DESCRIPCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MICORRIZAS DE LOS GÉNEROS *Tuber* Y *Genea* DE UNA FORMACIÓN NATURAL DE CARRASCA (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.).

CLAVERÍA, V. y DE MIGUEL, A. M.

Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra, 31080 Pamplona, España. e-mail: vclaver@alumni.unav.es; amiguel@unav.es

RESUMEN

CLAVERÍA, V. y DE MIGUEL, A. M. Descripción y caracterización de micorrizas de los géneros *Tuber* y *Genea* de una formación natural de carrasca (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.). *Publ. Bio. Univ. Navarra, Ser. Bot.,* 16: 41-51.

En las últimas décadas se ha producido un incremento muy importante del número de ectomicorrizas descritas. Así mismo, estas descripciones han pasado de ser muy someras a ser muy detalladas, incluyendo no solo caracteres morfológicos, sino también anatómicos. Sin embargo, las ectomicorrizas de hongos hipógeos siguen siendo, en general muy desconocidas, dado que son muy pocas las especies descritas en detalle hasta el momento. En el presente trabajo se describen y caracterizan cuatro micorrizas de los géneros *Tuber y Genea* reconocidas en un carrascal maduro (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) de Navarra, con el objetivo de aportar datos que contribuyan a su identificación.

Palabras clave: descripción morfológica y anatómica, ectomicorrizas, hongos hipógeos, *Genea, Tuber.*

SUMMARY

The number of described ectomycorrhizae has increased greatly during the last decades. Moreover, nowadays the descriptions are much more detailed than those made previously. Nevertheless, ectomycorrhizae of hipogeous fungi are scarcely studied. In this study, four *Tuber* and *Genea* species collected in an evergreen oak forest (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) are described with the intend of providing data important for their identification.

Key words: morphological and anatomical description, ectomycorrhizae, hipogeous fungi, *Genea, Tuber*.

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El estudio de los hongos hipógeos resulta muy complicado debido a la dificultad que existe para su muestreo. No obstante, existen trabajos que recogen un gran número de especies subterráneas, algunas de ellas ectomicorrícicas (ÁLVAREZ et al. 1993, BRUNDRETT et al. 1996, CALONGE et al. 2000, LUOMA et al. 1991, MONTECCHI & SARASINI 2000, MORENO-ARROYO 1998). A pesar de que hay bastantes géneros citados como ectomicorrícicos, son pocas las descripciones morfológicas o anatómicas de sus micorrizas publicadas, entre las que destacan en número las de los géneros Rhizopogon y Tuber. Rhizopogon es un género que cuenta con más de 160 especies, la mayoría en Norte América (MASSICOTTE et al. 1999) y cuyas fructificaciones se encuentran con relativa facilidad (ÁLVAREZ et al. 1993). Esto hace que sea un género con gran interés forestal y aplicabilidad en micorrización, siendo diversos los trabajos encaminados a la comparación de las características de sus micorrizas (AGERER et al. 1996, JAKUCS et al. 1998b, MASSICOTTE et al. 2000). Por su parte, las micorrizas del género Tuber han sido ampliamente estudiadas debido a la importancia económica de las fructificaciones de ciertas especies de este género, como T. magnatum Pico, T. melanosporum Vitt., T. borchii Vitt. o T. aestivum Vitt. (GRANETTI et al. 1995a y b, MELLO et al. 2001, RAUSCHER et al. 1995, SÁEZ & DE MIGUEL 1995, ZAMBONELLI et al. 1993 y 1995). Sin embargo, la mayor parte han sido realizadas a partir de plantas inoculadas en vivero o de material recolectado en plantaciones truferas (ETAYO & DE MIGUEL 1998, FISCHER et al. 2004, GRANETTI 1995, RAUSCHER et al. 1995, ZAMBONELLI et al. 1993 y 1995), siendo prácticamente inexistentes las realizadas a partir de material procedente de masas naturales (AZUL & FREITAS 1999, DE ROMÁN 2003, VOIRY 1981). Las micorrizas del resto de hongos hipógeos han sido muy poco estudiadas, incluso las de aquellas especies cuyas fructificaciones son muy abundantes, como las de los géneros Elaphomyces, Hymenogaster, Hysterangium o Genea entre otros (MONTECCHI & SARASINI 2000).

Entre las numerosas ectomicorrizas reconocidas y caracterizadas en la zona de estudio, se aportan a continuación 4 descripciones correspondientes a dos especies del género *Tuber* y dos del género *Genea*, por tratarse de hongos hipógeos habitualmente difíciles de observar en recolecciones de campo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las micorrizas que se han tomado como referencia para las descripciones presentadas en este trabajo provienen del carrascal de la Reserva Natural del Monte del Conde (Navarra) (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp). La zona posee

suelos básicos, con areniscas y arcillas. El sotobosque está compuesto por *Rhamnus alaternus* L., *Ruscus aculeatus* L., *Ligustrum vulgare* L. y *Rubia peregrina* L., entre otras especies.

Para la recolección de las micorrizas se extrajo suelo utilizando un cilindro de extracción de 10 x 4 cm. Una vez en el laboratorio, las raíces se separaron pasando las muestras por dos tamices de 1.7 mm y 0.7 mm de luz respectivamente. Posteriormente se caracterizaron los tipos ectomicorrícicos siguiendo la metodología de AGERER (1987-2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tuber borchii Vitt. (Tuber albidum Pico)

Características morfológicas (Fig. 1 a): Sistemas micorrícicos con ramificación de monopodial pinnada a monopodial piramidal. — Terminaciones no ramificadas ligeramente curvadas, de color marrón claro en los ápices y marrón oscuro en las partes más viejas de la micorriza. — Superficie de las terminaciones no ramificadas espinosa, no transparente, células corticales no visibles — Rizomorfos no observados. — Esclerocios no observados.

Características anatómicas del manto (Fig. 1 b & c): *Manto externo* pseudoparenquimático con células epidermoides, algunas de ellas con contenido granular interno (manto de tipo M según AGERER, 1987-2002), amarillento, septos no fibulados. – *Manto interno* de transición entre plectenquimático y pseudoparenquimático, marrón amarillento, con septos no fibualdos.

Características anatómicas de los elementos que emanan (Fig. 1 d): *Rizomorfos* no observados. – *Hifas que emanan* escasas, curvadas, ramificadas en ángulo recto o en Y, células de 2-3 μm de diámetro, paredes de 0.5 μm de grosor, amarillentas, septos no fibulados, superficie con partículas de suelo adheridas. – *Cistidios* en forma de aguja (tipo A según AGERER, 1987-2002), con una anchura de 3-5 μm en la base, estrechándose progresivamente hasta medir 1-4 μm en el ápice, longitud de 50-100 μm, septo basal no fibulado, paredes de 0.5-1.5 μm de grosor, superficie lisa, incoloros.

Comentarios: Las características morfológicas y anatómicas de este tipo coinciden mayoritariamente con las citadas por GRANETTI (1995), GRANETTI *et al.* (1995a), RAUSCHER *et al.* (1996) y ZAMBONELLI *et al.* (1993) para *T. borchii* Vitt. Sin embargo, es preciso destacar que *T. brumale* Vitt. y *T. borchii* Vitt. poseen características similares que hacen en ciertos casos difícil su distinción. Según GRANETTI (1995) y ZAMBONELLI *et al.* (1993), los cistidios de *T. brumale* Vitt. son amarillentos, mientras que los de *T. borchii* Vitt. incoloros. Así mismo, los cistidios de *T. brumale* Vitt. son más recios y más cortos que los de *T. borchii* Vitt.

(GRANETTI, 1995). Teniendo en cuenta estas y otras características de las descripciones publicadas, consideramos que la especie que mejor se ajusta al tipo aquí descrito es *T. borchii* Vitt.

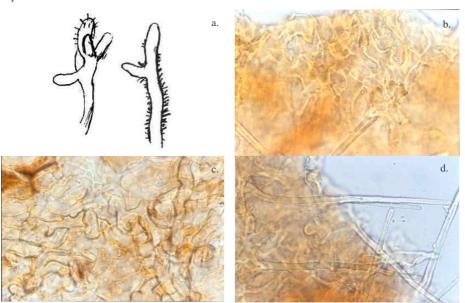


Fig. 1: Tuber borchii Vitt. - a. Micorriza – b. Manto externo (x 1000) – c. Manto interno (x 1000) – d. Cistidios (x 1000)

Tuber sp.

Características morfológicas (Fig. 2 a): Sistemas micorrícicos con ramificación de monopodial pinnada a irregularmente pinnada. — Terminaciones no ramificadas de rectas a ligeramente curvadas, de color marrón en las partes jóvenes y de marrón oscuro a negro en las partes más viejas de la micorriza. — Superficie de las terminaciones no ramificadas de lisa a ligeramente lanosa, no transparente, células corticales no visibles. — Rizomorfos no observados. — Esclerocios no observados.

Características anatómicas del manto (Fig. 2 b & c): *Manto externo* psudoparenquimático con células epidermoides (manto de tipo M según AGERER, 1987-2002), amarillento, con abundantes partículas de suelo, septos no fibulados. – *Manto interno* de transición entre plectenquimático y pseudoparenquimático, amarillento, septos no fibulados.

Características anatómicas de los elementos que emanan (Fig. 2 d): *Rizomorfos* no observados. – *Hifas que emanan* no observadas. – *Cistidios* en forma de aguja (tipo A según AGERER, 1987-2002), con un diámetro en la base de 3-5 µm y un

ápice que se estrecha progresivamente hasta medir 2-3 μ m de anchura en la parte distal, longitud de 180-380 μ m con septos no fibulados, pared de 1-1.5 μ m de grosor en la base y 0.5 μ m en el ápice, superficie con partículas de suelo adheridas, amarillentos.

Comentarios: Este tipo tiene características similares a las micorrizas del género *Tuber*, como son los cistidios en forma de aguja y el manto externo pseudoparenquimático con células epidermoides. *T. mesentericum* Vitt. y *T. aestivum* Vitt. poseen cistidios de una longitud similar a la del tipo aquí descrito (GRANETTI 1995, RAUSCHER *et al.* 1995, ZAMBONELLI *et al.* 1993 y 1995) pero su manto externo es pseudoparenquimático poligonal. Por su parte, las especies que poseen manto pseudoparenquimático con células epidermoides tienen cistidios de menor longitud (GRANETTI 1995, ZAMBONELLI *et al.* 1993, 1995 y 1999). Según MONTECCHI & SARASINI (2000), en Europa existen 22 especies del género *Tuber*. No obstante, hasta el momento solamente se han identificado las ectomicorrizas de 13 de ellas (BENCIVENGA *et al.* 1997, BLASCHKE 1988, GRANETTI 1995, PIRAZZI 1998, RAUSCHER *et al.* 1995, ZAMBONELLI *et al.* 1999), por lo que el tipo aquí descrito podría pertenecer a una especie de *Tuber* todavía sin describir.

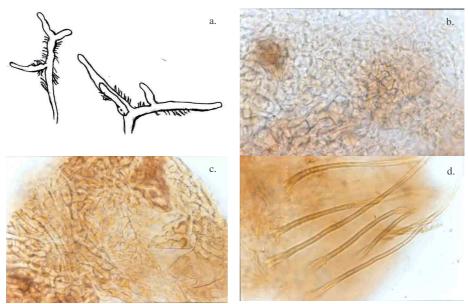


Fig. 2: *Tuber* sp. - a. Micorriza – b. Manto externo (x 1000) – c. Manto interno (x 1000) – d. Cistidios (x 1000)

Genea sp.1

Características morfológicas (Fig. 3 a): Sistemas micorrícicos con ramificación de monopodial pinnada a monopodial piramidal. — Terminaciones no ramificadas curvadas, de color marrón a marrón oscuro en los ápices y marrón oscuro en las partes más viejas de la micorriza. — Superficie de las terminaciones no ramificadas ligeramente lanosa con abundantes partículas de suelo adheridas, no transparente, células corticales no visibles. — Rizomorfos no observados. — Esclerocios no observados.

Características anatómicas del manto (Fig. 3 b & c): *Manto externo* pseudoparenquimático con células angulares (manto de tipo L según AGERER, 1987-2002), marrón oscuro, superficie con abundantes partículas de suelo; células con paredes gruesas anastomosadas y septos no fibulados. – *Manto interno* pseudoparenquimático con células epidermoides, de color marrón oscuro.

Características anatómicas de los elementos que emanan (Fig. 3 d): *Rizomorfos* no observados. – *Hifas que emanan* muy abundantes, especialmente en las partes viejas de la micorriza, de rectas a onduladas en la parte basal y tortuosas en los ápices; células de 5-7 µm de diámetro y paredes de 0.5-2 µm de grosor, septos no fibulados, más delgados que las paredes de las hifas en la parte basal y de igual grosor que las paredes en la parte apical; superficie lisa, color marrón oscuro en la base e incoloro en los ápices; anastomosis abiertas frecuentes. – *Cistidios* no observados.

Comentarios: la anatomía de las células del manto y la morfología de las hifas que emanan coinciden plenamente con las de las micorrizas del género Genea descritas hasta el momento. Sin embargo, éstas son escasas, existiendo exclusivamente descripciones detalladas de G. hispidula Berk. et Br. con Fagus sylvatica L. (BRAND 1991) y de G. verrucosa Vitt. con Quercus spp. (DE ROMAN 2003, JACKUCS & BRATEK 1998, JAKUCS et al. 1998a). FONTANA & CENTRELLA (1967) describieron Genea klotschii Berk. et Br. con Quercus petraea (Matt) Liebl. y Carpinus betulus L., pero su descripción no es lo suficientemente detallada como para poder compararla con el tipo aquí descrito. Al igual que G. hispidula Berk. et Br. y G. verrucosa Vitt. este tipo posee el manto externo pseudoparenquimático con células angulares de paredes gruesas y anastomosadas, pero se diferencia de G. verrucosa Vitt. por carecer de cúmulos de células redondeadas sobre él. Así mismo, en el tipo aquí descrito la superficie de las hifas que emanan es lisa, mientras que la de las otras dos especies anteriormente citadas es verrugosa. De esta manera sólo podemos afirmar que estamos ante una micorriza del género Genea, sin poder dar una identificación más precisa.

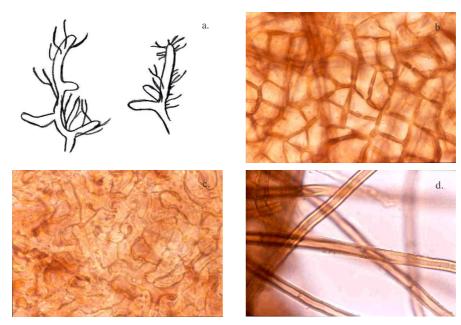


Fig. 3: *Genea* sp.1 - **a.** Micorriza - **b.** Manto externo (x 1000) - **c.** Manto interno (x 1000) - **d.** Hifas que emanan (x 1000)

Genea sp.2

Características morfológicas (Fig. 4 a): Sistemas micorrícicos con ramificación de monopodial pinnada a irregularmente pinnada. — Terminaciones no ramificadas de rectas a ligeramente curvadas, de color marrón oscuro. — Superficie de las terminaciones no ramificadas ligeramente lanosa, no transparente, células corticales no visibles. — Rizomorfos no observados. — Esclerocios no observados.

Características anatómicas del manto (Fig. 4 b & c): *Manto externo* pseudoparenquimático con células poligonales (manto tipo L según AGERER, 1987-2002), de 10-20 µm de diámetro, con las paredes muy engrosadas anastomosadas, marrón, septos no fibulados. – *Manto interno* pseudoparenquimático con células epidermoides, marrón, septos no fibulados.

Características anatómicas de los elementos que emanan (Fig. 4 d): *Rizomorfos* no observados. – *Hifas que emanan* de rectas a curvadas, raramente ramificadas, en Y, pero con abundantes anastomosis abiertas con el puente de tamaño variable; células de 3-6 μm de diámetro, paredes de 1-2 μm de grosor, de color marrón amarillento, septos no fibulados, superficie lisa en unas zonas y con verrugas de hasta 1.5 μm en otras. – *Cistidios* no observados.

Comentarios: Los caracteres más significativos de este tipo son su color marrón oscuro, su manto pseudoparenquimático con células angulares y sus hifas no fibuladas, caracteres típicos de las micorrizas del género Genea. Sin embargo, la descripción no coincide con las descripciones de micorrizas de este género publicadas hasta el momento (BRAND 1991, DE ROMAN 2003, FONTANA & CENTRELLA 1967, JACKUCS & BRATEK 1998, JAKUCS et al. 1998a), ni con el tipo anteriormente descrito, que presenta hifas de mayor diámetro y con la superficie lisa. Un carácter típico de G. hispidula Berk. et Br., G. verrucosa Vitt. y el tipo aquí descrito es la presencia de verrugas en las hifas. Según JAKUCS et al. (1998) las de G. verrucosa Vitt. miden de 0.6 a 1 µm mientras que las de G. hispidula Berk. et Br. llegan a alcanzar las 2 µm de longitud. Aunque la longitud de las verrugas del tipo que aquí se describe es similar al de las de G. hispidula Berk. et Br., las células de su manto son considerablemente mayores. Genea es un género que ha sido citado como fructificación en numerosas ocasiones en bosques de Quercus ilex L. en la Península Ibérica (CALONGE et al. 2000, MORENO-ARROYO 1998, PANDO 2002), por lo que esta micorriza puede pertenecer a alguna especie de Genea típica de carrascal cuyas micorrizas se describen aquí por primera vez.

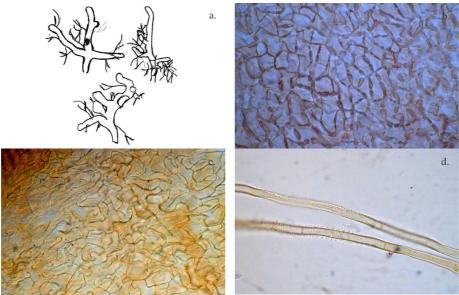


Fig. 4: Genea sp.2 - a. Micorriza - b. Manto externo (x 1000) - c. Manto interno (x 1000) - d. Cistidios (x 1000)

BIBLIOGRAFÍA

- AGERER, R. (1987-2002). *Colour Atlas of Ectomycorrhizae*. Einhorn-Verlag. Munich.
- AGERER, R., MÜLLER, W.R. & BAHNWEG, G. (1996). Ectomycorrhizae of *Rhizopogon subcaerulescens* on *Tsuga heterophylla. Nova Hedwigia* 63(3-4): 397-415.
- ÁLVAREZ, I. F., PARLADÉ, J., TRAPPE, J. M. & CASTELLANO, M. A. (1993). Hypogeous mycorrhizal fungi of Spain. *Mycotaxon* 47: 201-217.
- AZUL, A. M. & FREITAS, H. (1999). *Mycorrhizal fungi and their application to forestation programmes with cork oak (Quercus suber L.).* En: *Micorrización en áreas mediterráneas de la Península Ibérica.* Junta de Extremadura. Badajoz. Pp 75-82.
- BENCIVENGA, M., TANFULLI, M. & DONNINI, D. (1997). Micorrizazione di *Quercus cerris* L. con *Tuber oligospermum* (Tul. & Tul.) Trappe. *Micologia italiana* 1997, 3: 89-93.
- BLASCHKE, H. (1988). *Tuber puberulum*. En: Agerer, R. (ed.). *Colour atlas of ectomycorrhizae*, plate 22. Einhorn Verlag, Schwäbisch Gmünd.
- BRAND, F. (1991). *Genea hispidula*. En: Agerer, R. (ed.). *Colour atlas of ectomycorrhizae*, plate 57. Einhorn Verlag, Schwäbisch Gmünd.
- BRUNDRETT, M., BOUGHER, N., DELL, N., GROVE, T. & MALAJCZUC, N. (1996). *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. 374pp.
- CALONGE, F. D., PASABÁN, P. M. & DE MIGUEL, A. M. (2000). Contribution to the knowledge of the hypogeous fungi of Navarre and sourrounding provinces (Northern Spain). *Bull. FAMM., N.S.* 18: 47-52.
- DE ROMÁN, M. (2003). Las ectomicorrizas de Quercus ilex subsp. ballota y su dinámica post-incendio en una zona potencialmente trufera. Tesis doctoral (inédita). Departamento de Botánica, Universidad de Navarra. 488pp.
- ETAYO, M. L. & DE MIGUEL, A. M. (1998). Estudio de las ectomicorrizas en una trufera cultivada situada en Olóriz (Navarra). *Publ. Biol. Univ. Navarra, Ser. Bot.* 11: 55-114.
- FISCHER, C., SUZ, L., MARTIN, M. & COLINAS, C. (2004). *Tuber brumale* Vitt. + *Quercus ilex* L. *Descriptions of Ectomycorrhizae*. 7/8: 135-141.
- FONTANA, A. & CENTRELLA, E. (1967). Ectomicorrize prodotte da funghi ipogei. *Allionia* 13: 149-175.

- GRANETTI, B. (1995). Caratteristiche morfologiche, biometriche e strutturali delle micorrize di *Tuber* di interesse economico. *Micologia italiana* 1995(2): 101-117
- GRANETTI, B., ANGELINI, P. & RUBINI, A. (1995a). Morfologia e struttura delle micorrize di *Tuber magnatum* Pico e *Tuber borchii* Vitt. con *Tilia platyphyllos* Scop. *Micologia italiana* 1995(2): 27-34.
- GRANETTI, B., RUBINI, A. & ANGELINI, P. (1995b). Analisi comparativa morfobiometrica e strutturale delle micorrize di *Tuber aestivum* Vitt. con alcune piante forestali. *Micologia italiana* 1995(2): 48-63.
- JAKUCS, E. & BRATEK, Z. (1998). *Genea verrucosa*. En: Agerer, R. (ed.). *Colour atlas of ectomycorrhizae*, plate 120. Einhorn Verlag, Schwäbisch Gmünd.
- JAKUCS, E., BRATEK, Z. & AGERER, R. (1998a). *Genea verrucosa* Vitt. + *Quercus* spec. *Descriptions of Ectomycorrhizae* 3: 7-11.
- JAKUCS, E., BRATEK, Z., BEENKEN, L. & AGERER, R. (1998b). *Rhizopogon vulgaris* (Vitt.) M. Lange var. *intermedius* Svrcek + *Pinus nigra* Arn. *Descriptions of Ectomycorrhizae* 3: 111-116.
- LUOMA, D. L., FRENKEL, R. E. & TRAPPE, J. M. (1991). Fruiting of hypogeous fungi in Oregon Douglas-fir forests: seasonal and habitat variation. *Mycologia* 83: 335-353.
- MASSICOTTE, H. B., MELVILLE, L. H., PETERSON, R. L. & MOLINA, R. (1999). Biology of the ectomycorrhizal fungal genus, *Rhizopogon*. IV. Comparative morphology and anatomy of ectomycorrhizas synthesized between several *Rhizopogon* species on Ponderosa pine (*Pinus ponderosa*). *New Phytologist* 142: 355-370.
- MASSICOTTE, H. B., MELVILLE, L. H., PETERSON, R. L. & MOLINA, R. (2000). Comparative anatomy of ectomycorrhizas synthesized on Douglas fir by *Rhizopogon* spp. and the hypogeous relative *Truncocolumella citrina*. *New Phytologist* 147: 389-400.
- MELLO, A., FONTANA, A., MEOTTO, F., COMANDINI, O. & BONFANTE, P. (2001). Molecular and morphological characterization of *Tuber magnatum* mycorrhizas in a long-term survey. *Microbiological Research* 155(4): 279-284.
- MONTECCHI, A. & SARASINI, M. (2000). *Funghi ipogei d'Europa*. Associazione Micologica Bresadola. Trento: 714pp.
- MORENO-ARROYO, B. (1998). Contribución al estudio de los hongos hipógeos de Andalucía con especial referencia a la provincia de Córdoba. (Taxonomía,

- *ecología y corología).* Tesis doctoral (inédita). Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba. 357pp.
- PANDO, F. (2002). Bases de datos en línea de las colecciones de criptógamas del Herbario MA. http://www.rjb.csic.es/herbario/crypto/crydbe.htm
- PIRAZZI, R. (1998). Morfologia delle micorrize di tartufi minori: *Tuber rufum* Pico, *T. panniferum* Tull. e *T. excavatum* Vitt. *Micologia italiana* 1998(1): 77-83.
- RAUSCHER, T., AGERER, R. & CHEVALIER, G. (1995). Ektomykorrhizen von *Tuber melanosporum, Tuber mesentericum* und *Tuber rufum* (Tuberales) an *Corylus avellana. Nova Hedwigia* 61 (3-4): 281-322.
- SÁEZ, R. & DE MIGUEL, A. M. (1995). *La trufa negra. Tuber melanosporum Vitt. Guía práctica de truficultura.* ITGA. Universidad de Navarra. Pamplona. 94 pp.
- VOIRY, H. (1981). Classification morphologique des ectomycorhizes du chêne et du hêtre dans le nord-est de la France. *European Journal of Forest Pathology* 11: 284-299.
- ZAMBONELLI, A., SALOMONI, S. & PISI, A. (1993). Caratterizzazione anatomomorfologica delle micorrize di *Tuber* spp. su *Quercus pubescens* Willd. *Micologia Italiana* 1993(3): 73-90.
- ZAMBONELLI, A., SALOMONI, S. & PISI, A. (1995). Caratterizzazione anatomomorfologica delle micorrize di *Tuber borchii, Tuber aestivum, Tuber mesentericum, Tuber brumale, Tuber melanosporum* su *Pinus pinea. Micologia Italiana* 1995(2): 119-137.
- ZAMBONELLI, A., IOTTI, M., AMICUCCI, A. & PISI, A. (1999). Caratterizzazione anatomo-morfologica delle micorrize di *Tuber maculatum* Vittad. su *Ostrya carpinifolia. Micologia Italiana* 1999(3): 29-35.