

# COMUNICACIONES BOTANICAS DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL DE MONTEVIDEO

Número 7

1943

Volumen I

## LAS MIRTÁCEAS DEL URUGUAY, II

DIEGO LEGRAND

En mi revisión de las Mirtáceas del Uruguay (1936) (\*) puedo introducir ahora las siguientes modificaciones:

1) Adición de dos buenas especies, cuya identificación me era desconocida entonces: *Eugenia* (*Eueugenia*) *Mansoni* Berg y *Eugenia* (*Phylloclyx*) *involutrata* DC.

2) Adición de un nombre aún no usado en nuestro país, *Eugenia* (*Stenocalyx*) *uniflora* L., para una de las especies más populares, la "pitanga".

3) Cambio genérico de las especies *Eugenia glaucescens* Camb. y *Eugenia pallida* Berg, que pertenecen en realidad a la sub-tribu Myrcioideae y, dentro de ésta, al género *Myrceugenia*.

4) Identificación de dos tipos bergianos, *Blepharocalyx angustissimus* y *Myrtus pubescens*, de muy dudosa autonomía.

5) Supresión de la especie *Campomanesia cyanea* Berg de la lista de nuestra flora, pasando el número del herbario Arechavaleta así determinado a formar parte de la especie *Campomanesia aurea* Berg.

Completo el trabajo dando la lista actual modificada de las especies con sus equivalentes sinonímicos principales.

Aquí debo expresar mi agradecimiento al profesor BURRET, que una vez más comparó o determinó las muestras enviadas al Museo de Berlín-Dahlem, así como al doctor EBERHARD KAUSEL, de Santiago de Chile, por su valiosa colaboración.

---

(\*) Las Mirtáceas del Uruguay, An. Mus. Hist. Nat. Montevideo, (2) IV:11 (1936) 1-70.

## Detalle sobre las especies referidas

## EUGENIA-EUEUGENIA

## EUGENIA MANSONI Berg

Berg, Mart. Fl. bras., XIV, I (1857) 233.

N. v. "Pitanga amarga".

## Figura 1

Arbusto apenas pubérulo de hojas ovales, aguzado-obtusas, discoloras, de 2 a 3,5 cm. Pedúnculos solitarios rígidos, axilares o más frecuentemente hacia la base defoliada de los ramos. Flores 4-meras con sépalos que no cubren el botón floral.

Especie encontrada solamente en la localidad de Paysandú, la cual constituye seguramente su límite austral.

*Material estudiado.* — Paysandú: leg. Schroeder, Mus/Ost. 16753, 16746 & 17306.

*Observaciones.* — Trozos de los ejemplares 16746 y 17306 fueron vistos y comparados por BURET con el tipo de BERG, resultando idénticos a él.

## EUGENIA-PHYLLOCALYX

## EUGENIA INVOLUCRATA DC.

De Candolle, Prodr., III (1828) 234.

*Phyllocalyx laevigatus* Berg, Mart. Fl. bras., XIV, I (1857) 329.

*Phyllocalyx involucratus* (DC.) Berg, l. c., 330.

*Eugenia laevigata* (Berg) Legrand, An. 1<sup>a</sup> Reun. Sul-Am. Bot., III (1938) 113.

N. v. "Guaviyú"

## Figura 2

Arbusto glabro o sub-glabro, con hojas oval-oblongas u obovado-oblongas de base aguda y ápice acuminado-obtuso o retuso, que llegan hasta unos 6,5 cm. Pedúnculos laterales y axilares con flores tetrameras sostenidas por dos grandes brácteas cordadas que alcanzan a esconder los sépalos oblongos; éstos cubren el botón floral y aún lo sobrepasan.



Figura 2. — *Eugenia involuorata* DC

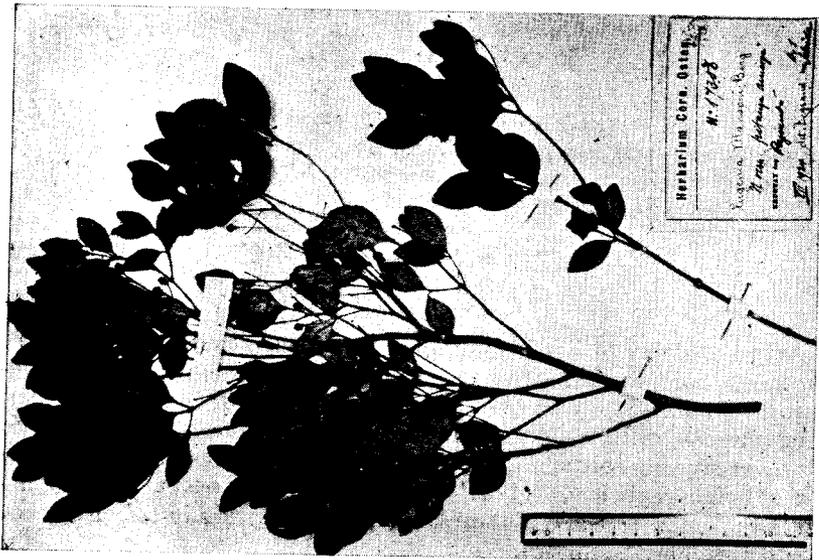


Figura 1. — *Eugenia Mansoni* Berg.

Especie escasa en el noroeste del país, viviendo en los montes-fluviales de la cuenca del río Uruguay. La localidad austral extrema en que ha sido encontrada hasta ahora es la isla Queguay, frente a la desembocadura del río del mismo nombre.

*Material estudiado.* — Artigas. Río Cuareim: leg. Lombardo 2637, Mus/Legr. Desembocadura del arroyo del Tigre: leg. Lombardo 3049, Mus/Legr. Cuaró: leg. Schroeder, Mus/Osten 17330 [todas estériles]. Paysandú. Isla Queguay: leg. Rosengurtt, Mus/Legr. 3033 [estéril].

*Observaciones.* — I. Las muestras del número 17330 del herbario Osten, actualmente en el Museo, fueron vistas y comparadas con *Phyllocalyx laevigatus*, del herbario de Berlín, por el profesor BURRET. Este distingue a *Eugenia involucrata* por sus sépalos más acuminados, algo puntiagudos. *Eugenia retusa*, con la cual ha sido evidentemente confundida nuestra especie, se diferencia principalmente por sus brácteas oblongas.

II. Los ejemplares del Uruguay presentan una tendencia hacia la hoja obovada, mayor que la que muestran las fotografías de los ejemplares típicos de DE CANDOLLE y de BERG, que tengo en mi colección. La planta de Paysandú (leg. Rosengurtt) tiene hojas bastante menores y menos acuminadas.

#### EUGENIA-STENOCCALYX

#### EUGENIA UNIFLORA L.

Sp. pl. (1753) 470.

*Eugenia Micheli* Lam., Enc. Meth., III (1789) 203

*Eugenia costata* Camb., St. Hil. Fl. Bras. mer., II (1829) 259.

*Stenocalyx strigosus* Berg, Mart. Fl. bras., XIV, I (1857) 335, Legrand, An. Mus. Hist. Nat. Montevideo, IV, 11 (1936) 55.

N. v. "Pitanga", "Ñangapiré".

#### Figura 3

Arbusto glabro o apenas piloso, con hojas membranáceas y después hasta cartáceas, perfumadas, ovalado-o-ovado-oblongas, generalmente acuminadas y obtusas, midiendo 1,5-4,5 cm. o algo más, con pedúnculos filiformes naciendo agrupados sobre yemas, que más tarde a veces son solitarios y pseudo-axilares. Flores con cuatro sépalos oblongos cubriendo el botón floral, reflejos después de la antesis. Bracteolas nulas o sub-nulas. Frutos deprimido-esféricos, con 7-8 costillas longitudinales.

Especie ampliamente diseminada en las orillas de nuestros montes fluviales, hasta los ríos Yí y Cebollatí, más o menos, como límite austral.

Sus pequeños frutos son justamente apreciados por su paladar azgridulce, que disimula un fondo resinoso agradable. Sus hojas se emplean mucho en la confección del te de pitanga.

*Material estudiado.* — Rivera. Cerca de Tranqueras: noviembre de 1899, sin núm. Mus/Arech. Tacuarembó. Paso de Quirino, río Tacuarembó medio: Mus/Legr. 2112, 2123, 2124 & 2125. Cerro Largo. Arroyo del Quebracho: Mus/Ost. 19522. Treinta y Tres. Río Olimar: Mus/Legr. 541. Paysandú. Mus/Ost. 16754 & 17316. Río Queguay: leg. Chebataroff, Mus. 5876 Durazno. Río Yí: Mus/Legr. 2354. Río Negro. San Javier: leg. Chebataroff, Mus/Legr. 2643, 2644 & 2645. Frente a Mercedes: Mus/Legr. 2390. Río Uruguay: leg. Chebataroff, Mus/Legr. 2198. Soriano. Isla del Pichón, río Negro: Mus/Legr. 2385, 2386 & 2369. Mercedes. Mus/Ost. 3116; Mus/Gib. 635. Canelones. Santa Lucía: Mus/Cst. 15532.

*Observaciones.* — No existe diferencia específica que permita separar los ejemplares típicos brasileños, determinados por varios botánicos bajo los nombres, considerados sinónimos, de *Eugenia uniflora* y *Eugenia Micheli*, de nuestras plantas, inclusive las variadas formas en que se presentan. Queda como carácter medio para las nuestras una fuerte tendencia al empequeñecimiento y al ovalado de las hojas con el correspondiente alargamiento del pecíolo, carácter que se empieza a notar en unos ejemplares recogidos por mí en el estado brasileño de Paraná. Los especímenes del estado de Río de Janeiro tienen hojas uniformemente algo mayores que los de estas regiones, más ovoides y con los pecíolos más cortos. Creo, por lo tanto, que varias de las especies bergianas haya también que atribuírlas a esta planta variable.

*Eugenia pitanga* (Berg) Arech. = *Stenocalyx pitanga* Berg es, a juzgar por la descripción, una especie distinta a todas luces, cuyo nombre se aplicó mucho tiempo erróneamente en el Uruguay para designar a *Eugenia uniflora*.

#### BLEPHAROCALYX

##### BLEPHAROCALYX ANGUSTISSIMUS Berg

Berg, Mart. Fl. bras., XIV, I (1857) 421.

Arbusto serrano, de hojas lineares de unos 2,5 cm. de largo, por 2 mm. de ancho.

*Material estudiado.* — Lavalleja (Minas). Fuente Salus: Mus/Legr. 2240 testéril.

*Observaciones.* — Único ejemplar visto hasta ahora en el Uruguay que presenta una forma igual o aún más reducida que los recogidos por SELLO y descriptos con ese nombre. Es desgraciadamente estéril. Debe ser, a juzgar por su aparente escasez, una variedad mutante y poco viable de *Blepharocalyx angustifolius*, especie con la cual seguramente no ofrece ninguna diferencia específica.

## MYRTUS

## MYRTUS PUBESCENS Berg

Berg, Mart. Fl. bras., XIV, I (1857) 415.

Apenas se diferencia esta forma de *Myrtus sericea* (*M. incana*), por la hoja generalmente algo más ancha, es decir, más ovalada, así como por su indumento menos tomentoso, más ralo y menos vellosa.

*Material estudiado.* — Durazno. Estancia de Beisso, rincón de Cabrera: Mus/Legr. 307.

*Observaciones.* — La muestra comparada por BURRET con los ejemplares de Berlín reveló ser idéntica a *Myrtus pubescens*, aunque para dicho profesor es dudoso que se pueda separar de *M. incana*.

En mi primera revisión (1936) está citado este número entre el material de *Myrtus sericea* (*incana*), haciendo referencia en el texto a su escasa pilosidad en relación a los otros ejemplares estudiados y conjeturando un posible híbrido entre *M. mucronata* y *M. sericea* (*incana*).

## CAMPOMANESIA

## CAMPOMANESIA AUREA Berg

Berg, Mart. Fl. bras., XIV, I (1857) 454, tab. VI, fig. 136.

N. v. "Guabirobá", "Arazá".

Subarbusto, que llega hasta un metro de alto, con hojas aovadas hasta oblongas, aguzadas hacia arriba y obtusas generalmente, midiendo por lo común entre 2 y 3 cm. de largo; en el herbario presentan una entonación áurea o glauca. Pedúnculos axilares solitarios, con flores pentámeras, de pequeños sépalos redondeados.

Especie bastante común en los campos del departamento de Rivera, y quizá reducida a los terrenos de areniscas neo-gondwánicas de esa región.

*Material estudiado.* — Rivera. Ataques: Mus/Arech. (29) en el campo, 1899 [sub *C. cyanea*]. Herter 94241, det. Burret. Mus/Legr. 2491. Tranqueras: Mus/Legr. 2493 & 2494. Rivera (sin loc.?): Be-

ro 4015, 685 & 4016. Curticeiras: Berro 4714 & 5103. Cerro del Hospital: Berro 4713.

*Observaciones.* — El conocimiento de esta especie, que tuve ocasión de observar *in situ*, así como la comparación posterior de los ejemplares recogidos con las muestras de SELLO, de *Campomanesia aurea* y *C. cyanea*, existentes en nuestro Museo y los dibujos de LINDMAN en su obra sobre la vegetación de Río Grande del sud, me hicieron volver sobre la determinación de ARECHAULETA de su ejemplar 29, pasándolo a *C. aurea*. Creo que *C. cyanea*, a pesar de ser difícilmente separable de nuestra especie al través de la descripción, debe ser planta distinta y con distribución geográfica diferente.

Los ejemplares del herbario Berro no se parecen en nada al tipo común, salvo algunas hojas de transición. Estas son mucho más pequeñas y numerosas, de forma oblonga, lanceolada y algunas hasta lineari-lanceolada. Tengo en mi poder una fotografía de un ejemplar de MARTIUS, recogido en Río Grande y determinado por BERG como *C. aurea*, el que es más o menos idéntico a dichos especímenes de BERRO.

#### MYRCEUGENIA

MYRCEUGENIA GLAUDESCENS (Camb.) Legrand et Kausel n. comb.

*Eugenia glaucescens* Camb., St. Hil. Fl. Bras. mer., II (1829) 266, tab. 154.

*Eugenia Araujoana* Berg, Mart. Fl. bras., XIV, I (1857) 219.

*Eugenia Cambessedecana* Berg, l. c., 230.

*Eugenia bagensis* Berg, l. c., 231, tab. IV, fig. 65.

*Eugenia canelonensis* Berg, l. c., 232.

#### N. v. "Murta" o "Multa".

Arbolito glabro, o apenas seríceo en el ovario y el interior de los sépalos, con ramitas y pedúnculos comprimidos y hojas oblongas o lanceoladas, frecuentemente obversas, atenuadas y agudas en ambos extremos, muy pálidas por abajo y arrugadizas *in sicco*, llegando a los 6 cm. de largo.

Pedúnculos axilares 1-3, menores que la hoja. Flores tetrámeras, con sépalos que no cubren completamente el botón floral, antes de la antesis.

La más difundida de nuestras Mirtáceas, exceptuando quizá *Blepharocalyx Tweediei*, hallándose en todas las corrientes fluviales de cierta importancia del país.

*Observaciones.* — A raíz de mi primera revisión de las Mirtáceas del Uruguay (1936), había abierto numerosos frutos de ejemplares cultivados en Montevideo, pero la deformación producida, sin excepción de todos ellos, por cierto parásito, no me permitió distinguir nada de las particularidades de la sub-tribu Myrceioideae, limitándome a estudiar la planta en cuestión desde el punto de vista de sus especies sinónimas, conservándola en su antiguo género. En efecto, aparte de su embrión, bien característico para la sub-tribu citada, esta especie no se distingue de *Eugenia* en sus caracteres florales, siendo junto con *Myrceugenia euosma* (Berg) Legr., asimilable al numeroso grupo de las formas chilenas con sépalos menores que el botón floral.

Habiendo mi amigo el doctor KAUSEL recibido unos ejemplares fructíferos, provenientes del interior — al parecer menos atacados por el parásito que los cultivados, — pudo comprobar la errónea posición genérica de *Eugenia glaucescens*, lo que en seguida confirmé en otros ejemplares.

*Myrceugenia glaucescens* tiene afinidades con la especie siguiente, *Myrceugenia pallida*, por medio de tipos y formas intermediarias, alejadas de su *habitat* característico.

MYRCEUGENIA PALLIDA (Berg) Legrand et Kausel n. comb.

*Eugenia pallida* Berg, Mart. Fl. bras., XIV. I (1857) 231.

*Eugenia elegans* Berg, l. c., 232.

*Eugenia Ribeirana* Berg, l. c., 307.

#### Figura 4

Arbusto de hojas obovadas, con ramitos comprimidos densamente seríceos hasta glabros. Las hojas miden 2-4,5 cm. de largo, por 8-20 mm. de ancho. Pedicelos axilares 1-3, menores que la hoja, llevando una flor con sépalos aovados, obtusos, siempre seríceos por dentro, así como el ovario.

Especie propia de las serranías del nordeste del país.

*Observaciones.* — Aunque no hemos visto ejemplares con frutos lo bastante desarrollados como para hacer una comprobación definitiva, no existe duda que esta especie, a igual que la anterior — con la cual tiene contacto por formas intermediarias, — debe pasar también al género *Myrceugenia*.



Figura 4. — *Myrcogenia pallida* (Berg),



Figura 3. — *Eugenia uniflora* L.

Lista actual de las Mirtáceas del Uruguay con los principales  
sinónimos.

1. — *Blepharocalyx angustifolius* Berg
2. — *Blepharocalyx Tweediei* (Hook. & Arn.)  
Berg = *Bl. amarus* Berg, *Bl. lanceo-*  
*latus* Berg.
3. — *Calyptranthes concinna* DC.
4. — *Campomanesia aurea* Berg
5. — *Eugenia* (*Myrcihamys*) *anomala* Legr.
6. — *Eugenia* (*Myrcianthes*) *cisplatensis*  
Camb. = *Myrcianthes apiculata* Berg,  
*Myrcianthes cisplatensis*  
(Camb.) Berg.
7. — *Eugenia* (*Phyllocalyx*) *involutata*  
DC. = *Phyllocalyx laevigatus* Berg,  
*Phyllocalyx involueratus*  
(DC) Berg.
8. — *Eugenia Mansoni* Berg
9. — *Eugenia* (*Myrcihamys*) *myrcianthes*  
Ndz. = *Myrcianthes edulis* Berg.
10. — *Eugenia opaca* Berg = *Eugenia batucaryensis* Berg,  
*E. calycosema* Berg, *E. mas-*  
*chalantha* Berg.
11. — *Eugenia pungens* Berg
12. — *Eugenia repanda* Berg
13. — *Eugenia turbinata* Berg
14. — *Eugenia* (*Stenocalyx*) *uniflora* L. = *Eugenia Micheli* Lam., *E. cos-*  
*tata* Camb., *Stenocalyx strig-*  
*osus* Berg.
15. — *Feijoa Sellowiana* Berg
16. — *Myrceugenia euosma* (Berg) Legr. = *Eugenia aprica* Berg, *Euge-*  
*nia euosma* (Berg), *Eugenia*  
*nana* Berg.

17. — *Myceugenia glaucescens* (Camb.) Legr.  
& Kausel = *Eugenia glaucescens* Camb.,  
*E. Araujoana* Berg, *E. bagen-*  
*sis* Berg, *E. Cambessedean-*  
*Berg*, *E. canelonensis* Berg.
18. — *Myrceugenia pallida* (Berg) Legr. &  
Kausel = *Eugenia pallida* Berg, *E. ele-*  
*gans* Berg, *E. Ribeireana*  
Berg.
19. — *Myceugenia myrtoides* Berg
20. — *Myrcia* (*Gomidesia*) *Hartwegiana*  
(Berg) Kiaersk. = *Gomidesia Sellowiana* Berg,  
*G. Hartwegiana* Berg.
21. — *Myrcia ramulosa* DC.
22. — *Myrcia verticillaris* Berg
23. — *Myrciaria baporcti* Legr.
24. — *Myrciaria tenella* (DC) Berg
25. — *Myrrhinium rubriflorum* (Camb.) Berg
26. — *Myrtus mucronata* Camb. = *Myrtus cuspidata* Berg, *M.*  
*acutata* Berg, *M. pauciflora*  
Camb., *Psidium Thea* Griseb.
27. — *Myrtus nivea* Berg
28. — *Myrtus ovalis* Berg
29. — *Myrtus sericca* Camb. = *Myrtus incana* Berg.
30. — *Psidium Cattleyanum* Sab.
- 1a. — *Blepharocalyx angustissimus* Berg.
- 28a. — *Myrtus pubescens* Berg.

# COMUNICACIONES BOTANICAS DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL DE MONTEVIDEO

Número 8

1943

Volumen 1

## ACTINOMICES DEL SUELO QUE SINTETIZAN VITAMINA B 1. IDENTIFICACION DE DOS CEPAS

JUAN E. MACKINNON Y EMILIA OLIVERA

A principios del año anterior, uno de nosotros (4) publicó sus observaciones sobre ciertos actinomices capaces de sintetizar la tiamina (vitamina B 1). Nos referíamos en esa publicación a dos cepas, una del suelo y otra del aire. En la presente comunicación deseamos hacer conocer algunas nuevas experiencias y divulgar las anteriores. Además, queremos proporcionar datos sobre las características morfológicas y biológicas de los actinomices estudiados y discutir su identidad.

### § 1. — Experiencias demostrativas de la síntesis de tiamina por cepas de actinomices

Estas experiencias consisten en sembrar las cepas de actinomices en medios sintéticos carenciados en absoluto de tiamina. Una vez que los actinomices han crecido bien, durante ocho o diez días, se mata el cultivo por calentamiento a 100° C. y se vuelve a sembrar en el mismo medio un hongo incapaz de crecer bien o de producir órganos de fructificación en medios carenciados en tiamina. El crecimiento exuberante, comparado con el desarrollo en medio carenciado, y el desarrollo de órganos de fructificación, son índices de que la especie sembrada primeramente sintetizó tiamina. El aumento de crecimiento lo apreciaremos por el peso de micelio seco.

Dos especies de hongos empleamos para demostrar la síntesis de tiamina. Una de ellas es *Phycomyces Blakesleeanus*, que luego de las experiencias de SCHOPFER (9) y de ROBBINS (6) se considera demostrado que produce sus largos y característicos esporangióforos solamente en medios con tiamina o sus dos componentes: el tiazol y la pirimidina correspondientes. La otra especie usada como testigo es *Phytophthora cinnamomi* Rands, que sólo crece en presencia de tiamina molecular (6).

*Medios de cultivo.* — El medio de cultivo debe ser apto para el desarrollo de los actinomices y además poseer, con excepción de tiamina, todos los elementos necesarios para el buen desarrollo de las especies testigos *P. Blakesbeeanus* y *P. cinnamomi*. Para el desarrollo de estos últimos es muy conveniente una gelosa nutritiva relativamente blanda (uno por ciento de gelosa) con glucosa pura como fuente de carbono, asparagina como fuente de nitrógeno y sales minerales.

La producción de tiamina por los actinomices la estudiamos utilizando fuente de nitrógeno inorgánico (nitrato de sodio) y de nitrógeno orgánico (asparagina).

Para nuestras experiencias preparamos dos medios de cultivo que difieren solamente por la fuente de nitrógeno y cuya composición es la siguiente:

Glucosa pura de Grüber	50 gramos
Asparagina o nitrato de sodio	2 gramos
Sulfato de magnesio $[\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}]$	0,5 gramos
Fosfato ácido de potasio $[\text{KH}_2\text{PO}_4]$	1,5 gramos
Agar agar	10 gramos
Agua bidestilada	1 litro

La asparagina fué previamente purificada por disolución en agua y precipitación por alcohol etílico, repitiendo tres veces esta maniobra.

El material de vidrio empleado fué cuidadosamente lavado y enjuagado con agua destilada.

A estos medios de cultivo se agregó la siguiente solución de elementos minerales, a razón de 0 cc 1 por cada litro:

Acido bórico $[\text{H}^3\text{BO}^3]$	5,7 mgs.
Sulfato de cobre $[\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$	18,6 gms.
Sulfato férrico amoniacal $[(\text{NH}_4)^2\text{Fe}^2(\text{SO}_4)^4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}]$	173 mgs.
Cloruro de manganeso $[\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$	7,1 mgs.
Molibdato de amonio (85 por ciento)	3,6 mgs.
Sulfato de zinc $[\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}]$	79 gms.
Agua bidestilada	100 cc.

Cada uno de los dos medios fué repartido en tubos de ensayo, de vidrio neutro, a razón de 5 cc. en cada tubo. La glucosa y la asparagina fueron esterilizadas por tinalización a 70° y agregadas a último momento al medio fundido.

Como se puede observar en los protocolos, se realizaron experiencias de control consistentes en probar los medios de cultivo con el agregado de tiamina; para estas experiencias se utilizó el pro-

EXPERIENCIAS DEMOSTRATIVAS DE LA SINTESIS DE LA TIAMINA POR LOS ACTINOMICETOS DEL SUELO. (\*)

1	2	3	4	5	6	7
Número de la experiencia	Medio de cultivo utilizado: 5 cc. Fuente de nitrógeno	Actinomicet sembrado	Medio de cultivo complementario: 5 cc. Fuente de nitrógeno	Tiamina agregada, en milíomoles	Especie de tectora (**)	Peso de micelio seco, en miligramos
1	Nitrato de sodio		Asparagina	—	Phye. Blak.	0.1
2	Nitrato de sodio		Asparagina	2	Phye. Blak.	19.8
3	Nitrato de sodio		Asparagina	—	Phyt. cinn.	0.3
4	Nitrato de sodio		Asparagina	2	Phyt. cinn.	57.
5	Nitrato de sodio	376	Asparagina	—	Phye. Blak.	27.9
6	Nitrato de sodio	376	Asparagina	2	Phye. Blak.	32.8
7	Nitrato de sodio	376	Asparagina	—	Phyt. cinn.	27.
8	Nitrato de sodio	376	Asparagina	2	Phyt. cinn.	49.9
9	Asparagina	376	Nitrato de sodio	—	Phye. Blak.	10.
10	Asparagina	376	Nitrato de sodio	2	Phye. Blak.	18.
11	Asparagina	376	Nitrato de sodio	—	Phyt. cinn.	39.8
12	Asparagina	376	Nitrato de sodio	2	Phyt. cinn.	80.
13	Nitrato de sodio	800	Asparagina	—	Phye. Blak.	12.9
14	Nitrato de sodio	800	Asparagina	2	Phye. Blak.	22.9
15	Nitrato de sodio	800	Asparagina	—	Phyt. cinn.	50.4
16	Nitrato de sodio	800	Asparagina	2	Phyt. cinn.	45.1
17	Asparagina	800	Nitrato de sodio	—	Phye. Blak.	12.9
18	Asparagina	800	Nitrato de sodio	2	Phye. Blak.	27.8
19	Asparagina	800	Nitrato de sodio	—	Phyt. cinn.	50.
20	Asparagina	800	Nitrato de sodio	2	Phyt. cinn.	57.6

(\*) Las experiencias núm. 1-4 son de contralor y fueron realizadas por triplicado. También son de contralor las que llevan número par.

(\*\*) Phye. Blak. = *Phycomyces Blakesleanus*. — Phyt. cinn. = *Phytophthora cinnamomi*.

ducto sintético "Roche" denominado Aneurina; las dosis se expresan en milimicromoles (1 milimicromol de tiamina equivale a 0 mg. 00033).

Con el objeto de observar el crecimiento de las especies detectoras de tiamina, siempre en un medio de composición lo más semejante posible, las cultivamos en una mezcla de partes iguales del medio con asparagina y del medio con nitrato. Por ejemplo, si queremos comprobar si un actinomices produce tiamina en medio con nitrato como fuente única de nitrógeno, cultivamos el actinomices en 5 cc. de medio nitrado y luego de diez días matamos el actinomices por calentamiento a 100° y agregamos al cultivo muerto 5 cc. de medio asparaginado para luego sembrar la especie detectora de tiamina. A la inversa, si queremos probar si el actinomices produce tiamina en medios con asparagina, como fuente única de nitrógeno, lo cultivamos en 5 cc. del medio con asparagina y luego de diez días lo matamos por calentamiento a 100°, le agregamos 5 cc. de medio con nitrato y luego sembramos la especie detectora. En el primer caso resulta fácilmente comprensible que agregemos medio con asparagina al medio con nitrato, donde había crecido el actinomices, dado que las especies detectoras usadas necesitan asparagina para un buen desarrollo; en el segundo caso, parecería superfluo agregar medio con nitrato al medio con asparagina, pero ello lo hicimos con el objeto de hacer más semejantes las condiciones de experimentación y poder comparar los resultados.

El término de diez días para el desarrollo de los actinomices es suficiente, pues el desarrollo ulterior de los cultivos es escaso.

*Resultados.* — De la lectura del protocolo es evidente que las cepas 800 y 376, aisladas del suelo, sintetizan tiamina tanto en los medios con nitrógeno inorgánico (nitrato de sodio) como con nitrógeno orgánico (asparagina). Parece, sin embargo, que la síntesis se efectuara mejor con nitrógeno inorgánico, sobre todo por la cepa 376.

## § 2. — Propiedades morfológicas y biológicas de los actinomices estudiados y consideraciones sobre su identidad

### A) *Microscopía*

Las dos cepas de actinomices a que nos referimos poseen un fino micelio vegetativo, no tabicado y muy ramificado, de 0,4 a 0,7  $\mu$  de ancho. Producen en diversos medios de cultivo micelio aéreo blanco con esporos de diversa forma. La cepa 800 produce actinoesporos (o endosporos) redondos de un diámetro no mayor que el de los filamentos y agrupados de a dos; produce también esporos más grandes hasta de 1.5  $\mu$  y ovalares. La cepa 376 produce es-

poros dispuestos apretadamente en filas, y son generalmente cuadrangulares y algo más anchos que largos pero existen redondos y alargados con un ancho no mayor que el de los filamentos vegetativos. Ambas cepas producen espirales o zarcillos, aunque en poca cantidad.

### B) *Aspecto macroscópico de los cultivos*

En una gelosa Czapek, con nitrato de sodio como fuente de nitrógeno y glucosa como fuente de carbono, la cepa 376 produce una membrana plegada, adherente al medio en sus bordes; es una membrana brillante y algo traslúcida, de color crema. Al cabo de veinte días se cubre de micelio aéreo blanco. Produce pigmento difusible marrón claro que poco a poco se vuelve más oscuro llegando a color ferruginoso. Produce también filamentos hacia la profundidad.

La cepa 800, en el medio anterior tiene un aspecto parecido, pero produce más micelio aéreo y pigmento difusible más oscuro, color canela (*Fulvus*, 32, SACCARDO). Los talos son levantados sobre el medio.

En papa glicerizada la cepa 376 crece como una masa membranosa, levantada y exuberante; se pliega tomando el aspecto de paquetes de gusanos. Tiene escasa consistencia y no se adhiere al trozo de papa que es reblandecido. El color es crema, pero luego de quince a veinte días se vuelve más oscuro y aparecen tonos verde oliva. Luego el cultivo se cubre de micelio aéreo blanco y tiene como en todos los medios intenso olor a moho.

La cepa 800 tiene colores más intensos (ocre claro) y el micelio aéreo es más abundante. El cultivo es más consistente. Posee intenso olor a moho.

En gelosa con caldo de carne la cepa 376 crece en la parte superficial del medio formando una membrana de color del medio, con pliegues poco profundos, traslúcida y brillante. La cepa 800 forma un cultivo más compacto que se cubre de micelio aéreo blanco y produce pigmento oscuro.

En caldo de carne las dos cepas producen un esbozo de anillo y depósito en forma de copos de aspecto algodonoso.

En leche ambas cepas producen un anillo que se colorea poco a poco de color marrón.

### C) *Propiedades bioquímicas*

*Acción proteolítica.* — Las dos cepas peptonifican la leche y la alcalinizan. Antes de la peptonificación se observó coagulación.

Las dos cepas licúan la gelatina. La cepa 800 produce pigmento marrón oscuro en la gelatina.

El suero coagulado de caballo es licuado por la cepa 376. La cepa 800 lo reblandece y produce intensa pigmentación marrón negruzca.

*Hidrólisis del almidón.* — Positiva franca con las dos cepas.

*Reducción de los nitratos.* — Utilizando almidón como fuente única de carbono se comprobó intensa reducción por la cepa 376 y leve por la cepa 800.

*Producción de hidrógeno sulfurado.* — Positiva con las dos cepas en medios con peptona.

*Prueba de la catalasa.* — Positiva con las dos cepas.

*Pruebas negativas.* — Las siguientes pruebas fueron negativas: producción de indol, amoníaco, reacción de Voges-Proskauer y del rojo metilo.

*Temperatura óptima.* — Vecina a 30°.

*Aerobiosis.* — Aerobios estrictos.

*Acción de distintos compuestos nitrogenados sobre los cultivos.* — Se comprobó la acción sobre el desarrollo de los cultivos de diversas fuentes de nitrógeno, obteniendo resultados positivos con la peptona, el nitrato de sodio, la asparagina y la urea. Con sulfato de amonio los resultados fueron negativos.

*Acción de los hidrocarbonados sobre el crecimiento de los cultivos.* — Las dos cepas son favorecidas por la glucosa, la maltosa y la galactosa; no son favorecidas por la lactosa. Con la sacarosa los resultados fueron negativos o dudosos.

### § 3. — Identidad de las especies de actinomices ensayados

La clasificación sistemática de los actinomices semejantes a los que hemos descrito está todavía en el terreno de la discusión. Nuestras cepas son parecidas a *Actinomyces albus*, pero es imposible asegurar si se trata realmente de esta especie o de especies vecinas, dado que, según los autores, se atribuyen a esta especie propiedades morfológicas y biológicas diferentes. Muchos caracteres considerados como específicos, como la producción de pigmento difusible, no son valorados por otros autores porque sería una característica capaz de perderse; nosotros hemos podido apreciar cambios o mutaciones de esta naturaleza que describiremos en otras publicaciones.

Hechas estas necesarias salvedades, analizaremos cada una de las dos cepas someramente, dado que no es nuestro objetivo discutir la debatida cuestión de la nomenclatura de los actinomices.

## Cepa 376

La cepa 376 tiene caracteres que coinciden casi totalmente con los detallados en la descripción de WAKSMAN y CURTIS (2) de *Actinomyces albus*; aún coinciden en los tonos amarillo-verdosos del micelio, que nosotros apreciamos como color oliva. En cambio, nuestras observaciones no coinciden con la descripción de KRAINSKY (3), pues nuestra cepa hidrolisa el almidón y produce pigmento difusible. La descripción morfológica de DUCHÉ (2) coincide en general con nuestras observaciones en la cepa 376.

BALDACCI (1) recientemente ha considerado las características de *Actinomyces albus* en un importante trabajo. Señala una extensa sinonimia para esa especie cuyo diagnóstico basa en caracteres puramente botánicos, que varían dentro de ciertos límites, debido a la distinta cantidad de micelio aéreo, a la más o menos intensa pigmentación del micelio y a la mayor o menor cantidad de pigmento difusible.

BALDACCI no tiene en cuenta para el diagnóstico de especie las propiedades bioquímicas, que variarían de unas cepas a otras, pero, sin embargo, afirma que ninguna cepa reduce los nitratos en medio Czapek, que ordinariamente es preparado con sacarosa o glucosa como fuente de carbono y con nitrato de sodio como fuente de nitrógeno. Por otra parte, WAKSMAN (10) sostiene y nosotros hemos podido comprobarlo que la fuente de carbono en el medio de cultivo tiene gran importancia en la reducción de los nitratos; la mayor parte de las cepas de *A. albus* que hemos ensayado no reducen los nitratos en medios cuya fuente de carbono es la sacarosa o la glucosa, pero los reducen, casi siempre, cuando la fuente de carbono es el almidón. BALDACCI no da importancia a la acción diastática sobre el almidón.

Respecto a la acción favorecedora sobre el desarrollo de distintas fuentes de carbono y de nitrógeno, podemos decir que los actuales conocimientos no son tan sólidos como para pretender distinguir especies o variedades por esos métodos. Nuestros resultados coinciden con los de WAKSMAN, al atribuir acción favorecedora a los nitratos de sodio y potasio, la asparagina y la peptona como fuentes de nitrógeno, la urea tendría una débil acción según WAKSMAN y fuerte según nosotros. En cuanto a la fuente de carbono, nuestras experiencias y las de WAKSMAN coinciden en la acción favorecedora de la glicerina, la glucosa, la maltosa y el almidón, pero, según nuestros resultados, la lactosa no tiene acción favorecedora, lo cual está en desacuerdo. De la lectura de las descripciones de DUCHÉ, se deducen datos coincidentes con nuestros resultados; la asparagina, la peptona y los nitratos, así como la glucosa y la maltosa, favorecen

el desarrollo de *A. albus*; en cambio, la sacarosa y la lactosa no lo favorecerían.

En resumen, nuestra cepa 376 botánicamente pertenece a la especie *Actinomyces albus* (Rossi Doria, 1891) y biológicamente posee las principales características de la especie: alcalinización de los medios, acción albuminolítica, acción hidrolítica sobre el almidón y acción reductora sobre los nitratos.

#### Cepa 800

La indentidad de esta cepa plantea mayores dificultades que la de la anterior. Es muy evidente en esta cepa la propiedad de producir abundante pigmento difusible, que varía del marrón claro al color de herrumbre en el medio de Czapek. Es de color marrón negruzco en el suero coagulado y en la gelatina. A su vez, el micelio tiene color ocre claro (*Ochroleucus*) y aún ocráceo en la papa y negruzco en el suero. Los actinospores son generalmente redondos y pequeños, alcanzando entre 0,6 y 0,8  $\mu$  de diámetro.

GASPERINI creó la denominación *Actinomyces chromogerus* para aquellas cepas vecinas de *A. albus* que producen pigmento difusible. KRAINSKY cree que entrarían cuatro especies en la denominación *A. chromogenus* de GASPERINI; de acuerdo con el criterio KRAINSKY, nuestra cepa se aproxima a las que él denomina *A. flavochromogenus*, por su micelio con tonos amarillentos u ocreos y por el color blanco del micelio aéreo, que luego se vuelve algo amarillo. KRAINSKY cuando describe su especie *A. flavochromogenus* coloca luego a continuación entre comillas el nombre *A. chromogenus*; con ello es evidente que el autor cree en la identidad de esas dos especies. Por razones de prioridad debe usarse la denominación *A. chromogenus* de GASPERINI. Las propiedades biológicas de nuestra cepa coinciden con las enunciadas por KRAINSKY. El color de los talos está sujeto a variaciones grandes en las especies con micelio vegetativo coloreado y micelio aéreo blanco; por ejemplo, una cepa que produzca mucho micelio aéreo aparecerá con talos de color blanco y otra que produzca poco aparecerá del color del micelio vegetativo color del fondo, atenuado algo por el color blanco del micelio aéreo; se trata de diferencias cuantitativas y no cualitativas. Nuestra cepa es blanca y, a veces, ligeramente amarilla u ocre muy claro.

DUCHÉ describió una nueva especie que considera intermediaria entre el llamado grupo de *Actinomyces albus* y el grupo de *A. chromogenus*. Denominó a esa especie *A. fimicarius*, pero no creemos justificada la creación de esa especie.

Según las concepciones unicistas de BALDACCÍ nuestra cepa sería identificable a *A. albus*.

Resumiendo, creemos que nuestra cepa puede ser identificada a *A. albus* o a *A. chromogenus*, según se siga el criterio unicista de BALDACCI o pluralista de KRAIN'SKY, respectivamente. Es indudable que los conocimientos actuales sobre los actinomices son incompletos y no permiten una sistemática más precisa.

#### § 4. — Consideraciones

Las citadas especies de actinomices forman una parte muy importante de la flora microscópica del suelo. Las experiencias relatadas permiten sostener que son una fuente de tiamina en la naturaleza, cuyo grado de importancia cuantitativa o proporcional no podemos demostrar.

Creemos de interés hacer algún comentario respecto a una posible acción fertilizante del suelo debida a la propiedad enunciada. En las recientes publicaciones de ROBBINS (7) y de ROBBINS & KAVANAGH (8) encontramos expuesto el estado actual de la cuestión. Existen autores que sostienen que algunas plantas con clorofila son beneficiadas por el agregado de tiamina. Otros autores niegan ese resultado para las plantas creciendo de semillas. ROBBINS & KAVANAGH terminan con estas palabras: "Parece que la aplicación de tiamina a las plantas completas no tiene acción benéfica o que las condiciones bajo las cuales es benéfica están mal definidas. Una situación similar parece existir en lo referente al efecto de la tiamina para que los trasplantes produzcan raíces".

El problema se plantea en otros términos cuando se prueba la acción de la tiamina sobre cultivos de raíces aisladas, en medios sintéticos. Existen experiencias (5) que demuestran que las raíces de tomate no son autotróficas para la tiamina, necesitando por lo tanto su presencia en el medio de cultivo.

#### Resumen y Conclusiones

Se comprueba por intermedio del crecimiento de *Phycomyces Blakesleeanus* y de *Phytophthora cinnamomi* la síntesis de tiamina en medios sintéticos por cepas de actinomices aisladas del suelo.

Semejantes resultados se obtuvieron ya se usase una fuente de nitrógeno orgánico (asparagina) o inorgánica (nitrato de sodio).

Los actinomices probados fueron estudiados del punto de vista botánico y biológico y fueron identificados, una cepa a *Actinomyces albus* (Rossi-Doria, 1891) y otra a *A. chromogenus* Gasperini, 1894 (= *A. flavochromogenus* Krainsky 1914).

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) BALDACCI, E. — Revisione delle specie *Actinomyces albus*, *A. chromogenus*, *A. odorifer*, *A. thermophilus*, *A. viridis*, *A. viridochromogenus*, *A. hominis*, *A. innominatus*. *Mycopathol.*, 2:145-161. 1940.
- (2) DUCHÉ, J. — Les actinomyces du groupe *albus*. P. Lechevalier et fils éd., Paris 1934.
- (3) KRAINSKY, A. — Die Aktinomyceten und ihre Bedeutung in der Natur. *Centralb. Bakt.*, 2. Abt., 41:649-688. 1914.
- (4) MAOKINNON, J. E. — The effect of *Actinomyces albus* and of thiamin on the growth of *Trichophyton discoides*. *Bull. Torrey Bot. Club*, 69:21-26. 1942.
- (5) ROBBINS, W. S. & BARTLEY, M. A. — Vitamin B<sub>1</sub> and the growth of excised tomato roots. *Science*, 85:246-7. 1937.
- (6) ROBBINS, W. S. — Thiamin and growth of species of *Phytophthora*. *Bull. Torrey Bot. Club*, 65:267-276. 1938.
- (7) ROBBINS, W. S. — Thiamin and plant growth. *Science*, 89:303-7. 1939.
- (8) ROBBINS, W. S. & KAVANAGH, F. — Plant growth substances. *Ann. Rev. Biochem.*, 10:491-508. 1941.
- (9) SCHOPFER, W. H. & JUNG, A. — L'action des produits de désintégration de l'aneurine sur *Phycomyces*. Le second facteur de croissance des Mucorinées. *C. R. Ac. Sc.*, Paris 204:1500-2. 1937.
- (10) WAKSMAN, S. A. — Studies in the metabolism of actinomycetes. *Jrl. Bact.*, 5:307-330. 1911.