

## COMPATIBILIDAD SEXUAL ENTRE PYCNOPORUS CINNABARINUS VAR. OSORNINUS Y PYCNOPORUS SANGUINEUS

Guido Pincheira V.  
Departamento Ciencias Ecológicas,  
Facultad de Ciencias  
Universidad de Chile.

Julio A. Burgos - Sylvia Ortiz Z.  
Casilla 567 Correo 11, Santiago.

**Palabras clave:** *Pycnoporus cinnabarinus* var. *osorninus*, *P. sanguineus*, compatibilidad.

**Key words:** *Pycnoporus cinnabarinus* var. *osorninus*, *P. sanguineus*, compatibility.

### RESUMEN

Se estudia la compatibilidad sexual entre cepas chilenas de *Pycnoporus cinnabarinus* var. *osorninus*, con una cepa *P. cinnabarinus* var. *cinnabarinus* obtenida del laboratorio del Dr. Antonio Martínez del Centro de Biología Celular, Madrid, España, y cepas de *P. sanguineus* de Argentina y Uruguay, a partir de fructificaciones producidas en el laboratorio y cruzando los micelios monospóricos entre sí para obtener los polos de cada cepa. Las cepas chilenas (*P. cinnabarinus* var. *osorninus*) son heterotálicas tetrapolares, incompatibles con la cepa española de *P. cinnabarinus* var. *cinnabarinus*; pero si compatibles con las cepas de *P. sanguineus* (Argentina y Uruguay), dando fructificaciones fértiles. Los resultados obtenidos determinan que *P. cinnabarinus* var. *osorninus* debe ser considerada como *P. sanguineus*.

### INTRODUCCION

Un representante del género *Pycnoporus* fue registrado para Chile por G. Lloyd en 1917 como *Polystictus cinnabarinus* (Jacq.: Fr.) Sacc. (Espinoza, 1918), especie característica de zonas templadas de Europa. Tomando en consideración las diferencias morfológicas y fisiológicas observadas entre los ejemplares chilenos y ejemplares típicos de *P. cinnabarinus*, (Jacq: Fr.) Karst y Ortiz (1988) describieron una variedad de *Pycnoporus cinnabarinus* a la cual denominaron *P. cinnabarinus* var. *osorninus*. Con el fin de afinar criterios taxonómicos sobre estos ejemplares chilenos, se realizaron estudios de cruzamiento entre la variedad *osorninus* con la típica variedad *cinnabarinus* de Europa

### SUMMARY

[Sexual compatibility between *Pycnoporus cinnabarinus* var. *osorninus* and *Pycnoporus sanguineus*]

Interfertility among Chilean strains of *Pycnoporus cinnabarinus* var. *osorninus* with *P. cinnabarinus* var. *cinnabarinus* from Spain and *P. sanguineus* from Argentina and Uruguay were tested by starting with fruiting cultures at the laboratory and pairing monospore cultures to get poles of each strain. Chilean strains *P. cinnabarinus* var. *osorninus* are heterothallic and tetrapolar, intersteril with the Spanish strain *P. cinnabarinus*, but interfertile with strains of *P. sanguineus*. As a consequence *Pycnoporus cinnabarinus* var. *osorninus* must be considered as *P. sanguineus*.

y con *P. sanguineus*, (L.; Fr.) Murr abundante en áreas subtropicales de Argentina.

El sistema de cruzamiento establecido para ambas especies de *Pycnoporus* es de heterotalismo tetrapolar (Nobles y Frew, 1962; Stalpers, 1978).

### MATERIALES Y METODOS

Cepas estudiadas.

CH-450: correspondiente a una cepa española de micelio heterocariótico de la especie *Pycnoporus cinnabarinus* var. *cinnabarinus*, denominada y descrita anteriormente A-168 por Burgos y Ortiz (1988); Ch-450-X, con X: 1,2, ... n, corresponden a monospóricos derivados.

CH-470, CH-472, CH-473 y CH-479: correspondientes a cepas heterocarióticas de *P. cinnabarinus* var. *osorninus* provenientes las tres primeras de carpóforos colectados en Osorno (Chile) y la última desde Temuco (Chile): CH-470-X, CH-472-X, CH-473-X y CH-479-X, con X: 1, 2, ... n, son monospóricos derivados.

CH-940 y CH-950: correspondientes a micelios heterocarióticos de *Pycnoporus sanguineus* procedentes de Uruguay y Argentina (Buenos Aires) respectivamente (Nº 118 y Nº 2255, cepario U. B. A.); CH-950-X y CH-940-X, con X: 1, 2, ..., n, con micelios primarios derivados.

Todas las cepas monospóricas provienen de basidiosporas producidas en cultivos de laboratorio.

**Medio de Cultivo y Procedimiento.**

Los micelios secundarios de cada cepa fueron cultivados en placas de vidrio tamaño estándar, invertidas, en agar-extracto de malta al 1,5%, a 27-32º C, hasta lograr la fructificación (2-3 semanas). Las basidiosporas fueron colectadas y cultivadas. Los monospóricos así obtenidos fueron cruzados entre sí para obtener los 4 polos de micelio primario. Luego fueron cruzados los polos de cada cepa entre sí, en placas y/o en tubos de vidrio, para observar compatibilidad sexual. La aparición de fibulas fue detectada bajo el microscopio óptico (400X y 1000X) en lactofenol azul, después de una semana de crecimiento. Todos los cultivos se hicieron en duplicado (o más), trabajando en cámara de flujo laminar.

**RESULTADOS**

El cruzamiento entre micelios monospóricos de cada cepa de las especies de *Pycnoporus* empleadas permitió seleccionar distintos tipos de apareamiento de cada una y cruzarlos con las diferentes cepas estudiadas. Las cepas chilenas se revelaron como heterotálicas tetrapolares (Tabla 1)

La confrontación de las cepas monospóricas de *P. cinnabarinus* var. *osorninus* con los monospóricos de *P. cinnabarinus* var. *cinnabarinus*, incluyendo los cuatro polos, no condujo al desarrollo de fibulas en ninguno de los casos (Tabla 2). Las colonias desarrolladas en conjunto, de los micelios primarios de las dos variedades, cepas Ch-450-X y Ch-470-X formaron barreras (en cultivos en placa) con

Tabla 1

**Monospóricos de las cepas de *Pycnoporus***

<b><i>P. cinnabarinus</i> var. <i>cinnabarinus</i></b>	
Ch-450	
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> : 3, 7, 10, 11, 14.	
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> : 5, 13.	
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> : 4, 6, 9, 12.	
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> : 8.	
<b><i>P. cinnabarinus</i> var. <i>osorninus</i></b>	
Ch-470	Ch-472
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> : 5, 11.	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> : 11, 13, 18, 20.
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> : 2, 4, 6.	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> : 19.
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> : 9, 13, 17.	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> : 3, 4, 15.
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> : 3, 8.	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> : 1, 2, 6, 8, 9.
Ch-473	Ch-479
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> : 1, 4, 11.	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> : 2, 4, 14.
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> : 3, 5, 7, 12.	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> : 3, 7, 9.
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> : 6, 8.	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> : 6.
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> : 2, 9, 10.	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> : 1, 5, 8, 10.
<b><i>P. sanguineus</i></b>	
Ch-940	Ch-950
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> : 14.	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> : 5.
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> : 3, 5.	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> : 6.
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> : 2, 4, 6, 9, 11.	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> : 1, 7, 8.
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> : 3.	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> : 2, 3, 4, 9, 10.

hifas pigmentadas y una gran cantidad de hifas de enlace de 1,2-2,0 um de diámetro, e hifas septadas afibuladas, de 2,0-5,0 um de diámetro, lo cual no ocurrió entre cepas de una misma variedad, donde se observaron suaves zonas de rechazo en algunos casos. Luego de dos semanas de crecimiento, las cepas monospóricas de *P. cinnabarinus* var. *osorninus* produjeron en la periferia de la placa de cultivo fructificaciones estériles, afibuladas, de color rosa a naranja.

El cruzamiento entre los polos de la cepa Ch-450, *P. cinnabarinus* var. *cinnabarinus*, con los polos de las cepas Ch-940 y Ch-950,

*P. sanguineus*, fue negativo, pues no se logró el desarrollo de fíbulas, excepto en uno de los casos (Tabla 2). El crecimiento de este micelio en placa invertida no produjo fructificación. Las fíbulas no fueron abundantes.

Las cepas chilenas de *P. cinnabarinus* var. *osorninus* manifiestan un heterotalismo alelomórfico múltiple, tal como ha sido evidenciado previamente para otras cepas del mismo género (Nobles y Frew, 1962) y como se manifiesta en este estudio con las cepas de *P. sanguineus* (Tabla 1)

El cruzamiento de los polos de las cepas de *P. cinnabarinus* var. *osorninus* con los polos de las cepas de *P. sanguineus* condujo a la formación de micelio secundario en varios casos (Tabla 2). Los cruzamientos realizados en placa formaron una barrera en el límite entre los dos micelios, con hifas pigmentadas, como ocurrió entre *P. cinnabarinus* var. *osorninus* y *P. cinnabarinus* var. *cinnabarinus*. La mantención de algunos cultivos de resultado positivo en placa invertida condujo a la fructificación y producción de basidiosporas en uno solo de los casos. Estas basidiosporas germinaron y se desarrollaron normalmente, produciendo una segunda generación: Ch-470-8 cruzada con Ch-950-2.

Tabla 2

Cruzamiento en todas las posibles combinaciones de cultivos monospóricos de *Pycnoporus*. 450-X: *P. cinnabarinus* cepa española; 470-X, 472-X; 473-X; 479-X: cepas chilenas. 940-X y 950-X: *P. sanguineus*. (+) indica formación de hifas con fíbulas, (-) indica carencia de fíbulas

	450				470			472				473				479				940			950				
	3	5	6	8	5	17	6	4	8	19	20	4	5	8	9	2	3	6	8	3	6	14	1	2	5	6	
450-3	-	+	-	-																							
5	+	-	-	-																							
6	-	-	-	+																							
8	-	-	+	-																							
470-3	-	-	-	-	-	+	-																				
17	-	-	-	-	+	-	-																				
6	-	-	-	-	-	-	-																				
472-4	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-																
8	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-																
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+																
20	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+																
473-4	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-												
5	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-												
8	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-												
9	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-												
479-2	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-					
3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-												
6	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+												
8	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-												
940-3	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+					
6	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-												
14	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-					
950-1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
2	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
5	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-

## DISCUSION

El concepto biológico de especie implica determinar la presencia o ausencia de barreras que impiden un intercambio genético entre poblaciones. Es por ello, una etapa muy importante en el estudio taxonómico, el cruzamiento de micelios primarios (monospóricos) entre las variedades de *P. cinnabarinus* caracterizadas por Burgos y Ortiz (1988), en base a discontinuidades en el morfotipo entre carpóforos colectados en Chile y aquellos otros presentes en diferentes zonas geográficas junto a algunas diferencias fisiológicas de sus micelios secundarios cultivados. Los resultados obtenidos al cruzar los 4 genotipos sexuales de *P. cinnabarinus* var. *cinnabarinus* con los 4 tipos sexuales de la variedad *osorninus* implican que ambas variedades son incompatibles. Esto, junto con el resultado del cruzamiento entre las cepas de *P. cinnabarinus* var. *osorninus* y la especie *P. sanguineus*, nos induce a pensar que las primeras podrían corresponder en realidad a una variedad o subespecie de *P. sanguineus*.

El cruzamiento entre cepas de una misma especie de *Pycnoporus*, provenientes de áreas geográficas distintas, normalmente conduce a resultados positivos en todas las combinaciones en que participan los 4 polos monospóricos de cada cepa heterocariótica (Nobles y Frew, 1962). Ello se explica por la gran variedad de alelos sexuales que existe en los Himenomicetes (Burnett, 1975). Esto es lo que se observa en el resultado del cruzamiento entre las dos cepas de *P. sanguineus*, de Uruguay y Argentina (Ch-940 y Ch-950, respectivamente). Sin embargo este estudio de compatibilidad sexual entre *P. sanguineus* y *P. cinnabarinus* var. *osorninus* producen resultados positivos sólo en un 25% de los casos, de un modo no predecible de acuerdo a

los modelos teóricos sobre compatibilidad, considerando la presencia de 0, 1, 2, 3 ó 4 alelos en común. Esto podría interpretarse como una manifestación de cierta distancia genética entre las poblaciones subtropicales del Atlántico y las poblaciones templadas y frías chilenas, separadas por una barrera geográfica tan importante como es la cordillera de Los Andes y por las diferentes condiciones bioclimáticas de cada área.

Los carpóforos de *P. cinnabarinus* var. *osorninus* se diferencian de los clasificados como *P. sanguineus* por su forma, tamaño del carpóforo y grosor del himenóforo: *P. sanguineus* es normalmente de forma flabeliforme, subestipitado, con una relación largo/grosor igual a 12,2, tubos de 0,5-2,0 mm de profundidad y con 4-7 poros/mm. Los carpóforos chilenos son dimidiados, sésiles, con una relación largo/grosor igual a 5,9, tubos de 1,5-4,0 mm de profundidad y con 4-5 poros por mm.

Las diferencias sexuales y morfológicas entre los carpóforos de las cepas chilenas con las argentinas y uruguayas nos permiten establecer que la variedad *osorninus* Burgos y Ortiz (Bol. Micol. 3 (4): 227, 1988) es *Pycnosporus sanguineus*. Por lo tanto se descarta la existencia de una variedad chilena de *P. cinnabarinus* y se asigna la variedad chilena estudiada a *Pycnosporus sanguineus* (L. Fr) Murr.

El holotipo de esta variedad, carpóforo CH-471, fue depositado en el herbario del Museo Nacional de Historia Natural, Chile, bajo el Nº SGO 109610. Un carpóforo de la colección original fue depositado en el herbario del Jardín Botánico de Kew, Inglaterra, y otro ejemplar fue depositado en el herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, bajo el Nº 31486.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Jorge E. Wright, Universidad de Buenos Aires, sus valiosas críticas, el aporte de las cepas de *P. sanguineus* y las facilidades de acceso y estudio en el Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. También agradecemos el aporte técnico del Sr. Rafael Negrete.

## REFERENCIAS

- Burgos, J. y S. Ortiz (1988). "Nueva variedad chilena de *Pycnoporus cinnabarinus* (Jacq.: Fr.) Karst. Estudio de sus características morfológicas y fisiológicas". Boletín Micológico, 3: 227-235.
- Burnett, J.H. (1975). "Mycogenetics". John Wiley & Sons, Gran Bretaña
- Nobles, M.K. y B.P. Frew (1962). "Studies in wood-inhabiting Hymenomyces. V. The Genus *Pycnoporus* Karst." Can. Journal of Botany, 40: 987-1016.
- Stalpers, J.A. (1978). "Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture". Stud. Mycol. Nº 16: 1-248.