

ESTADO HÍDRICO Y DEMANDA DE FOTOSÍNTESIS DE *Quercus ilex*, *Quercus faginea* y *Pinus halepensis* MICORRIZADOS ARTIFICIALMENTE CON *Tuber melanosporum* EN VIVERO

J. A. DOMÍNGUEZ ¹, R. PLANELLES ³, J. A. RODRÍGUEZ BARREAL ¹, J. A. SAÍZ DE OMEÑACA ¹, J. ZAZO ², M. TEYSSIERE ¹, G. MARTINEZ Y O. PINAZO ²

¹ U.D. Patología Forestal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes de Madrid; Av/ Ciudad Universitaria s/n. 28040, Madrid. E-mail: joseadn@latinmail.com.

² Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal. Laboratorio de Selvicultura. Ciudad Universitaria s/n. 28040 Madrid.

³ INIA. Ctra. de la Coruña Km.7. 28071, Madrid.

RESUMEN

Se ha realizado un seguimiento periódico durante el primer año de crecimiento en vivero bajo régimen hídrico no limitante de *Quercus ilex*, *Quercus faginea* y *Pinus halepensis* inoculados artificialmente con *Tuber melanosporum* Vitt. testando el factor de la micorrización; en todas las especies el potencial hídrico mínimo y la tasa de transpiración no reflejaron diferencias por el tratamiento, pero en algunos casos la demanda de fotosíntesis fue superior en la planta inoculada.

P.C.: *Tuber*, *Quercus ilex*, *Quercus faginea*, *Pinus halepensis*, ectomicorriza, fotosíntesis.

SUMMARY

We have been carried out a periodic control in *Quercus ilex*, *Quercus faginea* and *Pinus halepensis* inoculated with *Tuber melanosporum* Vitt. during the first year of growth in nursery with a water-non stressed régime; in all the species, the minimum water potential and transpiration rate didn't reflect any differences for the treatment, but in some cases, the photosynthesis rate was major in inoculated seedlings.

K.W.: *Tuber*, *Quercus ilex*, *Quercus faginea*, *Pinus halepensis*, ectomycorrhiza, photosynthesis.

INTRODUCCION

Es conocida la influencia de la micorrización en el crecimiento y desarrollo de la planta huésped. Bajo condiciones limitantes de agua, temperatura, nutrientes, patógenos, etc., la planta micorrizada posee mejores condiciones para evitar o tolerar estas limitaciones que la no micorrizada (GARBAYE, J. *et al.*, 1997); frente a condiciones de estrés hídrico la planta micorrizada mantiene tasas de fotosíntesis mayores (DOSSKEY, M.G. *et al.*, 1991; LAMHAMEDI, M.S. *et al.*, 1992; y dispone de la actividad del hongo simbiote para suministrar a la planta nutrientes no disponibles sin la micorrización (QUEREJETA, J. *Et al.* 1998; MOUSAIN, D., *et al.*, 1997); la planta forestal micorrizada (artificialmente o no) en vivero está mejor preparada inicialmente para adaptarse a futuras condiciones limitantes en campo, frente a la planta no micorrizada.

Hemos presentado en este estudio la influencia del tratamiento de la inoculación de *Tuber melanosporum* sobre varias especies forestales, bajo condiciones no limitantes de riego, en el estado hídrico y demanda de fotosíntesis de la planta a lo largo del periodo de crecimiento en vivero.

METODOLOGÍA

-

Diseño del Ensayo

Se realizó, para cada especie, un diseño unifactorial (1x3x2) en bloques completos. con 40 plantas por cada unidad experimental, con la inoculación como único factor; se utilizaron semillas procedentes de la Comunidad Valenciana, envases tipo *Forest Pot 300*, y sustratos con base de turba mezcla mas o menos descompuesta de pH 6, en proporción 3:1 con vermiculita, y adición de CaCO₃ al 3 % en peso; la turba se esterilizó en autoclave a 120 ° C durante dos horas; la semilla se desinfectó en agua oxigenada al 30% durante 15 minutos; se sembró durante el mes de marzo; la planta se mantuvo en invernadero hasta el momento de desarrollo de las raíces terciarias, momento en que se realizó la inoculación de *Tuber melanosporum*;

El inóculo de Trufa negra se preparó a partir de carpóforos procedentes de Molina (Guadalajara), recolectados en enero del 2000 que fueron seleccionados, limpiados superficialmente y esterilizados bajo llama. Posteriormente se preparó una solución esporal con agua destilada que se almacenó a 4°C hasta el momento de la inoculación. Se aplicaron por inyección en el sustrato 3 gr en peso fresco / planta; los *Quercus* se inocularon el 24/5/00, y *Pinus halepensis* el 5/6/00; el *P.halepensis* se llevó al vivero de la ETSI Montes de Madrid, y los *Quercus* al vivero de la EUIT Forestal de Madrid; se mantuvo en general riego diario hasta capacidad de campo.

Análisis y controles periódicos

Desde el momento de la inoculación se realizaron mediciones del potencial hídrico al mediodía y tasas de fotosíntesis y transpiración; en cada control se realizó un muestreo al azar de 3 plantas por bloque y tratamiento; el potencial hídrico se midió con la cámara de Sholander; el intercambio gaseoso se midió con un medidor LCA-4.

En noviembre se realizaron muestreos destructivos; los parámetros morfológicos que se midieron fueron la altura , diámetro basal, peso seco aéreo y radical (principal y de raíces cortas); se tomaron al azar 6 plantas/tratamiento en *P.halepensis*, y 12 plantas/tratamiento en *Q.faginea*; se analizó la población micorrizógena en la planta mediante caracterización de micorrizas y calculo del % de micorrización de las poblaciones de *Tuber melanosporum* y de otros hongos contaminantes mediante lupa binocular y microscopio óptico; el análisis radical final de los *Quercus* fue muestral; el análisis radical de *Pinus halepensis* fue el total del sistema radical; la Tasa de Micorrización se estimó mediante la formula $M: (O/O+C+N)$, donde O: n° micorrizas objetivo; C: n° micorrizas contaminantes; N: n° raíces tróficas no micorrizadas.

Se calcularon las medias de los parámetros propuestos, y se realizó el análisis de varianza con test de comparación de medias por Tuckey para un nivel de confianza del 0,05; la infraestructura necesaria para el análisis fue aportada por el Departamento de Silvopascicultura de las ETSI Montes y EUIT Forestal de Madrid.

Resultados y discusión¹

En el análisis morfológico realizado a primeros de noviembre (Tabla 1.), observamos que mientras en *Q.faginea* no se produjeron diferencias significativas entre tratamientos, para *P.halepensis* las diferencias existieron en todos los parámetros; respecto a los parámetros del análisis radical, las tasas de micorrización con *Tuber melanosporum* fueron parecidas para las dos especies (23% en *Q.faginea* y 27 % en *P.halepensis*); por ultimo, respecto al volumen total de raíces tróficas (micorrizadas y no micorrizadas) por gramo, parece que fue superior en planta inoculada de *P.halepensis* respecto al control; en *Q.faginea* no hubo diferencias.

Control estacional

En *Pinus halepensis* (Fig. 1), bajo un régimen en general no estresante, el potencial hídrico mínimo en tallo se mantuvo entre 0 y -1 Mpa desde la inoculación, con pequeñas variaciones significativas

en los meses de agosto y septiembre no achacables en principio al tratamiento aplicado; la tasa de transpiración fue disminuyendo sin diferencias significativas entre tratamientos; en cambio, al mes de la inoculación, la tasa de fotosíntesis fue mas alta en planta inoculada respecto al control, y luego descendió paulatinamente; se observa por tanto, que desde el momento en que se aplica la inoculación (a primeros de junio), la diferencia entre la demanda fotosintética en planta inoculada y control puede deberse al hongo inoculado.

En *Quercus ilex* (Fig. 2), el potencial hídrico mínimo en hoja evolucionó con valores mínimos aproximados de -3 Mpa a finales de julio y valores máximos aproximados de $-1,5$ Mpa a primeros de octubre, no existiendo diferencias significativas entre tratamientos; en la tasa de transpiración tampoco hubo diferencias significativas; la tasa de fotosíntesis fue desde la inoculación, siempre superior en la planta inoculada, máxima a primeros de julio, y con diferencias significativas entre tratamientos a primeros de agosto; para ambos tratamientos se observó un pequeño incremento de la demanda fotosintética a primeros de septiembre, tal vez como periodo de crecimiento radical y almacenamiento de carbohidratos; en definitiva, se observó una diferencia en la demanda fotosintética desde el momento de la inoculación hasta primeros de septiembre, posiblemente debida a la demanda del hongo simbiote, primero en el periodo de crecimiento hasta finales de junio, y aun de forma mas significativa en el periodo mas cálido y seco.

En *Quercus faginea* (Fig.3) el potencia hídrico mínimo en hoja fue estable, entre -2 y -3 Mpa. aproximadamente, y subió a primeros de octubre hasta $-1,7$ Mpa. No hubo diferencias significativas entre tratamientos excepto a primeros de septiembre, no explicable aparentemente; la tasa de transpiración fue similar en ambos tratamientos, algo superior en la planta inoculada durante el periodo mas cálido, siendo desde finales de junio descendente; la tasa fotosintética fue en los primeros meses similar en ambos tratamientos, aumentó ligeramente en planta inoculada hasta primeros de agosto y luego descendió; desde primeros de septiembre aumentó la demanda fotosintética hasta primeros de octubre, como en el caso de *Q.ilex*, siendo esta demanda significativamente mayor en la planta inoculada.

Comparando el comportamiento de *Quercus faginea* con *Quercus ilex*, el potencial hídrico mínimo en hoja se mantuvo en valores parecidos; las tasas de fotosíntesis y transpiración fueron en general superiores en *Q. ilex*; con la llegada del otoño en este periodo de recuperación de la demanda de fotosíntesis para los dos *Quercus*, parece como si el hongo simbiote estimulase el crecimiento radical y el almacenamiento en un huésped que inicia su parón vegetativo (*Quercus faginea*) frente a otro (*Quercus ilex*) que disminuye pero no termina con su actividad vegetativa; en base a los resultados del análisis radical en *Q. faginea*, parece que ese incremento de la demanda se invirtió exclusivamente en el hongo simbiote, para desarrollar sus estructuras micorrizas, micelios extramatriciales o para almacenar reservas en carbohidratos.

Conclusiones

Bajo régimen hídrico no limitante, el potencial hídrico mínimo y la tasa de transpiración medidos periódicamente apenas tuvieron diferencias según el tratamiento en todas las especies; por el contrario la demanda fotosintética varió según tratamientos, siendo superior en la planta inoculada al mes de la inoculación en *Pinus halepensis* y *Quercus ilex* (primero de julio), y a los dos meses en los dos *Quercus* (finales julio); también destacó la superior demanda de fotosíntesis a primeros de octubre de *Quercus faginea* inoculado respecto al control, reflejo de una posible inversión de carbohidratos en el hongo simbiote; la inoculación no afectó significativamente a la morfología de *Quercus faginea* y sí totalmente a la de *Pinus halepensis*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

DOSSKEY, M.G., BOERSMA, L. & LINDERMAN, R.G., 1991. *Role for the photosynthate demand of ectomycorrhizas in the response of Douglas fir seedlings to drying soil*. New Phytologist, 117, 327-334.

GARBAYE, J., GUEHL, J.M. 1997. *Le role des ectomycorrhizes dans l'utilisation de l'eau par les arbres forestiers*. Revue Forestière Française 49, 110-119.

MOUSAIN, D., MATUMOTO-PINTRO, P., & QUIQUAMPOIX, H., 1997. *Le role des mycorrhizes dans la nutrition phosphatée des arbres forestiers*. Revue Forestière Française 49, 67-80.

LAMHAMEDI, M.S., BERNIER, P., & FORTIN, J.A., 1992. *Growth, nutrition and response to water stress of Pinus pinaster inoculated with ten dikaryotic strains of Pisolithus sp.* Tree Physiology, 10, 153-167.

QUEREJETA, J., ROLDAN, A., ALBADALEJO, J. & CASTILLO, V., 1998. *The Role of Mycorrhizae, Site Preparation, and Organic Amendment in the Afforestation of a Semi-Arid Mediterranean Site with Pinus halepensis*. Forest Science, 44(2), 203-211.

Tabla 1. Análisis morfológico y de micorrizas en plántulas de *Quercus faginea* y *Pinus halepensis* a primeros de noviembre-2000

Especie	Tratamiento	A*	D	PSA	PSR	PSR c	% T	T/gr	NM/gr
<i>Q. faginea</i>	Control	6,7 a (±0,8)	2,63 a (±0,26)	0,458 a (± 0,052)	2,232 a (± 0,393)	0,478 a (± 0,088)	0 b (±0)	0 b (±0)	7568 a (± 919)
<i>Q. faginea</i>	Inoculado	6,6 a (±0,6)	2,82 a (±0,15)	0,433 a (± 0,086)	2,178 a (± 0,350)	0,448 a (± 0,085)	23 a (±4)	2152 a (±845)	5451 a (± 835)

Especie	Tratamiento	A	D	PSA	PSR	% T	T/gr	E/gr	NM/gr
<i>P. halepensis</i>	Control	5,2 b (±0,2)	0,96 b (± 0,07)	0,083 b (± 0,006)	0,153 b (± 0,013)	0 b (±0)	0 b (±0)	114 b (±32)	778 a (±57)
<i>P. halepensis</i>	Inoculado	8,2 a (±0,5)	1,33 a (± 0,05)	0,248 a (± 0,031)	0,324 a (± 0,026)	27 a (± 11)	528 a (± 235)	277 a (±67)	983 a (±134)

*A altura (cm); D diámetro basal (mm); PSA peso seco aéreo(gramos); PSR peso seco raíz (gramos); PSRc: peso seco raíces cortas (gramos); T micorrizas de *Tuber melanosporum*; E ectomicorrizas no identificadas; NM raíces tróficas no micorrizadas; T, E y NM referidos a gramos en peso seco de raíces cortas; %T tasa micorrización de *Tuber melanosporum*.

Valores entre paréntesis representan el error estándar

Valores de una misma columna y especie con diferente letra difieren significativamente (p<0,05) según test de Tuckey.

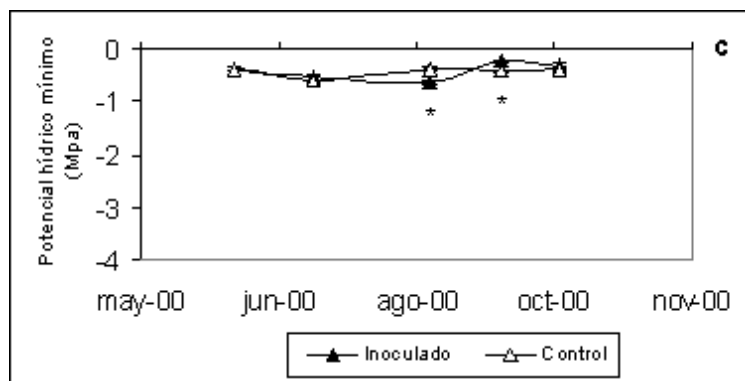
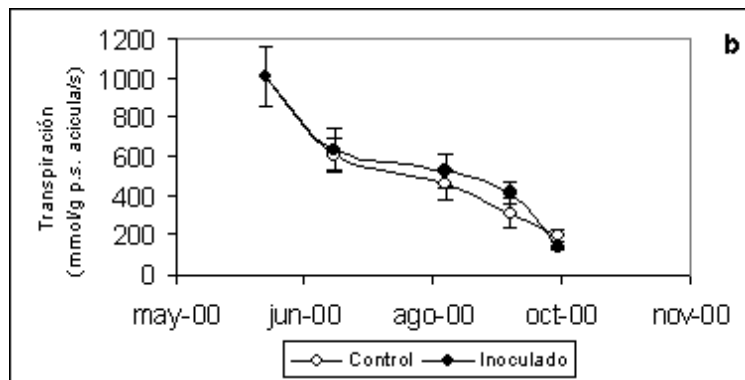
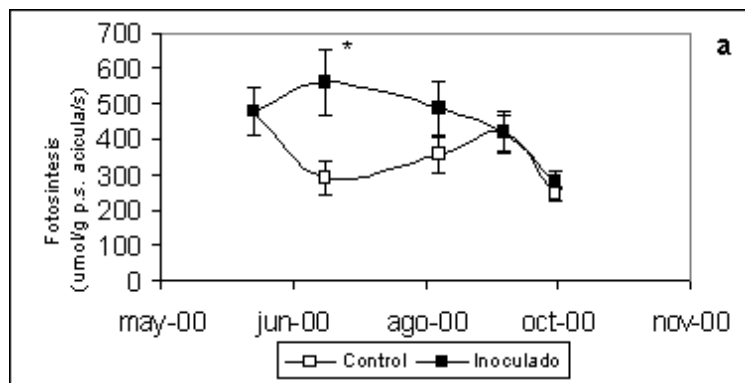


Figura 1. Tasa de máxima Fotosíntesis (a), Transpiración (b) y Potencial hídrico mínimo en tallo (c) de plántula de *Pinus halepensis* desde el momento de inoculación hasta primeros de octubre. Las barras representan el error estándar *valores significativamente diferentes según el Test de Tuckey con un $p < 0,05$

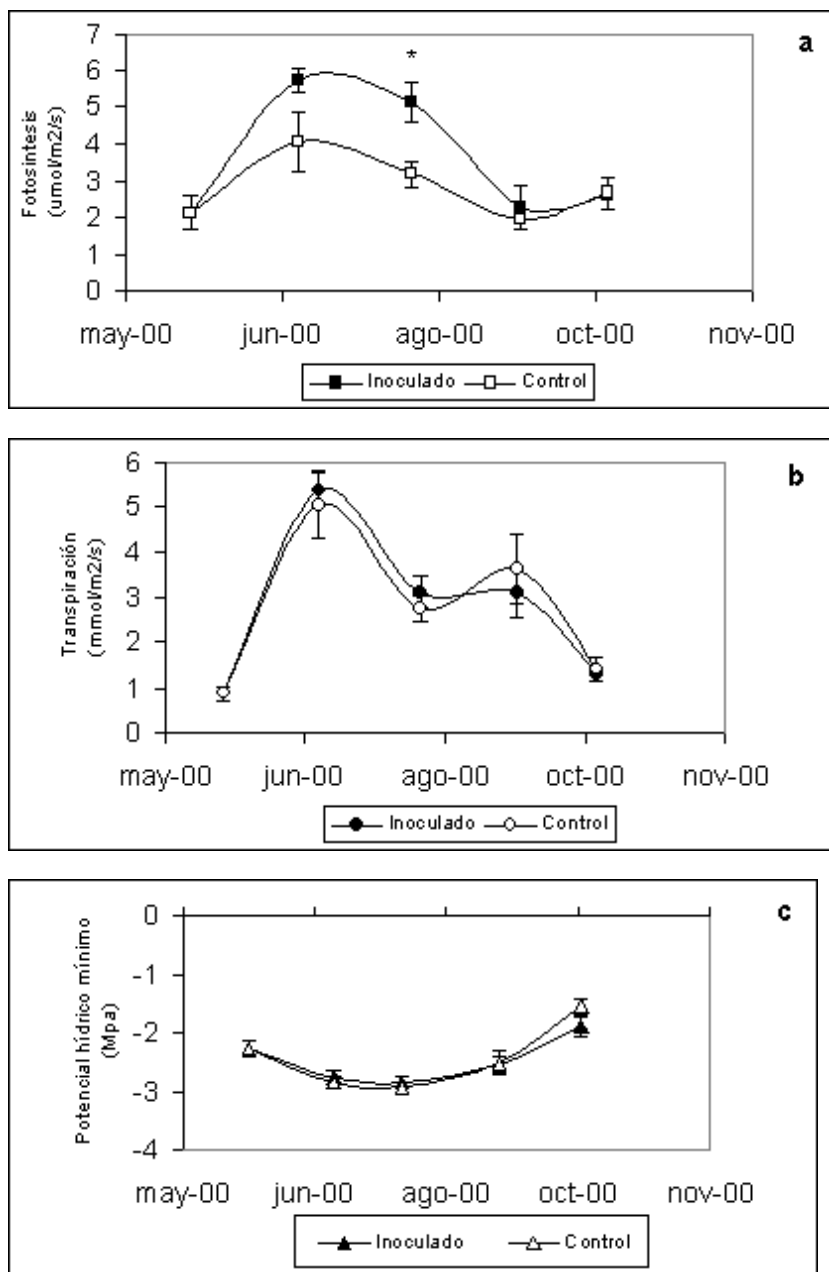


Figura 2. Tasa de máxima Fotosíntesis (a), Transpiración (b) y Potencial hídrico mínimo en hoja (c) de plántula de *Quercus ilex* desde el momento de inoculación hasta primeros de octubre. Las barras representan el error estándar *valores significativamente diferentes según el Test de Tuckey con un $p < 0,05$

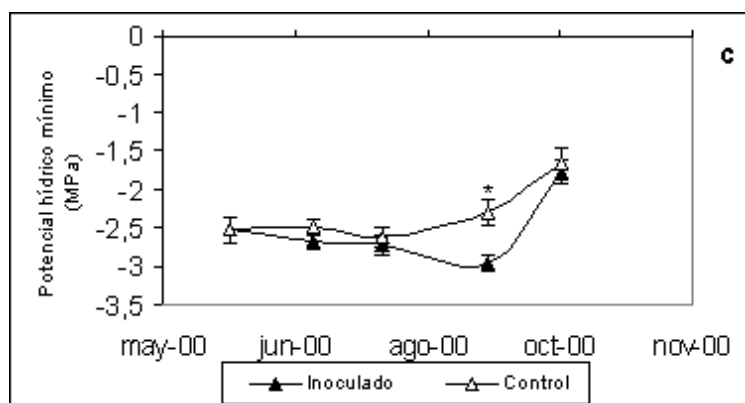
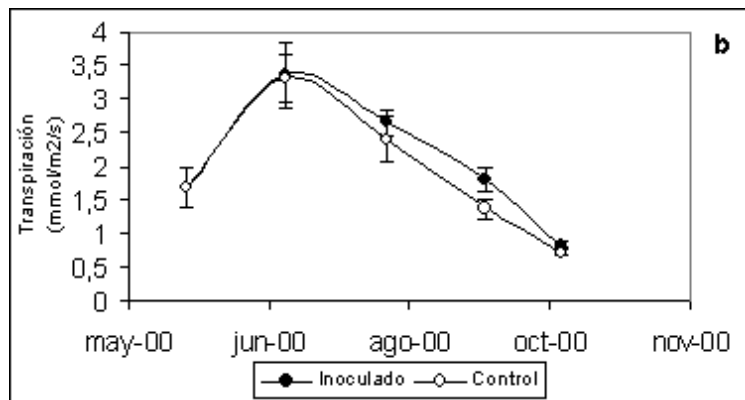
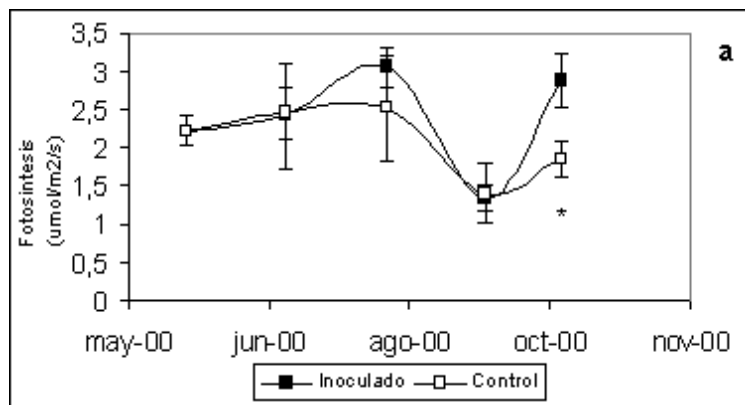


Figura 3 .Tasa de máxima Fotosíntesis (a), Transpiración (b) y Potencial hídrico mínimo en hoja (c) de plántula de *Quercus faginea* desde el momento de inoculación hasta primeros de octubre.

Las barras representan el error estándar

* valores significativamente diferentes según el Test de Tuckey con un $p < 0,05$

¹ En el caso de *Quercus ilex* los análisis finales estaban pendientes de elaboración en el momento de redactar esta comunicación