



# COM OBTENIR MOSTRES PER AVALUAR L'ESTAT MICORRÍZIC D'UNA PLANTA

Cinta Calvet  
[cinta.calvet@irta.cat](mailto:cinta.calvet@irta.cat)

Amèlia Camprubí  
[amelia.camprubi@irta.cat](mailto:amelia.camprubi@irta.cat)

Xavier Parladé  
[xavier.parlade@irta.cat](mailto:xavier.parlade@irta.cat)

Joan Pera  
[joan.pera@irta.cat](mailto:joan.pera@irta.cat)

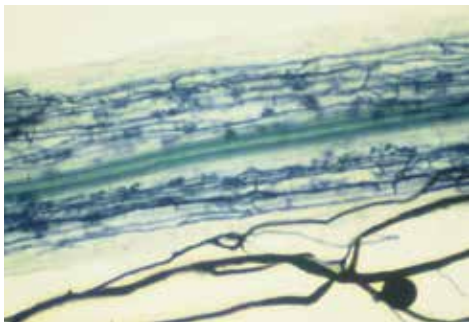
**Programa Protecció Vegetal Sostenible**



# MICORRIZES

Els fongs obtenen els nutrients de moltes fonts diferents, incloent la descomposició de substrats orgànics, el parasitisme o la participació en associacions mutualistes. **Les micorrizes són associacions mutualistes molt evolucionades entre fongs del sòl i arrels de les plantes.** S'ha utilitzat sovint el terme simbiosi per descriure aquestes relacions mutualistes, altament interdependents, on la planta hoste rep nutrients minerals i aigua mentre que el fong obté compostos de carboni derivats de la fotosíntesi.

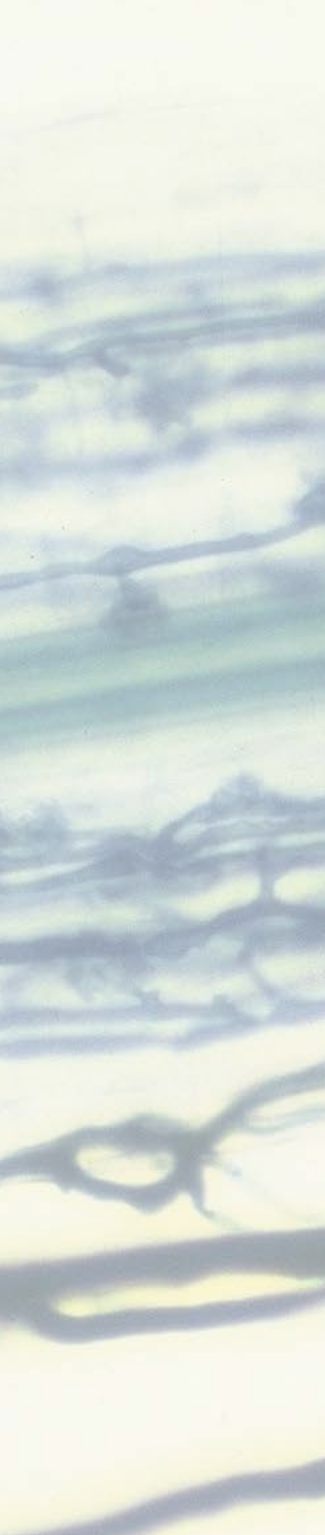
S'han reconegut almenys fins a set tipus diferents d'associacions micorríziques que involucren diferents grups de fongs i plantes hoste, i que presenten diferents patrons de morfologia. Els treballs de camp han demostrat que les plantes amb associacions micorríziques predominen a la majoria dels ecosistemes naturals de tot el món. Les **Micorrizes Arbusculars (AM)** (Fig. 1) són les més freqüents d'aquestes associacions a les comunitats vegetals i les més abundants en agricultura, mentre que els arbres i les plantes llenyoses importants en la majoria d'hàbitats forestals formen **Ectomicorrizes (EcM)** (Fig. 2).



**Figura 1.** Arrel transparentada i tenyida on s'observen les estructures característiques d'una micorriza arbuscular.



**Figura 2.** Ectomicorrizes de Rovelló en l'arrel d'un pi.



El principal objectiu en el camp de les micorrizes es dirigeix a la possibilitat de manipular aquestes associacions per **augmentar la productivitat de les plantes en l'agricultura, en la silvicultura de plantacions forestals, o l'establiment de plantes durant la recuperació dels ecosistemes després de greus pertorbacions**. També té molt interès la seva aplicació en la **obtenció de bolets comestibles**, ja que bona part dels fongs EcM formen bolets o tòfones molt valorats des del punt de vista gastronòmic i comercial (rovelló, cep, i tòfona negra en son alguns exemples).

El coneixement de la **diversitat de fongs micorrízics** és important a causa del seu paper en els ecosistemes naturals i gestionats (Taula 1). Atès que diferents tàxons fúngics variaran en la seva capacitat per utilitzar recursos o adaptar-se a condicions adverses (Taula 2), la diversitat funcional dels fongs micorrízics ofereix oportunitats de seleccionar fongs adaptats a combinacions específiques de les condicions d'hoste / medi ambient / sòl per optimitzar el creixement de les plantes o la producció de bolets comestibles.

## Taula 1. Funcions importants dels fongs micorrízics en ecosistemes naturals i gestionats.

### A. Beneficis per a les plantes:

- Subministrament de nutrients a les plantes a través de les arrels micorrízades.
- Increment de la tolerància a malalties i plagues.
- Beneficis no nutricionals per les relacions hidríques, etc.

### B. Altres rols en els ecosistemes:

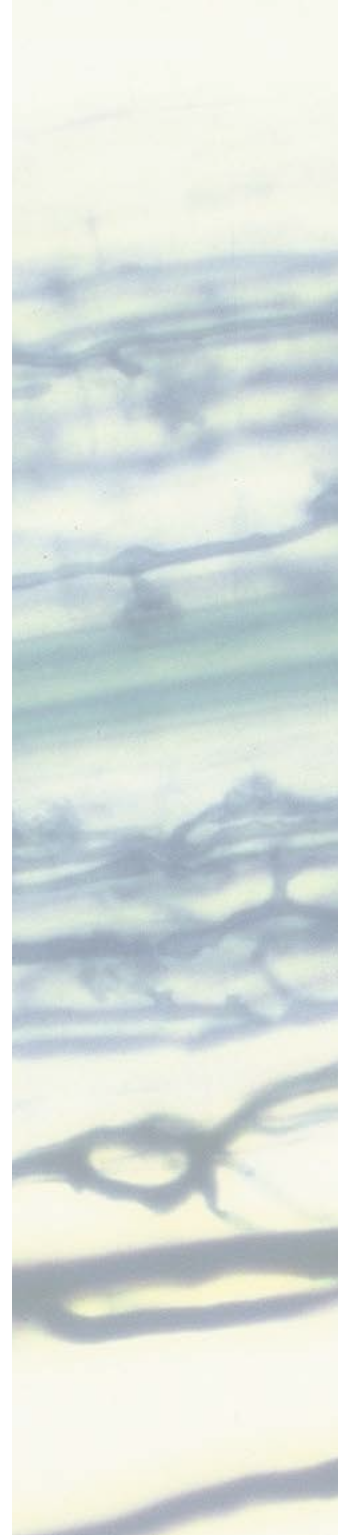
- Cicles i conservació de nutrients pel miceli del sòl.
- Els fongs són fonts importants d'aliments per a molts animals.
- Millora de l'estructura del sòl.
- Transport de carboni des d'arrels vegetals a altres organismes del sòl.

### C. Valors per a les persones, usos:

- Valors estètics.
- La diversitat de fongs és un bioindicador de la qualitat ambiental.
- Recursos alimentaris valuosos.
- Usos medicinals.

## Taula 2. La diversitat funcional dels fongs micorrízics presenta variacions entre espècies i aïllats de fongs en les següents capacitats:

- Obtenció de nutrients limitants del sòl:
  - formes inorgàniques de fòsfor, nitrogen, etc.
  - formes orgàniques de nitrogen, etc.
  - oligoelements.
- Millora de les condicions adverses del sòl degut a:
  - concentracions tòxiques dels ions metàl·lics.
  - pH extrems.
  - elevada conductivitat (salinitat).
  - desequilibris de nutrients, com proporcions elevades Mg: Ca
- Respostes a condicions climàtiques severes:
  - temperatura limitada o excessiva.
  - disponibilitats d'aigua extremes.
- Compatibilitat amb diferents hostes.
- Tolerància a condicions adverses del sòl:
  - pertorbació abiòtica.
  - competència microbiana, etc.
- Supervivència i difusió al sòl per espores, miceli, etc.
- Capacitat per a la producció d'inòcul:
  - producció d'espores.
  - miceli en un cultiu estèril (EcM).



L'estudi de les **associacions micorríziques** abasta moltes disciplines científiques incloent: la micologia (taxonomia de fongs, fisiologia, desenvolupament); la botànica (la fisiologia, la nutrició mineral, la morfologia de les plantes); les ciències del sòl (nutrients, estructura, biologia); l'ecologia (cicles de nutrients, qualitat ambiental, reconstrucció dels ecosistemes, interaccions biòtiques); les humanitats (el valor econòmic, alimentari, medicinal, etc., dels fongs i plantes associades); i disciplines aplicades (silvicultura, agricultura, patologia vegetal).

En aquest manual detallarem com podem treballar en un aspecte eminentment pràctic al iniciar qualsevol estudi: **la recollida i el processat de les mostres d'arrels per identificar les micorrizes i avaluar l'estat micorrízc d'una planta.**

## **Examinant les associacions micorríziques. Mostreig i rentat d'arrels**

L'estudi de les arrels vegetals ha rebut molta menys atenció de la que mereix, degut a les dificultats tècniques d'estudiar esdeveniments que succeeixen sota terra.

Es poden obtenir mostres d'arrels tant en vivers com a camp. Generalment, en el viver serà més fàcil obtenir el sistema radical complet de la plàntula, ja que estarà cultivada en algun tipus de contenidor, o presentarà una mida reduïda que facilitarà la seva extracció del sòl (Fig 3).



Figura 3. Conífera de viver en la que es poden observar fàcilment les ectomicorrizes del sistema radical.

L'extracció de petits cilindres de sòl (d' 1 a 5 cm de diàmetre) en plantes de viver (a arrel nua o en contenidor) o en camp, permet examinar la formació de micorrizes sense retirar tota la planta (Fig 4). El mostreig periòdic mitjançant **cilindres de sòl** permet estudiar el desenvolupament de l'arrel i la micorriza al llarg del temps sense danys substancials en els sistemes radicals. Si fem aquest sistema, s'han d'agafar diversos cilindres que abastin tota la profunditat del contenidor, o un 20 cm de fondària si treballem a camp. Aquests cilindres han de contenir arrels suficients per quantificar l'activitat micorrízica. Els forats que en resulten es poden reomplir amb substrat o sòl, i es pot marcar la seva ubicació per evitar que es torni a mostrejar al mateix punt.



Figura 4. Obtenció de cilindres de sòl amb mostres de les arrels de la planta

Si ens enfrontem a una recollecció d'**arrels en camp**, sorgeixen problemes especials a l'hora d'obtenir les micorrizes en les arrels de plantes procedents de cultius conreats, boscos, plantacions o ecosistemes naturals. La consideració més important és que les arrels de la mostra no estiguin contaminades per altres plantes, i que siguin prou joves com per tenir micorrizes, en general a les mostres de camp hi ha gran quantitat d'arrels mortes que no ens aportaran aquesta informació.



Per examinar l'estat micorrizic de les arrels hem de tenir en compte:

1. Es poden **excavar els sistemes radicals** de les plantes que es volen mostrejar tenint cura de que les arrels fines estiguin representades en les mostres i d'excloure les arrels enredades d'altres espècies vegetals, si es poden reconèixer (Fig 5). Quan es mostregen plantes petites, és millor utilitzar les arrels que queden unides a la base de la planta, la qual cosa no acostuma a ser possible per a arbusts i arbres.



Figura 5. Recollida d'arrels excavant el sòl en la proximitat de la planta

2. Es podrien prendre **mostres de diferents individus** per determinar si hi ha variació en la consistència i el grau de colonització micorrízica de les seves arrels, entre diferents zones d'una mateixa àrea.

3. Les plantes s'han d'identificar mitjançant una **referència taxonòmica estàndard**. No és difícil quan ens movem en l'àmbit de l'agricultura, però ja és més complexa en estudis medi ambientals. S'haurien de recollir exemplars d'herbari si hi ha dubtes sobre les identificacions fetes.



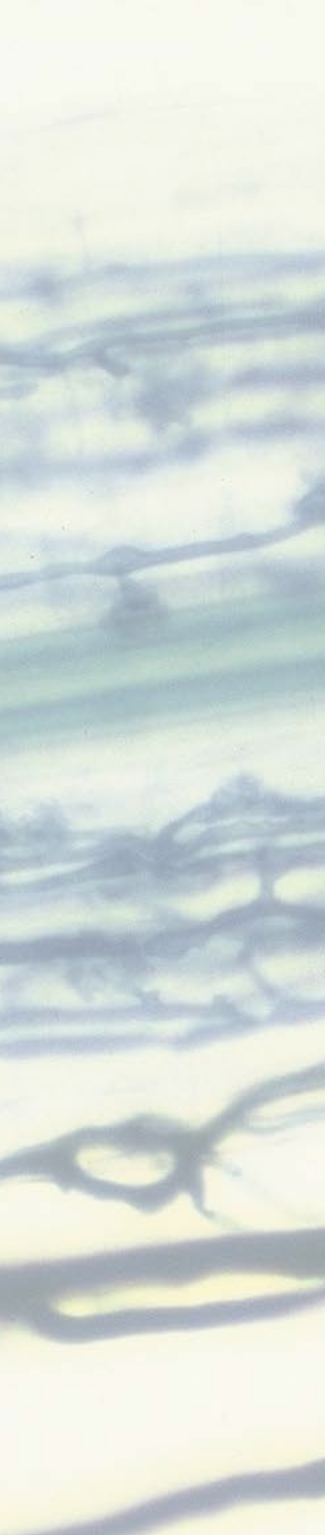
4. Es recomana examinar les **espècies en diferents èpoques** de l'any per trobar associacions actives i observar fluctuacions estacionals en els nivells de colonització. En el nostre clima hi ha certes èpoques de l'any (com a l'inici de la primavera) en les que el creixement de les arrels comença i les associacions micorríziques estan més actives.

5. Les mostres d'arrels es netegen (com s'explica més endavant), i s'envien al **laboratori**, on es tenyeixen utilitzant procediments estàndard, es quantifica la colonització micorrízica i es determina el tipus d'associacions establertes mitjançant un examen microscòpic minuciós (Fig 6).



Figura 6. Anàlisi de les mostres d'arrel al laboratori.



A vertical strip on the left side of the page shows a microscopic view of plant roots. The roots are light-colored and have a fibrous texture. Darker, branching structures, likely mycorrhizal hyphae, are visible extending from the roots. The background is a pale, slightly yellowish color.

La **separació de les arrels del sòl** pot ser relativament difícil segons la textura del sòl i la naturalesa dels sistemes radicals. Generalment és fàcil extreure les arrels dels sòls arenosos, però en sòls amb un alt contingut en argila o matèria orgànica podem trobar problemes. Al prendre la mostra d'arrels cal evitar la pèrdua de les arrels laterals fines, que és on estaran localitzades la majoria de micorrizes i s'ha de tenir en compte:

1. Els **sistemes radicals intactes**, amb les hifes del fong associades, poden separar-se dels blocs de terra per immersió en una tina o galleda d'aigua i agitant suaument per eliminar-ne la majoria del sòl. Per a netejar més les mostres d'arrels intactes es podria utilitzar també una agitadora mecànica o un bany d'ultrasons, si es disposa d'aquest tipus d'aparells.

2. Es poden obtenir **mostres més netes** d'arrels fragmentades rentant-les intensament sota un xorro d'aigua i a través d'un sedàs de 1-2 mm (per retenir les arrels).

3. Cal tenir més cura amb les **plantes amb arrels laterals fines**, com ara les arrels EcM de moltes espècies, ja que poden perdre's fàcilment i, en alguns casos, contenen la majoria d'estructures micorríziques. És important rentar les arrels utilitzant un tamís fi per assegurar-se que no es perden les laterals més fines.

4. Després del rentat del sòl, les mostres d'arrels es poden **mantenir humides** en bosses de plàstic i refrigerades (aprox. 5 ° C) durant diversos dies si és necessari. També es poden processar o conservar en etanol al 50% en vials de plàstic tancats hermèticament si cal transportar-les o emmagatzemar-les durant períodes més llargs de temps, setmanes o fins i tot mesos.

## **Anàlisi de les associacions micorríziques**

Un cop obtingudes les mostres i enviades al laboratori, al grup de micorrizes del programa de Protecció Vegetal Sostenible de l'IRTA es poden fer les següents determinacions i anàlisis:

### **1. Estudi visual i microscòpic qualitatiu i quantitatiu de plantes micorrizades.**

Determinar la presència i abundància d'arrels micorrizades en plantes de viver o de plantació (Fig 6)

### **2. Estudi quantitatiu d'espores de fongs micorrízics en sols o en inòculs comercials.**

Determinar el número d'espores por unitat de volum o pes (Fig 7).

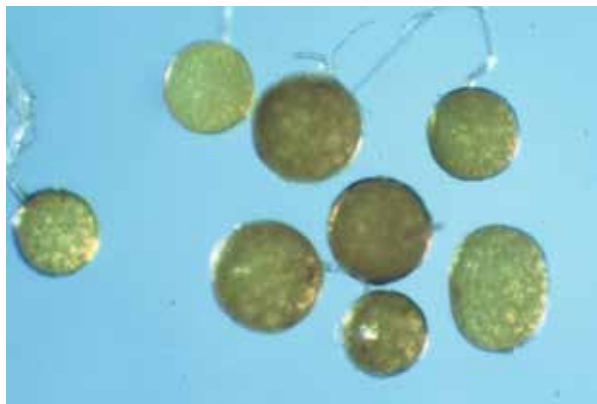


Figura 7. Espores d'un fong formador de micorrizes arbusculars.



### 3. Serveis de detecció molecular.

Quantificar (per qPCR) o identificar la presència (per PCR) de miceli o espores d'un fong micorrízic en una mostra de sòl o les arrels de les plantes (Fig 8).

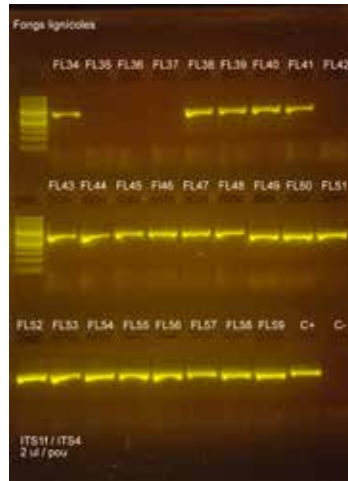


Figura 8. Identificació dels fongs micorrízics per PCR i seqüenciació d'ADN.



**IRTA**

RECERCA | TECNOLOGIA  
AGROALIMENTÀRIES