

# HONGOS ASOCIADOS AL DECAIMIENTO DE LOS BOSQUES DE ENEBROS (*JUNIPERUS SPP.*) EN ÁREAS DE MONTAÑA DEL MEDITERRÁNEO ESPAÑOL

V. González, J.J. Tuset y R. Hinarejos

Dpto de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Moncada, Valencia (España); vgonzale@ivia.es (corresponding autor)

**Resumen** En el transcurso de 2004, tuvimos conocimiento de que los bosques de enebros (*Juniperus spp.*) de áreas de montaña de la Comunidad Valenciana (SE España) llevaban años afectados por severos procesos de decaimiento. Dicha sintomatología fue principalmente observada e investigada en la Puebla de San Miguel del Rincón de Ademuz (Valencia) y en el macizo de Penyagolosa y L'Alt Maestrat (Castellón). Las áreas afectadas consistían en pies de planta infectados o sintomáticos que mostraban varios grados de afección, desde clorosis primaria, hasta la existencia de individuos completamente desfoliados y muertos. Las muestras recolectadas en las áreas afectadas fueron estudiadas para caracterizar e identificar los diferentes agentes fúngicos que pudieran ser la causa primaria o secundaria de la sintomatología observada en las masas de enebros prospectadas. Algunos de los hongos repetidamente aislados fueron: *Phaeostoma juniperina*, *Gymnosporangium clavariiforme*, *Phellinus ferruginosus* y *Coniophora arida*. La presente contribución se centra en el estudio de los dos últimos táxones citados, los cuales parecen estar relacionados con el deterioro y el decaimiento de las masas de *Juniperus spp.* en las áreas de estudio. El estudio sistemático de estas especies ha incluido el empleo simultáneo de técnicas taxonómicas clásicas (morfología comparativa, estudio de cultivos, etc.) fitopatológicas (inoculación "*in vitro*" de material vegetal en laboratorio) y moleculares (identificación mediante la secuenciación directa del ADN ribosomal). **Palabras clave:** *Juniperus communis*, *J. oxycedrus*, Comunitat Valenciana, Basidiomicetos, *Phellinus ferruginosus*, *Coniophora arida*

## FUNGUS RELATED TO THE DECLINE OF JUNIPER (*JUNIPERUS SPP.*) WOODLANDS IN MEDITERRANEAN MOUNTAIN AREAS OF SPAIN

**Abstract** During the year 2004, we discovered that juniper woodlands (*Juniperus spp.*) in Mediterranean mountain areas in the Comunitat Valenciana (SE Spain) had been being affected during many years due to severe decline processes. This symptomatology was mainly observed and researched in Puebla de San Miguel del Rincón de Ademuz (Valencia) and in Penyagolosa and L'Alt Maestrat massifs (Castellón). The affected areas consisted on feet which were symptomatic or had been infected by showing different affection degrees: from a primary chlorosis to the existence of entirely unfoliated and death individuals. The samples collected in the affected areas were studied to characterise and identify the different fungus agents which could be the primary or secondary causes of the symptomatology observed in those juniper woodlands. Some of the repeatedly isolated funguses were: *Phaeostoma juniperina*, *Gymnosporangium clavariiforme*, *Phellinus ferruginosus* and *Coniophora arida*. The present contribution is focused on the study of the two quoted taxons, which could be related to the *Juniperus spp.* Woodlands deterioration and decline in the areas studied. The systematic study of these species has included the simultaneous use of classic taxonomical techniques (comparative morphology, study of cultivation, etc.), phytopathological ("*in vitro*" inoculation of vegetal material in the laboratory) and molecular (identification though the direct sequence of ribosomal DNA).

**Key words:** *Juniperus communis*, *J. oxycedrus*, Comunitat Valenciana, Basidiomycetes, *Phellinus ferruginosus*, *Coniophora arida*

## CHAMPIGNONS ASSOCIES A LA FAIBLESSE DES FORETS DE GENEVRIERS (*JUNIPERUS SPP.*) DANS LES ZONES MONTAGNEUSES DE LA MEDITERRANEE ESPAGNOLE

**Résumé** Pendant l'année 2004, on a eu connaissance des forêts de genévriers (*Juniperus spp.*) dans les zones montagneuses de la Comunitat Valenciana (SE Espagne) qui, depuis des années, sont affectées par des forts processus de faiblesse. Cette symptomatologie a été notamment observée et recherchée à la Puebla de San Miguel del Rincón de Ademuz (Valencia) et au massif de Penyagolosa et L'Alt Maestrat (Castellón). Les zones affectées consistaient en pieds de plante infectés ou symptomatiques qui montraient divers degrés d'affection : des chloroses primaire à l'existence des individus complètement défeuillés et morts. Les échantillons pris aux zones affectées ont été étudiés afin de caractériser et d'identifier les différents agents fongiques qui pourraient être la cause primaire ou secondaire de la symptomatologie enregistrée dans les masses de genévriers observées. Certains des champignons trouvés à plusieurs reprises et isolés ont été : *Phaeostoma juniperina*, *Gymnosporangium clavariiforme*, *Phellinus ferruginosus* et *Coniophora arida*. La présente contribution est centrée dans l'étude des

deux derniers taxons, qui apparemment sont liés à la détérioration et à la faiblesse des masses de *Juniperus spp.* dans les zones d'étude. Dans l'étude systématique de ces espèces est inclus l'emploi simultané des techniques taxonomiques classiques (morphologie comparative, étude des cultives, etc.) phytopathologiques (inoculation « in vitro » du matériel végétal au laboratoire) et moléculaires (identification moyennant le séquençage direct de l'ADN ribosomal).

**Mot clés :** *Juniperus communis*, *J. oxycedrus*, Comunitat Valenciana, Basidiomicetos, *Phellinus ferruginosus*, *Coniophora arida*

## INTRODUCCIÓN

Durante el transcurso del año 2004, nuestro equipo tuvo conocimiento, a través de la Conselleria de Territori i Habitatge de la Comunitat Valenciana de que las masas forestales de enebros (*Juniperus communis* y *J. oxycedrus*) de áreas de montaña mediterránea en la Comunidad Valenciana, llevaban varios años sufriendo un proceso de decaimiento que dificultaba el desarrollo de estos árboles, y en muchas ocasiones ocasionaba la muerte de numerosos pies de planta. Estos bosques de montaña en ambiente mediterráneo son bosques abiertos, dominados por un estrato poco denso de *Pinus nigra* y en menor medida *P. sylvestris* junto con sabina albar (*J. thurifera*), en donde aparecen también masas más o menos discontinuas de enebros, principalmente *Juniperus communis* (subsp. *communis* y *hemisphaerica*) y *J. oxycedrus* (subsp. *oxycedrus* y *badia*) (Costa Talens et al., 1990).

Hasta la fecha, son escasas las aproximaciones realizadas para conocer el estado y problemática fitosanitaria de las masas de enebros de la Península Ibérica. En este sentido, en los años 1992 y 1993 (G. Sánchez, com. pers.), por mediación del Instituto de Conservación de la Naturaleza (ICONA), y ante la entonces creciente emergencia de problemas fitopatológicos en masas forestales de enebros peninsulares, se realizaron varios muestreos en enebro de la miera (*J. oxycedrus*) en su área natural de dispersión para conocer los patógenos que afectaban dichas formaciones vegetales, tanto de origen animal como microbiano. Estas prospecciones se extendieron también en el año 1993 (a cargo la Dirección General del Medio Natural de la Junta de Castilla y León) a *J. communis* y *J. thurifera*, además del mencionado enebro de la miera en el ámbito de la comunidad Castellano-Leonesa. En estos trabajos, la identificación de los agentes parasitarios se hizo en gran medida a partir de observaciones *de visu*, y en menor medida empleando técnicas de identificación morfológica. No obstante, es de destacar que los mencionados estudios relacionan el estado fitosanitario de las masas analizadas (en algunos casos severamente afectadas) con la presencia de diferentes especies de royas parásitas (género *Gymnosporangium*), muy comunes sobre madera viva de *Juniperus spp.*, y en menor medida con la presencia en material vegetal variado (acículas, ramas, raíces, frutos, etc.) de una micoflora compuesta mayoritariamente por hongos mitospóricos de comportamiento claramente saprofítico o endofítico (e.g. *Alternaria*, *Cladosporium*, *Phomopsis*, *Diplodia*, *Penicillium*, etc.). De este modo, ninguno de los mencionados informes recoge información sobre la presencia en las muestras analizadas de hongos basidiomicetos con actividad ligninolítica capaces de colonizar y degradar madera de *Juniperus spp.*

La mencionada sintomatología ha sido observada hasta la fecha únicamente en los enebros; las sabinas no muestran la misma sintomatología y su desarrollo es normal y no preocupante. La especie *Juniperus communis* es la más afectada, tanto la subespecie *hemisphaerica*, componente fundamental en estas áreas de montaña, como la subespecie *communis*, menos abundante pero presente en las zonas altas por encima de los 1000 metros. La especie *J. oxycedrus* también manifiesta la sintomatología. Tanto la subespecie *oxycedrus* como la subespecie *badia* presentan en estas elevadas altitudes muchos ejemplares gravemente dañados.

El presente trabajo caracteriza y describe algunos de los potenciales agentes fúngicos responsables del decaimiento de las masas de enebros de zonas de montaña, mediante el

empleo de técnicas morfológicas clásicas y aproximaciones moleculares. De este modo, se incluye información sobre los principales aspectos anatómicos, biológicos y culturales de las especies más directamente implicadas en los procesos de decaimiento observados. Se muestran también datos preliminares sobre la reproducción “*in vitro*” de los síntomas y daños producidos en la madera de *Juniperus spp.* por las especies fúngicas estudiadas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Tras el muestreo de material vegetal con evidentes síntomas de afectación en mayor o menor medida (pies de planta levemente enfermos, seriamente afectados e incluso individuos secos o muertos) y de muestras de suelo, se llevaron a cabo una serie de análisis en el laboratorio para la identificación y caracterización de el/los eventuales agentes de origen fúngico que pudieran ser causantes a nivel primario o secundario de la sintomatología asociada al deterioro que están actualmente sufriendo determinadas masas forestales de *Juniperus spp.* Así, las muestras de suelo recogidas en las diferentes calicatas efectuadas fueron analizadas en el laboratorio examinando la conductividad eléctrica en el extracto de saturación (CEs), el PH y la humedad del mismo (datos no mostrados). Se realizó un aislamiento y caracterización de cepas fúngicas a partir del material recogido, principalmente a nivel de madera afectada en diferente grado y, directamente a partir de los diferentes cuerpos fructíferos presentes en las muestras vegetales. Se aislaron en cultivo puro cepas pertenecientes a agentes fúngicos de comportamiento patogénico en mayor o menor grado sobre madera de coníferas, de entre el total de hongos observados sobre la madera de las diferentes muestras. De este modo, una vez descartados aquellos táxones de comportamiento saprofito o endofítico, fueron seleccionados los hongos que podrían estar potencialmente relacionados con el decaimiento de las masas forestales estudiadas, en razón de su abundancia y presencia en muestras de madera enfermas, así como de la información disponible en la bibliografía sobre su comportamiento ecológico. Tras esto, se llevó a cabo la caracterización taxonómica de los aislados, mediante el empleo simultáneo de técnicas taxonómicas clásicas (morfología comparativa, estudio de cultivos, etc.) y moleculares (identificación mediante la secuenciación directa del ADN ribosomal).

**Áreas de muestreo.** Las diferentes prospecciones se llevaron a cabo durante el transcurso del año 2005 en diferentes zonas de montaña de la Comunidad Valenciana (provincias de Valencia y Castellón). De este modo, las zonas donde los enebros manifestaban con mayor intensidad la enfermedad fueron:

- 1.- Rincón de Ademuz, especialmente en el término de la Puebla de San Miguel: alrededores del pico Calderón (altitud aproximada de 1700 metros) y en el Collado del Buey (altitud aproximada de 1800 metros). En ambas áreas los daños fueron bastante intensos con numerosos ejemplares muertos o en periodo muy avanzado de la enfermedad.
- 2.- Penyagolosa y alrededores: términos municipales de Villafranca, Castellfort, Cinctorres y Ares del Maestre (altitudes comprendidas entre 900 y 1200 metros). Los ejemplares de enebro afectados se encontraron aquí más repartidos, no obstante se detectaron rodales muy deteriorados con numerosas faltas de árboles posiblemente destruidos desde hace bastantes años.

**Aislamiento en cultivo de hongos.** Para el aislamiento y obtención de cultivos puros de las especies fúngicas observadas con mayor frecuencia en las muestras de material vegetal prospectado, se emplearon técnicas microbiológicas básicas. De un lado, se tomaron fragmentos de madera en descomposición o que se hallase ampliamente colonizada por micelio; estos fragmentos fueron lavados y esterilizados en superficie, para posteriormente ser sembrados en placas de Petri que contenían agar sintético nutritivo (PDA, MA, etc.), e incubados a 24-26°C en oscuridad. Tras un periodo de incubación de 3-5 días, las colonias

fúngicas resultantes fueron transferidas a nuevas placas con el mismo tipo de medio sintético, descartando aquellas que no poseían caracteres microscópicos coincidentes con el tipo de micelio y cultivo que se pretendía aislar. La siembra e incubación de material vegetal tenía por objeto la obtención de cultivos puros de las especies que fructificaban de forma reiterada sobre la madera de *Juniperus*.

Paralelamente, algunas de las fructificaciones recolectadas “*in situ*” fueron empleadas también para el aislamiento de la especie en cuestión. Así, fragmentos de tejido del interior de los carpóforos fueron sembrados en placas que contenían agar nutritivo e incubados en las mismas condiciones que las maderas anteriormente mencionadas.

**Caracterización morfológica.** Los diferentes cuerpos fructíferos, así como los cultivos puros seleccionados, fueron caracterizados morfológicamente mediante la observación y comparación de sus estructuras somáticas y reproductoras bajo lupa y microscopio óptico, empleando como referencia de las determinaciones, literatura taxonómica monográfica para cada una de las especies estudiadas.

**Caracterización molecular.** Simultáneamente a la caracterización morfológica de los hongos muestreados, se llevó a cabo la caracterización molecular de los más relevantes. De este modo, se realizó la amplificación por PCR y la posterior secuenciación directa de la región ITS (ITS1, ITS2 y fragmento 5.8S) del ADN ribosomal. La extracción de ADN genómico, purificación, amplificación y posterior secuenciación de la región ITS ribosomal fue llevada a cabo según el protocolo descrito previamente por Lee et al. (1988). Dichas secuencias nucleotídicas fueron comparadas con las homólogas existentes en bases de datos públicas, para confirmar la identidad de los cultivos y fructificaciones previamente determinados por técnicas taxonómicas clásicas.

**Ensayos de patogenicidad “*in vitro*”.** Estos ensayos tienen el objetivo de reproducir el tipo de lesiones y podredumbre observados en campo, a dos escalas de experimentación, fitotrón y laboratorio. De este modo, se inocularon astillas de madera de *J. communis* de aprox. 1,5 x 0,3 cm. previamente esterilizadas en superficie, introducidas en placas de Petri con medio PDA que contenían cultivos de 4-6 días de dos de los basidiomicetos aislados con mayor frecuencia. Dichas astillas fueron incubadas en presencia de los mencionados hongos durante 15 días, para posteriormente ser extraídas y observadas bajo el microscopio óptico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Algunos resultados preliminares obtenidos tras el empleo de las mencionadas metodologías de estudio revelan la presencia constante de al menos 4 especies de hongos de comportamiento patógeno y/o parasitario sobre el material vegetal recolectado. De entre estas, 2 de ellas podrían estar relacionadas en mayor o menor medida con el deterioro y decaimiento de las masas forestales en las áreas de estudio. El resto de especies mencionadas (2), han sido citadas en la bibliografía como parásitos obligados o patógenos débiles sobre madera de *Juniperus*. Además de los hongos anteriormente mencionados, se investigó la presencia de cepas de *Phytophthora spp.*, tanto en las muestras de suelo como en las raíces absorbentes de los enebros, empleando trampas vegetales (hojas jóvenes de aguacate y pétalos incoloros de clavel) y medios específicos de aislamiento para este tipo de hongos. Todas las siembras realizadas han resultado negativas, por lo que se descarta la intervención en el decaimiento de especies de *Phytophthora*.

Los hongos patógenos aislados de forma persistente sobre las muestras recolectadas fueron:

- Phaeostoma juniperina* (*Ceratostomataceae*, Hypocreales, Ascomycetes)
- Gymnosporangium clavariiforme*. (*Pucciniaceae*, Uredinales, Urediniomycetes)
- Phellinus ferruginosus* (*Hymenochaetaceae*, Hymenochaetales, Basidiomycetes)

-*Coniophora arida* (*Coniophoraceae*, Boletales, Basidiomycetes)

### **Descripción de las especies estudiadas**

•*Phaeostoma juniperina* (Ellis & Everh.) Arx & Müll., Beitr. Kryptfl. Schweiz 11(1): 148 (1954)≡*Ceratostoma juniperina* Ellis & Everh., Proc. Acad. nat. Sci. Philad.: 226 (1890)

*Phaeostoma juniperina* es un pirenomiceto (ascomycetes) que parasita la madera viva o muerta de especies de *Juniperus*. El hongo se caracteriza por inducir a la formación de agallas en las ramas que parasita, en donde se forman los ascomas (peritecios) inmersos en un estroma (Fig. 1a). *P. juniperina* ha sido citado de la Comunitat Valenciana creciendo sobre madera de *Juniperus oxycedrus* (Triebel, 1995-2004). Se trata de un parásito débil, cuya acción es circunscrita a la zona cortical de la madera de las especies que parasita.

•*Gymnosporangium clavariiforme* (Jacq. ex Pers.) De Candolle, Fl. Fr. (Paris) 2 : 217 (1805)  
= *Gymnosporangium sabiniae* (Dicks.) G. Winter, Pilze Deutschl. 1: 232 (1884)  
= *Tremella clavariiformis* Jacq., Syn. Meth. Fung. (Göttingen): 629 (1801).

Las diferentes especies del género *Gymnosporangium* son royas parásitas obligadas, muy comunes sobre especies de *Juniperus*. Se trata de un hongo Uredinal de la familia *Pucciniaceae* que parasita estos árboles en su forma perfecta (teleomorfo), sobre los que desarrolla unas prolongaciones miceliales que penetran en el interior de las células de la planta, produciendo tumoraciones fusiformes sobre las que aparecen las fructificaciones gelatinosas, principalmente en primavera y verano. Estos cuerpos fructíferos contienen los propágulos sexuales denominados teliosporas. Son numerosas las especies del género citadas sobre *Juniperus* (Belomesyatseva, 2004), aunque *G. clavariiforme* (Fig. 1b ) y *G. fuscum* suelen ser los táxones parásitos de enebros y sabinas en nuestras latitudes. Uno de nosotros (J.J. Tuset) ha constatado durante varios años la presencia de ambos táxones en *Juniperus communis* y *J. oxycedrus* en la Comunidad Valenciana. Ambas especies forman parte del cortejo micológico habitual de *Juniperus* y son consideradas como patógenos débiles en dicha planta.

•*Phellinus ferruginosus* (Schrad.:Fr.) Bourdot & Galzin, Hym. France p. 625, 1928.  
= *Polyporus ferruginosus* Schrad.: Fr., Syst. Mycol. 1 : 378, 1821  
= *Fuscoporia ferruginosa* (Schrad.: Fr.) Murrill, N. Am. Fl. 9(1): 5, 1907.  
= *Boletus ferruginosus* Schrad., Spic. Fl. Germ., p. 172, 1794

**Macroscopía:** Cuerpos fructíferos anuales, no resupinados, al principio pequeños, de aspecto tuberculado, más tarde coalescentes formando basidiocarpos ampliamente efusos (hasta 20 cm.) (Fig. 2a), de consistencia esponjosa en tiempo húmedo hasta leñosa en ejemplares secos, anuales o a lo sumo bianuales, no fácilmente separables del sustrato, con margen irregular, a veces con apariencia villosa (setulosa) bajo la lupa (Fig. 2b), de hasta 2 cm de anchura. Superficie himenial porada de tonos ferruginosos a pardo púrpura, poros circulares a angulosos, en número de 7-9 por mm, a menudo más grandes en ejemplares inusuales (2-3 por mm), separados por disepimientos gruesos y tomentosos (Fig. 2d). Contexto bajo la capa himenial de hasta 3 mm de grosor de tonos pardo-amarillentos, laxamente fibroso (Fig. 2c), no zonado y fusionado con la capa superficial de la corteza vegetal. Tubos del himenio concolores con el contexto, de hasta 2 mm de grosor.

**Microscopía:** Sistema hifal dimítico, formado por 1) hifas generativas hialinas (Fig. 3b) de septos simples, de paredes finas, 2-4  $\mu\text{m}$  de anchura, a menudo con numerosos cristales a modo de pigmento parietal incrustante y 2) hifas esqueléticas amarillentas a pardo claro en KOH, de paredes gruesas, 2-5  $\mu\text{m}$  de diámetro (Fig. 3a). Setas hifales presentes hacia el margen y en el subículo (Fig. 3c), de tonos pardo-rojizo oscuro, metuloides (paredes muy gruesas), de ápice fino, lisas, rectas y no ramificadas de 5-12  $\mu\text{m}$  de diámetro y hasta 300  $\mu\text{m}$  de longitud, fácilmente observables bajo la lupa. Setas de la trama muy escasas, similares o levemente más cortas que las setas hifales, aunque a veces engrosadas en su parte media. Setas himeniales abundantes (Fig. 3d), tubuladas o más raramente flamíferas, de paredes gruesas, pardo-rojizas en KOH, de 6-8  $\mu\text{m}$  de anchura y hasta 65  $\mu\text{m}$  de longitud. Basidios claviformes (Fig. 3e), tetraspóricos de 11-14 x 4.5-6.5  $\mu\text{m}$ , septados (sin fíbulas) en la base. Basidiósporas de cilíndricas o cortamente oblongas a anchamente elipsoidales (Fig. 3f), frecuentemente aplanadas en uno de sus lados, hialinas, lisas, de 5-7 x 3-3.5  $\mu\text{m}$ .

**Ecología:** *P. ferruginosus* produce una podredumbre blanca laminada, principalmente en madera muerta o debilitada de angiospermas (*Acer*, *Alnus*, *Betula*, *Fagus*, *Quercus*, *Populus*, *Corylus*, etc.), más raramente en madera de coníferas, sobre todo en Europa (*Juniperus*, *Pinus* y *Taxus*).

**Distribución:** Ampliamente distribuido a través de las áreas forestales de América de Norte y las zonas subtropicales del mencionado continente. Más raro en Escandinavia y el resto del continente Europeo (Larsen y Cobb-Pouille, 1990).

**Observaciones:** *Phellinus ferruginosus* es un basidiomiceto perteneciente a la familia *Hymenochaetaceae* formador de cuerpos fructíferos anuales efusos (raramente resupinados) de consistencia esponjosa e himenio poroide, que produce una podredumbre blanca (“white rot”) en la madera de numerosas especies de frondosas, más raramente en coníferas. La acción degradadora de la madera de los árboles que ataca suele estar centrada a nivel de las ramas bajas semienterradas en el sustrato, como evidencia la localización de los basidiocarpos encontrados en las muestras de *Juniperus* analizadas, y suele circunscribirse a una degradación o podredumbre superficial, generalmente a nivel de la corteza o de la capa leñosa más externa. Los cultivos obtenidos fueron identificados como pertenecientes a *P. ferruginosus*, en base a la presencia en dichos cultivos de hifas sumergidas con engrosamientos, setas hifales alargadas y no ramificadas y los tonos pardo ocre a amarillo miel de las colonias, de acuerdo con la descripción reportada por Stalpers (1978). Los análisis moleculares, confirmaron a su vez la identidad de *P. ferruginosus*, previamente determinada por métodos de taxonomía clásica. De este modo, los productos de amplificación por PCR de la región ITS ribosomal (de aproximadamente 650 pb) fueron sometidos a un análisis de comparación de secuencia mediante la aplicación BLAST (Altschul y col., 1997), en donde los resultados dieron valores de disimilitud de E=0.0 con secuencias existentes en bases de datos públicas (GenBank) de la región ITS de *Phellinus (Fuscoporia) ferruginosus*. Existe en la literatura taxonómica, una considerable variación en la morfología de los basidiocarpos de *P. ferruginosus*, especialmente en el tamaño de los poros himeniales. *P. ferreus* (Pers.) Bourdot & Galzin es un táxon cercano, pero presenta basidiosporas más estrechas y no posee setas hifales. *P. ferrugineofuscus* (P. Karst.) Bourdot es también una especie con setas hifales cercana, diferenciada de *P. ferruginosus* por sus esporas cilíndricas curvadas y la consistencia y color de sus cuerpos fructíferos. *P. contiguus* (Fr.) Pat. es otro táxon cercano, pero presenta esporas bastante más grandes y no posee apenas setas hifales (Ryvarden y Gilbertson, 1994). Wagner and Fischer (2001), consideran *Fuscoporia ferruginosa* (Schrad.: Fr.) Murrill como el epíteto específico más correcto para designar a *P. ferruginosus*. Los mencionados autores adoptan el género *Fuscoporia* Murrill para denominar un grupo filogenético obtenido por medio de análisis de secuencias de la subunidad grande del ADN ribosomal, formado por varias especies de *Phellinus* (e.g. *P. torulosus*, *P. ferreus*, *P. viticola*, *P. ferruginosus*, etc.).

Según nuestros datos, *P. ferruginosus* no había sido citado previamente en nuestro país sobre *Juniperus* (Tuset *et al.*, 2005), aunque Bernicchia (2000) lo describe viviendo sobre madera de *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* y *J. phoenicea* en la zona sur de Italia. A la vista de la información ecológica y sistemática disponible, *Phellinus ferruginosus* parece estar implicado secundariamente en el decaimiento de las masas forestales estudiadas, comportándose como un agente patógeno más abundante en plantas severamente afectadas o degradadas y que presentan una podredumbre más agresiva en las capas internas de la madera.

• ***Coniophora arida*** (Fr.) P. Karst., Not. Sällsk. Fauna et Fenn. Förh. 9: 370 (1868)  
≡ *Telephora arida* Fr., Elench. Fung. (Griefswald) 1: 197 (1828)

**Macroscopía:** Cuerpos fructíferos anuales o persistentes, de resupinados a efusos (hasta 1.5 cm), de consistencia pulverulenta, adheridos al sustrato pero fácilmente separables en seco (Fig. 4a), superficie himenial lisa, al principio crema blanquecino, tornándose pardo oliváceo con la maduración esporal. Margen de la fructificación adelgazado, fimbriado de color crema a beige, normalmente con cordones miceliares (rizomorfos) conspicuos radiando desde el margen hacia el sustrato. Subículo delgado de tonos blanquecinos a pardo amarillentos.

**Microscopía:** Sistema hifal monomítico, hifas del subículo hialinas, de paredes delgadas, septadas, de 3-5  $\mu\text{m}$  de diámetro con ramificaciones escasas, presentando fibulas simples, dobles o incluso triples (Fig. 4c). Himenio en empalizada compuesto por basidios utriformes a estrechamente claviformes (incluso cilíndricos), tetraspóricos, de 8-10 x 70-80  $\mu\text{m}$ . Basidiosporas elipsoidales a anchamente elipsoidales (Fig. 4b), pardo amarillentas, lisas, de paredes gruesas, levemente dextrinoides, de 7-12 x 5.5-8  $\mu\text{m}$ . Cistidios o elementos himeniales estériles ausentes.

**Observaciones:** *Coniophora arida* es un hongo basidiomiceto perteneciente a la familia *Coniophoraceae*, un grupo de Boletales morfológicamente evolucionado y diferenciado del resto de especies de morfología agaricoide del orden. Las especies del género *Coniophora* forman un grupo de unas 20 especies cosmopolitas con un amplio rango de huésped, que viven principalmente sobre especies de coníferas (Ginns, 1982). De entre ellas, *C. puteana*, *C. olivacea*, *C. marmorata* y *C. arida* constituyen un grupo de hongos de podredumbre marrón (“brown-rot”) de los denominados “domésticos”, los cuales causan la degradación (además de la causada en árboles vivos) de las piezas de madera empleadas en construcción. Algunas de estas especies, son incluso consideradas como parásitas en ciertas especies de coníferas (Schmidt y col., 2002). *C. arida* se caracteriza por formar basidiocarpos resupinados en forma de costra, himenio liso y abundancia característica de cordones miceliares (rizomorfos) a lo largo de la superficie de la madera atacada. Desde el punto de vista ecológico es un activo degradador de la madera, especialmente de la fracción lignocelulósica de la misma, produciendo una típica podredumbre de color marrón en ella. Belomesyatsseva (2004) cita esta especie viviendo sobre madera de varias especies de *Juniperus* en una monografía mundial que recopila un listado de hongos asociados este género de gimnospermas. Además, Bernicchia (2000), la cita en Italia viviendo sobre *J. communis*, *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* y *J. phoenicea*. No conocemos citas de este taxón sobre madera de *Juniperus* en nuestro país.

Su comportamiento ecológico, unido al tipo de podredumbre y degradación que este taxón suele producir en las especies vegetales que parasita, parecen apuntar a este basidiomiceto como el probable agente causal fúngico primario del decaimiento y seca de las poblaciones de *Juniperus spp.* incluidas en las áreas objeto de estudio del presente proyecto.

***Ensayos de patogenicidad “in vitro”***

Tras la incubación de astillas de madera de *J. communis* en placa petri en presencia de *P. ferruginosus* y *C. arida*, se observó colonización y crecimiento miceliar en la superficie y el interior de dichos fragmentos (Fig. 5), acompañado de una moderada desorganización tisular, lo que sugiere una capacidad de degradación *in vitro* de madera de *Juniperus* para estas dos especies de basidiomicetos.

## REFERENCIAS

- Altschul, S.F., Maden, T.L., Schäffer, A.A., Zhan, J., Zhang, Z., Millar, W. y Lipman, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acid Research*, 25: 3389-3402
- Belomesyatseva, D.B. 2004. World survey of juniper-associated fungi. *Mycena* 4: 1-128.
- Bernicchia, A. 2000. Wood-inhabiting Aphyllophoraceous fungi on *Juniperus* in Italy. *Mycotaxon* 75: 241-256.
- Costa Talens, M., Pérez-Badía, R. y Soriano, P. 1990. Los sabinares albares valencianos. *Acta Botanica Malacitana* 15: 297-301.
- GINNS, J. 1982. A monograph of the genus *Coniophora* (Aphyllophorales, Basidiomycetes). *Opera Botanica* 61: 1-61.
- Larsen, M.J. y Cobb-Poullé, L.A. 1990. *Phellinus* (Hymenochaetales). A survey of the world taxa. *Synopsis Fungorum* 3. Ed. Fungiflora. Oslo, Norway. 1-206
- Lee, S. B., Milgroom, M. G., y Taylor, J. W. 1988. A rapid, high yield mini-prep method for isolation of total genomic DNA from fungi. *Fungal Genetic Newsletters* 35:23-24.
- Ryvarden, L. y Gilbertson, R.L. 1994. European Polypores, Part 2: *Meripilus-Tyromyces*. *Synopsis Fungorum* 7. Ed. Fungiflora. Oslo, Norway. 394-743.
- Schmidt, O., Grima, K. y Moreth, U. 2002. Molecular identity of species and isolates of the *Coniophora* cellar fungi. *Holzforschung* 56: 563-571.
- Stalpers, J.A. 1978. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. *Studies in Mycology* 16: 1-248.
- Triebel, D. 1995–2004 *Microfungi exsiccati*.– Online-version. Botanische Staatssammlung München: <http://www.botanischestaatssammlung.de/arnoldia/microfu2.html> – München.
- Tuset, J.J., González, V., Hinarejos, R., Hinarejos, C., Mira, J.L., Laguna, E y Ballester, G. 2005. Afección y mortalidad anormal de enebros (*Juniperus spp.*) en áreas de lata montaña del interior de la Comunidad Valenciana. XXII Reunión del Grupo de Trabajo Fitosanitario de Forestales, Parques y Jardines. Lloret de Mar (Girona), Libro 1, nº 16; 6 pp.
- Wagner, T. y Fischer, M. 2001. Natural groups and a revised system for the European poroid *Hymenochaetales* (Basidiomycota) supported by nLSU rDNA sequence data. *Mycological Research* 105: 773-782.

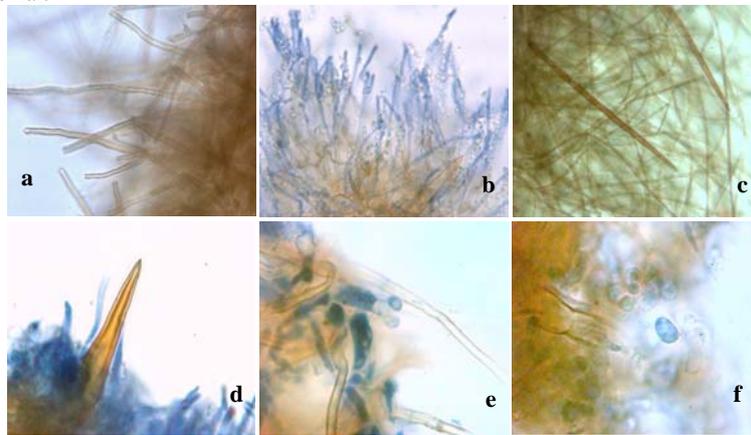
## FIGURAS



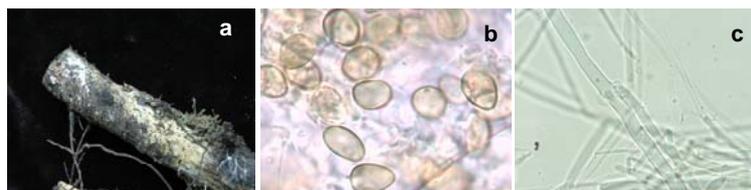
**Fig. 1.- a:** *P. juniperina*; aspecto de las agallas en *J. oxycedrus*; **b:** *G. clavariiforme*; aspecto de las tumoraciones en *J. communis*.



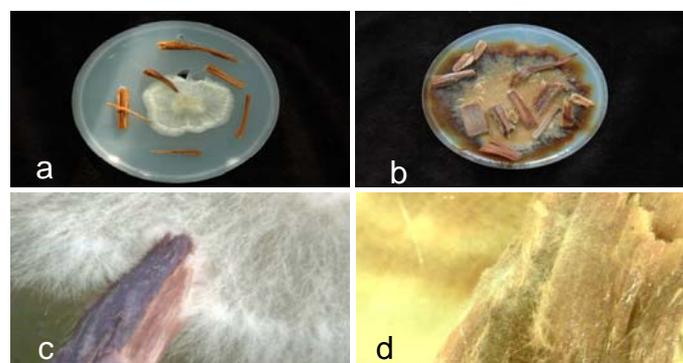
**Fig. 2.** *P. ferruginosus*, macroscopía; **a** y **b**: basidiocarpos; **c**: aspecto de la superficie del margen del cuerpo fructífero a la lupa; **d**: superficie himenial.



**Fig. 3.** *P. ferruginosus*, microscopía; **a**: hifas esqueléticas; **b**: hifas generativas; **c**: setas hifales; **d**: setas himeniales; **e**: basidios; **f**: basidiósporas



**Fig. 4.-** *C. arida*; **a**: basidiocarp; **b**: basidiosporas; **c**: hifas del subículo.



**Fig. 5.-** Degradación de madera de *J. communis* en ensayos de colonización *in vitro*. **a, c**: *C. arida*; **b, d**: *P. ferruginosus*.