

LA ESPORULACION DE TIPO PHIALOPHORA EN EL HORMODENDRUM PEDROSOI Y EL HORMODENDRUM COMPACTUM *

Por C. W. EMMONS y A. L. CARRIÓN

Del Departamento de Micología de la Escuela de Medicina Tropical de la Universidad de Puerto Rico bajo los auspicios de la Universidad de Columbia.

La cromoblastomycosis es una entidad clínica que puede reconocer como causa patógena tres especies distintas de hongos. La más frecuente de las tres es el *Hormodendrum pedrosoi*. En un caso de cromoblastomycosis nosotros hemos aislado el *H. compactum*, y en otros tres se ha comprobado por otros investigadores el *Phialophora verrucosa*. Tanto el *Hormodendrum* como el *Phialophora* son géneros de la familia Dematiácea, del gran grupo de los Hipomicetos, pero sus caracteres culturales son tan diferentes que, al parecer, no existe relación alguna entre ellos. No obstante eso, los síndromes clínicos a que el *H. pedrosoi* y el *P. verrucosa* dan lugar, la similitud de las reacciones histológicas que producen y la imposibilidad de distinguir uno de otro hongo durante el período parasitario, ha sido la causa de que desde hace mucho tiempo se haya supuesto que entre ambos parásitos debe de existir alguna estrecha afinidad.**

Ya en una comunicación preliminar¹ hemos anunciado el hallazgo que logramos hacer de una manera especial de esporular—esporulación de tipo *Phialophora*—en el *H. pedrosoi* y el *H. compactum*, confirmando así las sospechas que se tenían de la relación existente entre los distintos agentes causales de la cromoblastomycosis.

Esta nueva manera de esporular aparece descrita en otros dos artículos de esta misma Revista^{2, 3}. En este artículo nos proponemos describir *in extenso* este tipo de esporulación tal como lo hemos observado en las tres especies causantes de la cromoblastomycosis, y discutir las consecuencias teóricas y taxonómicas que se derivan de nuestro hallazgo.

* Recibido en Redacción el 1º de mayo de 1936.

** El cuadro clínico del caso incluido aquí, causado por el *H. compactum*, difiere algo de los otros casos de cromoblastomycosis, pero hasta tanto no podamos observar otros nuevos producidos por el mismo parásito no podremos establecer una comparación y juzgar si la diferencia clínica que entre ellos existe es siempre constante.

Material de observación: Para verificar nuestra observación hemos estudiado quince razas de hongos procedentes de casos clínicos de cromoblastomycosis. Tres de ellos eran razas de *P. verrucosa*, aisladas en Boston, Tejas y Uruguay, una es la única raza de *H. compactum* aislada en Puerto Rico, y las once restantes pertenecen a la especie *H. pedrosoi*, habiendo sido aisladas en casos clínicos de Puerto Rico y Suramérica. En todos estos casos pudimos comprobar el tipo *Phialophora* de esporulación, habiendo sido observado casi exclusivamente en el *P. verrucosa*, y rara vez, pero sin lugar a dudas, en las otras razas. A más de eso, observamos esta forma de esporulación en los cultivos antiguos de una especie saprofítica inidentificada de *Hormodendrum*.

Método empleado: Llevamos a cabo nuestras investigaciones en ejemplares tomados de cultivos en placas y en tubos, pero al hacer las preparaciones para observar los conidióforos no podíamos evitar que se rompiesen las hifas. Para obviar esto en lo posible, hicimos preparaciones en cultivos de agar-maíz sobre portaobjetos, procediendo de la manera siguiente: Extendíamos una película del medio de cultivo (agar-maíz), de unos 2 ó 3 mm. de espesor sobre un portaobjeto y lo colocábamos en un recipiente húmedo y estéril (un platillo de Petri), sembrando después el medio de cultivo haciéndole 2 ó 3 estrías paralelas a lo largo de su superficie. Dejábamos reposar los portaobjetos unas 2 ó 6 semanas y al cabo de ellas se les lavaba con alcohol, se dejaban escurrir, se les ponían unas gotas de una solución al 10 por ciento de sosa cáustica (NaOH), y se les montaba con el cubreobjetos, procediendo a examinar con el microscopio, utilizando el objetivo de grán aumento (40 ×). Cuando lográbamos enfocar un conidióforo, poníamos el objetivo de inmersión y hacíamos el dibujo o la microfotografía.

Manera de esporular de la especie Phialophora verrucosa: El conidióforo: En un artículo anterior aparece la descripción de la manera de esporular del *Phialophora verrucosa*⁴. El conidióforo es una célula de forma abotellada o anfórica ensanchada en la base, con un cuello estrecho que se abre en una boca ancha (grabs. 1 y 3). En el fondo de esta abertura o brocal, que llamaremos copa o cáliz, situada

en el extremo superior de la célula, emergen los conidios de forma oval. Los conidióforos miden de 2.5 a 3.8 micras de ancho en el punto más amplio, y en el más estrecho las dimensiones varían de 1 a 1.5 micra. La longitud de todo el conidióforo es de unas 5 a 12 micras. El conidióforo puede constituir una rama lateral diferenciada (grab. 1) o estar formado por la célula terminal de una hifa (grab. 3). En los cultivos claros en agar pueden observarse los conidióforos lo mismo en las hifas soterradas que en las aéreas (grab. 3), bien diseminados y sueltos, o acumulados en gran número en torno a algunas ramas de hifas fértiles (grabs. 1-9).

Obsérvanse a veces ciertas desviaciones del tipo corriente que hemos descrito. El conidióforo puede llegar a ser tan pequeño que apenas esté constituido por la prominencia que forma el cáliz (grab. 1a). En algunas ocasiones nacen dos o más cálices hacia el extremo del mismo conidióforo (grabs. 4 y 5). Obsérvanse asimismo algunos conidióforos en que la esporulación es de tipo normal al comienzo, con copas bien desarrolladas, pero su función se interrumpe de repente, formándose una célula que no se separa como un esporo corriente sino que se transforma en un conidióforo secundario que emerge de la base del cáliz primitivo y continúa entonces creciendo y esporulando normalmente (grab. 2).

Esporos: Los esporos del *Phialophora verrucosa* tienen una cubierta delgada, son de forma oval y a veces están provistos de un collarite que rodea el punto de inserción con el conidióforo. Su tamaño es muy variable y, según parece, muchos de ellos aumentan notablemente de volumen después que se han desprendido. Las dimensiones oscilan entre 1.25-2 por 2-3.5 micras, pero, ordinariamente, son de unas 1.5 por 2.5 micras. Por lo general se les observa acumulados, probablemente adheridos entre sí por alguna substancia mucilaginosa, formando bolas esporulares de aspecto muy característico, junto al cáliz generador, como puede verse en ciertos cultivos cuando se les examina a pequeño aumento (grab. 6).

Esporulación de tipo Phialophora en los hongos H. pedrosoi y H. compactum: La esporulación de tipo *Phialophora*, tal como la hemos observado en el *H. compactum* y el *H. pedrosoi* no se diferencia fundamentalmente, desde el punto de vista morfológico, de la observada en el *P. verrucosa*,

pues al igual que en esta especie consiste en la formación de unas células de forma abotellada que nacen por los lados y en el extremo de las hifas (grabs. 10-14), o, aunque con menos frecuencia, sólo se producen unos cálices cortos, sin la base abultada que hemos descrito anteriormente, y que crecen adheridos a los lados de las hifas (grabs. 12-15). Pueden, sin embargo, notarse las siguientes discrepancias entre una y otra especie: la esporulación de tipo *Phialophora* en los hongos *H. pedrosoi* y *H. compactum* suele ser muy rara, los conidióforos son menos prolíficos que los de *P. verrucosa*, son más uniformes en forma y tamaño y no se les encuentra tan frecuentemente formando masas compactas esporulares envueltas en substancia mucilaginosa. Por último, en el *Hormodendrum*, los conidióforos de tipo *Phialophora* se les ve a veces desarrollarse emergiendo de los esporos típicos hormodéndricos. Esta modalidad se ha observado con mucho más frecuencia en el *H. compactum* que en el *H. pedrosoi* (grab. 14).

Comentario: No podemos considerar esta manera de esporular de ciertas especies hormodéndricas como un fenómeno excepcional, accidental, desprovisto de significación filogenética, si atendemos a las tres razones siguientes: En primer lugar, estos tres hongos que estamos estudiando son los tres agentes etiológicos de una misma enfermedad, la cromoblastomicosis. En segundo lugar, el tipo de conidióforo que estamos discutiendo, es indudablemente, no obstante su rareza y variabilidad morfológica, el mismo que se da, tanto en el *H. pedrosoi* y en el *H. compactum* como en el *P. verrucosa*. Y, por último, la estrecha vecindad en que se ven desarrollarse las dos formas de esporulación en estas especies hormodéndricas, llegando hasta la posible transformación del conidio de *Hormodendrum* en un conidióforo de *Phialophora*, nos permite asegurar que en estas dos especies los métodos de esporulación pueden sufrir una evolución, y pueden pasar con facilidad de uno a otro.

En el grabado 15 puede verse (indicado por la flecha) una de las etapas primeras del desarrollo de un conidióforo *Phialophora*, en la especie *H. pedrosoi*. En este ejemplar el conidióforo es tan pequeño de tamaño que casi queda reducido al cáliz. Probablemente se formó primero un brote, y, en lugar de dar de sí un esporo adulto de *Hormodendrum*

del cual brotasen esporos hijos, se transformó en un cáliz al romperse la membrana en la parte superior. En el interior del cáliz así formado puede verse un brote próximo del que va a salir un esporo de tipo *Phialophora*. Este, quizás, sea el primer esporo que nace en este conidióforo, pues parece indicarlo el escaso desarrollo del cáliz. Éste, en los conidióforos jóvenes, está siempre muy poco desarrollado, pero conforme se van produciendo nuevos esporos, los cálices van al mismo tiempo adquiriendo mayor longitud, la pigmentación es más intensa y la boca es de mucha más amplitud. A la derecha de este conidióforo hay otro del que nacen dos esporos simultáneamente. El mejor desarrollo del cáliz en este último indica que el conidióforo es de más edad. En otro sitio de este mismo grabado (no. 15, por encima de la flecha indicadora) se ve una célula que, al parecer, va a sufrir el mismo proceso (transformación del brote en cáliz), pero todavía la membrana limitante no ha llegado a romperse.

Podríamos resumir todo el proceso evolutivo que sufre el esporo de *Hormodendrum* hasta convertirse en un conidióforo *Phialophora*, de la manera siguiente: En un esporo situado en una cabeza de *Hormodendrum* se forma un brote recién nacido, como ocurre normalmente. Este brote, en lugar de transformarse en un esporo secundario, estalla en la punta, y los fragmentos de la membrana celular, al abrirse, forman la copa o cáliz. Este va creciendo, ensanchándose y pigmentándose cada vez más, conforme le van naciendo conidios en la base. La transformación de uno a varios elementos de la cabeza esporular de un *Hormodendrum* corriente (de tipo normal) en conidióforos de tipo *Phialophora* representa indudablemente la más íntima relación posible entre estos dos modos de esporular. Esta evolución morfológica es del mayor interés, pues ello significa que en este caso especial, *un mecanismo de esporulación exógena, de tipo indeterminado, se transforma en otro de esporulación semi-endógena y determinada.*

Podemos concebir al conidio evolutivo del *Hormodendrum* junto con su brote como células destinadas a convertirse en conidióforos *Phialophora*, o bien como células, *de línea filogenética todavía imprecisa*, que poseen dentro de sí doble facultad para producir esporos de *Hormodendrum* o conidios *Phialophora*. Esta última hipótesis nos parece la más razo-

nable en vista (a) de los fenómenos de transformación morfológica que hemos descrito, (b) de la estrecha relación de vecindad en que estos fenómenos se verifican, y (c) de la evidente evolución de un esporo en una cabeza de *Hormodendrum* hasta convertirse en un cáliz de *Phialophora*. Según esto, los brotes recién nacidos o la célula joven que crece sobre una hifa de un *H. pedrosoi* o de un *H. compactum*, darían lugar, normalmente, al nacimiento de un conidióforo o un conidio *Hormodendrum*. Hay momentos, sin embargo, en que se desequilibra esta función y se producen entonces estructuras excepcionales, características de otros géneros de hongos: tratase aquí de un género micológico (*Phialophora*) que se distingue del *Hormodendrum* por un carácter que se supone fundamental, o sea, la esporulación semiendógena determinada.

Alguna vez que otra hemos notado anomalías en el conidióforo de tipo *Phialophora* en nuestras especies *hormodéndricas*. En el grabado 16 puede verse un conidióforo con una hifa fértil en proceso de regeneración dentro del mismo cáliz, y a pesar de que éste estaba bien desarrollado no pudimos notar los esporos. Algunos conidióforos pueden ostentar dos o más esporos al mismo tiempo, en parajes distintos del mismo cáliz (grab. 15), y otros aparecen coronados por vesículas hialinas. No hay nada que indique que los conidióforos que aparecen en los grabados 17 y 18 con dichas vesículas hialinas, hayan producido esporos alguna vez, pero, quizás, alguna interrupción en el desarrollo evitó el proceso. En el grabado 10 puede verse claramente que los conidióforos que ostentan estas formaciones vesiculares pueden llegar a esporular; tal parece demostrarlo la presencia de esporos, además de una masa del detritus hialino que quedó en libertad al escindirse la membrana. Tanto ésta como otras observaciones ya enumeradas nos llevan a la convicción de que el proceso de esporulación de tipo *Phialophora*, tanto en el *Hormodendrum* como en el *P. verrucosa*, está sujeto a variación, y parece razonable deducir que el conidióforo de tipo *Phialophora* representa una fase evolutiva de conidióforo *hormodéndrico*, fenómeno que puede haber sido el resultado de un desequilibrio en la evolución de este último.

La transición de un tipo de esporulación a otro tan distinto se verifica de una manera sorprendentemente sencilla.

Con todo y con eso, hasta que no podamos conocer con todo detalle la fisiología y la genética de estas especies fungosas no nos está permitido más que suponer las razones que quizás determinen la ruptura de la membrana celular del esporo del *Hormodendrum*, causa de su transformación en un conidióforo de tipo *Phialophora*. Quizás la edad y el estado del medio de cultivo desempeñen un papel importante en esta evolución. La esporulación de tipo *Phialophora* se ha observado con más frecuencia en los cultivos viejos que en los recientes, y ello lo mismo en las especies patógenas que en las saprofíticas.

En algunos cultivos de *P. verrucosa* hanse observado también en bastantes ocasiones la formación de cadenas monilioides. Tal ocurrió en los cultivos preparados por nosotros. Muchas cadenas de éstas parecían estar formadas por hifas anormales, como las que se observan en muchas otras especies de hongos, creciendo frecuentemente en el espesor de la masa del medio de cultivo. Algunas parecían más bien cadenas incompletamente formadas de conidios de *Hormodendrum* (grab. 3) y los conidióforos de *Phialophora* aparecían en íntima relación con las cadenas mencionadas, bien al extremo de éstas o adheridos como ramas colaterales (grab. 3). Sería, evidentemente, de enorme interés poder demostrar la presencia indubitable de conidióforos y conidios de *Hormodendrum* en la especie *P. verrucosa*. Como carecemos de esta observación, hemos de considerar la existencia de la cadena monilioide como indicio de la estrecha relación existente entre los hongos *Hormodendrum* y *Phialophora*.

Variantes: Entre las tres razas de hongos *P. verrucosa* que hemos estudiado, las procedentes de Tejas y Boston pertenecen indudablemente a la misma especie. Las procedentes del Uruguay crecieron con más rapidez, las colonias fueron más grandes y la esporulación fué más fácil (grabs. 22-24 y 26-28). La formación de bolas o masas esporulares en la punta del conidióforo fué un fenómeno bien notable (grab. 6). Desde luego, que aquí surge el problema de la limitación de los caracteres específicos diferenciales. Resulta cosa fácil encasillar una nueva especie de hongo que presenta unos pocos caracteres nuevos, pero que, poco tiempo después, al estudiarla con más detenimiento, por lo general nos encontramos con que los caracteres nuevos no son más que variantes

de formas intermedias y el flamante nombre de la nueva especie pasa a engrosar la lista de los sinónimos. En este caso particular nuestras observaciones nos han demostrado que el hongo *P. verrucosa*, lo mismo que tantos otros, es de una morfología poco estable y capaz de producir en los cultivos formas variadas de su misma especie (grabs. 29-31). Y como estos saltos evolutivos ocurren con relativa frecuencia en la especie *P. verrucosa*, nosotros propendemos a considerar de escasa significación las diferencias que separan entre sí las tres razas y a darle más importancia a las analogías que las unen, clasificándolas a todas dentro de una sola especie.

Las razas de *H. pedrosoi* presentan igualmente algunas variantes, sobre todo en lo que refiere a su velocidad de crecimiento y esporulación, pero todo ello es de mínima importancia. En algunos y determinados cultivos las variantes morfológicas se manifiestan en ciertos sectores de forma especial que presenta la colonia en determinados puntos de su borde, y, si practicamos resiembras de esos mismos sectores, los nuevos cultivos crecerán de manera distinta a la normal (grab. 25). Cuando esto ocurre espontáneamente en los cultivos puros, preparados en el laboratorio, debemos tener gran cuidado con la significación que pretendemos atribuirles, sobre todo cuando se trata de razas procedentes de distintos orígenes. Parécenos, por consiguiente, que si se quiere estudiar de una manera sistemática la etiología micológica de la cromoblastomycosis, los agentes causales que a esta enfermedad se atribuyen deberán clasificarse en las tres especies fungosas que hemos mencionado. Eso no obstante, pudiera ser que se encontrasen otras especies de hongos capaces de producir la enfermedad cuando se lleven a cabo investigaciones médicas de esta naturaleza en otras regiones geográficas distintas a las que, hasta la fecha, según se cree, la enfermedad existe.

Conclusiones: Las especies *P. verrucosa*, *H. pedrosoi*, y *H. compactum* poseen una forma común de esporulación, y esto parece una prueba evidente de que entre ellas existe una estrecha relación filogenética. Todas ellas deben haber tenido un origen común, habiendo evolucionado siguiendo líneas divergentes, hasta el extremo que se las ha clasificado en géneros distintos.

Cada una de estas especies de *Hormodendrum* (el *pedrosoi* y el *compactum*) manifiesta de cuando en cuando una forma especial anómala de esporulación (tipo *Phialophora*), pero ello es tan raro que no basta para englobar las tres especies en el género *Phialophora*. Tampoco nos resuelve nada el crear para estas tres especies un género nuevo. Ello no parece necesario ni conveniente. Las dermatofitosis reconocen por causa ciertos hongos que tienen entre sí alguna afinidad, pero, al mismo tiempo, sus caracteres son bastante diferentes, lo que obliga a clasificarlos en géneros distintos.

Con esta misma situación se confronta la patología animal y la patología vegetal. Los mohos, por ejemplo, son producidos por muchísimos hongos diferentes, con ciertas analogías entre todos ellos, pero pertenecientes a géneros muy variados. No vemos, pues, suficiente razón para alterar la clasificación genérica de los hongos causantes de la cromoblastomycosis. La nueva forma de esporulación que hacemos objeto de estudio en esta comunicación no basta para alterar la clasificación de estos hongos, pero creemos que sirve para fundar nuestra afirmación de que estas tres especies tienen una estrecha relación morfológica que las une entre sí.

Resumen: Hemos estudiado 15 razas de hongos procedentes de casos de cromoblastomycosis. Tres razas del género *Phialophora* y 12 del género *Hormodendrum*. En todas las razas de *H. Pedrosoi* y *H. compactum* hemos observado, en ciertas ocasiones, una manera de esporular igual a la que se verifica en el género *Phialophora* y la hemos denominado "esporulación de tipo *Phialophora*". Ello parece demostrar la íntima afinidad de las tres especies causantes de la cromoblastomycosis.

El conidióforo de tipo *Phialophora* que se da en los hongos del género *Hormodendrum* puede originarse como una modificación de uno o varios esporos del género *Hormodendrum* en una cabeza esporular típica de este género; o, también, puede aparecer lateralmente o en la punta de una rama aislada, más o menos separada de los conidióforos hormodéndricos.

Las variaciones observadas en el *H. pedrosoi* y el *P. verrucosa* que hemos observado, aparecen profusamente ilustradas en los grabados que acompañan al presente artículo.

R. L. trad.