

INTERACCION ENTRE LYCOPERDALES Y TULOSTOMATALES (BASIDIOMYCOTINA) Y SPHINDIDAE (COLEOPTERA)

Por EDUARDO R. NOUHRA¹ y LAURA D. DE TOLEDO²

Summary *Interaction between Lycoperdales and Tulostomatales (Basidiomycotina) and Sphindidae (Coleoptera).* The relationship of mutualism between *Tulostoma subsquamosum*, *T. ferrugineum*, *T. volvulatum* y *Vascellum pampeanum* and insects belonging to the family Sphindidae (Coleoptera) from Córdoba Province is studied. The life cycle of a *Coleoptera* is described for the first time for Argentina. Besides the fungus-insect interaction, the species *Tulostoma subsquamosum* is reported as a new one for Córdoba.

INTRODUCCION

Muchos insectos son importantes dispersores de esporas de hongos, por ejemplo, el caso de dípteros, coleópteros y hormigas (Gerard, 1880). En el caso particular de los Gasteromycetes, estos insectos se alimentan de la gleba, ingiriendo gran cantidad de esporas (Batra, 1979). Además, algunos coleópteros que se desarrollan y habitan en la gleba de algunas Licoperdáceas, son eficientes en la dispersión de las mismas (Sunhede, 1974).

En diversas salidas al campo y en colecciones de herbario se observaron numerosos ejemplares de Lycoperdales y Tulostomatales atacados por coleópteros, lo que llevó a intentar determinar el tipo de interacción entre éstos.

El objetivo de este trabajo fue determinar las interacciones existentes entre especies de los órdenes Tulostomatales y Lycoperdales y un coleóptero de la familia Sphindidae. Para ello, se realizaron estudios anatómicos e histológicos a ambas partes de la asociación para precisar el tipo de interacción.

MATERIAL Y METODO

Todos los materiales estudiados se encuentran depositados en el Herbario del Museo Botánico de Córdoba (CORD).

¹ Becario de C.O.N.I.C.O.R., Cátedra de Plantas Celulares, F.C.E.F.y N.

² Cátedra de Plantas Celulares. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV). Casilla de Correo 495. 5000. Córdoba. Argentina.

Se trabajó con gastrocarpos maduros que poseían insectos atacándolos o con indicios de su presencia, como por ejemplo aberturas en el peridio.

Los insectos adultos fueron retirados de los gastrocarpos y secados por separado para su posterior estudio, mientras que los gastrocarpos que presentaban indicios de poseer huevos o larvas en su interior, fueron colocados en cápsulas de Petri; los mismos fueron incubados a 22°C para permitir que las larvas completaran su desarrollo y para proceder luego, a la identificación de los adultos.

Los materiales incubados se observaron a diario, lo que permitió conocer el desarrollo de los insectos dentro del gastrocarpo y analizar de qué manera éstos afectaban sus estructuras.

Para la identificación de las especies fúngicas se siguió el mismo procedimiento que se menciona en nuestra contribución anterior (Nouhra y Domínguez de Toledo, 1992). La identificación de los insectos hasta el nivel de subfamilia, fue realizada por el Dr. Andrea Cócucci.

Se puso especial atención en el análisis de las esporas, ya que debido a sus características constantes y su resistencia, soportan el paso por el tracto digestivo, lo que permitió revelar su presencia en los excrementos de los insectos y mediante ellas identificar las especies fúngicas en cuestión. Además, se cuantificó la viabilidad de las esporas mediante una tinción citoplasmática, con colorante mixto de fucsina ácida y verde de malaquita (Alexander, 1980). Esta tinción se realizó sobre esporas: 1) provenientes del gastrocarpo y 2) esporas presentes en las deyecciones de los insectos, a fin de compararlas. El porcentaje de viabilidad se calculó sobre muestras de 300 esporas.

Material estudiado:

Ord. Tulostomatales

Tulostoma subsquamosum Long et Ahmad.

ARGENTINA. Prov. Córdoba: Dpto Cruz del Eje: Dique Cruz del Eje, 1-V-1990, L. Domínguez, E. Nouhra 931, (CORD).

Tulostoma ferrugineum Oliver et Hosford.

ARGENTINA. Prov. Córdoba: Dpto. Cruz del Eje: Dique Cruz del Eje, 1-V-1990, L. Domínguez, E. Nouhra 932, (CORD).

Tulostoma volvulatum Borschov.

ARGENTINA. Prov. Córdoba: Dpto Pocho: Chancaní, 1-V-1990, L. Domínguez, M. Cabido 933, (CORD).

Ord. Lycoperdales

Vascellum pampeanum (Speg.) Homrich.

ARGENTINA. Prov. Córdoba: Dpto Punilla: Icho Cruz, 25-III-1990, L. Domínguez 934, (CORD).

OBSERVACIONES Y RESULTADOS

Los cuatro especies fúngicas estudiadas, *Tulostoma subsquamosum*, *T. ferrugineum*, *T. volvulatum* y *Vascellum pampeanum*, se hallan asociadas a una misma especie de coleóptero de la familia Sphindidae, subfamilia Aphidiphorinae. Se trata de adultos de pequeño tamaño, nunca excediendo los 2 mm de longitud. Es una característica de estos insectos alimentarse de vegetales en descomposición, hongos en repisa y hongos polvera (Meixner, 1933-36).

A continuación, se describen las características de los gastrocarpos correspondientes a cada orden y más adelante, las modificaciones ocasionadas por los insectos sobre los mismos. Los gastrocarpos no atacados están constituidos por un saco esporífero (el cual contiene a la gleba) y un pie de consistencia firme en el caso de Tulostomatales, mientras que en

Lycoperdales, éstos son sésiles y presentan el saco esporífero dividido en gleba y subgleba. Estos cuerpos de fructificación son persistentes y de colores pardos poco contrastantes con el medio en que se desarrollan. La gleba es pulverulenta, casi siempre formada por capilicio y esporas y la dehiscencia se produce a través de un poro apical. Por su consistencia, suelen perdurar por mucho tiempo en el sustrato, lo que permite el ataque y el desarrollo de los insectos en su interior.

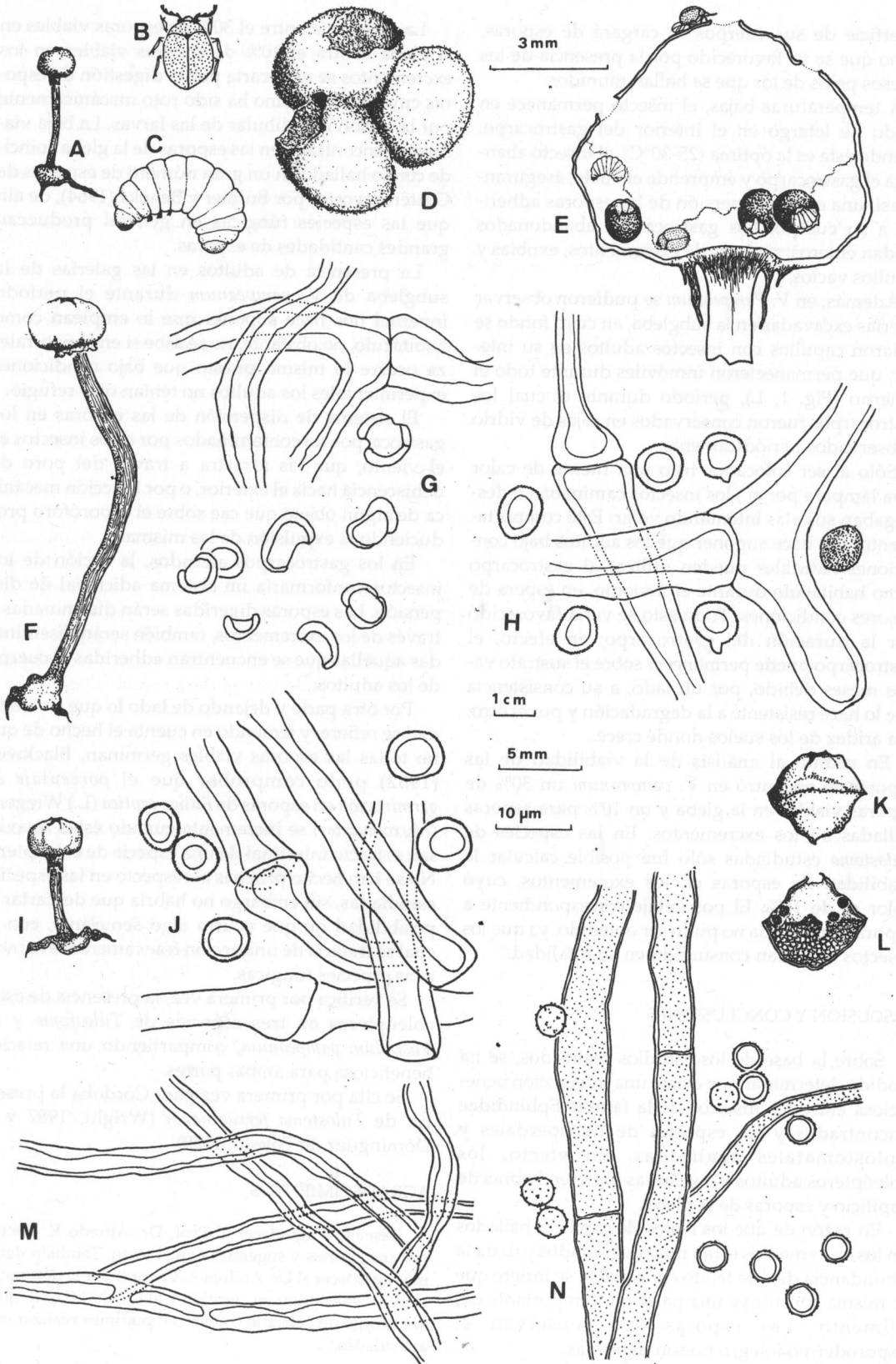
En las 3 especies analizadas de *Tulostoma* y en *Vascellum pampeanum* el desarrollo de los insectos es semejante. Los gastrocarpos atacados (cuando maduros) presentan en el endoperidio, además del poro apical característico de dehiscencia, una serie de perforaciones producidas por los insectos. Cabe destacar que generalmente el ataque es producido cuando los cuerpos de fructificación están aún inmaduros.

En el interior de los gastrocarpos atacados se encontraron insectos en distintos estados de desarrollo (Fig. 1, B-C), gran cantidad de excrementos de diferentes tamaños, correspondientes a los distintos estadios larvales que los producen y prácticamente nada de gleba.

El análisis de los excrementos reveló la presencia de restos de hebras de capilicio, esporas íntegras (es decir, con su contenido celular) y restos degradados del esporoderma de otras esporas.

Las larvas aumentan de tamaño a medida que la metamorfosis progresa, de manera que cuando completan su desarrollo, en el interior del gastrocarpo se observan numerosas exubias larvales, gran cantidad de excrementos y larvas del último estadio, cada una de las cuales se encierra en un capullo para pupar (Fig. 1: E). Es interesante destacar que la materia prima de dichos capullos es principalmente capilicio (Fig. 1: D). Finalmente, los insectos adultos emergen en busca de alimento removiendo la gleba, si de ella todavía quedaran restos; de otra forma, pasarán a otros gastrocarpos cuya gleba esté disponible. En esta búsqueda, la

Fig. 1.— A: *Tulostoma subsquamosum*. Gastrocarpo maduro, vista lateral. B: coleóptero adulto, vista dorsal. C: larva, vista lateral. D: capullos utilizados por las larvas para pupar. E, F, G y H: *Tulostoma volvulatum*. E: corte longitudinal por saco esporífero mostrando en su interior diferentes estados de desarrollo del coleóptero. F: gastrocarpo maduro en vista lateral. G: heces del coleóptero donde se observan hifas y esporas rotas. H: capilicio y esporas en vista superficial y corte óptico. I, J: *Tulostoma ferrugineum*. I: gastrocarpo maduro, vista lateral. J: capilicio y esporas. K, N: *Vascellum pampeanum*. K: gastrocarpo maduro, vista lateral. L: corte longitudinal por gastrocarpo, mostrando la ubicación de los capullos en la gleba y una galería excavada en la subgleba. M: hebras de eucapilicio, nótese las gruesas paredes celulares. N: hebras de paracapilicio con paredes celulares finas y esporas en vista superficial y corte óptico. La escala de 3 mm vale para B, C y D, la de 1 cm vale para A, F, I, K y L, la de 5 mm vale para E y la de 10 µm vale para G, H, J, M y N.



superficie de sus cuerpos se cargará de esporas, hecho que se ve favorecido por la presencia de los gruesos pelos de los que se hallan munidos.

A temperaturas bajas, el insecto permanecerá en estado de letargo en el interior del gastrocarpo. Cuando ésta es la óptima (25-30°C), el insecto abandona el gastrocarpo y emprende el vuelo, asegurando así, una eficaz dispersión de las esporas adheridas a su cuerpo. Los gastrocarpos abandonados quedan enteros, repletos de excrementos, exubias y capullos vacíos.

Además, en *V. pampeanum* se pudieron observar galerías excavadas en la subgleba, en cuyo fondo se hallaron capullos con insectos adultos en su interior, que permanecieron inmóviles durante todo el invierno (Fig. 1, L), período durante el cual los gastrocarpos fueron conservados en cajas de vidrio y observados periódicamente.

Sólo al ser colocados bajo una fuente de calor (una lámpara por ej.) los insectos caminaban o desplegaban sus alas intentando volar. Este comportamiento, nos hace suponer que los adultos bajo condiciones naturales pueden utilizar al gastrocarpo como hábitáculo durante el invierno, en espera de mejores condiciones. Todo esto se vería favorecido por la duración del gastrocarpo; en efecto, el gastrocarpo puede permanecer sobre el sustrato varios meses debido, por un lado, a su consistencia que lo hace resistente a la degradación y por el otro, a la aridez de los suelos donde crece.

En cuanto al análisis de la viabilidad de las esporas se encontró en *V. pampeanum* un 30% de esporas viables en la gleba y un 10% para esporas halladas en los excrementos. En las especies de *Tulostoma* estudiadas sólo fue posible calcular la viabilidad de esporas en los excrementos, cuyo valor es de 18%. El porcentaje correspondiente a esporas de la gleba no pudo ser obtenido, ya que los insectos la habían consumido en su totalidad.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Sobre la base de los estudios realizados, se ha podido determinar que existe una interacción beneficiosa entre los insectos de la familia Sphindidae encontrados y las especies de Lycoperdales y Tulostomatales analizadas. En efecto, los coleópteros adultos y sus larvas ingieren hebras de capilicio y esporas de la gleba.

En razón de que los restos de capilicio hallados en los excrementos están muy degradados y dada la abundancia de este tejido en la gleba, se infiere que la misma constituye una parte muy importante del alimento. Las esporas que conservan el esporoderma íntegro no son digeridas.

La diferencia entre el 30% de esporas viables en la gleba contra el 10% de esporas viables en los excrementos se explicaría por la digestión de esporas cuyo esporoderma ha sido roto mecánicamente por la acción mandibular de las larvas. La baja viabilidad encontrada en las esporas de la gleba coincide con lo hallado en un gran número de especies de Gasteromycetes por Bulmer y Beneke (1964), de allí que las especies fúngicas en general produzcan grandes cantidades de esporas.

La presencia de adultos en las galerías de la subgleba de *V. pampeanum* durante el período invernal nos hace suponer que lo emplean como hábitáculo, no obstante, no se sabe si en la naturaleza ocurre lo mismo puesto que bajo condiciones experimentales los adultos no tenían otro refugio.

El sistema de dispersión de las esporas en los gastrocarpos no contaminados por estos insectos es el viento, que las arrastra a través del poro de dehiscencia hacia el exterior, o por la acción mecánica de algún objeto que cae sobre el esporóforo produciendo la expulsión de las mismas.

En los gastrocarpos atacados, la acción de los insectos conformaría un sistema adicional de dispersión. Las esporas digeridas serán diseminadas a través de los excrementos, también serán diseminadas aquellas que se encuentran adheridas al cuerpo de los adultos.

Por otra parte y dejando de lado lo que a viabilidad se refiere, y teniendo en cuenta el hecho de que no todas las esporas viables germinan, Blackwell (1982) pudo comprobar que el porcentaje de germinación en esporas de *Fuligo septica* (L.) Wiggers, (*Myxomycetes*) se incrementa cuando éstas atraviesan el tracto intestinal de una especie de coleóptero. No se han hecho pruebas al respecto en las especies estudiadas, sin embargo no habría que descartar la posibilidad de que ocurra algo semejante, con lo cual se trataría de una acción francamente favorable a las especies fúngicas.

Se verifica por primera vez, la presencia de estos coleópteros en tres especies de *Tulostoma* y en *Vascellum pampeanum*, compartiendo una relación beneficiosa para ambas partes.

Se cita por primera vez para Córdoba la presencia de *Tulostoma ferrugineum* (Wright, 1987 y L. Domínguez de Toledo, 1989).

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer al Prof. Dr. Alfredo E. Cocucci por sus aportes y sugerencia en el texto. También deseamos agradecer al Dr. Andrea A. Cocucci por la determinación del coleóptero en cuestión y al C.O.N.I.C.O.R. quien nos otorgó un subsidio con el cual pudimos realizar estas actividades.

BIBLIOGRAFIA

- Alexander, M. P. 1980. A versatile stain, for pollen, fungi, yeast and bacteria. *Stain technology* 51 (1): 13-18.
- Batra, R. 1979. *Insect-Fungus symbiosis. Nutrition, mutualism, and comensalism*. Allaned, Osmund & Co. publishers, INC. 1-276.
- Blackwell, M. and T. Laman. 1982. Spore dispersal of *Fuligo septica* (Myxomycetes) by Lathridiid Beetles. *Mycotaxon* 14 (1): 58-60.
- Bulmer & Beneke. 1964. Spore germination of forty two species of puffballs. *Mycologia* 56: 530-532.
- Domínguez de Toledo, L. S. 1989. Contribución al conocimiento de los Gasteromycetes del centro de Argentina, Tesis doctoral: 1-262, *Univ. Nac. de Cba.* Inédito.
- E. R. Nouhra y L. D. de Toledo, *Lycoperdales y Tulostomatales*
- Gerard, W. R. 1880. Correlation between the odor of the Phalloids and their relative frequency. *Bull. Torrey Bot. Club.* 7: 30-33.
- Meixner, J. 1933-36. Coleopteroidea. *Handbuch der Zoologie*. Tomo 4. 2. 1. *Insecta* 2: 1037-1348. Ed. De Gruyter & Co. Berlin.
- Nouhra, E. y L. D. de Toledo. 1992. Interacción entre *Podaxis argentinus* (Basydiomycotina) y Muscidae (Diptera). *Bol. Soc. Arg. Bot.* 28 (1-4): 41-45.
- Sunhede, S. 1974. Studies in Gasteromycetes. Notes on spore liberation and spore dispersal in *Geastrum*. *Svensk. Bot. Tidskr.* 68: 329-343.
- Wright, J. E. 1987. The genus *Tulostoma* (Gasteromycetes). A world monograph. *Bibliotheca Mycologica* 113: 1-335. J. Cramer.