



Pachyphloeus oleiferus (Ascomycota, Pezizaceae) sp. nov., un nuevo hongo hipogeo localizado en Zamora (España)

CABERO, J.¹ & J. PÉREZ-PÉREZ²

¹C/ Barrio del Carmen 13, 49800 Toro, Zamora. E-mail: fotovideocabero@hotmail.com

²C/ Ramiro de Maeztu 9, Secugen, 28040 Madrid. E-mail: j.perez@secugen.es

Resumen: CABERO, J. & J. PÉREZ-PÉREZ (2012). *Pachyphloeus oleiferus* (Ascomycota, Pezizaceae) sp. nov., un nuevo hongo hipogeo localizado en Zamora (España). *Bol. Micol. FAMCAL* 7: 105-118. En la localidad de Toro, sita en la provincia de Zamora, al noroeste de la Península Ibérica, fue localizado con la ayuda de perros adiestrados lo que parece ser una nueva especie de hongo hipogeo. Tras los pertinentes exámenes macro y microscópicos y el análisis molecular de sus ascomas, se concluye que su posicionamiento taxonómico correcto estaría situado en el género *Pachyphloeus* (Pezizales, Pezizaceae). Este hongo, que crece en ambiente mediterráneo bajo *Quercus ilex*, *Lavandula stoechas* y *Cistus* spp., se caracteriza por su peridio marrón amarillento con verrugas ásperas, su gleba llamativamente grisácea, y la presencia de un contenido oleaginoso en el interior de las hifas himeniales.

Palabras clave: Hongos hipogeos, *Pachyphloeus*, corología, taxonomía.

Summary: CABERO, J. & J. PÉREZ-PÉREZ (2012). *Pachyphloeus oleiferus* (Ascomycota, Pezizaceae) sp. nov., a new hypogeous fungus located in Zamora (Spain). *Bol. Micol. FAMCAL* 7: 105-118. In Toro locality, placed in Zamora province, northwest of the Iberian Peninsula, it was located, with the help of trained dogs, what seems to be a new species of hypogeous fungus. After a macro- and microscopical examination and a molecular analysis of its ascomata, it is concluded that its correct taxonomical position would be within the genus *Pachyphloeus* (Pezizales, Pezizaceae). This fungus growing in Mediterranean environments under *Quercus ilex*, *Lavandula stoechas* and *Cistus* spp., is characterized by its yellowish-brown coarsely verrucose peridium, striking greyish gleba and the presence of an oleaginous content inside the hymenial hyphae.

Keywords: Hypogeous fungi, *Pachyphloeus*, chorology, taxonomy.

INTRODUCCIÓN

El género *Pachyphloeus*, creado en el año 1844 por los hermanos Tulasne basándose en la descripción de *Pachyphloeus melanoxanthus* (Tul. & C. Tul. ex Berk.) Tul. & C. Tul., se caracteriza por acoger taxones con ascomas verrucosos o pubescentes de 1-3 cm de diámetro generalmente provistos de una depresión o foseta en su perímetro y un conspicuo mechón miceliar. Microscópicamente, su *peridiopellis* se encuentra formada por células isodiamétricas y/o angulosas y sus ascósporas esféricas poseen una decoración aculeada o formada por pequeñas verrugas recubiertas por un perisporio (MONTECCHI & SARASINI, 2000).

En la actualidad se encuentran referencias mundiales de quince especies, algunas de ellas consideradas como simples sinónimos y otras

como variedades de especies conocidas.

Así (Figs. 1-2), en el continente europeo se encuentran referenciados: *P. citrinus* Berk. & Broome (1846), *P. conglomeratus* Berk. & Broome (1846), *P. ligericus* Tul. & C. Tul. (1851), *P. saccardoii* Mattir. (1903), *P. melanoxanthus* var. *xanthocarnosus* Soehner (1936), *P. prieguensis* Mor.-Arr., J. Gómez & Calonge (1996), en la actualidad recombinado como *Calongea prieguensis* (Mor.-Arr., J. Gómez & Calonge) Healy, Bonito & Trappe y *P. macrosporus* Calonge (2002), mientras que en otras latitudes encontramos referencias de taxones como *P. carneus* Harkn. (1899), *P. virescens* Gilkey (1939), *P. lateritius* Fogel & States (2002), *P. thysellii* W. Colgan & Trappe (2004), *P. austro-oregonensis* J.L. Frank & Trappe (FRANK & al., 2006) y *P. marroninus* Healy, Bonito & Guevara (2009).

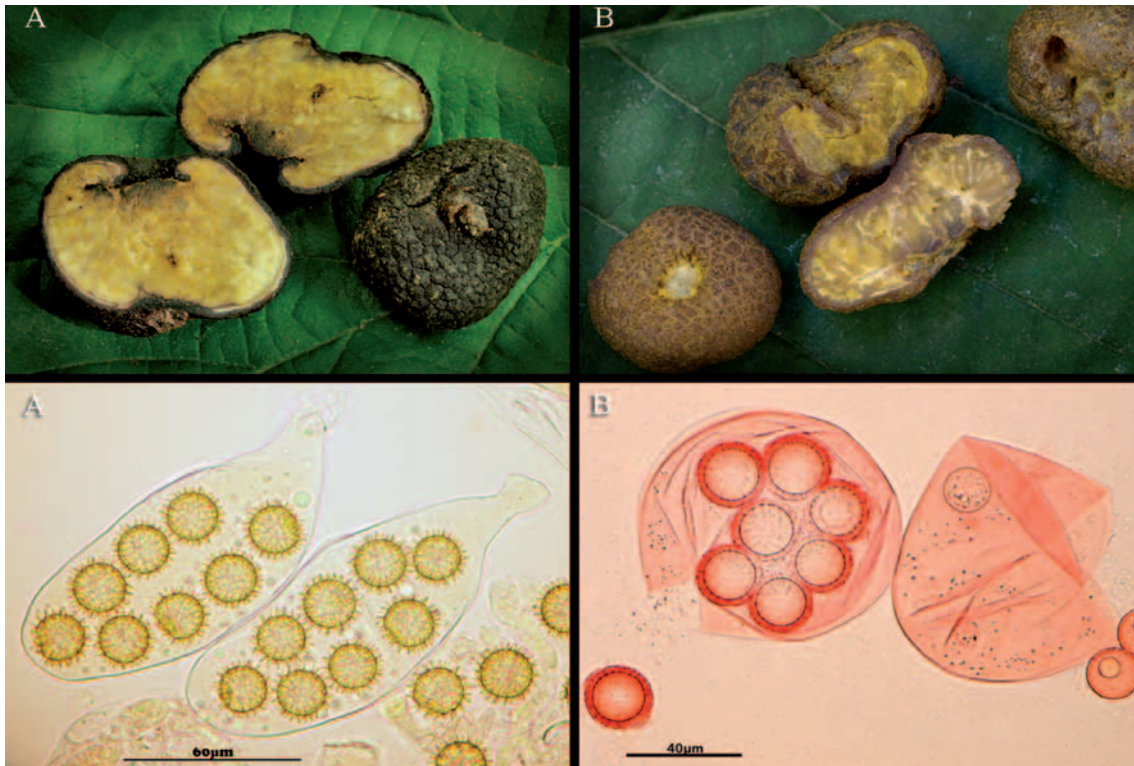


Fig. 1. Principales especies europeas del género *Pachyphloeus*. A. *Pachyphloeus melanoxantus*. B. *Pachyphloeus ligericus*. Fotos: J. Cabero.

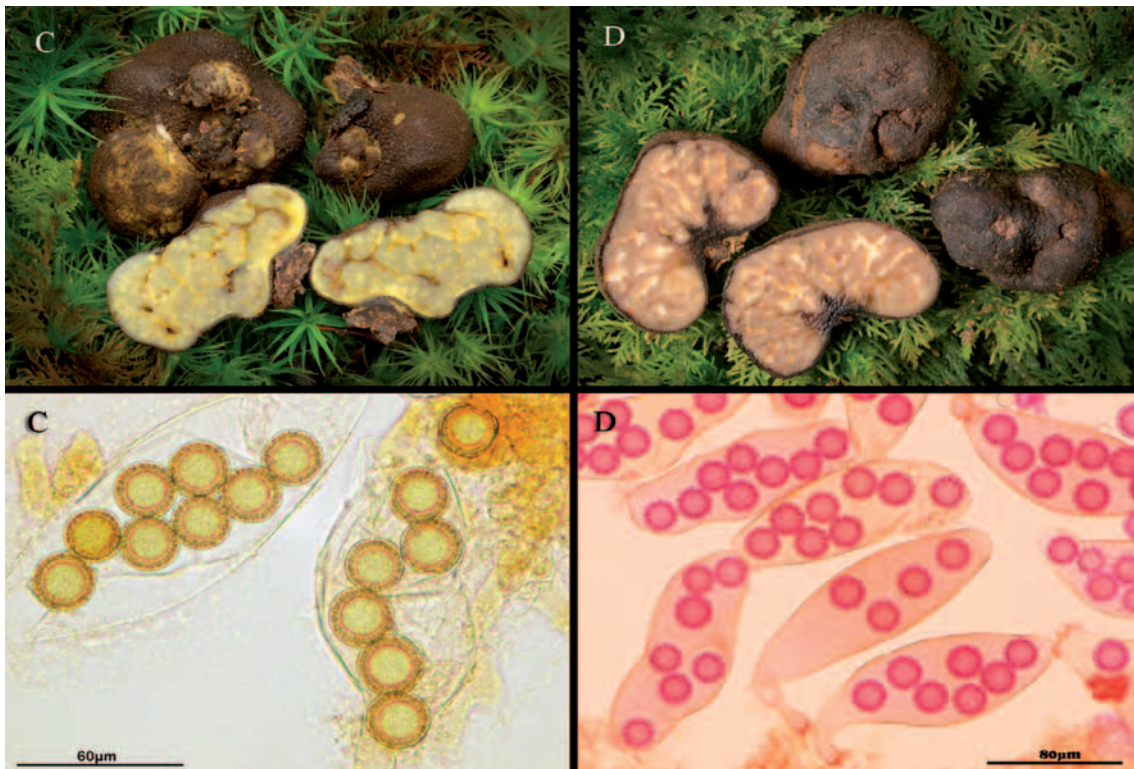


Fig. 2. Principales especies europeas del género *Pachyphloeus*. C. *Pachyphloeus citrinus*. D. *Pachyphloeus conglomeratus*. Fotos: J. Cabero.



Fig. 3. Perro de aguas español. Balto (izda.) y Nora (dcha.). Foto: J. Cabero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Al igual que en trabajos anteriores (CABERO, 2008, 2009, 2011) la metodología empleada para la localización de hongos hipogeos ha sido el rastreo con la ayuda de perros adiestrados, perro de aguas español en nuestro caso (Fig. 3). Tras la localización de los esporocarpos, se realizan *in situ* las pertinentes fotografías macroscópicas. De esta manera, tratamos de iconografiar las efímeras tonalidades cromáticas, pardo amarillentas en este caso, de los esporocarpos, que de otro modo se hubieran perdido rápidamente por la oxidación o tras la manipulación de los mismos.

El equipo fotográfico utilizado consistió en una cámara Olympus 620 con objetivo macro 50 mm f2. La toma fue realizada con valores de 100 asa, velocidad de disparo $\pm 1/3$ de exposición y diafragma f20. Una vez fotografiados los ejemplares, éstos se guardan en botes estancos para conservar de forma más concentrada su aroma.

Para la toma de imágenes microscópicas hemos utilizados un equipo Olympus BH2- BHS 100W, mientras que para la correcta medición

de las esporas se utilizó el programa informático Mycometre 2.01, desarrollado por el francés Georges Fannechère.

Las muestras se encuentran depositadas en el herbario del Real Jardín Botánico de Madrid (MA-Fungi) y en el herbario personal de uno de nosotros, J. Cabero (CJ).

Para el análisis de la región ITS se realizó un homogeneizado en TE de la gleba seca del espécimen y posteriormente se depositó en una tarjeta FTA (Whatman, U). Una porción de esta tarjeta se sometió a PCR con los cebadores ITS5 - LR5 (BERTINI & *al.*, 1999; VILGALYS & HESTER, 1990). El producto de PCR se purificó con placas Multiscreen (Millipore, USA) y posteriormente se secuenció con el reactivo Big Dye 3.1 (Applied Biosystems, USA), con los cebadores ITS5 - LR5, realizando la electroforesis en un equipo AB3730 (Applied Biosystems, USA). La secuencia ensamblada se comparó, con el programa BLAST, con la base de datos "nucleotide collection (nr/nt)" de Genbank, NCBI. Con las secuencias más próximas se realizó un árbol filogenético con el método de "Fast Minimun Evolution".

RESULTADOS

Pachyphloeus oleiferus J. Cabero & J. Pérez *sp. nov.*

Diagnosis latina

Ascomata subterranea diametro 1,5-3 cm, sphaerica vel hemisphaerica, flavo brunneis, cum adumbratim dummodo cum a lata lacum quod est resorbed ad maturitatem. Inodorus. Peridium operuit cum robusti spinis pyramidalis, ad 1,5 mm in altitudine. Cinereo gleba patellis percurritur steriles venis levius color.

90-180 x 25-50 μ m cylindratis asci quod continet (3)-5-7(8) sporas sphaerica (18)19-22(24) μ m, brunneis ad maturitatem, conicis spinis (1,3)-1,6 μ m tecta pertinax perispore. Hyphae hymenium cum insigni oleum contentus.

Holotypus: Hispania, Zamora, Toro, in silva Montelarreina, 41° 32' 05.3" N; 5° 30' 12.1" O, 700 m, in cumulis subterraneis sub Quercus ilex, Lavandula stoechas et Cistus spp., 4-VI-2011, leg. J. Cabero, MA-Fungi 82461. Isotypus:



Fig. 4. Ascomas de *Pachyphloeus oleiferus*. Foto: J. Cabero.

CJ00110601BT01. MycoBank: MB 800712. GenBank: JQ996481.

Etimología

El nombre del género deriva de los términos griegos *pachy* (παχύς) que significa grueso y *phloeus* (φλοιός) que significa corteza, por su peridio grueso. El epíteto *oleiferus* deriva de los

términos latinos *oleum*, *-i* (y éste a su vez del griego έλαιου) que significa aceite, y el elemento compositivo latino *-ferus* (y éste a su vez del griego φέσω) que significa “el portador de”, significando por tanto “el que porta aceite”, en referencia al abundante contenido oleaginoso que se encuentra en todas las estructuras de la gleba de este taxón.



Fig. 5. Gleba de tonalidades grisáceas con himenio muy organizado. Foto: J. Cabero.

Material estudiado: ESPAÑA: Zamora, Toro, bosque de Montelarreira, 41° 32'05.3"N; 5° 30'12.1" O, 700 m, hipogeo bajo *Quercus ilex* con sotobosque de *Lavandula stoechas* y *Cistus* spp., 4-VI-2011, leg. J. Cabero, MA-Fungi 82461 (holotipo). CJ00110601BT01 (isotipo). *Ibidem*, 5-VI-2011, CJ00110601NR07. *Ibidem*, 7-VI-2011, CJ00110601NR08, *Ibidem*, 10-VI-2011, CJ00110601BT02.

Descripción del holotipo

Ascomas hipogeos, globosos a subglobosos, algo comprimidos, muy compactos, de 1,5-3 cm de diámetro y de color pardo amarillento (PANTONE 7411 C a 479 C) con el peridio provisto de visibles y robustas verrugas piramidales, poligonales, que poseen cuatro a cinco caras en la base. Dichas verrugas, de aproximadamente 1-1,5 mm de altura, se encuentran agrietadas en el ápice, que se tiñe de tonos amarillentos tomando entonces una apariencia "sulfurosa". En el contorno del ascoma se desarrolla una amplia y profunda foseta que adoptando diferentes formas irregulares acaba siendo absorbida por el esporocarpio al alcanzar éste la completa maduración. Este hecho puede apreciarse perfectamente al

seccionar el ascoma (Fig. 4). Por otra parte, las verrugas en esta zona parecen ser más prominentes que en el resto del ascoma, recordando su estructura externa las verrugas de *Tuber aestivum*. La región basilar de los esporocarpos porta un pequeño mechón de filamentos miceliares mediante los cuales se adhiere al sustrato. El olor de los ascocarpos es inapreciable o poco definido, incluso después de haber transcurrido un tiempo herméticamente encerrados en recipientes adecuados.

A la sección, la gleba posee tonalidades grisáceas (PANTONE 7527 C a 444 C) y en ella podemos observar un himenio perfectamente organizado, de color gris oscuro, que forma meandros o circunvoluciones en los que se aprecian diminutas máculas de color pardo que se corresponden con acúmulos de esporas muy maduras. Dicho himenio aparece surcado por venas estériles de tonos grises, más claros que los de la región himenial (Fig. 5).

La *peridiopellis* está pluriestratificada y formada por capas bien diferenciadas con un espesor total de aproximadamente 900 μm (Fig. 6). Su estrato superficial, de tipo pseudoparenquimático y con una anchura de aproximadamente 550 μm

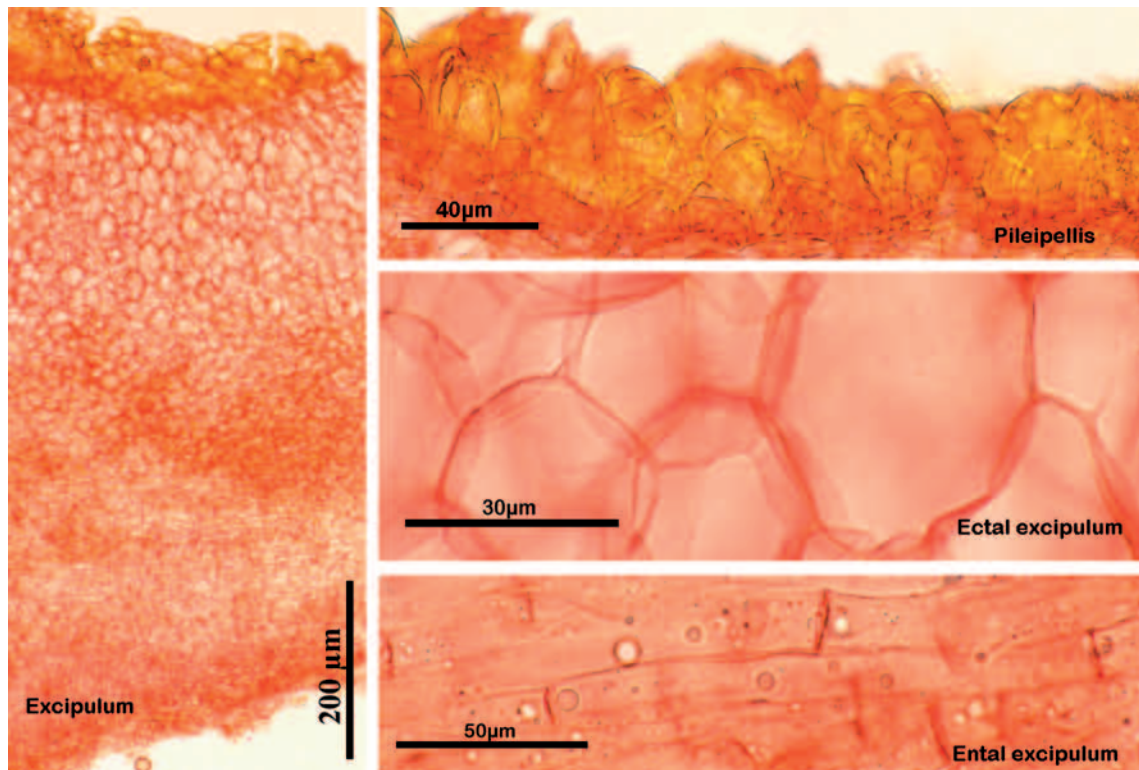


Fig. 6. Diferentes estructuras celulares del peridio. Foto: J. Cabero.

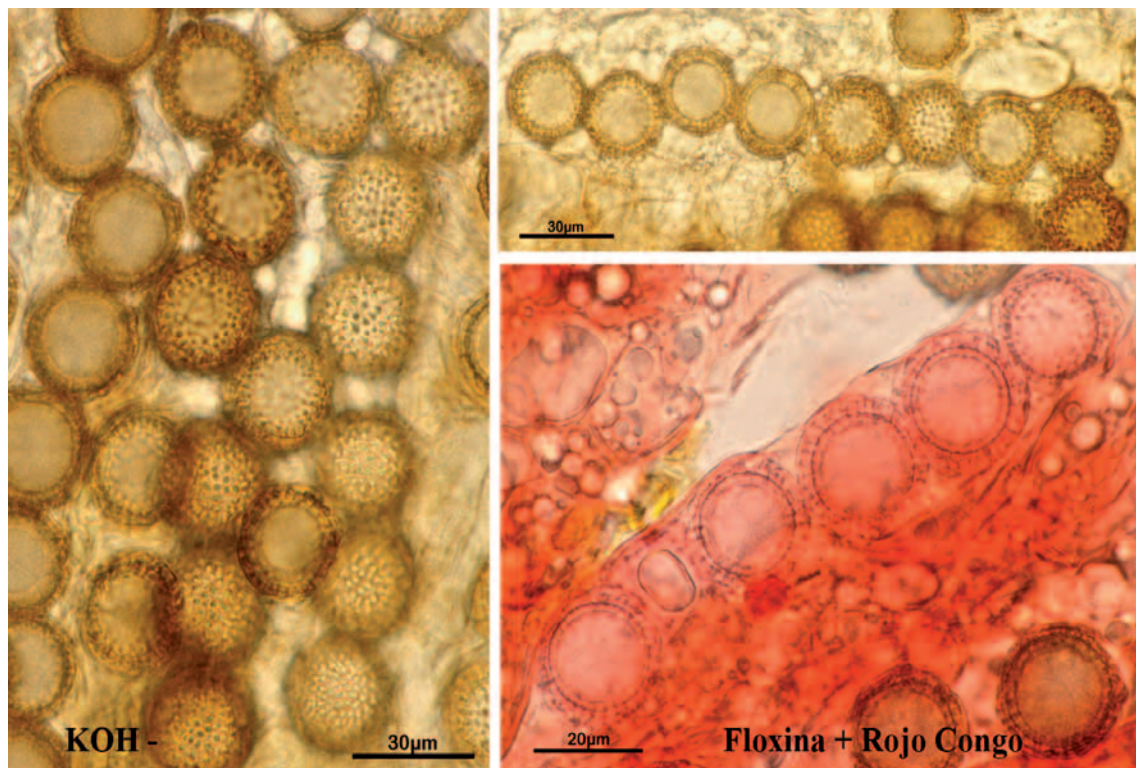


Fig. 7. Ascospores cilíndricas con 4-8 ascósporas en disposición monoseriada. Foto: J. Cabero

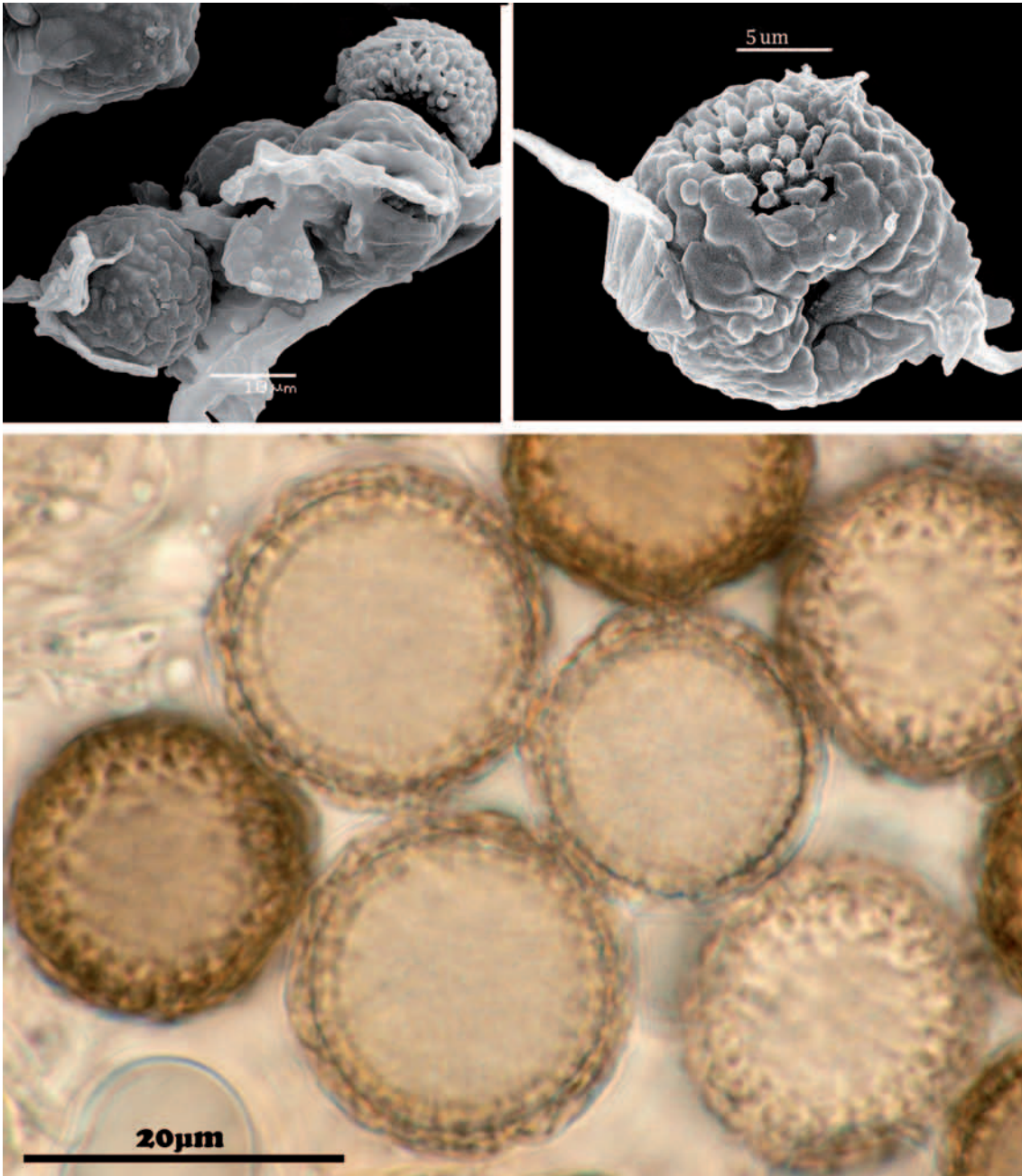


Fig. 8. Ascósporas al MEB (arriba). Otra al microscopio óptico, (técnica de campo claro, abajo). Foto al microscopio óptico: J. Cabero.

sin contar la altura de las verrugas, está formado por células hialinas o subhialinas, isodiamétricas y angulosas de $20-45 \times 20-30 \mu\text{m}$, con paredes progresivamente pigmentadas con tonos pardo amarillentos hacia la superficie. El estrato profundo, próximo a la gleba, es de tipo pseudoprosenquimático, con un espesor de aproximadamente $350 \mu\text{m}$, y está formado por hifas septadas de

$10-12 \times 30-60 \mu\text{m}$, paralelamente dispuestas a la superficie.

El himenio, de estructura compleja, está formado por hifas septadas, bifurcadas, con uniones angulosas, y desarrolla hifas ascógenas organizadas en empalizada. Las paráfisis son cilíndricas, septadas, de apariencia rígida, algo angulosas en la base y con el ápice redondeado.

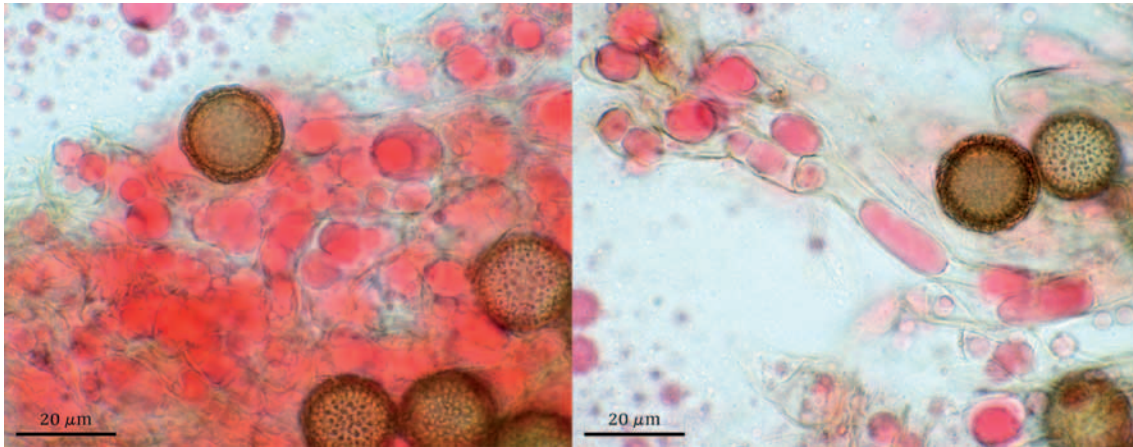


Fig. 9. Contenido oleoso, en el interior de las hifas, teñido con sudan IV. Fotos: Nino Santamaría.



Fig.10. Hábitat de *P. oleiferus*. Foto: J. Cabero.

Los ascos son muy abundantes, inamiloides e indehiscentes, sin reacción ante el KOH 5% o el reactivo de Melzer, están dispuestos en paralelo, entrelazados entre las hifas y las paráfisis del himenio, haciendo muy difícil su observación. Su morfología es diversa, habitualmente cilíndricos, subcilíndricos, y en ocasiones subglobosos, sésiles o cortamente pedicelados. Las paredes del asco parecen no ser muy turgentes y por ello se observan mayoritariamente colapsadas

sobre las esporas (Fig. 7). Sus medidas son 90-180 x 25-50 μm y contienen (3-)5-7(-8) esporas en disposición monoseriada y en menor medida biseriada. Las ascósporas son esféricas, de (18-)19-22(-24) μm (ornamentación incluida) (Fig. 8), con tonalidades grisáceas en la juventud y tonos pardos al alcanzar su plena madurez. Su decoración está formada por verrugas troncocónicas separadas en la base, con una disposición uniforme y una altura de aproximadamente 1,3(-1,6)



μm , recubiertas por un perisporio persistente que dificulta su visibilidad incluso al MEB. Sus ápices son truncados o redondeados.

Uno de los caracteres más singulares de este taxón, que le destaca sobre el resto de las especies pertenecientes al género *Pachyphloeus*, es el contenido oleaginoso que portan todas las hifas, principalmente en el interior de las estructuras del himenio, detalle éste constatado por diferentes colegas y con resultados constantemente positivos en todos los ascomas estudiados. Este fluido de aspecto oleaginoso se puede observar fácilmente en las preparaciones microscópicas teñidas con Sudan IV (Fig. 9).

Datos ecológicos y corológicos

Este hongo parece desarrollarse favorablemente en bosques de *Quercus ilex* y *Pinus pinea*, con clara influencia mediterránea con sotobosque de *Cistus ladanifer*, *Cistus salviifolius*, *Lavandula stoechas* y *Daphne gnidium* (Fig. 10). Su época de fructificación parece ser claramente vernal como lo demuestran los resultados de las diferentes prospecciones exitosas realizadas durante el mes de mayo, con más de veinte ascomas localizados en diferentes lugares de la zona, dejando de localizarse a mediados del mes de junio. Su ciclo vital es completamente hipogeo ya que todas las muestras localizadas se ubican a una profundidad que oscila entre 5 y 10 cm. Dicha profundidad, aparentemente excesiva para lo habitualmente encontrado en las especies de este género, quizá sea debida a la necesaria adaptación al hábitat, pues las zonas muestreadas son de tipo dunar, con suelo arenoso silíceo cuyo pH oscila entre 6 y 6,5, en el que la humedad se pierde rápidamente en los estratos superficiales.

Todos los hallazgos han sido realizados en la comarca de Toro, situada en el sector noreste de la provincia de Zamora, a su vez situada en el noroeste de la Península Ibérica. En una de las principales masas arbóreas de la zona, y dentro de un marco predominantemente agrícola, se conserva uno de los bosques mixtos de *Pinus pinea* y *Quercus ilex* que alberga numerosas especies fúngicas, algunas de ellas con ciclo vital

hipogeo. Los suelos corresponden a sedimentos terciarios y cuaternarios, en este caso tierras pardas sobre areniscas. Estos suelos corresponden al orden de los Inceptisoles/Alfisoles, son profundos y pobres en humus, fino-arenosos, arcillosos en todos los horizontes, oscilando su pH entre 6,0 y 8,0. Son pobres en sodio y potasio asimilable y muy variables en fósforo y calcio.

La pluviometría en la zona no suele superar los 320 mm anuales, siendo las temperaturas muy contrastadas, altas y con máximas cercanas a 30 °C en la época estival, y bajas, con mínimas próximas a -9 °C y habituales heladas, durante los meses invernales (VV. AA., 1988).

Descripciones someras de los taxones incluidos en la actualidad en el género *Pachyphloeus*

Pachyphloeus melanoxanthus (Tul. & C. Tul. ex Berk.) Tul. & C. Tul., *Giard. Bot. Ital.* 1(7-8): 69 (1845).

Según la descripción original, los ascomas de *P. melanoxanthus* son globosos, más o menos comprimidos, de color negruzco, con pequeñas verrugas obtusas y una pequeña base miceliar. La gleba es de color oliva amarillento y posee amplias vetas negras. Ascosporas elipsoidales, pediceladas, de 80-130 x 40-70 μm , con ocho ascósporas esféricas aculeadas de 13-16 μm sin contar la decoración. Dichos acúleos miden 1,5-2,5(-3) μm (MONTECCHI & SARASINI, 2000).

Pachyphloeus melanoxanthus* var. *xanthocarnosus Soehner, *Hedwigia* 74: 248 (1936).

Según su autor (SOEHNER, 1936), esta variedad se diferencia de la especie tipo por los siguientes caracteres: las verrugas peridiales son menos conspicuas pudiendo llegar a perderse, los ascomas no portan mechón miceliar o sólo una pequeña parte de él, y la gleba es más amarillenta, con vetas de color verde sucio y un aspecto céreo. Microscópicamente, sus ascos son más pequeños que los de la forma tipo, al igual que sus ascósporas, que miden (10-)12,5(-15) μm y poseen una débil tendencia a la forma elipsoidal; la decoración, a base de finos acúleos, se transforma en pequeñas verrugas en su plena

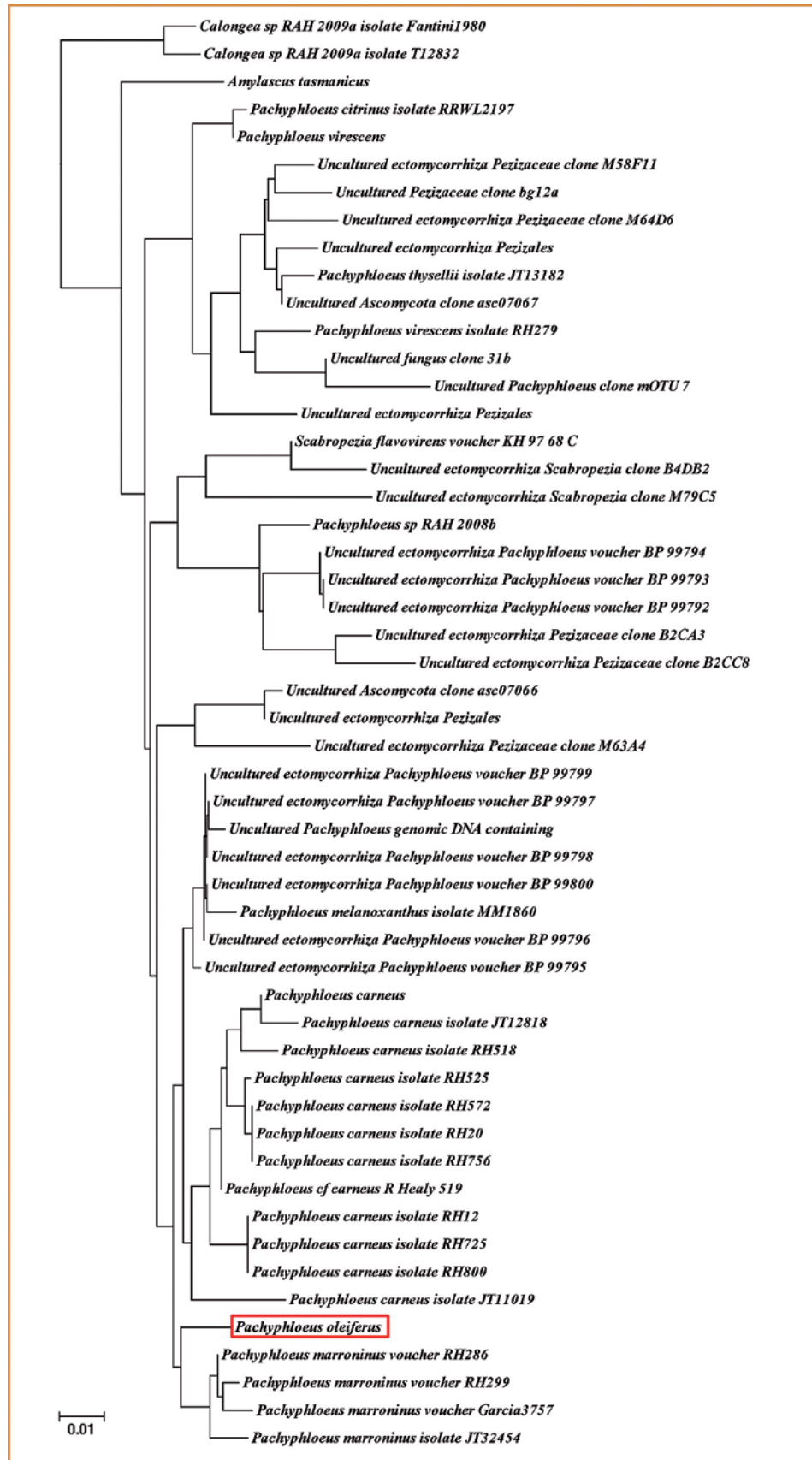


Fig. 11. Reconstrucción filogenética del género *Pachyphloeus*.



madurez, pareciéndose entonces a *P. citrinus*.

Pachyphloeus conglomeratus Berk. & Broome, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, ser. 1, 18: 79 (1846).

Ascomas con peridio liso, no verrucoso. Gleba compacta y de color rosado. Ascosporas claviformes, irregulares, de 150-250 x 30-60 μm , que contienen ocho ascósporas esféricas de 16-17 μm excluyendo la decoración (MONTECCHI & SARASINI, 2000).

Pachyphloeus citrinus Berk. & Broome, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, ser. 1, 18: 79 (1846).

Peridiopellis pseudoparenquimática, con células isodiamétricas o poliédricas. Ascósporas esféricas, de 14-16 μm de diámetro (ornamentación excluida). Dicha ornamentación está formada por verrugas o acúleos cilíndricos romos de 1-1,5(-2) μm . Ascosporas claviformes, pedunculadas, normalmente octospóricas y de hasta 170 x 65 μm , dispuestos de forma aleatoria en el himenio (RUBIO & al., 2010).

Pachyphloeus ligericus Tul. & C. Tul., *Fungi hypogaei*: 133 (1851).

El color de los ascomas es verde amarillento a pardo negruzco. Estructura del peridio pseudoparenquimático. Ascosporas subglobosas que contienen ocho ascósporas dispuestas de forma casual. Las medidas esporales son de 13-18 μm sin contar la decoración. Dicha ornamentación es cónica o cilíndrica y de 1-1,5(-3) μm de altura (GORI, 2005).

Pachyphloeus saccardoii Mattir., *Mem. Reale Accad. Sci. Torino*, ser. 2: 331 (1903).

La descripción de esta especie (MATTIROLO, 1903) está basada en material desecado. El peridio, de color marrón intenso, está formado por un estrato superficial pseudoparenquimático y otro profundo de estructura fibrosa próximo a la gleba. Ascosporas claviformes y cilíndricas de 250-300 x 30-45 μm , (se describen como los más largos del género, por encima de los de *P. melanoxanthus* y *P. citrinus*). Ascósporas esféricas, de color marrón en la madurez, de 18-24 μm sin contar su decoración a base de espinas de 2-4 μm de altura,

que en este caso también se consideran las mayores del género.

Esta especie parece ser en la actualidad o bien un sinónimo de *P. conglomeratus* (BERKELEY & BROOME, 1846) o de *P. melanoxanthus* (CERUTI, 1960; PEGLER & al., 1993).

Pachyphloeus prieguensis Mor.-Arr., J. Gómez & Calonge, *Bol. Soc. Micol. Madrid* 21: 87 (1996).

Ascomas reniformes a subglobosas, de color pardo rojizo, con olor desagradable y peridio con pequeñas verrugas y estructura pseudoparenquimática. Gleba laberintiforme. Ascosporas piriformes, con ocho ascósporas de color amarillento y de 12-19(-24) μm , incluida la decoración formada por pequeñas verrugas cónicas o cilíndricas. Este taxón (MORENO-ARROYO & al., 1996) ha pasado en la actualidad a pertenecer al nuevo género *Calonge*, en honor a uno de los descubridores de la especie, tras los estudios moleculares realizados por HEALY & al. (2009b).

Pachyphloeus macrosporus Calonge, in Calonge, García & Juste, *Boll. Gruppo Micol. G. Bresadola* 45(2): 52 (2002).

Este taxón fue localizado por primera vez en Torreadrada (Segovia) y aunque existe una segunda referencia procedente de Cantabria (BARRIO, 2007), después de revisar los datos aportados, la morfología y especialmente la decoración esporal de esta especie, incluidas las fotografías aportadas por los autores (CALONGE & al., 2002), encontramos diferencias sustanciales tanto macro como microscópicas que invitan a la reflexión sobre la pertenencia de este taxón al género *Pachyphloeus*.

Pachyphloeus carneus Harkn., *Proc. Calif. Acad. Sci.*, ser. 3, Bot. 1: 268 (1899).

Ascomas subglobosas de hasta 1 cm de diámetro, con el peridio salpicado de leves verrugas con relieves esteliformes en sus ápices y base irregular. Gleba citrina con venas oscuras. Ascosporas alargadas y ovoidales, pediceladas, con ocho ascósporas verrucosas de 14 μm de diámetro (HARKNESS, 1899)

Pachyphloeus virescens Gilkey, *Tuberales of North America* 1: 31 (1939).

Ascomarpos de color verde apagado y de 1 cm o menos de diámetro, irregular pero conspicuamente verrucosos, con la gleba provista de tonos amarillentos, lívidos. Ascosporas casi globulosas o anchamente ovoideas, raramente anchamente claviformes. Ascósporas de 18-24 μm ornamentadas mediante papilas truncadas más o menos engrosadas en los ápices (GILKEY, 1939).

Pachyphloeus lateritius Fogel & States, *Mycotaxon* 81: 84 (2002).

Ascomas subglobosas a cerebriformes de 2 x 3 cm, de color amarillento o pardo rojizo con intensas tonalidades rojizas. Gleba sólida. Ascosporas claviformes, de 85-120 x 35-45 μm , con cuatro u ocho ascósporas esféricas, hialinas, con una gúntula central, de (18-)20(-27) μm y con una ornamentación aculeada formada por espinas de 0,5 μm de longitud. Los ascomas inodoros de este taxón norteamericano parecen recordar a los del género *Balsamia* (FOGEL & STATES, 2002).

Pachyphloeus thysellii W. Colgan & Trappe, *Mycotaxon* 90(2): 282 (2004).

Especie americana localizada en bosques de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco cerca de Washington, que forma ascomas subglobosas o irregulares, finamente verrucosos y de color pardo amarillento, de 0,8-2 cm de diámetro. La gleba es blanquecina o amarillenta y se encuentra recorrida por venas de ese mismo color. Ascosporas elipsoidales, reniformes o subglobosas, de 80-110 x 40-60 μm , con ocho ascósporas predominantemente esféricas y de 12-17 μm de diámetro sin contar la ornamentación a base de espinas de aproximadamente 2 μm de altura (COLGAN & TRAPPE, 2004).

Pachyphloeus austro-oregonensis J.L. Frank & Trappe, *in* Frank, Southworth & Trappe, *Mycotaxon* 98: 254 (2006).

La descripción original de esta especie (FRANK & al., 2006) habla de ascomas subglobosas a irregulares de 1-2,5 cm de diámetro. El peridio es verrucoso, de color pardo púrpura, y la gle-

ba laberintiforme. Ascósporas globosas, hialinas, de (10-)12-16(-18) μm , con amplia ornamentación de 1-2,5 μm de altura. Especie localizada en el sur de Oregón (USA).

Pachyphloeus marroninus Healy, Bonito & Guevara, *Mycotaxon* 107: 64 (2009).

Taxón localizado en México y en el estado norteamericano de Iowa (HEALY & al., 2009a) que difiere de las otras especies del género en la combinación de un peridio pardo rojizo provisto de verrugas poligonales y una areola anaranjada, la existencia de una gleba blanca con venas asimismo pálidas en la madurez, los ascosporas estrechamente claviformes y las ascósporas hialinas o levemente amarillentas con espinas abundantes. Dichas ascósporas no tienden a formar un perisporio (HEALY & al., 2009a).

CONCLUSIONES

Después de la revisión de las descripciones originales de los taxones actualmente incluidos en el género *Pachyphloeus*, exponemos los siguientes criterios diferenciadores con la nueva especie propuesta:

P. oleiferus se diferencia de todas las especies hasta ahora descritas por los siguientes caracteres:

Desde el punto de vista macroscópico ninguna de ellas presenta ascomas con una foseta tan amplia y profunda y una decoración verrucosa tan prominente. Por otra parte, la existencia de una gleba con tonos grisáceos en la que puede observarse una estructura himenial muy organizada parece ser otro carácter diferenciador muy importante.

Microscópicamente, el color pardo de las ascósporas, los ascosporas cilíndricos poco turgentes y un himenio organizado en empalizada, son caracteres claramente diferenciadores del resto de especies conocidas. El contenido oleaginoso de las hifas himeniales parece ser también, y por el momento, un carácter exclusivo de este hongo.

En lo referente a las especies filogenéticamente más próximas, *P. marroninus* y *P. carneus* (Fig. 11), podemos anotar las siguientes diferencias:



P. marroninus se diferencia macroscópicamente de *P. oleiferus* por las pequeñas verrugas planas del peridio, muy pronunciadas y con ápice amarillento en *P. oleiferus*. Por otra parte *P. marroninus* carece de la pronunciada depresión o foseta de *P. oleiferus* y su gleba es de color blanco con venas translúcidas frente al color gris de la de este último taxón. Microscópicamente, sus estructuras tienen alguna similitud ya que *P. marroninus* está provisto de un himenio similar, organizado en empalizada, con ascos cilíndricos y biseriados, pero sus ascósporas son de menores dimensiones, hialinas en la juventud y amarillo verdosas en la madurez plena.

P. carneus comparte la misma estructura peridial, pero se diferencia claramente de *P. oleiferus* por el color de la gleba cuyas tonalidades son amarillentas con vetas oscuras y sus ascos alargados y ovoidales con sus ascósporas irregularmente dispuestas.

Mientras que las diferencias con otras especies cercanas del género se resumen de esta manera:

P. lateritius se diferencia por sus ascos claviformes y sus ascósporas hialinas, provistas de una gran gútula central y con una ornamentación aculeada.

P. saccardoi posee ascos de 250-300 μm y ascósporas aculeadas con aguijones de 2-4 μm de longitud.

P. virescens forma ascos globosos u ovoideos, no cilíndricos.

P. thysellii posee ascos elipsoidales, reniformes o subglobosos.

Por último, las diferencias con *P. austro-oregonensis* pueden establecerse teniendo en cuenta el diferente color del peridio y sus ascósporas hialinas de menores dimensiones.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a los especialistas norteamericanos G. Bonito y R. Healy del Departamento de Biología de la Universidad de Duke (USA), y J. Trappe, del Departamento de Ciencias Forestales de la Universidad de Oregón, por sus trabajos preliminares en la secuenciación de la región ITS, mediante los cuales pudo obtenerse

un posicionamiento taxonómico de nuestro hongo. A mi amigo N. Santamaría, especialista en química y un gran microscopista por compartir toda su experiencia y aportaciones en este área. A los expertos del departamento de Microscopía Electrónica de Barrido de la Universidad de León, A. Sánchez y P. de Paz, por su trabajo al MEB con las muestras. A mi amigo E. Rubio, por su colaboración y corrección crítica del texto. A mi compañero L. A. Parra, por sus aportaciones de muchas referencias bibliográficas. Al profesor de latín R. Castaño por la diagnosis latina. A mi amigo J. Talegón, por la identificación de la flora vascular en la zona de trabajo. A mis amigos y compañeros I. Paz, L. Barrio, B. Vázquez y F. Calzada por ofrecerme toda su experiencia y apoyo, y por todos los buenos ratos compartidos. Por supuesto, a mis compañeros de campo "Balto" y "Nora", incansables mascotas y responsables directos en la localización de los ascomas de este hongo ahora propuesto como nuevo para la Ciencia.

REFERENCIAS

- BARRIO, L. (2007). Nuestras setas. *Pachyphloeus macrosporus*. *Yesca* 19: 68-71.
- BERKELEY, M.J. & C.E. BROOME (1846). Notices of British hypogeous fungi. *Ann. Mag. Nat. Hist.* (1), 18: 73-82.
- BERTINI, L., A. AMICUCCI, D. AGOSTINI, E. POLLIDORI, L. POTENZA, C. GUIDI & V. STOCCHI. (1999). A new pair of primers designed for amplification of the ITS region in Tuber species. *FEMS Microbiology Letters* 173: 239-245.
- CABERO, J. (2008). Aportaciones al conocimiento de las especies de hongos hipogeos en la provincia de Zamora. *Bol. Micol. FAMCAL* 3: 13-30.
- CABERO, J. (2009). Primera cita para la península Ibérica de *Tuber malacodermum*. *Bol. Micol. FAMCAL* 4: 19-30.
- CABERO, J. (2011). Segunda cita para la península ibérica de *Gymnomyces ilicis*. *Bol. Micol. FAMCAL* 6: 63-68.
- CALONGE, F.D., F. GARCÍA & P. JUSTE (2002). Nuovi dati sui funghi ipogei della Spagna. IX. *Pachyphloeus macrosporus* sp. nov. *Boll. Gruppo Mycol. G. Bresadola* 45: 51-56.

- CERUTI, A. (1960). Elaphomycetales et Tuberales. *Icon. Mycol.* 28, Suppl. II. Trento
- COLGAN III, W. & J.M. TRAPPE (2004). NATS truffle and truffle-like fungi 10: *Pachyphloeus thysellii* sp. nov. (Pezizaceae, Pezizomycotina). *Mycotaxon* 90: 281-284.
- FOGEL, R. & J. STATES (2002). Materials for a hypogeous mycoflora of the Great Basin and adjacent cordilleras of the western United States. VIII: *Pachyphloeus lateritius* sp. nov. and *Cazia quericola* sp. nov. (Ascomycota, Pezizales). *Mycotaxon* 81: 83-89.
- FRANK, J.L., D. SOUTHWORTH & J.M. TRAPPE (2006). NATS truffle and truffle-like fungi 14: *Pachyphloeus-austro-oregonensis*, a new species from southern Oregon. *Mycotaxon* 98: 253-259.
- GILKEY, H.M. (1939). *Tuberales of North America*. Oregon State College Studies in Botany 1: 1-63.
- GORI, L. (2005). *Funghi ipogei della Lucchesia, di altre province italiane e dall'estero*. Pacini Fazzi, Lucca.
- HARKNESS, H.W. (1899). Californian hypogeous fungi. *Proc. California Acad. Sci.* ser. 3, 1: 241-293.
- HEALY, R.A., G. BONITO & G. GUEVARA (2009a). The truffle genus *Pachyphloeus* in the U.S. and Mexico: Phylogenetic analysis and a new species. *Mycotaxon* 107: 61-71.
- HEALY, R.A., G. BONITO & J.M. TRAPPE (2009b). *Calongea*, a new genus of truffles in the Pezizaceae (Pezizales). *Anales Jard. Bot. Madrid* 66 (S1): 25-32.
- MATTIROLO, O. (1903). I funghi ipogei italiani. *Mem. Reale Accad. Sci. Torino*, ser. 2, 53: 331-355.
- MONTECCHI, A. & M. SARASINI (2000). *Funghi Ipogei d' Europa*. Associazione Micologica Bresadola. Trento.
- MORENO-ARROYO, B., J. GÓMEZ & F.D. CALONGE (1996). *Pachyphloeus prieguensis* sp. nov. (Ascomycotina) encontrada en España. *Bol. Soc. Micol. Madrid* 21: 85-92.
- PANTONE. Carta de colores. <http://www.stumbleupon.com/content/16sZzt>. [Consultada el 22-VI-2012].
- PEGLER, D.N., B.M. SPOONER & T.W.K. YOUNG (1993). *British truffles. A revision of British hypogeous fungi*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- RUBIO, E., M.A. MIRANDA, J. LINDE & J.A. SÁNCHEZ (2010). *Biodiversidad fúngica del Parque Natural de Somiedo*. Ed. Ayuntamiento de Somiedo. Somiedo.
- SOEHNER, E. (1936). Bayerische *Pachyphloeus*-Arten. *Hedwigia* 75: 243-254.
- VILGALYS, R. & M. HESTER (1990). Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several species of *Cryptococcus*. *J. Bacteriol.* 172: 4238-4246.
- VV. AA. (1988). *Análisis del Medio Físico de Zamora. Delimitación de unidades y estructura territorial*. EPYPSA. Valladolid.