

ESPECIFICIDAD DEL HONGO DE MICORRIZACION *Tuber melanosporum* Vitt. SOBRE DISTINTAS PLANTAS SIMBIONTES

J.A. RODRÍGUEZ BARREAL; J.A. DOMINGUEZ NÚÑEZ; M. TEYSSIERE GUARDIA; J. A. SÁIZ DE OMEÑACA.

U.D. Patología Forestal. Departamento de Silvopascicultura, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes de Madrid. Av/ Ciudad Universitaria. 28040 Madrid.

RESUMEN

Tradicionalmente la caracterización de la micorriza formada entre *Tuber melanosporum* y los simbiontes de los géneros *Quercus* y *Pinus* ha sido idéntica en cuanto a la descripción anatómico-morfológica. Sin embargo podemos manifestar la existencia de aparentes indicios de diferencias entre ambos géneros al estudiar las micorrizas de *Tuber melanosporum*.

P. C.: *Tuber melanosporum*, caracterización, micorriza.

SUMMARY

Normally, the identification of the mycorrhiza between *Tuber melanosporum* and the symbiontes of *Quercus* and *Pinus* genus has been identical. However we can exposed the existence of differences between both genus when we are studying the *Tuber melanosporum* mycorrhizas.

K.W.: *Tuber melanosporum*, identification, mycorrhiza.

INTRODUCCIÓN

La caracterización de las ectomicorrizas formadas entre el genero *Tuber* y plantas de los géneros *Quercus* y *Pinus* ha sido tradicionalmente parecida (CHU-CHOU, M. & GRACE, L.J. ,1983; AGERER R. 1986, 87-99); la micorriza formada entre *Tuber melanosporum* y las plantas del género *Quercus* en cuanto a sus características macroscópicas morfológicas suele describirse como: “una ramificación de simple a monopodial pinnada; las puntas presentan forma recta, cilíndrica, normalmente engrosadas en forma de maza en el ápice. El color de la micorriza es castaño. La superficie aparece suave, lisa, y no presenta rizomorfos. Las hifas extramatriciales se ramifican perpendicularmente entre si, de unos 3 µm de grosor, hialinas, tabicadas y sin fibulas. En cuanto a la descripción anatómica del manto, tiene una estructura de pseudoparénquima, formada por un conjunto de células hifales parecidas a parénquima con elementos isodiamétricos, con paredes sinuosas, dando una apariencia de puzzle al conjunto. Las hifas no tienen una dirección longitudinal definida ni aparecen con estructura normal de hifas. Los cistidios (hifas especializadas) externos al manto, están diferenciados, cortos, aparecen acuminados. Salen perpendiculares al manto y con un grosor entre 2 y 3,5 µm.”

Esta caracterización es utilizada como herramienta básica para la identificación y certificación de la micorrización con *Tuber melanosporum*.

En los diferentes ensayos realizados por los autores durante los años 98 (RODRIGUEZ, J.A. et. al., 1998) y 2000, donde se trabajó en micorrización artificial básicamente con *Quercus faginea*, *Quercus ilex*, *Pinus nigra* y *Pinus halepensis* en su primer año de crecimiento en vivero, se han encontrado indicios de algunas diferencias en las micorrizas de *Tuber melanosporum* en asociación con plantas del género *Pinus* respecto a *Quercus*.

METODOLOGÍA

En el año 1998 se establecieron varios ensayos con diseños al azar de *Quercus faginea*, *Quercus ilex*, *Pinus halepensis* y *Pinus nigra* en los que se ensayaron dos tipos de turbas y el

tratamiento de la inoculación con *Tuber melanosporum*.

Para *Quercus* los envases que se utilizaron fueron Forest Pot 400 y para *Pinus* Forest Pot 300; se esterilizaron los sustratos y la semilla.; la semilla procedía de la Comunidad Valenciana después de sembrar se mantuvo la planta en invernadero, bajo control de temperatura y humedad relativa, hasta el inicio de desarrollo de las raíces terciarias, momento adecuado para la inoculación artificial e inmediatamente se sacó la planta al vivero en un recinto exterior con control de riegos e insolación; se inocularon 5 gramos en peso fresco por planta de *Tuber melanosporum*; el inóculo de *Tuber melanosporum*. se preparó a partir de carpóforos previamente seleccionados, limpiados y esterilizados bajo llama. Posteriormente se preparó una solución esporal con agua destilada.

En el año 2000, se realizó un diseño unifactorial en bloques completos (1x3x2): se hicieron tres bloques, y en cada bloque dos tratamientos: inoculación o no inoculación. La cantidad de inóculo que se aplicó por inyección fue de 3 gr en peso fresco por planta; se plantearon varios ensayos para *Quercus faginea*, *Quercus ilex*, y *Pinus halepensis*; se utilizaron envases Forest Pot 300, y sustratos con base de Turba mezcla mas o menos descompuesta de pH 6; el resto de los procedimientos fue similar al 98;

Para la observación de la planta y la preparación de las muestras se extraía la planta con el cepellón completo y se eliminaba el sustrato, se fragmentaba el sistema radical, se colocaba sobre una placa de Petri y se realizaban suaves lavados en agua varias veces.

Para la caracterización de las micorrizas se utilizó la lupa binocular y microscopio óptico; los análisis se efectuaron sobre planta inoculada y control, durante los meses de octubre noviembre del 98 y 2000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Frente a la caracterización tradicional de la micorriza de *Tuber melanosporum* (Fig. 2.), que encontramos en todos nuestros muestreos con plantas de *Quercus*, se observó sin embargo en la mayor parte de los análisis en pinos algunos aspectos de la micorriza diferentes tanto a nivel macro como microscópico:

“La ramificación de la micorriza formada es de simple a dicotómica. Las puntas presentan forma recta, cilíndrica, algo algodonosas, normalmente engrosadas en forma de maza en el ápice. El color de la micorriza inicialmente es anaranjado a marrón castaño; la superficie aparece más rugosa que la que se da en *Quercus* y tampoco aparecen rizomorfos; manto de tipo plectenquimático (Fig. 1.), en haces hifales (bastante diferente al tipo puzzle tradicional), con anchuras hifales de 4-6 μm . Hifas del manto paralelas, agrupadas en haces, los cuales se distribuyen en distintas direcciones a lo largo de la micorriza; no aparecen vacuolas ni gránulos (nomenclatura AGERER,1987-99); en algunos casos también nos encontramos el manto tipo puzzle o ambos a la vez”.

La posibilidad inicial que nos planteamos de que el morfotipo encontrado en las planta inoculadas de pino, procediera de alguna contaminación de vivero y no correspondiera al hongo inoculado (*Tuber*), empezó a ser desechada, dado que en ningún caso y en ninguno de los dos años se encontraron estos morfotipos en planta control; otra posibilidad era que el propio inóculo de trufa llevase asociada esta contaminación siempre, pese a las medidas de esterilización realizadas en la superficie de los carpóforos de la trufa inoculada; sin embargo en todas las plantas de pino inoculadas analizadas aparecía este morfotipo (en porcentajes de un 20-30%) y nunca aparecía el morfotipo tradicional de *Tuber melanosporum*; en cambio en este morfotipo aparecían las siguientes características comunes a las descripciones tradicionales de *Tuber melanosporum*: hifas extramatriciales hialinas, perpendiculares al manto, de unos 3 μm , tabicadas y ramificadas en ángulo recto, sin fibulas; cistidios de corta longitud y ramificados en ángulo recto, apareciendo acuminados de anchura de 4 μm en la base y 2 μm en la punta.

Por tanto, nos inclinamos a pensar en que el morfotipo encontrado en pinos se trate también de *Tuber melanosporum*; un posible planteamiento respecto al diferente manto fúngico, y dado que no hemos realizado análisis anatómicos mas profundos, es que esa primera capa celular exterior plectenquimática presente en pinos se desprenda o se diferencie con el tiempo, dejando paso a una estructura pseudoparenquimatica en puzzle posteriormente.

CONCLUSIONES

En la asociación simbiótica entre *Tuber melanosporum* y *Pinus* (*P. halepensis* y *P. nigra*), se han identificado algunos aspectos de la micorriza (especialmente el manto fúngico) diferentes a los descritos tradicionalmente; estas primeras observaciones nos hacen pensar en la posibilidad de caracterizaciones diferentes de micorrizas de *Tuber melanosporum* según la especie hospedante y por tanto una posible especificidad de *Tuber melanosporum* según el huésped sobre el que realiza la simbiosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AGERER R. (1986). *Studies on ectomycorrhizae II*. Mycotaxon 26: 473-492

AGERER, R. (1987-1999). *Colour Atlas of Ectomicorrhizae*. Ed. Einhorn-Verlay (Munich)

CHU-CHOU, M. & GRACE, L.J. (1983). *Characterization and Identificacion of Mycorrhizas of Radiata pine in New Zealand*. Aust. For. Res. 13: 121-132

CHU-CHOU, M. & GRACE, L.J. (1983). *Characterization and Identificacion of Mycorrhizas of Douglas fir in New Zealand*. European Journal of Forest Pathology, 13 , 251-260.

RODRIGUEZ BARREAL, J.A., REYNA DOMÉNECH S., DOMÍNGUEZ NÚÑEZ, J.A., SAÍZ DE OMEÑACA, J.A., ZAZO MUNCHARAZ, J., PÉREZ BADÍA, R., GALIANA GALÁN, F., (1998). “*Producción de Plantas Micorrizadas de Calidad; Implantación, Mantenimiento y Mejora de Rodales Productores de Trufa y Otras Setas*”. Reunión de Coordinación del Programa de Investigación y desarrollo en relación con la restauración de la Cubierta Vegetal. C.E.A.M. (Fundación Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo).

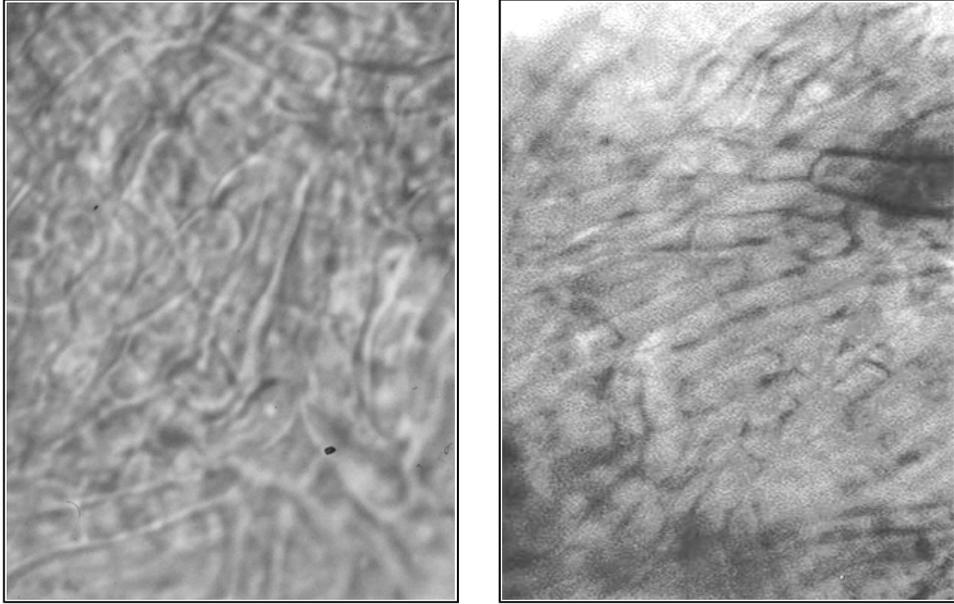


Fig. 1. Superficie del manto fúngico con estructura plectenquimática encontrada en micorrizas de *Tuber melanosporum* sobre *Pinus* sp.

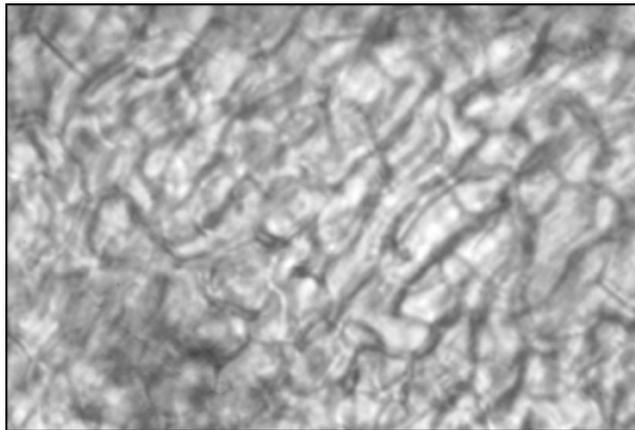


Fig. 2. Superficie del manto fúngico en "puzzle" típico de *Tuber melanosporum*