

**Descripción y comparación de estructuras microscópicas de
Boletus pinophilus Pilát y Dermek, de distintas procedencias de Guatemala,
respecto a las descritas para Europa.
Che G. y Flores R.**

Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
Universidad de San Carlos de Guatemala.

Resumen

Se describen macro y microscópicamente especímenes guatemaltecos de *B. pinophilus* y se comparan con dos muestras italianas así como con bibliografía europea para determinar si corresponden exactamente con dicha especie o si se trata de una variedad o de otra especie similar. Se compara también con *Boletus rex-veris* de Norteamérica, una especie recién confirmada y similar a *B. pinophilus*. Se encontraron variaciones en la forma y dimensión de cistidios, basidios y número de esterigmas pero la principal diferencia se encuentra en la forma y dimensión de las hifas del píleo. Se concluye que *B. pinophilus* en Guatemala corresponde a una entidad diferente a *B. pinophilus* sensu stricto que existe en Europa por las variantes microscópicas encontradas así como por su sabor más intenso y porte más delgado. Se propone la descripción de una nueva variedad, *Boletus pinophilus* var. *americanus* var nov. R. Flores y G. Che.

Palabras clave: *Boletus pinophilus*, descripción, comparación, micro-estructuras pileipellis.

Abstract

Guatemalan *Boletus pinophilus* samples were described macro and microscopically and compared with two Italian samples and with European bibliography to determine the right identification of them. Samples were also compared with *Boletus rex-veris*, a recently confirmed North American specie similar to *B. pinophilus*. There were found differences in form and size of cystidia, basidia and sterigmata number but the main difference was the form and size of the cap hyphae. It's concluded that *B. pinophilus* in Guatemala is a different entity of *B. pinophilus* sensu stricto, which grows in Europe, by the microscopic features found as well as its more intense flavor and thinner size. It's proposed the description of a new variety: *Boletus pinophilus* var. *americanus* var nov. R. Flores and G. Che.

Key words: *Boletus pinophilus*, description, comparison, microscopic features.

Introducción

El género *Boletus* (Basidiomycota) se encuentra presente en casi todo el planeta y está particularmente distribuido en el Hemisferio Norte. El género es de suma importancia por la formación de micorrizas y la producción de setas comestibles valiosas. Dentro de este género se encuentra el grupo *Edulis*. *Boletus pinophilus* Pilát & Dermek pertenece a este grupo y fue descrito taxonómicamente en Europa pero con distribución hasta México en América y Marruecos en África. En Guatemala se ha encontrado en áreas montañosas de Quetzaltenango, Totonicapán, Quiché y Sierra de Las Minas (Bran M. et al. 2003; Flores R. 2000; Flores R. 2003). Ha sido poco estudiado por su escasa distribución, frecuencia de cuerpos fructíferos y porque no se ha encontrado ningún reporte de consumo por comunidades campesinas indígenas. Por otro lado, no se ha realizado ningún estudio sobre la estructura microscópica de sus elementos reproductivos, componente fundamental para la descripción de una especie (Carranza y Halling, 1996).

El propósito de esta investigación fue describir y determinar si las muestras recolectadas en Guatemala e identificadas como *Boletus pinophilus* corresponden exactamente con dicha especie.

Materiales y Métodos

Se analizaron seis especímenes guatemaltecos de *Boletus pinophilus* depositados en la Micoteca Rubén Mayorga Peralta de la Facultad de CCQQ y Farmacia (USAC): 113.2004; 28.2006; 1.2008; 17.2008; 18.2008; 19.2008; y dos italianos: EMGS #1623 y EMGS #1622. Se consideró oportuno analizar las muestras italianas ya que la descripción original de la especie no incluye datos de microscopía sobre algunas micro-estructuras. De las muestras herborizadas se extrajeron pequeñas porciones de la cutícula del píleo, del pie y del himenio para el análisis microscópico por medio de cortes transversales y longitudinales muy finos. Cada corte fue tratado con una gota de agua desmineralizada y una gota de KOH al 3% para su rehidratación. Luego se agregó una gota de Rojo Congo para teñir las

estructuras. Otras fueron rehidratadas con agua y observadas con reactivo de Melzer para observar incrustaciones y reacciones amiloides.

Se hicieron 20 mediciones en largo y ancho de basidios, basidiolos, esterigmas, cistidios, esporas, hifas pileicas (*pileipellis*) y estipitales (*stipeipellis*). También se hizo un análisis morfométrico (exclusivamente por rangos) para comparar las muestras:

- Entre muestras guatemaltecas.
- Respecto a los valores de referencia descritos (Europa).
- Respecto a los dos especímenes italianos (dos localidades diversas).

Resultados

A nivel microscópico se encontró que las muestras guatemaltecas poseen cistidios un poco más pequeños y basidios más anchos que las europeas. Por otro lado, el promedio de esterigmas en las muestras guatemaltecas es de 2 mientras que en las europeas es de 4. El grosor de las hifas de la *pileipellis* de la especie en Europa es de un máximo de 10.0 μm mientras que en las muestras guatemaltecas alcanzaron hasta 20.0 μm (Tabla 1).

Tabla 1: Descripción y comparación de microestructuras de *Boletus pinophilus* según la bibliografía europea, muestras italianas y muestras guatemaltecas.

Variable	Referencia europea*	Muestras italianas	Muestras guatemaltecas
Esporas	14–20 x 3.5–6 μm . Fusiformes con depresión suprahilar, lisas de coloración amarillenta.	14.0–20.0 x 4.0–6.0 μm Lisas de coloración verde-oliváceas a cafés.	(13)15–16(17) x (4)5–(6) μm . Q = 2.91 (N=120). Cilíndricas, lisas y de coloración verde-oliva.
Cistidios	36–60 x 4.5–12 μm .	Digitados a obclavados**	36.0–53.0 x 8.0–13.0 μm . Digitados, presentan pocas granulaciones no amiloideas.
Basidiolos	Sin datos	30.0–40.0 x 8.0–16.0 μm Clavados o en forma de mazo con granulaciones no amiloideas.	26.0–40.0 x 7.0–15.0 μm . Clavados con granulaciones no amiloideas.
Basidios	30–40 x 7–12 μm . Tetraspóricos y claviformes.	33.0–41.0 x 10.0–14.0 μm . Clavados o en forma de mazo con granulaciones no amiloideas. Generalmente bi y trispóricos. Algunos son tetraspóricos	28.0–45.0 x 8.0–18.0 μm . Clavados con granulaciones no amiloideas. Bispóricos en su mayoría, algunos tetraspóricos.
Esterigmas	Sin datos	2.0–4.0 x 1.0–2.0 μm	2.0–8.0 x 1.0–2.0 μm .
Hifas	7–10 μm .	Disposición en ixotricoderma, embebidas en poco material gelatinoso, con un ancho de 10–15 μm , paredes de aproximadamente 1 μm , algunas con pequeñas y escasas granulaciones no amiloideas. Hifas terminales sub-agudas a clavadas, algunas dicotomizadas o bifurcadas	Disposición en ixotricoderma, embebidas en abundante material gelatinoso, con un ancho en la cutícula de 8.0–20.0 μm , y de 10–15 μm en la parte baja del estípite. Presentan paredes de aproximadamente 1 μm de ancho. Hifas terminales generalmente piriformes a globosas. No presentan fíbulas y la mayoría con granulaciones no amiloideas.

Fuente: Datos experimentales. *Datos bibliográficos. **Tomado de Foiera F. (1993).

El análisis de los especímenes italianos mostró que los basidiolos y basidios son morfológicamente diferentes (Tabla 1, Figura 1) y con esterigmas más cortos. La morfología de esporas y cistidios fue muy similar (Figura 1).

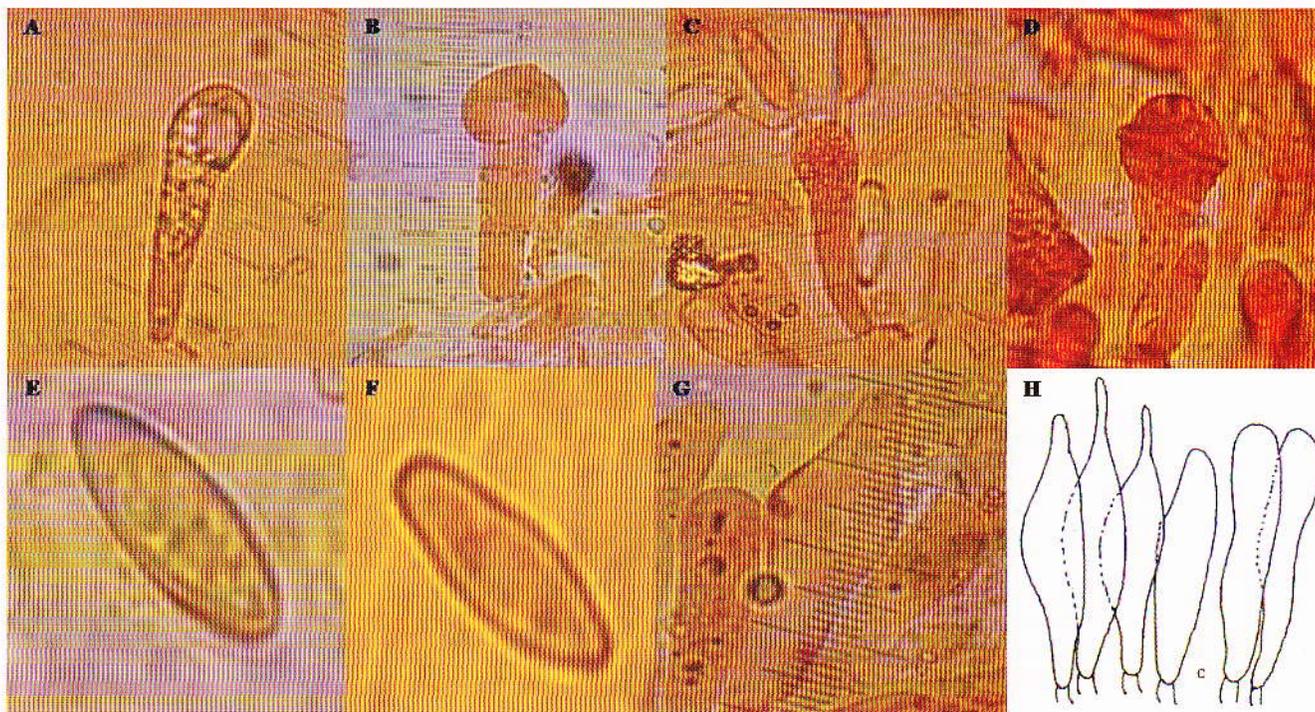


Figura 1. Comparación de microestructuras de *B. pinophilus* guatemaltecos e italianos. A. Muestra guatemalteca: Basidiolo clavado y delgado, con granulaciones no amiloideas en el interior (19.2008). B. Muestra italiana: Basidiolo clavado o en forma de mazo, con granulaciones no amiloideas escasas (EMGS 1623). C. Muestra guatemalteca: Basidio clavado y delgado, con granulaciones no amiloideas, bispórico y con esterigmas largos (19.2008). D. Muestra italiana: Basidio clavado o en forma de mazo con granulaciones no amiloideas, generalmente bi y trispóricos (EMGS 1623). E. Muestra guatemalteca: Espora cilíndrica-elipsoidal, lisa y de coloración verde-oliva (19.2008). F. Muestra italiana: Espora lisa, cilíndricas, de color verde-oliváceo a café. (EMGS 1622). G. Muestra guatemalteca: Cistidios himeniales digitados, con pocas granulaciones no amiloideas (19.2008). H. Muestra italiana: Cistidios himeniales digitados a obclavados (Tomado de Foiera F. 1993).

La mayor diferencia entre las muestras guatemaltecas e italianas radica en la morfología de las hifas pileicas. Las guatemaltecas poseen hifas clavadas a globosas con un ancho de hasta 20.0 μm mientras las italianas poseen forma sub-aguda a clavada y con un ancho máximo de 15.0 μm (Figura 2).

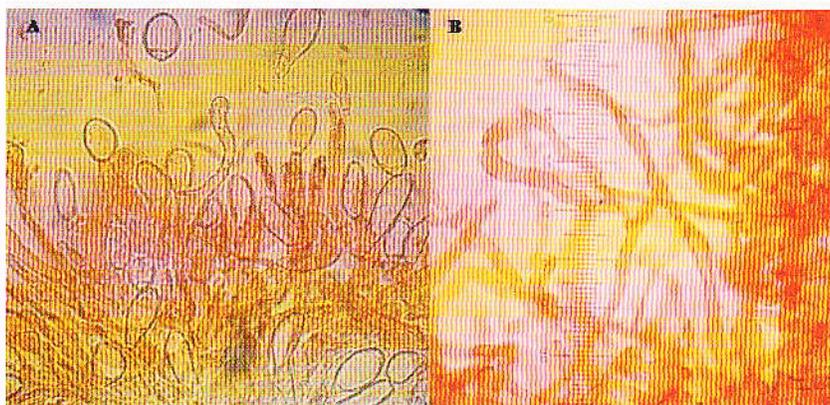


Figura 2: Comparación de hifas del píleo de especímenes guatemaltecos e italianos. A. Muestra guatemalteca: hifas terminales clavadas a globosas, con granulaciones y abundante material gelatinoso (19.2008). B. Muestra italiana: hifas terminales alargadas, sub-agudas y/o clavadas, bifurcadas, lisas y con menor cantidad de mucílago (EMGS 1622).

Discusión

B. pinophilus en Europa produce píleos de hasta 300 mm de diámetro mientras que los especímenes guatemaltecos alcanza un máximo de 135 mm. El diámetro del estípite reportado para Europa es de hasta 100 mm, grueso, bulboso a ovoide y a veces más ancho que el píleo (Galli G., 1996; Pilát A.; Papetti C., 1999), situación muy distinta a lo que se encuentra en Guatemala (hasta 30 mm de diámetro, forma clavada a sub-bulbosa y nunca sobrepasa el ancho del píleo). En Europa, *B. pinophilus* se reporta como una especie con olor y sabor poco perceptibles o simplemente fúngico, no así en Guatemala donde manifiesta olor y sabor fuerte y agradable a ajo-almendra, incluso mucho más fuerte que *B. edulis*.

En cuanto al hábitat, *B. pinophilus* europeo crece en bosques de pino y mixtos caducifolios a baja altitud. En Guatemala se encuentra en bosques mixtos de pino (*Pinus*), encino (*Quercus*) y madroño (*Arbutus*), obligatoriamente en torno a los 2000 msnm y en suelos arenoso-volcánicos, ricos en piedra pómez. A nivel microscópico, las diferencias entre las distintas muestras guatemaltecas pueden deberse a factores como altitud, clima y edad así como a la posibilidad de micro-especies como está sucediendo en algunos complejos de especies de hongos. Respecto a los datos bibliográficos europeos, *B. pinophilus* en Guatemala muestra similitud en la forma y dimensión de las esporas así como en la forma de los cistidios. Sin embargo, hay diferencia en la dimensión de los basidios y número de esterigmas (Foreira F. et al.1993).

El análisis microscópico permitió observar una marcada diferencia morfológica entre los basidios y basidiolos de las muestras guatemaltecas e italianas, así como en la longitud de los esterigmas de las muestras locales. La mayor diferencia a nivel microscópico, según la procedencia, es la forma y dimensión de las hifas de la cutícula del píleo. Las muestras guatemaltecas poseen hifas clavadas a globosas, con un ancho máximo de 20 μm y con abundantes incrustaciones, mientras que las italianas poseen hifas sub-agudas a clavadas, con un ancho máximo de 15 μm y con escasas incrustaciones, tal como señalan Beugelsdijk et al. (2008). Estos autores describen por primera vez la presencia de incrustaciones en *B. pinophilus* europeo, dato que no se menciona en la descripción de Pilát y Dermek (Pilát A.; Beugelsdijk D. et al.2008). Todas estas diferencias macro y microscópicas observadas nos lleva a afirmar que *B. pinophilus* en Guatemala no es exactamente la misma especie genética que existe en Europa (Beugelsdijk D. et al.2008), por lo que debe considerarse, al menos, como una nueva variedad para la ciencia. Esta propuesta se sustenta en los resultados obtenidos por Flores (2003) en un estudio molecular sobre el grupo *Edulis*, en el cual los árboles filogenéticos, que incluyeron muestras europeas y americanas, mostraron que *B. pinophilus* de Guatemala queda siempre situado en el mismo clado de *Boletus pinophilus* europeo. La posibilidad que esta variedad pueda cambiar a sub-especie o especie dependerá de más análisis moleculares y la disponibilidad de nuevas secuencias genéticas de esta especie.

Finalmente, Arora (2008), propuso que lo que se conocía como *B. pinophilus* en California sea llamado *Boletus rex-veris* sp. nov., por su tamaño, forma de crecimiento y hábitat, aunque no incluye ningún estudio molecular. Respecto a esa especie, *B. pinophilus* de Guatemala tampoco corresponde con ella, tanto por su aspecto macroscópico como por su microscopía. En base a las observaciones fotográficas y de referencia norteamericanas, *B. pinophilus* de Guatemala es muy similar al que crece en el Este de EEUU por su porte, olor, sabor y hábitat (Metzler S., 1992; Bessette E. et al. 2000; Halling R., 2005) y claramente diferente al de California (Oeste de EEUU). Tomando en consideración toda las descripciones analizadas, las muestras estudiadas y la parte molecular publicada hasta la fecha, se propone el reconocimiento y descripción de una nueva variedad: *Boletus pinophilus* var. *americanus* R. Flores y G. Che.

Referencias

- Arora D. California porcini: Three New Taxa, observations on their harvest, and the tragedy of No Commons. *Economic Botany* 2008; 62: 356-375.
- Beugelsdijk D. et al. A phylogenetic study of *Boletus* section *Boletus* in Europe. *Persoonia* 2008; 20: 1-7.
- Bessette E. et al. North American Boletes, a color guide to the fleshy pored mushrooms. New York: Syracuse University Press, 2000. 379p. (87 -172).
- Bran M. et al. Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de Guatemala. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia* 2003. 8-24.
- Carranza J, Mueller G. Fungi of Costa Rica: selected studies on biodiversity and ecology. *Rev Biol.* 1996. 15-89.
- Flores R. y Simonini G. Contributo alla conoscenza delle Boletales del Guatemala. *RdM.* 2000. 2:124-145.
- Flores R. *Lactarius* sección *Dapetes* y *Boletus* grupo *Eduilis* en Guatemala; micorrización y estudio filogenético. España: Universidad de Murcia, (Tesis doctoral, Facultad de Biología) 2003. 232p. (14-27).
- Foiera F. et al. *Funghi Boleti*. Bologna. Italia: Edagricole, 1993. 260p. (100-101).
- Galli G. *I Boleti: Atlante pratico-monografico per la determinazione dei boleti*. Italia: Edinatura, 1996. 287p. (162-165).
- Halling R. y Mueller G. *Common Mushrooms of the Talamanca Mountains, Costa Rica*. New York: The New York Botanical Garden, 2005. 179p. (34-78).
- Metzler S. y Metzler V. *Texas Mushrooms. A Field Guide*. USA: University of Texas Press, 1992. 350p. (204-205).
- Papetti C, Consiglio G, Simonini G. *Atlante fotografico dei Funghi d'Italia*. Italia: Associazione Micologica Bresadola, 1999. 511p. (369-384).
- Pilát A, Dermek A. *Boletaceae. Chiavi per le descrizioni sulla famiglia Boletaceae Maire*. Vicenza, Italia: Gruppo Micologico Bresadola. 163p. (74-82).