

**APORTACIONES AL CONOCIMIENTO  
DE LOS LIQUENES EPIFITOS SOBRE LOS ABEDULARES  
DEL SISTEMA IBERICO**

**M.<sup>a</sup> A. MONSO SENABRE \***

\* Depto. de Morfología Microscópica. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.



## **APORTACIONES AL CONOCIMIENTO DE LOS LIQUENES EPIFITOS SOBRE LOS ABEDULARES DEL SISTEMA IBERICO**

M.<sup>a</sup> A. MONSO SENABRE \*

### **RESUMEN**

Dentro de la exploración que se viene dedicando a los líquenes epífitos, se realiza un estudio macroscópico y microscópico de la relación existente entre un líquen epífito y su forofito arbóreo. Se aportan datos sobre los abedulares del Sistema Ibérico, dada la escasa atención que suele dedicarse a los abedulares españoles. Se comenta brevemente algunos taxones colectados en las sierras del Sistema Ibérico que representan una contribución al mejor conocimiento de su flora líquénica epífita.

### **INTRODUCCION**

En general, los líquenes constituyen el mayor componente de las comunidades epífitas de áreas boscosas.

Dentro de la asociación simbiótica que representan los líquenes, el grupo de los líquenes epífitos epifloédicos incluye una serie de especies que muestran una estrecha dependencia de sustratos arbóreos, en muchas ocasiones de árboles específicos.

La especie líquénica *Evernia prunastri* (L.) Ach. es muy abundante en el centro de la Península Ibérica, extendiéndose desde el Mesomediterráneo seco hasta el Supramedi-

\* Depto. de Morfología Microscópica. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.

terráneo subhúmedo. Su óptimo se encuentra en robledales u otras formaciones de la Clase *Quercu-Fagetea* Br.-Bl. y VLIEGER 1937 em. pero también penetra en encinares (Clase *Quercetea ilicis* Br.-Bl., 1947) e incluso en sus etapas de degradación (OZENDA Y CLAUZADE, 1970; WIRRT, 1980). Así es frecuentemente observada en especies arbóreas como *Quercus rotundifolia* Lam. (encina), *Quercus pyrenaica* Willd (melojo), *Fagus sylvatica* L. (haya), *Betula* ssp. (abedules).

Cuando estas especies arbóreas soportan una densa población líquénica sobre sus ramas, muestran síntomas de falta de vitalidad y desfoliación, mientras que las ramas de los mismos árboles sin esa población epifítica presentan una cobertura foliar normal y aspecto robusto. Este fenómeno resulta aún más evidente en los árboles jóvenes en los que una situación de este tipo conlleva la atrofia del árbol.

La interacción entre líquenes epífitos y árboles y arbustos que les sirvan de sustrato, es objeto de estudio desde finales del siglo pasado, BONIER (1889) y PORTER (1917).

ESTEVEZ y cols. en 1980 demostraron la penetración de hifas del líquen *Evernia prunastri* en ramas de *Fagus sylvatica*. Observaciones similares fueron realizadas por ASCASO y cols. (1980) en ramas de *Quercus pyrenaica*. También existen evidencias de esta penetración por parte de masas líquénicas en ramas de *Quercus rotundifolia* por ORUS y ASCASO (1982).

Existen igualmente pruebas bioquímicas en favor de que se produce un ataque químico ligado al proceso de penetración por parte de la masa de hifas líquénicas ESTEVEZ y ORUS (1981) y YAGUE y cols. (1984).

El estudio se ha propuesto contribuir en el conocimiento de la relación entre un líquen epífito y su sustrato arbóreo y esclarecer el efecto provocado por el líquen sobre el árbol; para ello se ha considerado el caso de la relación *Betula pendula*-*Evernia prunastri*, basándose en las observaciones realizadas en los abedules de *Betula pendula* Rothm (= *B. verrucosa* Ehrh) de Agreda (Soria). Especie citada en el Moncayo por RUIZ DE LA TORRE (1971) que quedó refugiada aquí al retirarse los hielos de la última glaciación.

Estos abedules muestran síntomas de clorosis y envejecimiento en hojas asentadas sobre ramas de *Betula pendula* y las ramas con una abundante cobertura líquénica, representada en su mayor parte por *Evernia prunastri*, aparecen total o parcialmente desfoliadas. No parece así tener tanta influencia en la desfoliación otras especies líquénicas que en menor proporción se asientan sobre las ramas del abedul, como son, *Hypogymnia tubulosa* (Schaer) Hav., *Parmelia scorteae* Ach., *Parmelia laevigata* Ach., *Sticta sylvatica* (Huds.) Ach., y algún ejemplar escaso de *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf.

## MATERIAL Y METODOS

Por ser *Evernia prunastri* Ach. el líquen más representativo de las poblaciones

epífitas sobre el abedular de Agreda (Soria), *Betula pendula* Rothm ha sido utilizado para el estudio de la penetración del líquen *in vivo* y de los efectos provocados en el laboratorio por las sustancias líquénicas del epífito. Para ello se ha recogido ramitas de *Betula pendula* de 1 cm. de diámetro aproximadamente. Se ha tenido en cuenta que estas ramas estuviesen muy pobladas de líquenes epífitos y que conservasen alguna de sus hojas.

Se realizó el análisis del contenido de sustancias líquénicas en fragmentos de ramas de *Betula pendula* profusamente cubiertas de *Evernia prunastri*.

Para la extracción de la savia se llevó a cabo primeramente una centrifugación a 10.000 rev/min. A Temperatura de 0° C y tiempo de 15 minutos.

A continuación se utilizó metanol como disolvente añadiendo 0,5 ml de metanol en cada uno de los tubos conteniendo la savia. Con el fin de eliminar los restos, se filtra, y después los tubos de ensayo son tratados por cromatografía líquida HPL inyectando 10  $\mu$ l, que nos permitirá estudiar el contenido de las cuatro sustancias líquénicas de esta especie: ácido evérnico, ácido úsnico, atranorina y cloroatranorina.

El hecho de observar síntomas de clorosis de hojas asentadas sobre ramas de *Betula pendula* y de que los cloroplastos son los orgánulos directamente implicados en el proceso fotosintético nos lleva a diferenciar los cloroplastos de hojas pertenecientes a ramas densamente cubiertas por líquenes epífitos frente a los de las hojas sobre ramas libres de ellos.

Para su estudio por Microscopía electrónica de transmisión se recogieron ramas muy pobladas de líquenes epífitos y ramas libres de ellos, con la misma altura y orientación en el árbol. Las hojas pertenecientes a ambas ramas se seccionan en trozos de aproximadamente 1 mm.

El mismo día de la recolección las hojas fueron fijadas con glutaraldehído. Prefijadas con tampón milloning-glutaraldehído de 25% a un pH 7,3, dejándolas en nevera. Después de 2 horas se realizan varios lavados con el mismo tampón donde permanecen toda la noche a 4° C. Después se procede a la postfijación con tetróxido de osmio preparado al 1%. El material doblemente fijado se deshidrató mediante solución de etanol progresivamente más concentrada hasta llegar al 100% donde permanecen 3 horas. Después se incluyeron las muestras en medio spurr y se polimerizó a 70° C durante 24 horas. Los cortes ultrafinos de las piezas incluidas en spurr se obtuvieron con ultramicrotomo y fueron teñidos con citrato de plomo durante 8 minutos y observados en un microscopio electrónico.

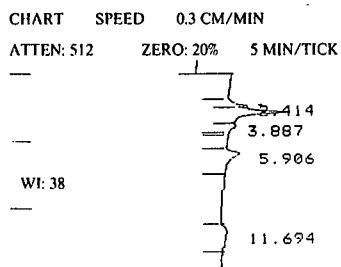
## RESULTADOS

Observados en su hábitat natural, los abedules que presentan ramas con densa población líquénica sufren una fuerte desfoliación de las mismas; ésto queda constatado cuando se analizan las gráficas por cromatografía líquida en las que podemos ver el alto

contenido de ácido evérnico y de ácido úsnico existente en la savia de *Betula pendula*.  
(Ver anexos de 1 a 6).

En cuanto a los cortes ultrafinos de hojas procedentes de ramas con abundante población líquénica, los cloroplastos muestran una apariencia desorganizada y diferencias en la estructura del cloroplasto respecto al número de grana/secc. de cloroplasto y número tilacoides/grana.

## ANEXO I



**TITLE: SUSTANCIAS LIQUENICAS**

17:42 26 APR 88

**CHANNEL NO: 3**

**SAMPLE: ABEDUL**

**METHOD: M. ESTRELLA**

| PEAK NO | PEAK NAME | RESULT %A | TIME (MIN) | AREA COUNTS | SEP CODE |
|---------|-----------|-----------|------------|-------------|----------|
| 1       |           | 10.2292   | 2.414      | 190710      | BV       |
| 2       |           | 57.0475   | 2.872      | 1063570     | VV       |
| 3       |           | 2.7124    | 3.887      | 50569       | T        |
| 4       |           | 18.5593   | 5.906      | 346014      | BB       |
| 5       |           | 11.4516   | 11.694     | 213499      | BB       |
| TOTALS: |           | 100.0000  |            | 1864360     |          |

MULTIPLIER: 1.00000

NOTES:

UAFE SON 0.64

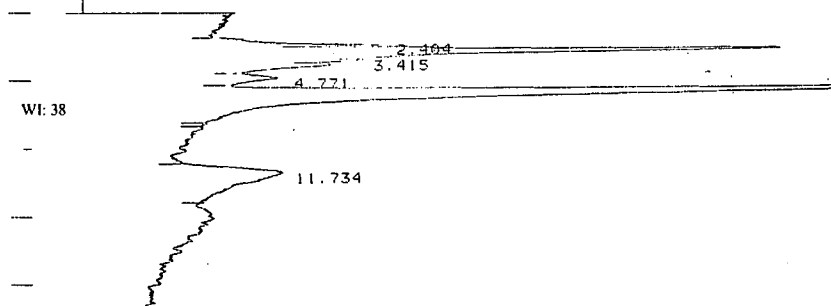
TALO STRESS HIDRICO.

0.5 HORAS

## ANEXO 2

CHART SPEED 0.3 CM/MIN

ATTEN: 32 ZERO: 20% 5 MIN/TICK



**TITLE: SUSTANCIAS LIQUENICAS**

**17:59 26 APR 88**

**CHANNEL NO: 3**

**SAMPLE: ABEDUL**

**METHOD: M. ESTRELLA**

| PEAK NO | PEAK NAME | RESULT %A | TIME (MIN) | AREA COUNTS | SEP CODE |
|---------|-----------|-----------|------------|-------------|----------|
| 1       |           | 4.3752    | 2.404      | 121788      | BV       |
| 2       |           | 24.9303   | 2.863      | 693957      | VV       |
| 3       |           | 3.2773    | 3.415      | 91226       | VV       |
| 4       |           | 5.5596    | 3.814      | 154757      | VV       |
| 5       |           | 4.0900    | 4.711      | 113850      | VV       |
| 6       |           | 44.7632   | 5.844      | 1246020     | VB       |
| 7       |           | 13.0043   | 11.734     | 361987      | BB       |
| TOTALS: |           | 99.9999   |            | 2783590     |          |

**MULTIPLIER: 1.00000**

**NOTES:**

UAFE SON 0.64

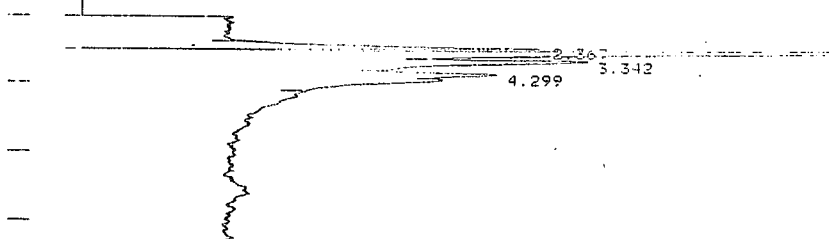
TALO STRESS HIDRICO.

0.5 HORAS

### ANEXO 3

CHART SPEED 0.3 CM/MIN

ATTEN: 32 ZERO: 20% 5 MIN/TICK



**TITLE: SUSTANCIAS LIQUENICAS**

**22:04 4 MAY 88**

**CHANNEL NO: 3**

**SAMPLE: ABEDUL**

**METHOD: M. ESTRELLA**

| PEAK<br>NO | PEAK<br>NAME | RESULT<br>%A | TIME<br>(MIN) | AREA<br>COUNTS | SEP<br>CODE |
|------------|--------------|--------------|---------------|----------------|-------------|
| 1          |              | 14.6395      | 2.367         | 409321         | BV          |
| 2          |              | 35.9058      | 2.661         | 1003930        | VV          |
| 3          |              | 27.6958      | 3.342         | 774377         | VV          |
| 4          |              | 12.3625      | 4.299         | 345658         | VV          |
| 5          |              | 9.3964       | 4.546         | 262725         | VB          |
| TOTALS:    |              | 100.0000     |               | 2796010        |             |

**MULTIPLIER: 1.00000**

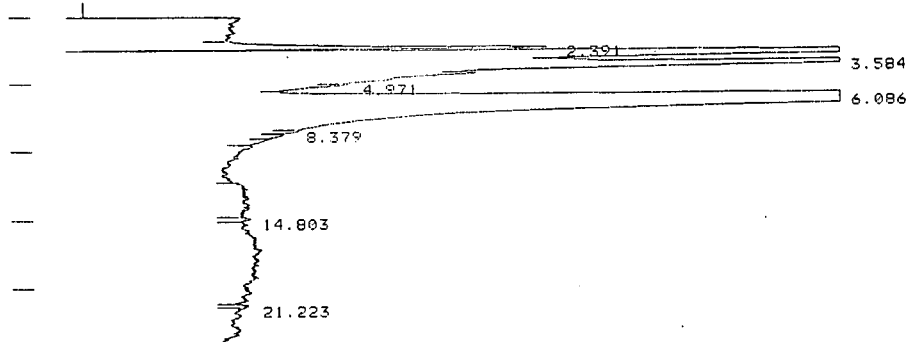
**NOTES:**

UAFE SON 0.64

E. PRUNASTRI INCUBADO EN S04CA VARIABLE.

# ANEXO 4

CHART SPEED 0.3 CM/MIN  
ATTEN: 32 ZERO: 20% 5 MIN/TICK



**TITLE: SUSTANCIAS LIQUENICAS**

**23:15 4 MAY 88**

**CHANNEL NO: 3**

**SAMPLE: ABEDUL**

**METHOD: M. ESTRELLA**

| PEAK NO | PEAK NAME | RESULT %A | TIME (MIN) | AREA COUNTS | SEP CODE |
|---------|-----------|-----------|------------|-------------|----------|
| 1       |           | 4.3711    | 2.391      | 375471      | BV       |
| 2       |           | 18.0449   | 2.845      | 1550040     | VV       |
| 3       |           | 19.1030   | 3.584      | 1640930     | VV       |
| 4       |           | 8.3574    | 4.225      | 717892      | VV       |
| 5       |           | 3.2283    | 4.971      | 277308      | VV       |
| 6       |           | 46.7599   | 6.086      | 4016640     | VV       |
| 7       |           | 0.0245    | 8.379      | 2103        | T        |
| 8       |           | 0.0253    | 8.653      | 2173        | T        |
| 9       |           | 0.0589    | 14.803     | 5057        | BB       |
| 10      |           | 0.0269    | 21.223     | 2308        | BB       |
| TOTALS: |           | 100.0000  |            | 8589920     |          |

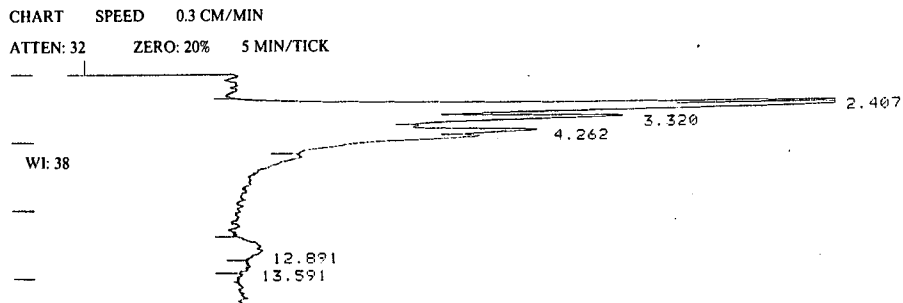
MULTIPLIER: 1.00000

NOTES:

UAFE SON 0.64

E. PRUNASTRI INCUBADO EN S04CA VARIABLE.

## ANEXO 5



**TITLE: SUSTANCIAS LIQUENICAS**

**22:23 4 MAY 88**

**CHANNEL NO: 3**

**SAMPLE: ABEDUL**

**METHOD: M. ESTRELLA**

| PEAK NO | PEAK NAME | RESULT %A | TIME (MIN) | AREA COUNTS | SEP CODE |
|---------|-----------|-----------|------------|-------------|----------|
| 1       |           | 16.9968   | 2.407      | 408146      | BV       |
| 2       |           | 31.3953   | 2.593      | 753899      | VV       |
| 3       |           | 18.7331   | 3.320      | 449840      | VV       |
| 4       |           | 16.1530   | 4.262      | 387884      | VV       |
| 5       |           | 11.9103   | 4.673      | 286004      | VB       |
| 6       |           | 3.9950    | 12.891     | 95933       | BV       |
| 7       |           | 0.8164    | 13.591     | 19604       | VB       |
| TOTALS: |           | 99.9999   |            | 2401310     |          |

**MULTIPLIER: 1.00000**

**NOTES:**

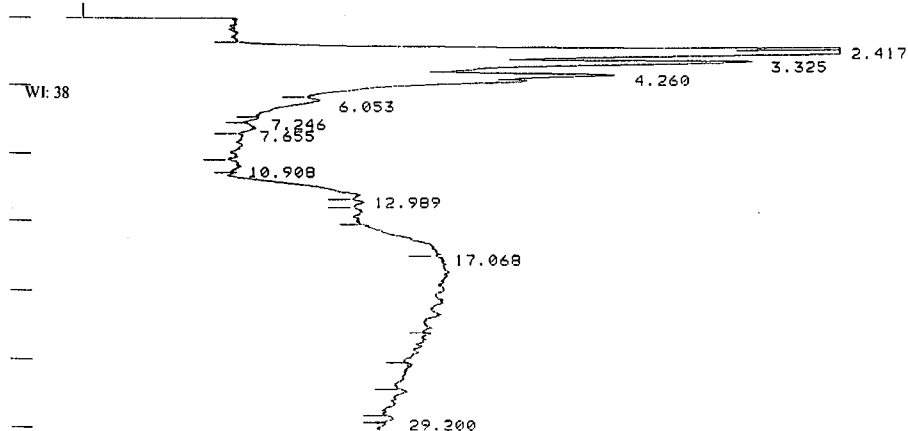
UAFE SON 0.64

E. PRUNASTRI INCUBADO EN S04CA VARIABLE.

# ANEXO 6

CHART SPEED 0.3 CM/MIN

ATTEN: 32 ZERO: 20% 5 MIN/TICK



TITLE: SUSTANCIAS LIQUENICAS

22:41 4 MAY 88

CHANNEL NO: 3

SAMPLE: ABEDUL

METHOD: M. ESTRELLA

| PEAK NO | PEAK NAME | RESULT %A | TIME (MIN) | AREA COUNTS | SEP CODE |
|---------|-----------|-----------|------------|-------------|----------|
| 1       |           | 13.5230   | 2.417      | 488019      | BV       |
| 2       |           | 26.3208   | 2.598      | 949869      | VV       |
| 3       |           | 21.4954   | 3.325      | 775728      | VV       |
| 4       |           | 11.8934   | 4.260      | 429211      | VV       |
| 5       |           | 14.4958   | 4.633      | 523127      | VV       |
| 6       |           | 5.0174    | 6.053      | 181068      | VV       |
| 7       |           | 0.4257    | 7.246      | 15363       | VV       |
| 8       |           | 0.6387    | 7.655      | 23049       | VB       |
| 9       |           | 0.3959    | 10.908     | 14288       | BV       |
| 10      |           | 2.7957    | 12.989     | 100893      | VV       |
| 11      |           | 0.7612    | 13.519     | 27471       | VB       |
| 12      |           | 1.8826    | 17.068     | 67939       | BB       |
| 13      |           | 0.3542    | 29.200     | 12784       | BB       |
| TOTALS: |           | 99.9998   |            | 3608810     |          |

MULTIPLIER: 1.00000

NOTES:

UAFE SON 0.64

E. PRUNASTRI INCUBADO EN S04CA VARIABLE.

## BIBLIOGRAFIA

- ASCASO, C.; GONZALEZ, C., y VICENTE, C., 1980.- Epiphytic *Evernia prunastri* (L.) Ach.: Ultrastructural facts. **Cryptog., Bryol. Lichenol.** 1: 43-51.
- BONIER, G., 1989.- Recherches sur la synthese des lichens. **Ann. Sci. Nat. Bot. ser.** 7,9: 1-32.
- ESTEVEZ, M. P.; ORUS, M. I., y VICENTE, C., 1980.- Estudios morfológicos sobre *Evernia prunastri* de vida saprofítica. **Cryptog., Bryol. Lichenol.** 1: 33-41.
- ESTEVEZ, M. P., y ORUS, M. I., 1981.- Localización de  $\beta$ -1,4 glucanasa de *Evernia prunastri*. **IV Reunión de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal.** Salamanca.
- ORUS, M. I., y ASCASO, C., 1982.- Localización de hifas líquénicas en los tejidos conductores de *Quercus rotundifolia* Lam. **Collectanea Botanica.** 13: 325-338.
- OZENDA, P., y CLAUZADE, G., 1970.- *Les lichens, étude biologique et flore illustrée.* Masson. Paris.
- PORTER, L., 1971.- On the attachment organs of de common corticolous Ramalinae. **Proc. Roy. Irish. Acad. sect. B.** 34: 205-211.
- RAPSCH, S., y ASCASO, C., 1985.- Alteraciones morfológicas y estructurales de cloroplastos de *Fagus sylvatica* L. en relación con la presencia de densas poblaciones líquénicas. **Ann Edaf. y Agrobio.** Tomo XLIV: 1-2. Madrid.
- RUIZ DE LA TORRE, J., 1971.- *Arboles y arbustos de la España Peninsular.* Inst. For. Invest. y Exper. Esc. Tec. Sup. Ing. de Montes. Madrid. p. 190.
- VICIOSO, C., 1911.- Plantas aragonesas. **Bol. Soc. Aragonesa Cienc. Nat. T.X.** n.º 3-4 Zaragoza.
- YAGUE, E.; ORUS, M. I., y ESTEVEZ, M. P., 1984.- Extracellular polysaccharidases synthesized by the epiphytic lichen *Evernia prunastri* (L.) Ach. **Planta.** 160: 212-216.