

***IODOPHANUS GRANULIPOLARIS* (ASCOMYCOTA-PEZIZALES): PRIMERA
CITA PARA LA ARGENTINA.
UN ESTUDIO MORFOLÓGICO Y FISIOLÓGICO**

ISABEL E. CINTO & DIANA A. DOKMETZIAN

*Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,
Universidad de Buenos Aires, C1428EHA. C.A.B.A. Argentina. E-mail: icinto@bg.fcen.uba.ar*

ABSTRACT: Cinto, I. E. & Dokmetzian, D. A. 2006. *Iodophanus granulipolaris* (Ascomycota-Pezizales): first record from Argentina. A morphological and physiological study. *Hickenia* 3(62): 277-284.

In this paper, *Iodophanus granulipolaris* is recorded for the first time for Argentina. It's life cycle, development, cytology and physiology were studied. Culture studies showed that *I. granulipolaris* is homothallic and cellulolytic. Light plays an important role in sexual development and biosynthesis of carotenes. Cytological studies revealed approximately six chromosomes per nucleus.

Key words: *Iodophanus*, morphology, development, light influence.

RESUMEN: Cinto, I. E. & Dokmetzian, D. A. 2006. *Iodophanus granulipolaris* (Ascomycota-Pezizales): primera cita para la Argentina. Un estudio morfológico y fisiológico. *Hickenia* 3(62): 277-284.

En el presente trabajo se cita por primera vez para el país y se describe *Iodophanus granulipolaris* (Ascomycota-Pezizales). Se estudió su ciclo de vida y su desarrollo, así como también su citología y fisiología. De los estudios de cultivo monospórico se pudo demostrar que esta especie es homotálica y celulolítica. La luz juega un papel fundamental en el desarrollo sexual del hongo y en la síntesis de carotenos. De los estudios citológicos se pudo evidenciar que tiene aproximadamente 6 cromosomas por núcleo.

Palabras clave: *Iodophanus*, morfología, desarrollo, influencia de la luz.

INTRODUCCIÓN

Desde que Boudier (1869) reconoció dentro de la familia Ascobolaceae la subfamilia Ascobolei Spurii (más tarde llamada Pseudoascobolaceae) y en ella ubicó a las especies de *Ascobolus* con ascosporas hialinas creando los géneros *Ascophanus* (8-16 ascosporas por asco), *Thecotheus* (16 ascosporas por asco) y *Ryparobius* (numerosas ascosporas por asco), nuevos géneros han sido segregados utilizando

caracteres morfológicos tradicionales.

Boudier (1885) dividió la familia Ascobolaceae en dos subfamilias: Ascoboles, especies con ascosporas pigmentadas y Pseudoascoboles, especies con ascosporas hialinas. Este sistema ha sido aceptado por la mayoría de los especialistas en Discomycetes; la primera excepción fue la de Seaver (1928) quien dividió la familia Pezizaceae en numerosas tribus,

ubicando a los grupos con esporas pigmentadas en la tribu Ascoboleae y las formas con esporas hialinas en la tribu Humarieae.

En una revisión de la clasificación de las Pezizales, Korf (1954) reconoció 11 tribus dentro de *Pezizaceae* y propuso ubicar a aquellas especies de *Ascophanus* Boud. con ascos amiloides y esporas con ornamentación caloso-pécticas en la tribu *Pezizeae*. Kimbrough (1966), concluyó que el lectotipo de *Ascophanus*, *Peziza subfuscus* Crouan, caía dentro de los límites naturales del género *Thelebolus* Tode ex Fr.

Kimbrough y Korf (1967) abandonaron el nombre *Ascophanus* y crearon el nuevo género *Iodophanus* Korf para aquellas especies con ascos amiloides, ascosporas con exosporio con ornamentaciones caloso-pécticas, *Oedocephalum* como estado imperfecto en algunas especies y otras características similares a la tribu *Pezizeae*.

A partir de ese momento, hubo una gran discrepancia en la ubicación del género; en un estudio de las Pezizales de Australia, Rifai (1968) reconoció el género *Iodophanus* y aceptó su ubicación dentro de la familia *Pezizaceae*. Eckblad (1968), por el contrario, encontró más razonable ubicarlo como un tipo primitivo dentro de la familia *Pyronemaceae*, con los que comparte la estructura del excípulo y las paráfisis con carotenoides. Dennis (1968) también aceptó el género *Iodophanus* y lo ubicó en la tribu *Pseudoascoboleae* dentro de la familia *Ascobolaceae*.

Más adelante, los estudios de herbario y de colecciones frescas de discomycetes coprófilos, especialmente de especímenes pertenecientes al género *Ascophanus sensu* Boudier, dieron como resultado la transferencia de cuatro especies al género *Iodophanus* y al descubrimiento de especies nuevas.

Hasta el momento, para la Argentina, sólo se ha citado la especie tipo *I. carneus* (Gamundí & Ranalli, 1964), que ha sido ampliamente estudiada por Mouso de Cachi & Ranalli, 1989; Danuncio et al., 1993; Diorio & Forchiassin, 1995, 1997, 1998; Diorio et al., 1995; Diorio & Mercuri, 1996; Diorio, 1996, 1999; Pardo et al., 1997.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó la cepa monospórica BAFC 3020 de *I. granulipolaris* perteneciente a la colección de cultivos del Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. La muestra seca de donde proviene esta cepa se cita como material examinado.

Medios de cultivo: a) medio ET (estiércol tindalizado): trozos de estiércol tindalizado sobre papel de filtro en cajas de Petri; b) medio AA (agar-agua): agar, 18 g; agua bidestilada hasta 1000 ml; c) medio CMC (caboxi-metilcelulosa): NaNO₃, 2 g; K₂HPO₄, 0,5 g; MgSO₄, 0,2 g; CaCl₂.2H₂O, 0,02 g; MnSO₄.H₂O, 0,02 g; FeSO₄.7H₂O, 0,02 g; agar, 15 g; CMC, 5 g; agua bidestilada hasta 1000 ml; d) medio PF (papel de filtro): extracto de levadura, 3 g; agar, 18 g; agua bidestilada hasta 1000 ml; e) medio GA (glucosa-asparagina): SO₄Mg.7H₂O, 0,5 g; PO₄H₂K, 0,5 g; PO₄HK₂, 0,6 g; SO₄Cu.5H₂O, 0,4 mg; Cl₂Mn.4H₂O, 0,09 mg; BO₃H₃, 0,07 mg; MoO₂Na.2H₂O, 0,02 mg; Cl₃Fe, 1 mg; Cl₂Zn, 10 mg; biotina, 5 µg; HCl-tiamina, 0,1 mg; glucosa, 7,5 g; L-asparagina, 1 g; agar, 18 g; agua bidestilada hasta 1000 ml; f) medio ME (extracto de malta): extracto de malta, 12,5 g; glucosa, 10 g; agar, 20 g; agua bidestilada hasta 1000 ml. Los medios de cultivo fueron esterilizados en autoclave a 121°C y 1,2 atm durante 20 minutos.

Condiciones de cultivo: los cultivos se realizaron en cajas de Petri de 90 mm de diám. con 20 ml de medio y en el caso del medio PF, un disco de papel de filtro estéril y en tubo de ensayo con medio en pico de flauta y una tira de papel de filtro de 1 x 5 cm. Las cajas fueron incubadas en cámara de cultivo New Brunswick Psicotherm G-27, a 23°C con luz provista por 4 tubos fluorescentes de 20 W cada uno (salvo en caso especial señalado).

Determinaciones: el crecimiento en medio sólido se estimó midiendo el diámetro de la colonia a distintos días de inoculado, hasta alcanzar el borde de la caja. Las observaciones macro y microscópicas de la colonia y las fructifi-

caciones se realizaron "in vivo" sobre cultivos monospóricos desarrollados en cajas de Petri con ET o medio PF, a temperatura constante de 23°C y luz continua. Se utilizó hematoxilina propiono-férrica como colorante para las tinciones citológicas de micelio vegetativo y fructificaciones. Para determinar el efecto de la luz sobre el desarrollo sexual y crecimiento vegetativo se inocularon cajas de Petri con medio ET y PF y fueron envueltas en papel opaco negro y colocadas en cámara de cultivo. Como control positivo los duplicados de las mismas fueron colocados en la cámara a la luz, para poder determinar el comienzo de la fructificación. Una vez aparecidas las fructificaciones en las cajas iluminadas se observaron las cajas puestas en oscuridad. Si no hubo fructificación, se las dejó unos días más, para descartar que la falta de luz haya alargado el período de maduración sexual del micelio. Si después de varios días, siguieron sin fructificar, se las iluminó para ver si existe una dependencia a la luz en el desarrollo sexual del hongo. Se determinó el poder celulolítico inoculando cajas de Petri con CMC. A los tres días de crecimiento se midió el diámetro de la colonia y el halo de degradación después de revelar con rojo congo (0,1%) durante 10 minutos y posterior lavado con una solución de NaCl 1M.

RESULTADOS

Iodophanus granulipolaris Kimbrough, Amer. J. Bot. 56(10): 1201. 1969. Holotipo: Estados Unidos, Florida, Gainesville, sobre estiércol de vaca, 7/02/1929; *E. West and Bratley s.n.* (FLAS F 3749). No examinado.

Apotecios: pequeños de 0,6-1,2 mm de diámetro (Fig. 1 A), superficiales, aislados a densamente gregarios, pilosos y globosos en toda su superficie. Cuando jóvenes tenuemente rosados, volviéndose de un color rosa "carne" o salmón intenso al madurar.

Ascos: octosporados, subclaviformes (Fig. 1 B), con opérculo central (Fig. 1 C), unitunicados. Pared gruesa que da una intensa reacción amiloide; 276,84-319,48 x 32,6-45,64 µm.

Paráfisis: simples, regularmente septadas y ligeramente ensanchadas en el ápice (Fig. 1 D). Muy pigmentadas, con acumulación de "gránulos" pigmentados de color naranja-marrón. Diám: 6,5-9,1 µm.

Ascosporas: elipsoidales con los polos redondeados, hialinas, uninucleadas, ornamentadas (Fig. 1 E y F). La ornamentación está irregularmente repartida siendo mucho más densa hacia los polos; 24,7-26 x 14,95-15,55 µm.

Excípulo: de textura globulosa, con células de 22,96-41 x 18,04-32,8 µm.

Hábitat: fimícola.

Material examinado

ARGENTINA. **Entre Ríos**. Hernández, leg. Cecilia Giménez, 24/04/2002, sobre estiércol de vaca. (BAFC 51523)

Observaciones: Esta especie parecería estar relacionada con *I. venezuelensis* Jeng & Krug y con *I. bermudensis* (Seaver) Kimb. et Korf con las que comparte el tipo de ornamentación de las ascosporas, donde las ornamentaciones caloso-pécticas se hacen más densas hacia los polos. Difiere de *I. venezuelensis* en el tamaño de los ascos y ascosporas, siendo los de *I. granulipolaris* 60-100 µm mas cortos. De *I. bermudensis* se diferencia principalmente por el tamaño y ornamentación de las ascosporas. *I. bermudensis* presenta ascosporas 5-10 µm más grandes, así como también es considerablemente mayor el tamaño de las ornamentaciones en los polos.

Germinación de las ascosporas

Algunas ascosporas recogidas en AA provenientes del estiércol original, así como las provenientes de cultivos sobre ET y PF, germinaron espontáneamente. Se ensayaron tratamientos inductores con soluciones de NaOH al 0,1; 0,2; 0,3 y 0,4% durante 20 o 30 minutos y posterior incubación a 37°C durante 24-48 hs. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 1.

De los resultados obtenidos se puede interpretar que la pared de las ascosporas es permeable, ya que los porcentajes de álcali necesarios para producir la germinación son muy bajos.

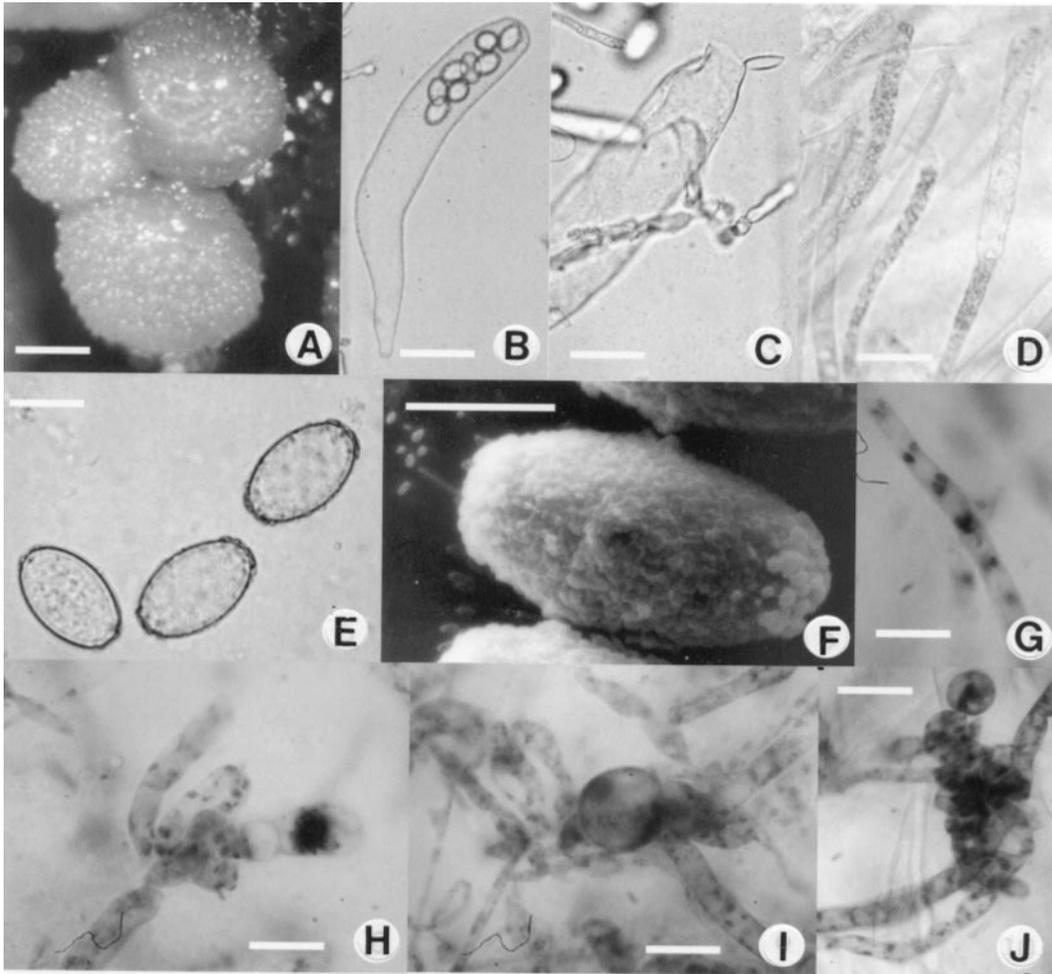


Fig. 1.- *Iodophanus granulipolaris*. A: fructificaciones sobre estiércol tindalizado (barra: 365 μ m); B: asco con ascosporas (barra: 50 μ m); C: asco con opérculo central (barra: 35 μ m); D: paráfisis con pigmentos (barra: 25 μ m); E: ascosporas (barra: 15 μ m); F: ascospora con detalle de la ornamentación (barra: 10 μ m); G-J: coloración con hematoxilina propiono-férrica. G: hifa vegetativa (barra: 8 μ m); H-J: distintos estadios en la formación del ascogonio (barra: 8 μ m).

Al iniciarse la germinación, las paredes se separan, el volumen de la ascospora se duplica y el contenido aparece removido. Se producen uno o dos tubos germinativos subpolares y se ramifican a corta distancia. El micelio originado puede ser de dos formas: a) hialino y laxo, con hifas largas, ramificadas y multinucleadas y b) hifas con crecimiento moniliforme, en este caso las células son más cortas y mucho más anchas y se produce un estrechamiento en la zona del tabique.

Crecimiento y desarrollo en medio nutritivo estándar (PF)

Las colonias son de crecimiento moderado, con margen parejo, alcanzando un diám. entre 4,5 y 6 cm al tercer día de la inoculación, alcanzando el borde de la caja al 5° día. Los primordios de fructificaciones aparecen aproximadamente a los 20 días, y maduran 10-15 días después. Los apotecios son grandes, de 0,6-1,2 mm, de color naranja fuerte. El micelio sumergido, está constituido por hifas hialinas al co-

Tabla 1. Porcentaje de germinación de ascosporas. Se probó, además, 0,4 % de NaOH durante 30 minutos sin obtener germinación (porcentaje no mostrado) por lo que se disminuyó el tiempo de tratamiento. 0 % NaOH = germinación espontánea.

% NaOH	Tiempo tratamiento (minutos)	Tiempo en germinar (hs)	% de germinación
0	---	24	36
0,1	30	24	98
0,2	30	24	75
0,3	30	24-48	24
0,4	20	24-48	1

mienzo, que luego se tornan de coloración naranja-rosado tenue alrededor del 10° día de inoculación, empezando por el centro de la caja, alrededor del inóculo y extendiéndose hacia los bordes con el correr de los días. Estas hifas abundantemente ramificadas tienen un contenido muy denso, refringente y vacuolado. Entre ellas se distinguen unas hifas más gruesas, multinucleadas y poco ramificadas, de recorrido recto con células grandes y de paredes gruesas. El diámetro de las hifas disminuye considerablemente a lo largo de las ramificaciones, las más delgadas poseen células generalmente uninucleadas o hasta tres núcleos por célula, muy retorcidas y ramificadas. Las hifas más gruesas suelen entrelazarse entre sí, formando cordones micelianos de los que derivarán los ascogonios.

Sexualidad

Los primordios de los ascogonios que pueden observarse a simple vista se forman entre el día 20-21 en la zona central de la colonia, próxima al inóculo; al principio son sumergidos y globosos, de color rosado tenue, luego emergen sobre la superficie del agar tornándose de un color naranja fuerte. Los apotecios se encuentran densamente gregarios, formando almoha-

dillas de 3 a 10 apotecios juntos, muy apretados. Entre 15-20 días después de aparecidos los primordios, los apotecios maduran, comenzando a liberar las ascosporas, lo que nos permite comprobar que esta especie es homotálica.

Cultivo en distintos medios variando las condiciones de iluminación

En este ensayo se inocularon cajas de Petri con medios PF, GA, ME y ET y se distribuyeron en dos series: a) sometidas a luz continua y b) oscuridad completa, ambas en cámara de cultivo durante 30 días.

El crecimiento miceliano fue normal en GA, PF y ET, no presentando buen crecimiento en medio ME, por lo que se descartaron las cajas. Las colonias crecidas en medios GA y PF presentaron una zona central más densa y el borde de las colonias un crecimiento irregular, reflejando una ramificación de las hifas tipo dicotómica. En cuanto a la coloración del micelio, sólo se observó micelio de color salmón-anaranjado en las cajas iluminadas; las colonias crecidas en oscuridad absoluta no presentaron coloración alguna. Sólo se obtuvieron fructificaciones en los medios expuestos a la luz (Fig. 2 A y B).

En las cajas con medio GA y PF expuestas a la luz las cajas exhibieron 4 zonas, 3 de las cuales presentaron fructificaciones: la zona I, en el centro de la caja, corresponde al micelio crecido en los primeros días alrededor del inóculo y presentó fructificaciones bien grandes (0,9-1,2 mm de diámetro) y de color naranja intenso, a ésta le sigue una zona II en la que no se observaron fructificaciones, la zona III, inmediatamente por afuera de la zona II, presentó muchísimas fructificaciones de un tamaño considerablemente menor (0,7-1,0 mm de diámetro) que el observado en la zona I, y por último, en la zona IV se observaron pocas fructificaciones y de menor tamaño ubicadas cerca del borde de la caja (0,6-0,8 mm de diámetro).

Las cajas en oscuridad que no fructificaron en el tiempo de la experiencia se las iluminó con luz continua, en este caso, sólo fructificaron las cajas con medios GA y PF y no lo hicieron en medio ET. Las cajas fructificadas no presenta-

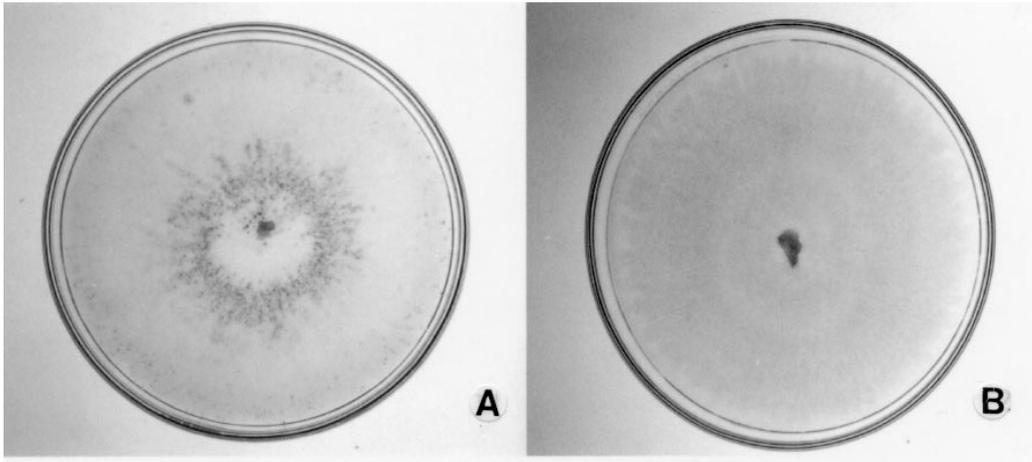


Fig. 2.- *Iodophanus granulipolaris*. A: caja con medio PF mantenida a luz continua. Nótese las distintas zonas de fructificación; B: caja con medio PF mantenida en oscuridad absoluta.

ron la zonación observada en las cajas iluminadas desde el comienzo. Aquí, hubo grandes fructificaciones (0,8-1,2 mm de diámetro) de color intenso, irregularmente esparcidas en toda la caja.

Citología

Se observaron dos tipos de hifas vegetativas: 1) gruesas, de recorrido recto, poco ramificadas, que oscilan entre 2,6-4 μm de diámetro, de 3-10 núcleos por célula formando nudos (enrollamientos) de los cuales se originan los ascogonios (Fig. 1 G, H, I y J) y 2) delgadas, retorcidas, muy ramificadas, generalmente uninucleadas o hasta tres núcleos por células y de 0,65-1,0 μm de diámetro.

En las hifas vegetativas se observaron figuras mitóticas, siendo el eje de la división transversal, oblicuo o paralelo a la hifa. Al comienzo de la división los núcleos aumentan el tamaño y aparecen menos densos. En la prometáfase se pueden distinguir aproximadamente 6 cromosomas de gran tamaño.

Poder celulolítico

Se midió el diámetro de la colonia y el halo de degradación al 2º día de inoculadas las cajas de Petri con medio CMC. Al segundo día de creci-

miento la colonia alcanzó un diámetro de 5,1 cm y el halo de degradación presentó el mismo diámetro de la colonia. La existencia de una clarificación en el medio indicaría la presencia de enzimas celulolíticas, de lo que se desprende que esta especie es celulolítica. Podemos suponer, además, que esta especie crece más rápido en este medio que en PF, ya que este medio es pobre en los nutrientes necesarios para el hongo y éste se extiende en busca de los mismos. El crecimiento del micelio evidenciaría esta hipótesis ya que el mismo crece de una forma más laxa y no compacta como se observa en las cajas con medio PF.

DISCUSIÓN

Iodophanus granulipolaris pertenece por sus características macro y micromorfológicas junto a las demás especies del género a la familia Pezizaceae. Si bien al comienzo estas especies estaban ubicadas dentro de Ascobolaceae, Kimbrough y van Brummelen (1994) aseguran que tanto la ornamentación del perisporio como el anamorfo *Oedocephalum* que presentan algunas especies del género son característicos de la familia Pezizaceae y, por lo tanto, no podrían permanecer dentro de la familia Ascobolaceae.

El desarrollo sexual de esta especie fue totalmente fotodependiente. Se sabe que en muchos

hongos la luz puede afectar diversos aspectos de su desarrollo como el crecimiento vegetativo, la reproducción sexual y la biosíntesis de pigmentos. Si bien no hay muchos estudios de la influencia de la luz sobre el crecimiento hifal, se encuentran fenómenos tanto de inducción como de inhibición (Cantino & Horenstein, 1956; Moore-Landecker & Shropshire, 1982). En muchos casos, como es el de *Saccobolus platensis* (Forchiassin, 1983), *Nectria haematococca* (Curtis, 1972) y *Gelasinospora reticulispota* (Inoue & Furuya, 1975), la luz es esencial para el desarrollo sexual estableciéndose de esta manera una fotodependencia absoluta.

La falta de pigmentación en los micelios crecidos en oscuridad constante indicaría que la síntesis de carotenos estaría también inducida por la luz. La presencia de pigmentos en los hongos es un carácter común y de importancia taxonómica. Muchos pigmentos se acumulan en el micelio, cuerpos fructíferos y esporas, o pueden difundir al medio de cultivo. La síntesis de estas moléculas está determinada por factores genéticos y ambientales, pero de todos ellos, la luz surge como uno de los más interesantes (Diorio et al., 1995).

El estudio de celulólisis confirmó que esta especie es celulolítica. La mayoría de los hongos fimícolas son celulolíticos ya que degradan la celulosa que es el componente mayoritario de las paredes celulares vegetales, aunque también es posible encontrar sobre estiércol hongos no celulolíticos que conviven con otros que sí lo son. De esa manera, los últimos son los que producen las enzimas necesarias para degradar la celulosa a compuestos más simples y son los primeros los que utilizan estos compuestos simples libres en el medio como fuente de carbono.

AGRADECIMIENTOS

Al CONICET (PIP 4560/96) y a la Universidad de Buenos Aires (UBA-CYT, X018) por la financiación de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Boudier, E. 1869. Mémoire sur les Ascobolés. *Ann. Sci. Natur. Bot.*, Sér. V, 10: 191-268.
- . 1885. Nouvelle classification naturelle des Dyscomycètes charnus connus généralement sous le nom de Pezizes. *Bull. Soc. Mycol. France* 1: 91-120.
- Cantino, E. C. & E. A., Horenstein. 1956. The stimulatory effect of light upon growth and CO₂ fixation in *Blastocladiella*. I. The SKI cycle. *Mycologia* 48: 777-799.
- Curtis, C. R. 1972. Action spectrum of the photo-induced sexual stage in the fungus *Nectria haematococca* Berk. and Br. var *cucurbitae* (Sinder and Hansen) Dingley. *Plant Physiol.* 49: 235-239.
- Danuncio, G. L., L. A. Diorio & F. Forchiassin. 1993. Desarrollo de *Iodophanus carneus* (Ascobolaceae). II. Nutrición nitrogenada. *Parodiana* 8: 177-184.
- Dennis, R. W. G. 1968. *British Ascomycetes*. J. Cramer, Lehre, Germany, 455 pp.
- Diorio, L. A. 1996. Acción de la luz y de la glucosa sobre la fructificación de *Iodophanus carneus* (Fungi, Ascomycotina). *Revista Argent. Microbiol.* 28: 63-72.
- . 1999. Efecto del Ca²⁺ y de la luz sobre el desarrollo de *Iodophanus carneus*. *Revista Argent. Microbiol.* 31: 120-126.
- Diorio, L. A. & F. Forchiassin. 1995. Algunos aspectos nutricionales del desarrollo de *Iodophanus carneus* (Fungi, Ascomycetes). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 31: 49-55.
- . 1997. Influencia del glucógeno en la fructificación fotoinducida de *Iodophanus carneus*. *Revista Argent. Microbiol.* 29: 202-209.
- . 1998. Acción de la temperatura sobre el desarrollo de *Iodophanus carneus* (Ascomycetes, Pezizales). *Physis (Buenos Aires), Secc. C* 55 (128-129): 39-44.
- Diorio, L. A. & O. A. Mercuri. 1996. Efecto de las condiciones de cultivo sobre el desarrollo de *Iodophanus carneus* (Fungi, Ascomycotina). *Physis (Buenos Aires), Secc. C* 52: 27-34.
- Diorio, L. A., D. A. Dokmetzian. & F. Forchiassin. 1995. Desarrollo de *Iodophanus carneus* ante distintas calidades de luz. *Revista Argent. Microbiol.* 27: 71-79.
- Eckblad, F. E. 1968. The genera of the operculate discomycetes. A reevaluation of their taxonomy, phylogeny and nomenclature. *Nytt. Mag. Bot.* 15: 1-191.

- Forchiassin F. 1983. Influencia de la luz sobre el desarrollo de *Saccobolus platensis*. *Revista Argent. Microbiol.* 15: 213-218.
- Gamundí, I. J. & M. E. Ranalli. 1964. Estudio sistemático y biológico de las Ascoboláceas de Argentina I. *Nova Hedwigia* VII: 517-533.
- Inoue, Y. & Furuya, M. 1975. Perithecial formation in *Gelasinospora reticulispora*. IV. Action spectra for the photoinduction. *Plant Physiol.* 55: 1098-1101.
- Jeng, R. S. & Krug, J. C. 1977. New records and new species of coprophilous Pezizales from Argentina and Venezuela. *Canad. J. Bot.* 55: 2987-3000.
- Kimbrough, J. W. 1966. Studies in the Pseudoascoboleae. *Canad. J. Bot.* 44: 685-704.
- & R. P. Korf. 1967. A synopsis of the genera and species of the tribe Theleboleae (= Pseudoascoboleae). *Amer. J. Bot.* 54: 9-23.
- & J. van Brummelen. 1994. Discussion 7. Pezizales. En: *Hawsworth, D. L. (ed.) Ascomycetes Systematics: Problems and Perspectives in the nineties*. Plenum Press, New York: 397-401.
- Korf, R. P. 1954. A revision of the classification of operculate discomycetes (Pezizales). VIII Congrès Int. Botanique, Paris, Rapp. et Commun. 18-20: 80.
- Moore-Landecker, E. & W. Shropshire Jr. 1982. Effects of aeration and light on the apothecia, sclerotia and mycelial growth in the Discomycete *Pyronema domesticum*. *Mycologia* 76: 820-829.
- Mouso de Cachi, N. & M. E. Ranalli. 1989. Systematic and biological study of Ascobolaceae of Argentina XII. Development and cytology of *Iodophanus carneus* (Pezizales- Ascobolaceae). *Nova Hedwigia* 49 (1-2): 49-59.
- Pardo, A. G., A. S. Sivori & M. E. Ranalli. 1997. Comparative study of cellulolytic enzyme zymograms of species of *Thecotheus* and *Iodophanus* (Pezizales-Ascomycetes). *Mycotaxon* 63: 269-286.
- Rifai, M. A. 1968. The Australasian Pezizales in the herbarium of the Royal Botanic Gardens Kew. *Verh. K. Ned. Akad. Wet.* II. 57 (3): 1-295.
- Seaver, F. J. 1928. The North American cup-fungi. (Operculates). New York, 447 pp.

Original recibido el 11 de mayo de 2005; aceptado el 6 de septiembre de 2005.