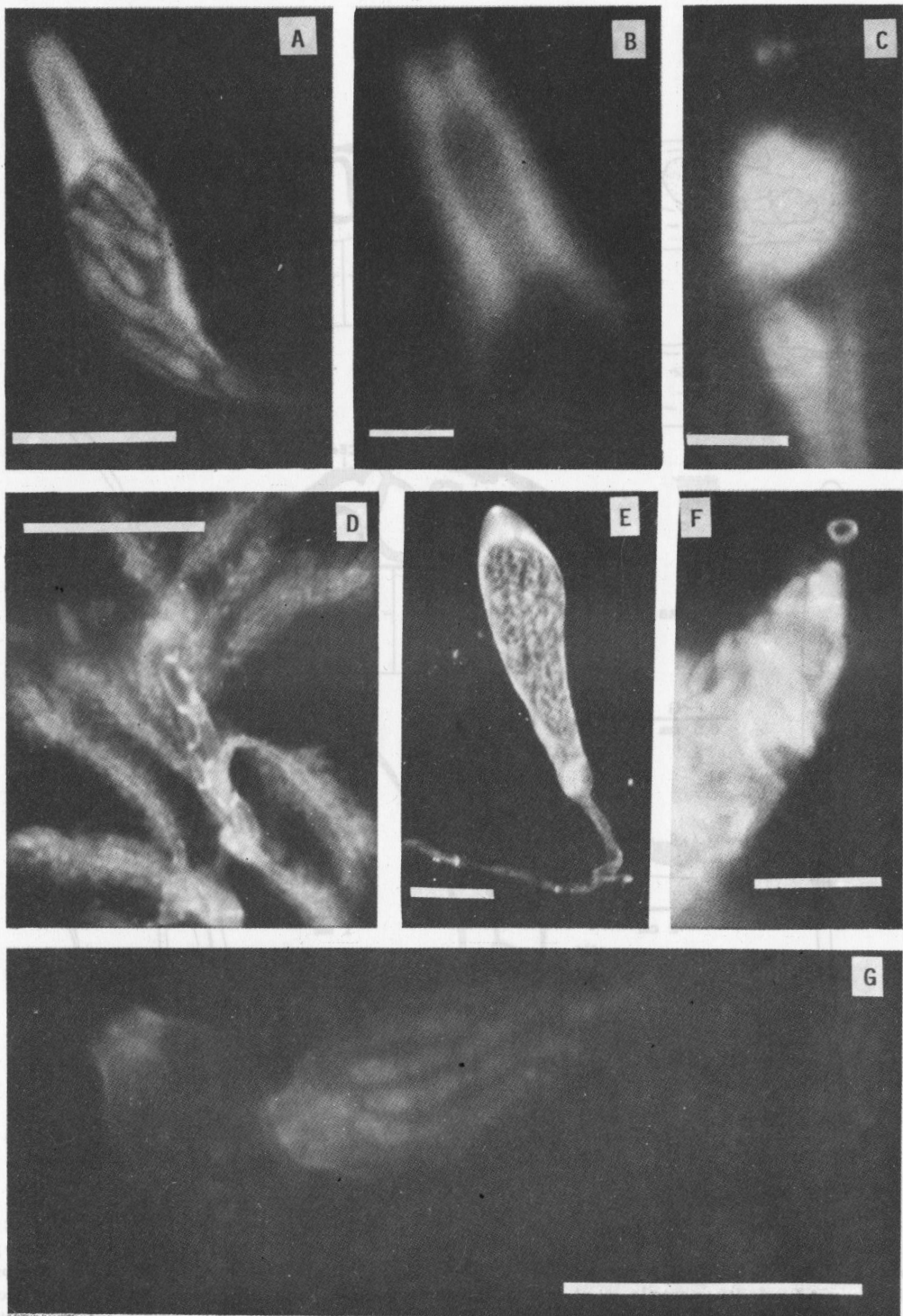


Fig. 2.-- *Diatrype disciformis*: A: ascó cerrado; B: detalle de región apical, note la fluorescencia diferencial de la zona que bordea al canal citoplasmático, visualizándose éste como una zona interna poco fluorescente, también puede distinguirse la zona del anillo apical; C: ascó abierto, se observan manchas fuertemente fluorescentes sobre áreas de menor fluorescencia; D: hifas ascógenas. *Diatrypella* sp.: E: ascó, observe las capas de la pared ascá diferencialmente fluorescentes; F: detalle de aparato apical, se puede observar el anillo netamente fluorescente. *Eutypella comosa*: G: detalle de ascos libres. Escalas: A, C = 5 μ m; B = 1 μ m; D, E, F, G = 10 μ m.

Esta muestra podría reconocerse como *Diatrype disciformis* (Hoff.: Fr.) Fr., sensu Rappaz (1987).

Material estudiado:

REINO UNIDO. Gales, Castell Henllys, Dyfed, 28-5-1987, leg. A.I. Romero (BAFC 32.458).

Muestra 2:

(Fig. 1: E-H; 2: E-F)

I) *Estroma*: de forma más o menos circular, a veces más irregular, de color castaño oscuro, con ostíolos poco visibles, que se eleva, rompiendo la peridermis. En corte longitudinal se observa un estroma superficial, subperidérmico, que presentan una capa externa castaña y por debajo de ésta un material amorfo, de color blanco, rodeando a los peritecios; estromas totalmente maduros no presentan en su interior este material blanco sino que son de color castaño homogéneo. Peritecios globosos a subglobosos, generalmente dispuestos a una misma altura, alcanzando la superficie por medio de cuellos cortos.

II) *Ascós*: de un tamaño relativamente grande en comparación a los más comunes en la familia; claviformes, poseen en la zona apical un engrosamiento de la pared, por debajo del cual, con un límite convexo, comienza el citoplasma; se puede observar que éste forma una pequeña protuberancia que invade la pared apical. Estos ascós son poliesporados, acompañados por paráfisis delgadas, tabicadas que no sobresalen por sobre el nivel de los ascós, con ascósporas pequeñas, alantoides. Con epifluorescencia las paredes del ascó se hacen muy visibles pudiéndose distinguir, especialmente en la parte superior del ascó, dos zonas, una interna fuertemente fluorescente y otra externa menos fluorescente; por otra parte, en el ápice del ascó se observa un punto pequeño muy brillante, que en vista apical corresponde a un anillo diminuto. En este material también se observan hifas ascógenas.

Esta muestra podría reconocerse como *Diatrypella sp.*, de acuerdo con Barr (1989).

Material observado:

ARGENTINA. Prov. Buenos Aires, Pdo. Escobar, Paraná de las Palmas, 9-2-1991, col. C. Carmarán (BAFC 32.457).

Muestra 3:

(Fig. 1: I-M; 2: G)

I) *Estroma*: superficial con mechones negros que corresponden a los cuellos de los peritecios que tienen una longitud de 4-6 mm, son de color negro

brillante y rematan en un ostíolo difícil de observar, ya que debido a su longitud los cuellos son muy frágiles; sin embargo a veces es posible observar que el ostíolo se halla lateralmente comprimido. En corte longitudinal se observa un estroma difuso, desarrollado encima de los peritecios, para luego diluirse en el tejido huésped; puede estar muy extendido formando una capa irregular, o disponerse en grupos discretos. Peritecios globosos a subglobosos a veces algo superficiales, pero también inmersos a bastante profundidad.

II) *Ascós*: son sumamente difíciles de observar por su tamaño muy reducido y paredes inconspicuas, claviformes, antes de llegar al ápice, presentan una constricción a partir de la cual se observa la pared engrosada. Las esporas se ubican por debajo de esta zona apical, que no posee ningún tipo de canal que lo atraviese. En su ápice, se pudo observar un botón pequeño amiloide con reactivo de Melzer. Estos ascós son octosporados, acompañados de paráfisis largas, delgadas y tabicadas, ascósporas alantoides, pequeñas. Con epifluorescencia, se observan fácilmente, sus paredes fluorescen nítidamente y esta fluorescencia se hace más pronunciada en el extremo apical, donde puede observarse un punto fuertemente fluorescente cuya ubicación coincide con aquella observada en el reactivo de Melzer.

Además de la muestra aquí descrita exhibieron las mismas características otras 5, excepto que una de ellas se encontró sobre árbol vivo.

Estas muestras se podrían determinar como *Eutypella comosa* (Speg.) Rappaz (sensu Rappaz 1987).

Material estudiado:

ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: Pdo. Llavallol, Santa Catalina, 5-1989 y 1990, col. C. Carmarán, (BAFC 32.449; 32.450; 32.451).

Muestra 9:

(Fig. 3: A-D; 4: A-B)

I) *Estroma*: discoide negro, algo elevado con respecto al sustrato, en los cuales se individualizan los ostíolos profundamente surcados. En corte longitudinal, se puede observar que este disco es superficial y que los estromas se hallan unidos por una capa negra que se extiende por debajo de la peridermis y posee un grosor similar a ésta. Peritecios de forma globosa a subglobosa, inmersos en la madera, en distinto o igual nivel; cuellos largos ya que si bien no sobresalen mucho con respecto a la superficie del sustrato, deben atravesar parte de la

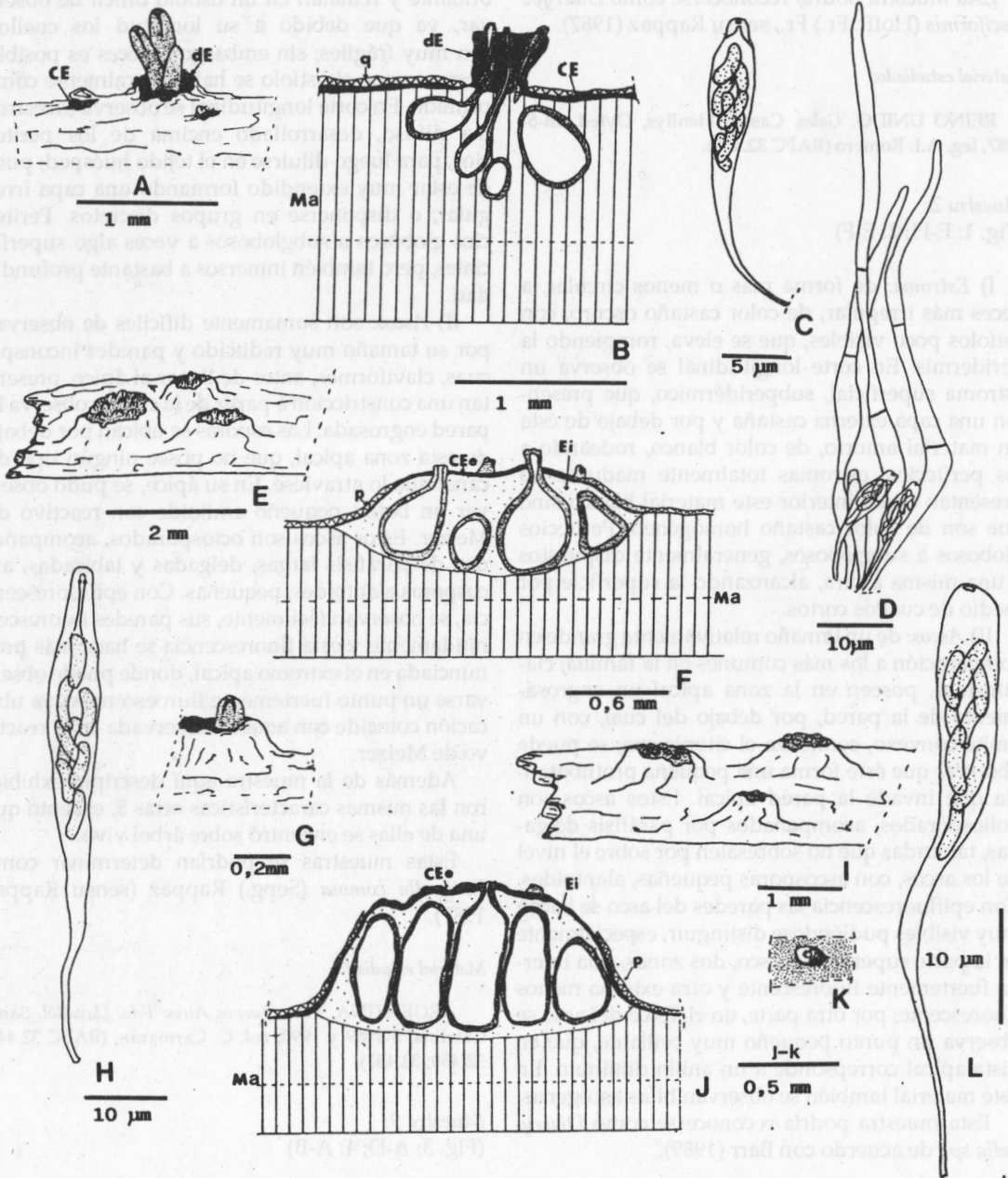


Fig. 3.-- *Eutypella scoparia*: A: detalle de un grupo de cuellos, los ostiolos surcados atravesando el disco y la capa estromática superidérmica (flechas); B: estroma en corte longitudinal; C: asco montado en KOH-floxina, con un punto refringente apical; D: conjunto de ascos y paráfisis. *Eutypella* sp.: E: aspecto general (esquema 10x); F: estroma en corte longitudinal; G: detalle de ostiolo; H: asco en reactivo de Melzer, con estructura amiloide apical. *Diatrype flavovirens*: I: aspecto general (esquema 10x); J: estroma en corte longitudinal; K: detalle de ostiolo no surcado; L: asco citoplasmático, con estructura apical refringente; (dE: disco estromático, p: peridermis, cE: capa estromática, Ma: madera, CEe: capa estromática externa, Ei: región estromática interna).

madera y el disco estromático donde se agrupan para alcanzar el exterior.

II) *Ascos*: claviformes, con la pared ensanchada apicalmente y terminando en un extremo compri-

mido, cilíndrico. Son también ascos pequeños y de pared muy delicada y con una estructura amiloide apical, octosporados, acompañados por paráfisis delgadas, irregulares y tabicadas, ascosporas alan-

toides, pequeñas. Con epifluorescencia: las paredes de los ascos son perfectamente visibles y su fluorescencia aumenta hacia el ápice; en él se puede ver un punto fuertemente fluorescente ubicado justo por debajo del ápice, coincidiendo con el observado con reactivo de Melzer.

Además de la muestra descrita se hallaron con las mismas características otras 12; en una de las cuales los cuellos están acompañados por pelos irregulares, de color castaño oscuro, que observados con el microscopio están formados por grupos de hifas compactas muy melanizadas.

Estas muestras podrían ser reconocidas como *Eutypella scoparia* (Schwein.: Fr.) Ellis & Everh. sensu Rappaz (1987).

Material estudiado:

ARGENTINA. Prov. Buenos Aires, Pdo. Llavallol, Santa Catalina, 5-1990 y 1989, col. C. Carmarán, (BAFC 32.454; 32.455).

Muestra 22:

(Fig. 3: E-H; 4: C-D)

I) *Estroma*: de color castaño oscuro, que se eleva sobre la superficie del sustrato; sobre él son visibles los ostíolos apenas elevados, profundamente surcados. En corte longitudinal, se pudo observar que por debajo de la capa externa más oscura se encuentra un material amorfo, de color blanco que rodea a los peritecios. Peritecios subglobosos a cilíndricos, dispuestos generalmente en un mismo nivel, cuellos cortos.

II) *Ascos*: fusiformes, el extremo del asco consiste en una porción angosta, extendida que corresponde a un engrosamiento local de la pared, éste se encuentra atravesado por un canal citoplasmático a veces muy visible. En reactivo de Melzer se registró, aunque no en todos los casos, una reacción leve en forma de dos puntos apicales azul claro. Estos ascos son octosporados, acompañados de paráfisis simples, largas y delgadas, ascosporas alantoides, pequeñas. Con epifluorescencia, se pudo observar que la pared fluoresce en forma diferencial, siendo más marcada en la porción apical, visualizándose en ella el canal como una zona no fluorescente en el medio, delimitado por una línea fluorescente; pero pasado unos pocos segundos de realizado el preparado se observa una pérdida gradual de fluorescencia, especialmente en la zona apical; ésta da la sensación de una dilución lenta de algún sector de la pared ascas. Terminada esta reacción, el asco se observa perfectamente pero con una fluorescencia uniforme en toda su

longitud, unido a éste aparece un cambio en su morfología, adquiriendo la porción apical un diámetro parejo con respecto al resto del asco y se hace muy evidente el anillo en el ápice. Cabe destacar que durante estos hechos no se observó ningún tipo de descarga de ascosporas; y no se encontraron previa ni posteriormente ascos abiertos. También pueden observarse hifas ascógenas.

Además de la muestra descrita exhibieron estas mismas características otras 9, y se encontró en ellas diversidad en cuanto a la prominencia de los ostíolos.

Estas muestras podrían reconocerse como *Eutypella sp.* sensu Rappaz (1987).

De 3 de las muestras recogidas se obtuvo en cultivo, en ME, el estado anamorfo *Libertella sp.*

Material estudiado:

ARGENTINA. Prov. Buenos Aires, Pdo. Llavallol, Santa Catalina, 5-1989 y 1990, col. C. Carmarán, (BAFC 32.452; 32.453).

Muestra 32:

(Fig. 3: I-L; 4: E-G)

I) *Estroma*: superficial, de color castaño que se eleva parcialmente sobre el sustrato. Los ostíolos simples se hallan en el centro levemente deprimido, de prominencias circulares sobre el estroma. En corte longitudinal, se observa que por debajo de la capa externa castaña se encuentra un material amorfo de color verdoso, que rodea a los peritecios. Peritecios subglobosos a cilíndricos, generalmente en un mismo nivel, cuellos reducidos.

II) *Ascos*: claviformes con un ápice redondeado, donde presenta un engrosamiento apical de la pared. A veces se observa el ápice colapsado, con una zona central deprimida quedando el extremo apical romo. En reactivo de Melzer los ascos presentan reacción amiloide en forma de un punto azul claro en el ápice, en los ascos colapsados este punto aparece subapicalmente; octosporados, acompañados por paráfisis aisladas, delgadas, algo irregulares, ascosporas alantoides, pequeñas. Con epifluorescencia, la fluorescencia de las paredes del asco es más marcada en el ápice. Aquellos ascos con su extremo colapsado se hacen muy visibles, observándose su parte apical invaginada, con un punto fuertemente fluorescente en la misma ubicación que aquel observado con reactivo de Melzer, siendo también observable en los ascos normales. También pueden observarse hifas ascógenas.

Esta muestra podría determinarse como *Diatrype flavovirens* (Pers.: Fr.) Fr., sensu Rappaz (1987).

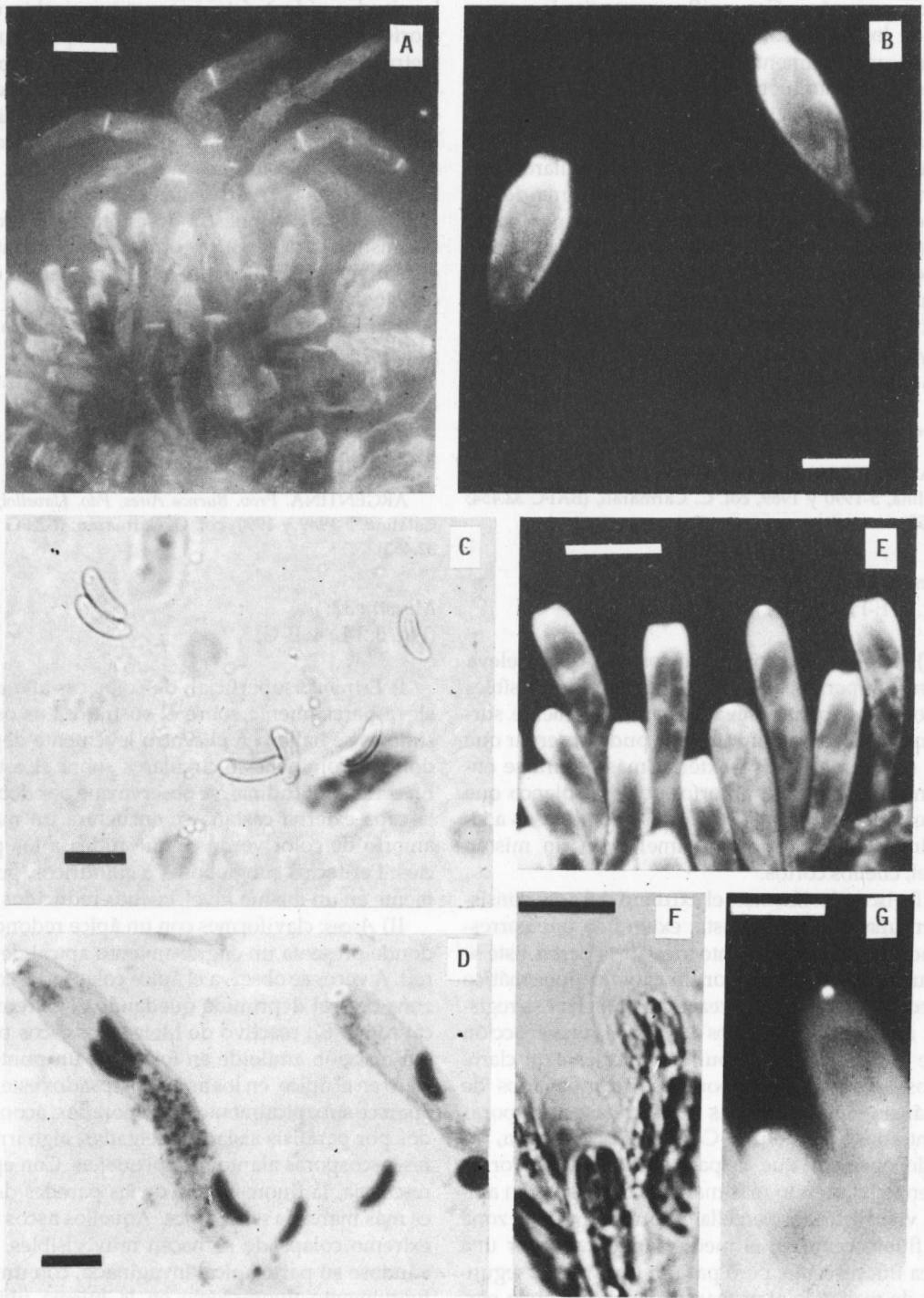


Fig. 4.-- *Eutypella scoparia*: A: grupos de ascos acompañados de paráfisis, observe los tabiques de éstas fuertemente fluorescentes; B: ascos libres. *Eutypella* sp.: C-D: misma escena, C con microscopio de campo claro y D con epifluorescencia note la correlación de las esporas entre ambas fotos, observe como en fluorescencia se hace visible la pared del ascó y el anillo apical. *Diatrype flavovirens*: E: grupo de ascos, pueden observarse algunos de ellos con el ápice colapsado, F-G: misma escena, F con microscopio de campo claro, apenas se observa la pared, G: con epifluorescencia, note la pared gruesa apical y el aparato apical. Escalas: A, E = 10 μ m; B, C, D, F, G = 5 μ m.

Material estudiado:

ARGENTINA. *Prov. Corrientes, Dpto. Capital, Corrientes*, 1987, leg. O. Popof (BAFC 32.456).

En las muestras 1, 2, 22-32 se encontró que el estroma presentaba en su capa mas externa, una textura "angularis" de células pigmentadas y en su zona interna una textura "intricata" de hifas pigmentadas o incoloras.

Además de estas muestras frescas se analizaron 30 materiales de herbario. Entre éstos estudiamos el género *Dothideovalsa* (Speg., *Anales Mus. Nac. Nat. Buenos Aires*, 19: 414. 1919), *D. tucumanensis* Speg. (Holotipo! LPS). Este es un taxon conflictivo ya que de la descripción de Spegazzini se desprende que la consideraba dentro de los *Loculoascomyces*, por no poseer peritecios. Theissen y Sydow (1919) la ubicaron en *Dothideaceae*. Petrak (1934, 1951) la considera *Diatrypaceae*, inclusive propone la combinación de *Eutypa tucumanensis* (Speg.) Petrak, opinando que ninguna *Dothideaceae* tiene esporas alantoides. Spegazzini (1909), Theissen y Sydow (1919) y Shear (1939) consideran que no existe pared peritecial. Rappaz (1987) confirma dicha ausencia, pero interpreta la pared que se observa de dos maneras: 1) toda la pared observada es la pared peritecial, fuertemente desarrollada ó 2) por el contrario, que la pared peritecial está reducida sólo a una capa de células hialinas poco distinguible del subhimenio. Sumando a este argumento la presencia de ascosporas alantoides y coloreadas, sus ascos unitunicados, pedicelados, y los ostíolos a veces surcados, la mantiene en *Diatrypaceae* hasta que se realicen más estudios.

Desafortunadamente, el material no se halla en buenas condiciones como para tomar una decisión concluyente. Pero ninguna de las interpretaciones de Rappaz nos parece aceptable.

Los restantes 29 materiales, se estudiaron por comparación con las muestras en fresco; en el caso de los caracteres microscópicos sólo se examinaron con microscopía óptica común. Los resultados de éstas se presentan en el cuadro N° 2, en la discusión.

DISCUSION - CONCLUSION

Durante las observaciones realizadas se encontraron dos variantes básicas de éstomas en cuanto a posición del estroma con respecto al sustrato y la posición de los peritecios con respecto al estroma.

Tipo A: este tipo se caracteriza porque estromas y peritecios comparten la misma ubicación. El estroma es conspicuo, se desarrolla subperidérmica-

mente, muy raramente invade el tejido xilemático y en él se diferencian una capa externa, generalmente de textura "angularis" de células pigmentadas y una zona interna usualmente de textura "intricata", de hifas incoloras o pigmentadas; en cuanto a los peritecios, están completamente inmersos en él, generalmente en el mismo nivel; poseen papilas o cuellos, los ostíolos pueden ser simples o surcados. Ejemplos: muestra *Diatrype disciformis*, *D. flavovirens*, *Diatrypella* sp., *Eutypella* sp.

Tipo B: este tipo se caracteriza porque estromas y peritecios no comparten exactamente la misma ubicación. El estroma es de menor espesor y no diferenciado en zonas o capas, pero sigue siendo subperidérmico, aunque algunas veces se interna hacia las capas más externas de xilema, en cambio los peritecios poseen sus vientres parcial o totalmente inmersos en el tejido xilemático. En algunos casos los cuellos pueden emerger a través de un disco estromático reducido. Ejemplos: *Eutypella comosa*, *Eutypella scoparia*.

Así también se encontró que el carácter "asco" considerado uniforme en la familia hasta el momento no es tal y, por el contrario, nos encontramos frente a tres tipos básicos de ascos:

Tipo 1: en este tipo incluimos las variaciones morfológicas desde ascos claviformes a fusiformes. A) asco claviforme, con la pared engrosada apicalmente, sin canal citoplasmático, con un pequeño aparato apical amiloide, éste aparece como un único punto brillante al ser observado con microscopio de fluorescencia. Son octosporados. Ejemplo de este tipo es el correspondiente a *Diatrype flavovirens*. B) asco fusiforme, con la región apical angosta, de pared gruesa y atravesada por un canal citoplasmático, con un aparato apical débilmente amiloide, que observado con microscopio de fluorescencia, aparece como un anillo en el ápice; en algunas especies sólo es visible en los ascos abiertos. Son octosporados. Ejemplos de este tipo son *Diatrype disciformis* y *Eutypella* sp.

Tipo 2: asco claviforme, ápice constreñido formando un extremo cilíndrico, constituido únicamente por pared; sin canal, con aparato apical notablemente amiloide apareciendo como un único punto brillante con microscopio de fluorescencia. Son octosporados. Ejemplos de este tipo son *Eutypella comosa* y *Eutypella scoparia*.

Tipo 3: asco claviforme, con pared gruesa en el ápice, sin canal, cuyo citoplasma puede penetrar levemente en la pared y sin reacción amiloide. Con microscopio de fluorescencia se observa un anillo apical, muy pequeño y se diferencia en la pared ascal dos zonas, una interna fuertemente fluorescente y una externa débilmente fluorescente. El anillo no se observa con microscopía de campo

claro ni en Melzer. Polisporado. Ejemplo de este tipo es *Diatrypella* sp.

En el cuadro N° 1 se especifican las relaciones que existen entre las especies estudiadas con los tipos de estromas y ascos propuestos:

Cuadro N° 1

Lista de especies	Tipo de estromas		Tipos de ascos		
	A	B	1	2	3
<i>Diatrype disciformis</i>	+		+		
<i>Diatrype flavovirens</i>	+		+		
<i>Eutypella</i> sp.	+		+		
<i>Diatrypella</i> sp.	+				+
<i>Eutypella comosa</i>		+		+	
<i>Eutypella scoparia</i>		+		+	

Esta relación que también se observó en los materiales de herbario consultados, se detalla en el cuadro N° 2.

Al comparar los datos de los cuadros, encontramos tres grupos de especies basándonos en estos dos caracteres relacionados. En el primero de estos grupos, el estroma tipo A se correlaciona con el asco tipo 1; en el segundo se correlaciona, el estroma A con el asco tipo 3 y en el tercero el estroma tipo B se corresponde con el tipo de asco 2. Esto sugiere que estos caracteres, efectivamente, podrían utilizarse como criterios en la separación genérica. Nuestras observaciones nos permiten afirmar que otras variaciones dentro de los grupos mencionados corresponden a diferencias específicas y ninguno de los casos estudiados justifican, una separación genérica. De corroborarse esta situación quedaría en la familia el género *Diatrype* con caracteres A-1, *Diatrypella* con caracteres A-3 y

Cuadro N° 2

Lista de especies	Tipos de estromas		Tipos de ascos		
	A	B	1	2	3
<i>Diatrype duriaei</i> Mont. LPS 7751	+		+		
<i>D. stigma</i> (Hoff.) Fr. BPI 2953; BAFC 26052*	+		+		
<i>Eutypa ailanthes</i> Sacc. LPS 2084	+		+		
<i>E. erythrinae</i> Speg. LPS 2079	+		+		
<i>E. fraxini</i> (Nitz.) Sacc. LPS 2359	+		+		
<i>E. lata</i> (Pers.) Tul. BPI 983*	+		+		
<i>E. lata</i> var. <i>andina</i> Speg. LPS 1938	+		+		
<i>E. leucostoma</i> Montag. LPS 7656	+		+		
<i>E. ludens</i> Speg. LPS 1935	+		+		
<i>E. paraphysata</i> Speg. LPS 2062	+		+		
<i>E. patagonica</i> Speg. LPS 2060	+		+		
<i>E. peraffinis</i> Speg. LPS 2068	+		+		
<i>E. preandina</i> Speg. LPS 2061	+		+		
<i>Eutypella anthracina</i> Speg. LPS 2123	+		+		
<i>E. citricola</i> Speg. LPS 2120	+		+		
<i>E. chilensis</i> Speg. LPS 2121	+		+		
<i>E. jaffueliana</i> Speg. LPS 2121	+		+		
<i>E. paradisiaca</i> Speg. LPS 2128	+		+		
<i>E. preandina</i> Speg. LPS 2127	+		+		
<i>E. sorbi</i> (Alb. & Schw.) Sacc. BPI 7-1906*	+		+		
<i>Diatrypella aspera</i> (Fr.) Nits. LPS 2918	+				+
<i>D. nigro-annulata</i> (Grev.) Nits. LPS 2959	+				+
<i>D. verruciformis</i> (Ehr.) Nits. LPS 2915	+				+
<i>Eutypella bonaerensis</i> Speg. LPS 2129		+		+	
<i>Eutypa tuyutensis</i> Speg. LPS 2063		+		+	
<i>Eutypa comosa</i> Speg. LPS 2080		+		+	
<i>Eutypa erythrinae</i> Speg. LPS 2079		+		+	
<i>Eutypella pusilla</i> sp. LPS 2118		+		+	
<i>Peroneutypa</i> sp. BAFC 25610		+		+	

* Especie tipo del género

un tercer género correspondiente al grupo con caracteres B-2, para el cual habría que proponer un nuevo nombre.

Por lo tanto las especies del cuadro N° 1 y N° 2 se corresponderían de la siguiente manera:

<i>Diatrype disciformis</i>	
<i>Diatrype flavovirens</i>	Género <i>Diatrype</i> (A-1)
<i>Eutypella sp.</i>	
<i>Diatrypella sp.</i>	Género <i>Diatrypella</i> (A-3)
<i>Eutypella comosa</i>	
<i>Eutypella scoparia</i>	Género a proponer (B-2)

Spegazzini (1898) describió originalmente estas dos últimas especies dentro del género *Eutypa*, como *Eutypa comosa* y *Eutypa tuyutensis* respectivamente. Rapaz (1987) las transfirió a *Eutypella* y consideró a *E. tuyutensis* como sinónimo de *Eutypella scoparia*.

En este caso se plantearía un problema nomenclatural ya que como puede apreciarse, *Diatrype disciformis*, *Eutypella sorbi* y *Eutypa lata*, especies tipo de los géneros respectivos, se hallan dentro del mismo grupo de caracteres correlacionados, es decir dentro de un mismo género.

Cabe destacar que el material estudiado perteneciente a las especies tipo de cada género, no son los tipos, razón por la cual todavía no se proponen las nuevas combinaciones.

Con los resultados obtenidos planteamos una clave tentativa que consideramos de suma utilidad para clarificar sobre todo, los materiales locales, ya que las claves disponibles involucran géneros del hemisferio norte y/u otros no válidos en la actualidad:

1. Estroma reducido, elevándose ligeramente, extendido o en disco, subcortical o mezclado con la corteza pero rara vez internándose en forma masiva en la madera; vientres inmersos y/o semi-inmersos en la madera a distintas alturas (cuanto más profundo se hallan, menos estroma hay a su alrededor); cuellos siempre presentes, si existe disco, lo atraviesan; ostíolos generalmente surcados (estroma tipo B). Ascósporas básicamente claviformes, con extremo apical cilíndrico-rombo, aparato apical amiloide (asco tipo 2)

Género a proponer.

1. Estroma desarrollado elevado, en disco, almohadilla o en placa, subcortical, peritecios papilados o con cuellos, inmersos en el estroma usualmente a la misma altura; ostíolos surcados o simples (estroma tipo A)
2. Ascósporas desde claviformes a fusiformes, con pared apical engrosada, atravesada o no por un canal cito-

plasmático, aparato apical usualmente amiloide, octosporados (asco tipo 1)

Diatrype

2. Ascósporas claviformes, con pared gruesa en el ápice, sin canal, cuyo citoplasma puede penetrar levemente en la pared, usualmente sin reacción amiloide, polisporados (ascos tipo 3)

Diatrypella

Este es un trabajo de iniciación en cuanto a la reorganización de la taxonomía de la familia que nos ha permitido elaborar el esquema de relación entre tipos de estromas y tipos de ascos. Para proponer definitivamente las combinaciones y/o taxones nuevos que aquí se sugieren es necesario no sólo el estudio de mayor número de materiales sino también el análisis de otros caracteres. Por ejemplo: profundizar en los rasgos estromáticos al nivel morfológico y de la química de pigmentos, materiales amorfos, etc, y de esta manera valorizar el mayor número posible de caracteres para poder utilizar algunas de las técnicas numéricas usuales que pongan a prueba la hipótesis planteada.

AGRADECIMIENTOS

A los directores de los herbarios BAFC, BPI y LPS por el préstamo de materiales. Al International Mycological Institute, Londres, Inglaterra y al United State of Agriculture, Beltsville, Estados Unidos por facilitar la realización de parte de las fotografías expuestas en este trabajo. Al Sr. Daniel Maestri por su ayuda en la preparación de las copias fotográficas. A la Dra. Silvia E. López por su constante colaboración.

BIBLIOGRAFIA

- AINSWORTH, G. G. & BISBY'S. 1983. *Dictionary of the fungi*. D. L. Hawksworth, B. C. Sutton and G. C. Ainsworth. CMI. 445 pp.
- AINSWORTH, G. C. & F. K. SPARROW, A. F. SUSMAN. 1973. *The fungi. An advanced treatise*. Vol IV. Academic press, New York and London. 621 pp.
- BARR, M. E. 1989. Prodrómulo to nonlichenized, pyrenomycetous members of clase *Hymenoascomycetes*. *Mycotaxon* 39: 43-184.
- CABRERA, A. 1971. Fitogeografía de la Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 14 (1-2): 1-43.
- CLEMENTS, F. E. & C. L. SHEAR. 1931. *The genera of fungi*. Hafner Publishing Co. New York. 612 pp.
- CROXALL, H. E. 1950. Studies on British *Pyrenomycetous*. III. The British species of the genus *Diatrypella* Cesati & De Notaris. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 33: 45-72.
- FRIES, E. M. 1849. *Summa veg. Scand.* 2: 259-572. Uppsala.
- GLAWE, D. A. & J. D. ROGERS. 1984. *Diatrypaceae* in the Pacific Northwest. *Mycotaxon* 2: 401-460.
- HOHNEL, F. VON. 1918. Über die allantoidsporigen Sphaericoceen. *Mykol. Fragm.* 262. *Ann. Mycol.* 16: 127-132.

HOLMGREN, K. & W. KEUKEN 1974. Index Herbariorum. Part I ed. 6., The Herbaria of the world. *Regnum Veg.* 92, 397 pp.

NITSCHKE, T. 1867. *Pyrenomyces Germanici*. Breslau.

PETRAK, F. 1934. Mycologische Notizen XII. *Ann. Mycol.* 32: 317-347.

-- 1951. Ergebnisse einer Revision der Grundtypen verschiedener Gattungen der Ascomyceten und fungi imperfecti. *Sydowia* 5: 169-198.

RAPPAZ, F. 1987. Taxonomie et nomenclature des Diatrypaceae à ascques octosporos. *Mycologia Helvetica* 2 (3): 285-648.

ROMERO, A. I. & C. C. CARMARAN 1990. Some species of *Diatrypales* studied with Fluorescence Microscopy. *Fourth International Mycological Congress, Regensburg, Germany*, Abstracts, 339.

ROMERO, A. I. & D. MINTER 1988. Fluorescence Microscopy: an aid to the elucidation of *Ascomycetes* structures. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 90: 457-470.

SACCARDO, P. A. 1882. *Sylloge fungorum omnium hucusque gnitorum*. Vol. I. Padua.

SHEAR, C. L. 1939. Mycological Notes 3. *Mycologia* 31: 322-336.

SCHRANTZ, J. P. 1960. Recherches sur des *pyrenomyces* de l'ordre des *Diatrypales* sensu M. Chadeveau, 1957. *Bull. Soc. Mycol. France* 76: 305-407.

SPEGAZZINI, C. 1898. *Fungi Argentini novi v. critici*. *Anales Mus. Nac. Hist. Nat. Buenos Aires* 6: 81-365.

-- 1909. *Mycetes Argentineses* 4. *Anales Mus. Nac. Hist. Nat. Buenos Aires* ser. 3, 12: 257-458.

-- 1912. *Mycetes Argentineses* 6. *Anales Mus. Nac. Hist. Nat. Buenos Aires*, 23: 1-146.

THEISSEN & SYDOW. 1919. Die *Dothidiales*. *Ann. Mycol.* 13: 289-290.

TULASNE, L. R. & C. TULASNE. 1863. *Selecta fungorum carpologia*. Vol. II. Paris.

VASILIEVA, N. 1986. Two new species of the family *Diatrypaceae*. *Nova Hedwigia* 43: 373-376.