

SPHAEROBOLUS STELLATUS TODE var. BRASILIENSIS n. var. (*)

A. P. Viégas e
Ciro G. Teixeira

A 8 de março de 1944, quando, em companhia do sr. Alcides Ribeiro Teixeira, coletávamos fungos no sítio Salomão, em Torrinha, aqui no Estado de S. Paulo, encontramos, sôbre pedaços de madeira apodrecida, um organismo, cujos caracteres lembravam *Sphaerobolus*. Muito embora os fragmentos se ressecassem durante o transporte até o laboratório, em Campinas, e por isso não exibissem, à vista desarmada, nenhum corpo de frutificação que nêle observáramos no momento da coleta, assim mesmo, foram colocados em câmara úmida para eventual exame. Passados dois dias, à superfície do lenho, afloravam pequeninas "estrêlas", que, sob a lupa, logo denunciaram o gênero a que pertenciam.

De posse de tão interessante material, pois, ao que nos consta, não fôra coletado ainda em nosso país, achamos razoável investigá-lo melhor. E para tanto começamos por tentar cultivá-lo artificialmente, em laboratório. Como já estivéssemos a par das pesquisas de Buller (1), sôbre *Sphaerobolus*, seguimos-lhe as pegadas, ao preparar um substrato vantajoso ao desenvolvimento da planta. Assim, esterilizamos, em "erlemeyer" de litro de capacidade, não sômente estrume equino como também preparamos outros com mistura de partes iguais de estrume e ervilha moída, e ainda outros com partes iguais de serragem e estrume, serragem e ervilha moída. Nessas combinações de matéria orgânica, plantamos o fungo, que, já por êsse tempo, projetava **glebas** sôbre as paredes da câmara úmida. Usando todos os cuidados necessários para obter glebas completamente livres de contaminantes, em cada "erlemeyer" foi colocada uma recentemente projetada. Ao mesmo tempo que assim procedíamos, colhemos glebas, tratando-as com hipoclorito de cálcio, e ao depois plantamo-las em agar de batatinha, em tubos de cultura. Passados

(*) Recebido para publicação em 15-2-45.

dias, com surpresa nossa, notamos que o fungo não se desenvolvia bem, em nenhum dos substratos acima enumerados, isto é, estrume equino, estrume e serragem, estrume e ervilha, serragem, serragem e ervilha, mas nos tubos com agar de batatinha, o crescimento das glebas foi rápido. Delas partiam hifas radiais, delicadas e alvas, que em breve tomaram tôda a superfície do meio. Tendo, assim, garantido a cultura, tornamos a esterilizar os "erlemeyers" e nêles fizemos novo plantio, mas agora com o **micélio** obtido dos tubos de agar de batatinha. Os resultados dêste segundo tentame foram péssimos. O micélio não se desenvolvia naqueles substratos. Em vista disso, resolvemos proceder da seguinte maneira: tomamos fragmentos de pau podre e pusemo-los a cozinhar por longo tempo em água de torneira; depois de bem cozidos, colocamo-los em "erlemeyer" de litro, com um pouco de água no fundo; esterilizamos os frascos em autoclave a 120°, por 20 minutos, protegendo os tampões com um pedaço de gaze. Nesse substrato, quando frio, plantamos o micélio de *Sphærobohus*. O crescimento veio vigoroso e um tanto rápido. Após um mês, todos os fragmentos de madeira estavam recobertos pelo micélio alvo, e, após dois meses, o número de corpos de frutificação era grande, e notável a projeção violenta das glebas.

Garantido, assim, abundante material para pesquisas, demos início ao estudo da morfologia do fungo. Para tanto, incluímos material em vários estados de desenvolvimento, em parafina, para cortes ao microtomo rotativo. De tempos a tempos, colhíamos pequenas amostras para exames e ilustrações.

M O R F O L O G I A: — **Na natureza**, a espécie de *Sphærobohus*, de Torrinha, não produz nenhum micélio à superfície da madeira. As hifas invadem os tecidos do lenho na profundidade média de dois milímetros mais ou menos, dando origem a corpos de frutificação completamente imersos (Est. I, **b**). À maturidade êles se abrem à superfície, patenteando-se sob a forma de diminutas "estrêlas" (Est. I, **a**), de que falamos atrás. Dêsse modo, o fungo só pode ser coletado quando nesta última fase. Quando novos, não são apercebidos. Os desenvolvidos **em cultura** aparecem nos lugares onde se formam enovelados de hifas, enovelados êsses alvos, um tanto salientes, superficiais, situados abaixo do tapête miceliano que recobre os pedaços de madeira apodrecida. Do material original, colhido em Torrinha, retiramos, de lugares onde suspeitávamos existir, corpos de frutificação, para inclusão em parafina. Fomos mais ou menos felizes, pois conseguimos obter umas poucas lâminas mostrando corpos de frutificação novos, inda imersos (Est. I, **b**).

Por essas figuras se verifica que tais estruturas, globosas ou globoso-deprimidas, nessa idade medem cêrca de um milímetro (878-912 μ) de diâmetro. As glebas medem aproximadamente 0,7-0,8 mm (673-765 μ) de diâmetro. É interessante notar que há uma razão mais ou menos constante entre o diâmetro do corpo de frutificação e o da gleba. Assim encontramos a seguin'e relação :

$$\frac{\text{Diâmetro do corpo de frutificação}}{\text{Diâmetro da gleba}} = 1,3$$

Nas medidas por nós feitas, achamos os seguintes valores :

$$\frac{878}{673} = \frac{912}{700} = \frac{1000}{765} = 1,3$$

Vejamos a estrutura dum corpo de frutificação, através de um corte vertical, isto é, perpendicular à superfície do substrato.

No centro (Est. II, **a-1**) está a **gleba**, ou massa de esporos. Envolvendo-a, há uma série de camadas que se diferenciam pela disposição, forma, direção, espessura das paredes, de seus elementos componentes. Na Est. II, **a**, apresentamos a estrutura dessas diversas camadas. Em **1**, vê-se parte da **gleba** inda nova, trazendo hifas portadoras de basídias e basidiosporos. As **basídias** formam-se ao lado de hifas de 2-2,5 μ de diâmetro, sinuosas, ramificadas, hialinas, e que se distribuem como que em veias pela massa da gleba ; medem 9-12 x 6-8 μ e são portadoras de 5-6 basidiosporos (Est. I, **c e d** ; Est. II, **d**) na sua parte superior ; trazem conteúdo granuloso e paredes delicadas. São desprovidas de ganchos de ligação na base, variando de globosas a piriformes. Apenas em glebas novas é que se constata basídias. Basidiosporos e basídias são estruturas que se diferenciam apenas pela espessura de suas paredes ; na **basídia**, a parede é delicada ; nos **basidiosporos**, alcança 2-2,5 μ de espessura.

Os basidiosporos, elíptico-piriformes (Est. I, **c e d** ; Est. II, **d e e**), se prendem por meio de esterígmas mui delicados e curtos, que se fixam de modo irregular, na parte distal das basídias (Est. II, **d**). São semelhantes na forma aos de *S. stellatus* (1) (2) (4) e *S. stellatus* var. *giganteus* Walker (1), trazendo protoplasma granuloso com tonalidade amarelada, devido à presença de gotas de substâncias de côr de carotina no seu interior. A parede exterior, lisa, um tanto refringente, não toma os corantes com facilidade ; medem os basidiosporos 10-12 x 6-7 μ . Confrontando-se as medidas dos basidiosporos do material coletado em

Torrinha, com as de *S. stellatus* Tode e *S. stellatus* var. *giganteus* Walker, verifica-se que as do material brasileiro são muito maiores, e, a julgar por êsse caráter apenas, poder-se-ia considerá-lo como variedade distinta. E foi o que fizemos (Tab. I).

Tab. I

Dimensões de basidiosporos de *Sphaerobolus stellatus*

<i>S. stellatus</i> Tode	6-8 x 4-5 μ
<i>S. stellatus</i> var. <i>giganteus</i> Walker	6-8 x 5-7 μ
<i>S. stellatus</i> var. <i>brasiliensis</i> n. var.	10-12 x 6-7 μ

Envolvendo a gleba segue-se uma camada amarela, **2**, composta de células um tanto achatadas e grandes (para o lado da gleba), às vêzes desfeitas por cristais octaédricos (Est. II, **a-2** e **b**) nela imersos. A presença dêsses cristais nos auxilia, de modo seguro, no reconhecimento dessa camada importante, pois é a que recobre a gleba quando esta é expulsa violentamente no ato da descarga. A parte mais exterior desta camada se gelatiniza, "gelatinous layer", de certos autores (**2**), à maturidade, constituindo o envólucro em que vai envolta a gleba, após a descarga. As camadas seguintes **3**, **4**, **5** e **6** constituem o **perídio**. A camada **3**, formada de células alongadas, de paredes um tanto firmes e espêssas, é conhecida também pelo nome de **camada em paliçada (1)**. Nesta camada, Buller (**1**) constata **poros** na região basal, por onde penetram feixes de hifas. No nosso material não verificamos presença de tais poros, pois a **camada em paliçada** apresenta-se contínua. A imediata, **4**, é de natureza fibrosa; consta de um trançado de hifas de pequeno diâmetro e estreito lúmen, com paredes mais ou menos espêssas, que se orientam de modo tangencial. As camadas **3** e **4**, unidas, constituem o **perídio interno**, o qual vira no avêso, e age como mecanismo propulsor da gleba. A camada **5**, de natureza pseudo-parenquimatosa, é constituída de células de grande diâmetro, globosas. Finalmente, a sob n.º **6**, é também de textura fibrosa; suas hifas são de diâmetro ainda menor do que as da fiada n.º **4**; na estampa II, **a-6**, representamos apenas a sua parte mais interna. As fiadas **5** e **6** (**perídio externo**) são estáticas, isto é, permanecem fixas ao substrato no momento da deiscência estelar do corpo de frutificação. São as grandes células da camada **5** que recobrem a superfície dos bicos das "estrêlas" conferindo-lhes aspecto granuloso.

Descritas as camadas, vejamos agora o mecanismo da descarga. Quando os corpos de frutificação estão maduros, as camadas **5 e 6 (perídio externo)** rompem-se, e de modo tipicamente estrelado. Por esse tempo, os corpos de frutificação apresentam leve coloração rosada no tôpo, onde se opera a ruptura. Os bicos do perídio voltam-se para fora, abrindo-se em "estrela" típica. Os fenômenos que se passam, dêste instante até a eversão do perídio interno, são rápidos. A velocidade com que se opera a eversão é rapidíssima. De acôrdo com Buller (1), o fenômeno demora apenas $\frac{1}{1524}$ de segundo; sendo grande a sua velocidade, nossa vista não o pode observar. Como vimos, as camadas **5 e 6 (Est. II, a)** ficam firmes, enquanto as sob n.º **3 e 4** em uma única peça viram no avêss, mantendo-se presas pelos bicos (Est. I, a) correspondentes do conjunto **5 e 6**. Pela eversão, a camada em paliçada que ocupava posição **mais interna** (com relação à gleba) passa a ocupar posição **externa**.

As células do manto que envolve a **gleba**, antes da eversão exibem gelatinização pronunciada. Formam uma espécie de geléia amarelolaranja em redor de tôda a gleba. Sendo esta última de côr escura, aparece no centro e no fundo do corpo de frutificação como uma bola quase preta. Com a descarga violenta, a geléia, arrastada com a gleba, funciona como material adesivo. Onde quer que toque, a gleba se fixa, mesmo a superfícies lisas, como o vidro (Est. III e IV). A densidade das glebas é superior à da água e deve ter um valor semelhante ao constatado por Buller (1) para *S. stellatus*, isto é, 1,25. **Distância a que é projetada a gleba** : — A fim de estudar a distância máxima alcançada pela gleba de *Sphærobohus stellatus* var. *brasiliensis*, construímos uma caixa de papelão, no fundo da qual colocamos fragmentos de madeira contendo o fungo; na parte superior suspendemos uma lâmpada de 200 watts, que trazia, preso ao bulbo, um vidro suspenso por fios, de tal modo a interceptar qualquer gleba projetada. Como se sabe (1), (3), os corpos de frutificação de *Sphærobohus* são heliotrópicos positivos, isto é, projetam as glebas na direção donde vem maior intensidade luminosa. Buller (1) já havia demonstrado isto. Nós confirmamos essa observação, com a seguinte experiência, muito fácil de ser executada: um "erlemeyer" de litro, contendo cultura do organismo, foi deixado por mais de cinco meses numa e mesma posição, em mesa de laboratório dando para uma vidraça. Após esse tempo, as glebas que se projetaram em direção à luz (proveniente da janela) podiam ser contadas na proporção de 18-22 por centímetro quadrado nas zonas de maior densidade, ao passo que do lado oposto, donde vinha pouca luz,

a densidade era de 1-2 por centímetro quadrado. As estampas III e IV nos mostram isso; foram obtidas fotografando-se no mesmo dia um e mesmo "erlemeyer": a) do lado exposto à luz da janela (Est. III); b) do lado que não recebeu luz direta (Est. IV). Esta experiência demonstra plenamente que *Sphaerobolus* é heliotrópico positivo.

A primeira caixa construída para experiência de projeção de glebas tinha 2,20 m de altura. Nesta experiência lançamos mão de pouco material. Colocamos num cristalizador uma camada de algodão umedecido em água glicosada. A seguir trasladamos de um dos "erlemeyer", pedaços de pau podre nos quais se encontravam glebas que não tinham sido ainda projetadas. Transportamos a seguir o cristalizador para a caixa de papelão e acendemos a lâmpada. O vidro preso ao bulbo da lâmpada achava-se a uma altura de 2,00 m. Após 48 horas encontramos, aderentes ao vidro, três glebas. Ficou assim provado que as glebas eram projetadas pelo menos até a altura de 2,00 m. Mas, segundo Buller (1), as glebas de *S. stellatus* são projetadas à altura de 4,00-4,50 m. Como a caixa por nós construída não servia para executar experiências a uma altura superior a dois metros, fomos obrigados a construir nova armação.

A espécie é muito bela. Presta-se bastante, como material didático, para demonstrar o processo de descarga da sua gleba. Até agora, só o conseguimos cultivar em madeira apodrecida. Pelo fato de suas glebas virem envoltas em uma espécie de gelatina, pela côr e estrutura da gleba, o material brasileiro cai dentro dos limites de *Sphaerobolus stellatus* Tode; pelo tamanho dos seus basidiosporos, pela presença de cristais na camada exterior da gleba; pela ausência de **poros** à base da **camada em paliçada**, e pelo hábito (apenas crescendo em madeira apodrecida) se destaca como variedade distinta, à qual propomos o nome de *brasiliensis*. Assim, o seu nome fica sendo *Sphaerobolus stellatus* Tode var. *brasiliensis* n. var.

***Sphaerobolus stellatus* Tode var. *brasiliensis* n. var.**

Varietas similis est Sphaerobolo stellato Tode, ab ea distinguens sporarum dimensionibus. In ligno putrido, leg. A. P. Viégas et A. Ribeiro Teixeira, sítio Salomão, Bairro Três Saltos, Torrinha, Prov. S. Pauli, Brasiliae, Amer. Austr., Mars 8, 1944. Typus sub n.º 4467, in herb. I. A., Campinas.

LITERATURA CITADA

1. Buller, R. A. The Sphaerobolus gun and its range. *Em* Researches on fungi 5 : 279-370. 1933.
2. Coker, W. C. e J. N. Couch. *Em* The gasteromycetes of the Eastern United States and Canada, pg. 146-148, The Univ. of North Carolina Press, Chapel Hill, 1928.
3. Fischer, Ed. Plectobasidiineae. *Em* Engler e Prantl. Die Natuerlichen Pflanzenfamilien 1 : 346. 1897.
4. Saccardo, P. A. *Em* Sylloge Fungorum 7 : 46-47. 1888.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Est. I.

- a — Fotografia de dois corpos de frutificação de *Sphærobohus stellatus* Tode var. *brasiliensis* n. var. ; o de baixo, com o perídio imediatamente após a eversão, e o de cima, algum tempo depois de descarga. De material cultivado em laboratório.
- b — Fotomicrografia de cortes em parafina, de dois corpos de frutificação. De material colhido em Torrinha.
- c e d — Basídias de *Sphærobohus stellatus* Tode var. *brasiliensis* n. var. Observar a espessa parede dos basidiosporos.

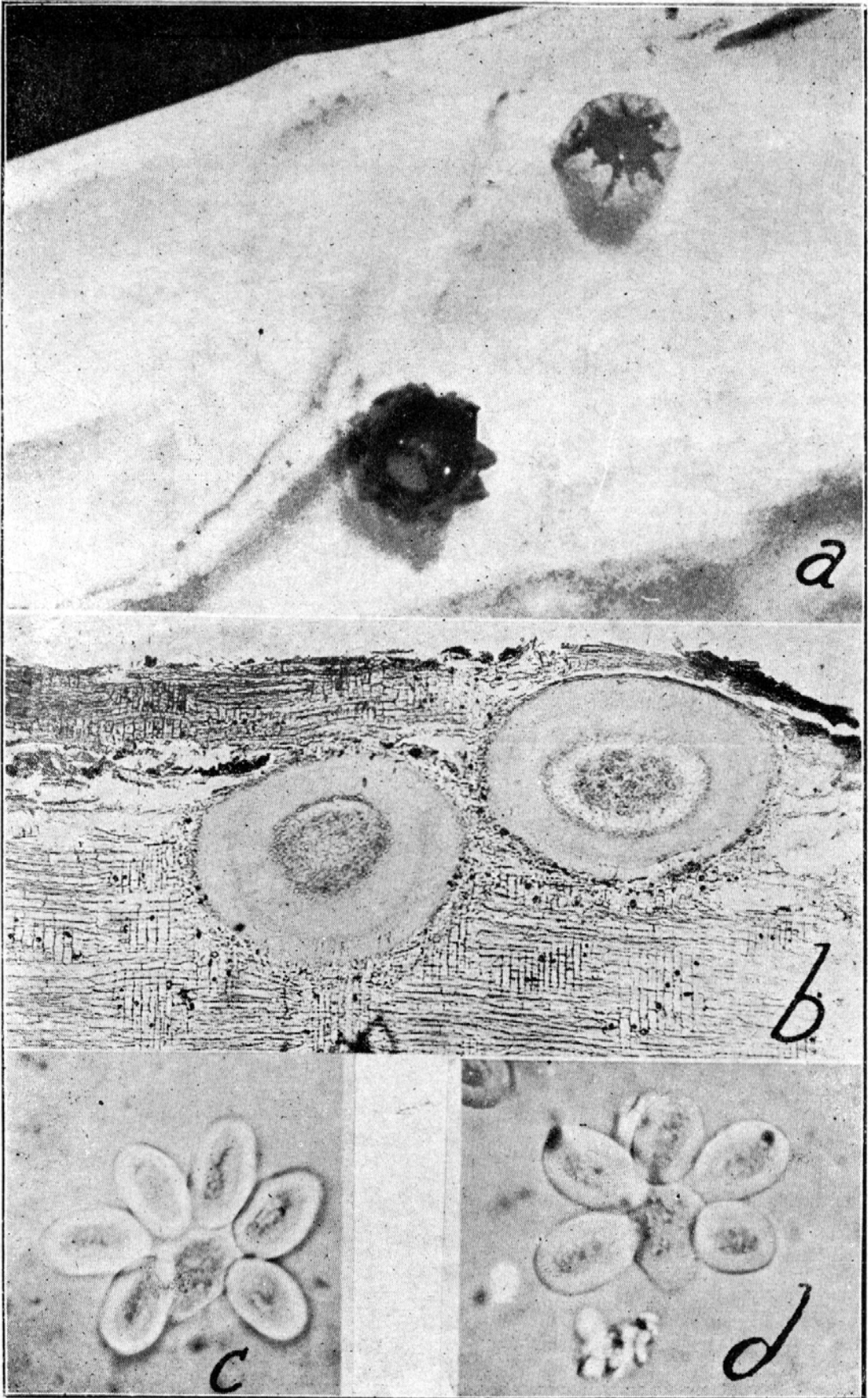
Est. II.

- a — Parte de um corte longitudinal das camadas que envolvem a gleba de *Sphærobohus stellatus* Tode var. *brasiliensis* n. var.
 - 1 — gleba, vendo-se hifas portadoras de basídias, basídias e basidiosporos ;
 - 2 — camada exterior da gleba ; na porção mais interna desta camada é que se encontram os cristais octaédricos ;
 - 3 — camada em paliçada ;
 - 4 — camada fibrosa ; as camadas 3 e 4 é que constituem o perídio interno, que vira no avêso no ato da descarga ;
 - 5 — camada pseudo-parenquimatosa, formada de células globosas ou cubóides, que irão dar aparência áspera aos bicos da "estrela" (corpo de frutificação everso) ;
 - 6 — camada fibrosa ; as camadas 5 e 6 constituem o **perídio externo**.
- b — Cristais octaédricos encontrados na porção mais interna de a-2.
- c — Hifas da gleba, portadoras de basídias jovens
- d — Três basídias, com basidiosporos.
- e — Basidiosporos.

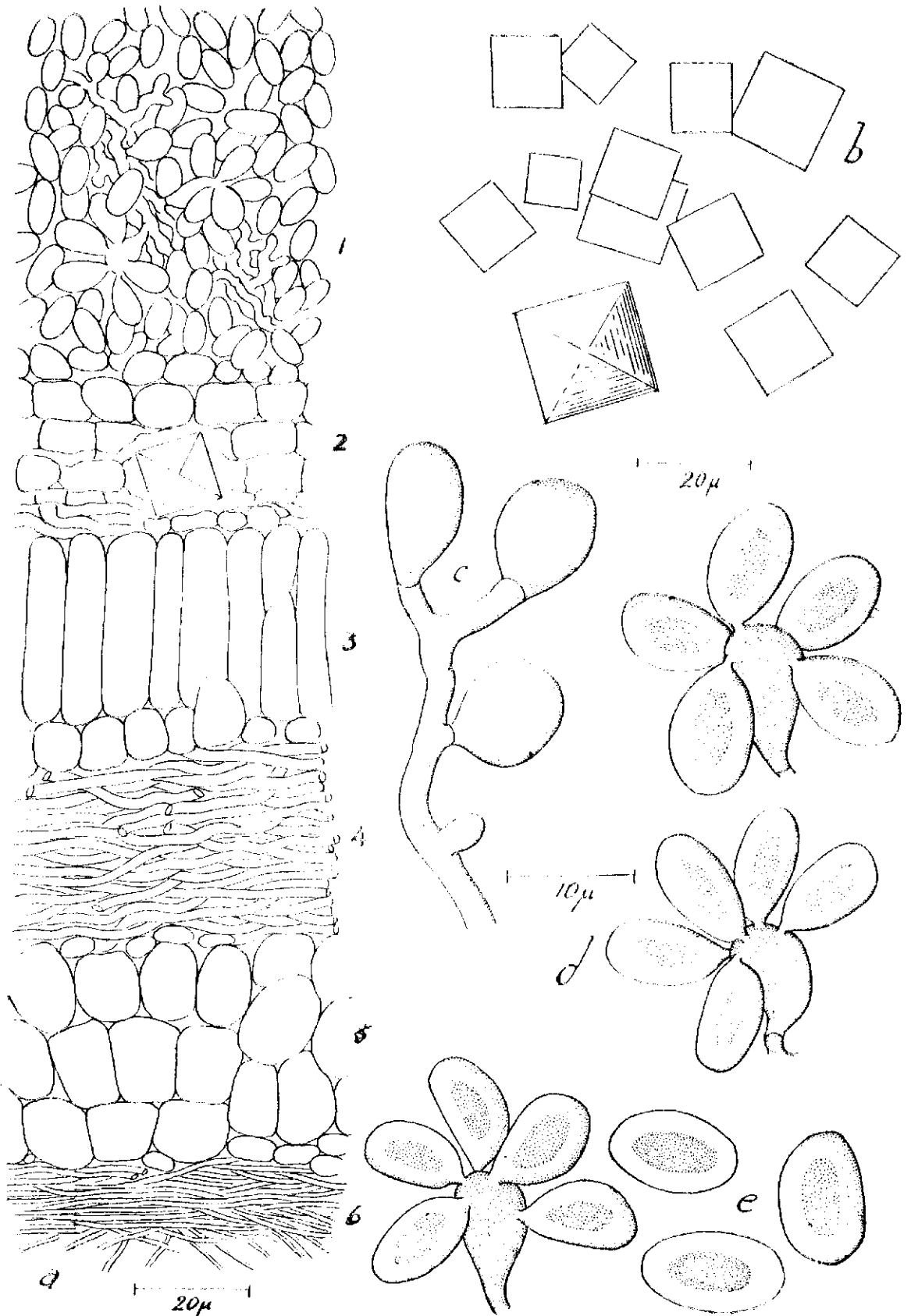
Est. III e IV.

Estas duas estampas constituem a documentação fotográfica da experiência visando demonstrar a reação heliotrópica positiva da *Sphaerobolus stellatus* Tode var. *brasiliensis* n. var.

Na Est. III, temos a fotografia da face do "erlemeyer" que foi exposta a maior intensidade luminosa ; na estampa IV, a outra face do mesmo "erlemeyer".

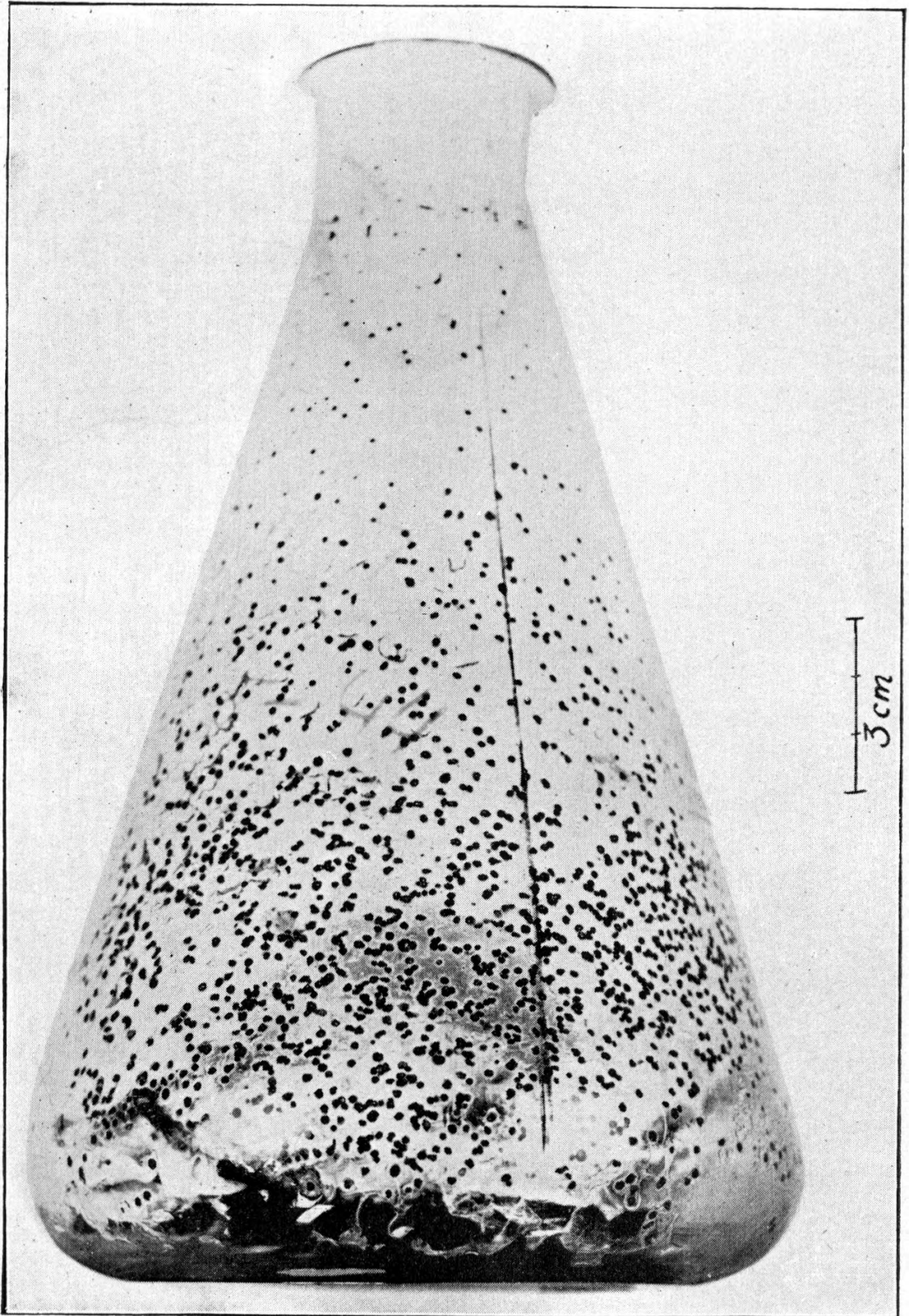


Sphaerobolus stellatus Tode var. *brasiliensis* n. var.

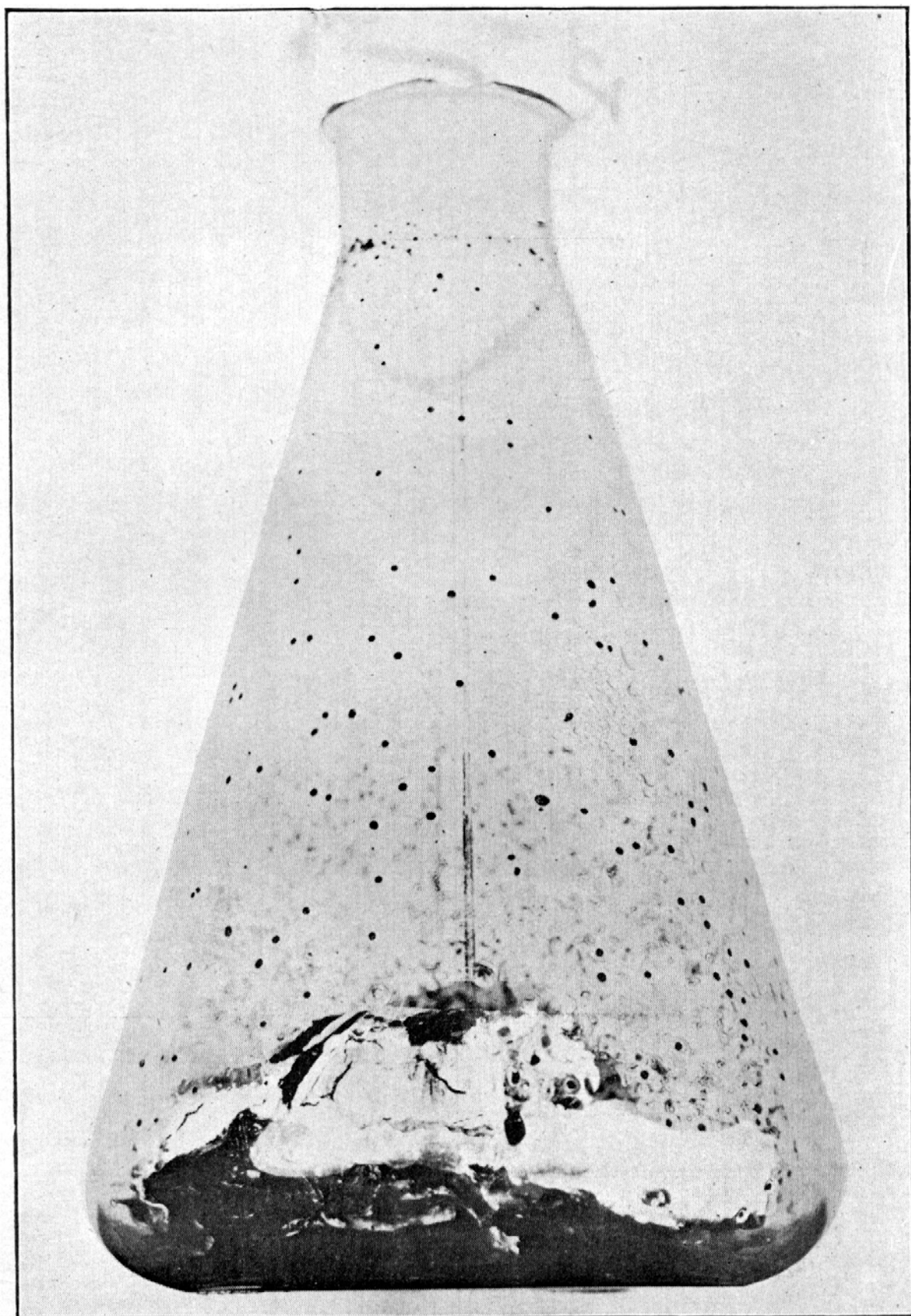


Sphaerobolus stellatus Tode var. *brasiliensis* n. var.

Est. III



Spharobolus stellatus Tode var. *brasiliensis* n. var.



Sphaerobolus stellatus Tode var. *brasiliensis* n. var.