

## Ectomicorrizas en dos plantaciones truferas de encina (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) en Castellón

J. A. DOMÍNGUEZ NÚÑEZ, J. A. RODRÍGUEZ BARREAL, J. A. SAIZ DE OMEÑACA

Se han analizado las ectomicorrizas de dos plantaciones de *Quercus ilex* de cuatro años de edad, inoculadas artificialmente con el hongo de micorrización *Tuber melanosporum* (Trufa negra) y situadas en el termino municipal de El Toro (Castellón) en dos zonas de ecología similar, pero una de las parcelas en un antiguo suelo agrícola y la otra en un suelo forestal. Después de cuatro años, el hongo *Tuber melanosporum* ha permanecido y colonizado las raíces de la planta inoculada, aunque la presencia de hongos como *Tuber aestivum*, y *AD* podría suponer, en el futuro, una potencial competencia para *Tuber melanosporum*. El anterior uso de suelo de cada parcela podría haber definido los hongos de micorrización autóctonos, aunque no influyó en la colonización de *Tuber melanosporum*.

J. A. DOMÍNGUEZ NÚÑEZ, J. A. RODRÍGUEZ BARREAL, J. A. SAIZ DE OMEÑACA. U.D. Patología Forestal. Dpto. Silvopascicultura. E.T.S. Ingenieros de Montes. Universidad Politécnica de Madrid. Av/ Ciudad Universitaria s/n. 28040, Madrid. Tfo.: 91 336 71 03. E-mail: jadonu@terra.es

**Palabras clave:** *Quercus ilex*, *Tuber melanosporum*, plantación forestal, ectomicorriza, identificación.

### INTRODUCCIÓN

El hongo de micorrización *Tuber melanosporum* (trufa negra) tiene una importancia indiscutible desde el punto de vista económico, pero también social y ecológico. Las plantaciones truferas no necesitan de terrenos de gran calidad; la trufa es un complemento de rentas agrícolas especialmente en áreas de montaña donde es más difícil encontrar cultivos sustitutos de los tradicionales. Su aprovechamiento permite compatibilizar esta actividad con otras labores agrícolas o ganaderas. Con el cultivo de la trufa se establecen repoblaciones forestales con especies autóctonas no pirófilas y se mejora el paisaje rural. La trufa es un producto gastronómico de máxima calidad. Además, el cultivo de la trufa es ecológico,

alterando mínimamente el medio ambiente, y favorece el mantenimiento de la presencia humana en el medio rural. El establecimiento de repoblaciones de quercíneas micorrizadas con *Tuber melanosporum* en hábitats del área mediterránea puede ayudar al mantenimiento y colonización del hongo *Tuber melanosporum* en el ecosistema del suelo, asegurar y mejorar las repoblaciones con quercíneas en el área mediterránea, y en el caso de hábitats truferos, producir los apreciados carpóforos.

Sin embargo, aún es escaso el conocimiento sobre la ecología y dinámica de las poblaciones de ectomicorrizas en ambiente mediterráneo, tanto procedentes de la micorrización natural (GARCÍA, 1998; DE ROMÁN *et al.*, 1999), como artificial y su evolución en campo (DE MIGUEL y SÁEZ, 1997; ETAYO

y DE MIGUEL, 1998; ETAYO *et al.*, 1999; ÁGUEDA *et al.*, 2001).

En el presente trabajo se estudia las ectomicorrizas a los primeros cuatro años de edad de plantaciones experimentales de *Quercus ilex* inoculadas artificialmente con *Tuber melanosporum*, en dos localidades de ecología similar en la comunidad valenciana (España). Dichas parcelas pertenecen a un grupo de parcelas micorrizadas con *T. melanosporum* en la Comunidad Valenciana, cuyo seguimiento realizan los autores desde el año 1997 (RODRÍGUEZ *et al.*, 1999; DOMÍNGUEZ, 2002; DOMÍNGUEZ *et al.*, 2004). Una de las parcelas se situó sobre un antiguo terreno agrícola, y la otra dentro de un monte productor de trufa negra. El objetivo general de este estudio fue conocer el grado de adaptación de *Tuber melanosporum*, caracterizando las poblaciones de ectomicorrizas, y relacionando el grado de estabilidad y permanencia de *Tuber melanosporum* después de cuatro años, según el uso del suelo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Producción de la planta*

La planta de *Quercus ilex*, fue producida en las instalaciones de la ETSI Montes de Madrid en la primavera de 1997, en contenedores ForestPot de 400 ml, base de sustrato de mezcla de turbas rubia y negra tipo *Sphagnum* y vermiculita en proporción 3:1, con 3% en peso de CO<sub>3</sub>Ca y 1% en peso de KOH. El sustrato, antes del semillado, fue previamente esterilizado en autoclave a 120° C durante 3 horas. La semilla de *Quercus ilex* (procedencia de la Sierra de Espadan, Castellón, España) fue recolectada en otoño del año anterior, se conservó en cámara fría a 4 °C hasta el semillado. La semilla fue seleccionada y esterilizada. El semillado se realizó en febrero y marzo. Desde el semillado, la planta permaneció en invernadero, con riego diario a capacidad de campo y temperatura de cultivo uniforme. Se produjeron un total de 646 plantas. El 60% de la planta producida fue inoculada con esporas de *Tuber melanosporum* Vitt, dejando el resto (40%) como control. El inó-

culo de trufa negra se preparó a partir de carpóforos procedentes de Molina de Aragón (Guadalajara), recolectados en enero del 1997, que se identificaron, seleccionaron, limpiaron y esterilizaron superficialmente. Posteriormente se preparó una solución esporal que se almacenó a 4°C hasta el momento de la inoculación. Se aplicaron dos inoculaciones con un total de 5 gr en peso fresco de carpóforo de trufa por planta, siendo la primera inoculación a finales de abril, y la segunda a finales de junio. A partir de la primera inoculación, la planta se sacó a un recinto exterior con control de riego diario a capacidad de campo.

Al final del periodo de cultivo en vivero, se analizó la planta (noviembre 1997), realizando un control de la micorrización para comprobar el nivel de colonización con *Tuber melanosporum* y de otros hongos de micorrización competidores, obteniendo niveles adecuados para la implantación en campo, así como crecimientos significativamente mayores de la planta inoculada frente al control (DOMÍNGUEZ, 2002).

### *Descripción de los sitios, diseño experimental y plantaciones*

#### **Parcela El Toro**

El área experimental de unos 1150 m<sup>2</sup> fue situado en el termino municipal de El Toro, provincia de Castellón, a 1000 m de altitud y coordenadas 39° 59' N, 0° 44' W. El clima es mediterráneo, moderadamente cálido, seco, de inviernos frescos. En los alrededores predominan los cultivos agrícolas, con presencia de matorral de *Ulex parviflorus*, *Genista scorpius* y *Erinacea anthyllis*. Los suelos son calizos del tipo Xerochrept (USDA, 1985), de textura franco-arcilloso-arenosa. La precipitación media anual es de unos 600 mm, la precipitación media estival de 48 mm, la temperatura media anual de 13°C, y la evapotranspiración potencial de unos 775 mm/año. El terreno es prácticamente llano.

Se estableció un diseño dirigido, con 3 repeticiones de 7 plantas control y 4 repeticiones de 7 plantas inoculadas con *Tuber*

*melanosporum*, en filas separadas entre sí por 4 m. y alternas por cada tratamiento. La plantación se realizó el 24-11-97. Previamente se realizó un laboreo superficial y a profundidad con bisurco y cultivador a 40 cm. Posteriormente se realizaron hoyos de 50x50x50 cm en un marco de plantación de 4x6 metros. Se establecieron unas 420 plantas/ha. Se aplicaron riegos de unos 10-15 l./planta en la fecha de plantación, junio, julio y agosto de 1998, 1999, 2000 y 2001.

### **Parcela El Palancar Alto**

El área experimental de unos 3500 m<sup>2</sup> se situó en una zona abierta del monte El Palancar en el término municipal de El Toro (Castellón, España), a 1000 m de altitud y coordenadas 40° 02' N, 0° 44' W. El clima es mediterráneo, moderadamente cálido, seco, de inviernos frescos. El monte es tradicionalmente de producción trufera. Dominan las formaciones arbóreas de *Quercus ilex rotundifolia*, *Quercus faginea* y *Pinus nigra*, con matorral de *Brachypodium retusum*, *Genista scorpius* y *Quercus ilex rotundifolia*. Suelos calizos del tipo Xerochrept (USDA, 1985) de textura arcillosa ligera. Precipitación media anual de 625 mm, precipitación media estival de 40 mm, temperatura media anual de 13°C y ETP de 785 mm/año. Terreno prácticamente llano.

Se estableció un diseño dirigido, con 3 repeticiones de 9 a 13 plantas control y 3 repeticiones de 10 a 13 plantas inoculadas, en filas separadas por 7 m y alternas por cada tratamiento. La plantación se realizó el día 25-11-97. Previamente se realizó laboreo previo superficial y a profundidad con bisurco a 40 cm y cultivador cruzado. Se realizaron hoyos de 50x50 x50 cm en un marco de plantación de 7x7 m. Se establecieron unas 200 plantas/ha. Se aplicaron riegos de unos 10-15 l./planta en la fecha de plantación, junio, julio y agosto de 1998, 1999, 2000 y 2001.

### **Muestreo y Procedimientos de laboratorio**

Cuatro años después de las plantaciones (diciembre 2001) se realizaron muestreos

radicales en 4 plantas al azar por cada tratamiento y parcela. Cada muestreo, de tres replicas cada uno, se realizó mediante un sacabocados cilíndrico de 4 cm de diámetro y 10 cm de largo, tomando una muestra total de suelo de unos 377 cm<sup>3</sup>/planta; se muestreó entre los 10-20 cm de profundidad en la periferia de la proyección de la copa de la planta. Cada muestra se guardó en bolsa de polietileno cerrada y de almacenó en cámara a 4°C hasta su posterior análisis en laboratorio. Se caracterizaron los morfotipos de ectomicorrizas presentes, tratando de identificarlos siguiendo las directrices de diversos autores (AGERER, 1987-98; BENCIVENGA *et al.*, 1995; DONNINI AND BENCIVENGA, 1995; GOODMAN *et al.*, 1996-2000; GRANETTI, 1995; INGLEBY *et al.*, 1990; MEOTTO *et al.*, 1995; SÁEZ y DE MIGUEL, 1995, DE ROMÁN y DE MIGUEL, 2000; VOIRY, 1981).

Se realizó el conteo del número total de ápices micorrizados y no micorrizados de cada muestra de suelo, se calcularon las tasas de micorrización de *Tuber melanosporum* y del resto de hongos ectomicorrícicos. La tasa de micorrización de *Tuber melanosporum* se expresó como número total de ápices micorrizados de *Tuber melanosporum* (T) respecto al número total de ápices no micorrizados (N) + número de ápices micorrizados con hongos contaminantes (C) + T, es decir,  $\%T = 100 * (T / (N + C + T))$ . La tasa de micorrización de hongos contaminantes se calculó de la misma manera. Se trataron de identificar los hongos de micorrización descritos. Además se estableció el parámetro "Riqueza de Ectomicorrizas" (RE) definido por el número de morfotipos de ectomicorrizas por planta. Se complementó cada análisis con la realización de fotografías de los elementos de identificación de la micorriza.

### **Análisis estadístico**

Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa *Statgraphics plus*. Se realizó un análisis de varianza ANOVA multifactorial para definir interacciones entre factores. Se calcularon las medias de los parámetros propuestos y un test de com-

paración de medias por Scheffé o Tukey, para un nivel de confianza del 0,1, 0,05 y 0,01 %. En caso de varianzas no homogéneas se aplicó test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

## RESULTADOS

### *Micorrización cuatro años después de la plantación*

#### 1. Caracterización de ectomicorrizas

Del muestreo total de raíces se caracterizaron los siguientes tipos de ectomicorrizas:

##### *Tuber melanosporum* Vitt.

Micorrizas simples o con ramificación monopodica, pinnada o piramidal, de ápices redondeados. Color marrón ocre, o ámbar oscuro. Superficie suave o lisa, a veces con micelio extramatricial algodonoso. Manto fúngico de tipo pseudoparenquimático en puzzle. Hifas hialinas de 3-5  $\mu\text{m}$  de ancho, de ramificación perpendicular, y tabiques simples, sin fíbulas. No rizomorfos. A veces con espínulas o cistidios alargados y ramificados en ángulo recto (Figs.1 y 2).

##### *Thelephora terrestris* (Ehrh.) Fr.

Micorrizas simples, de color marrón-rosáceo o nácar-rosáceo; superficie del manto algo céreo, algodonoso y a veces brillante. Micelio extramatricial alrededor de toda la micorriza, de igual longitud, aproximadamente de  $1/2$  el ancho de la micorriza. Manto fúngico difícilmente distinguible, posiblemente de tipo pseudoparenquimático. Hifas hialinas de 3-5  $\mu\text{m}$  de ancho, distribuidas uniformemente a lo largo de la micorriza, cortas, agudas, con fíbulas en la base de la hifa. No rizomorfos (Figs. 3 y 4).

##### *Tuber aestivum* Vitt.

Micorrizas simples o pinnadas en perpendicular, color de marrón anaranjado a marrón oscuro, con micelio algodonoso abundante de color algo marrón claro. Manto fúngico pseudoparenquimático de tipo poligonal bien marcado. Hifas extramatriciales de color algo marrón claro, bien marcadas de

3-5  $\mu\text{m}$  de ancho, flexibles y largas, sin apenas ramificaciones que terminan en un pequeño ensanchamiento, con tabiques simples sin fíbulas (Figs. 5 y 6).

##### *AD (Angle Droit; Giraud, 1988)*

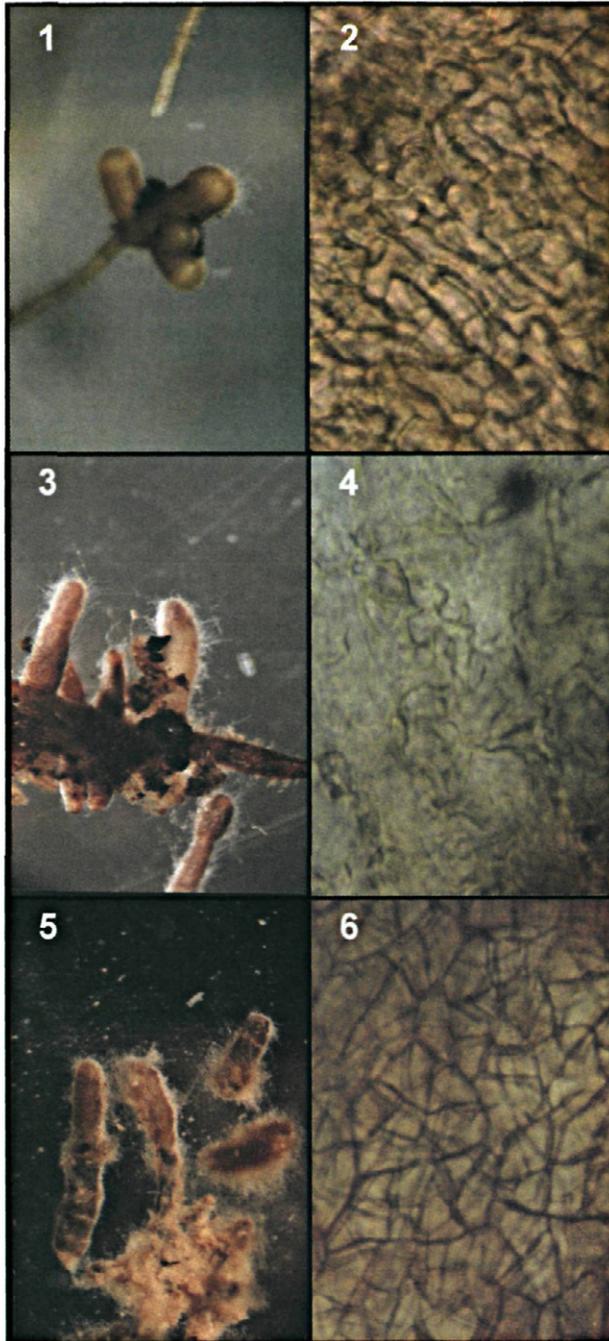
Micorriza simple, a veces tortuosa, de color marrón anaranjado a marrón oscuro. Superficie de la micorriza rugosa o pedregosa, con micelio extramatricial algodonoso con algo de coloración marrón claro. Manto fúngico pseudoparenquimático poligonal. Micelio extramatricial formado por hifas hialinas de coloración algo oscura, en ramificación perpendicular, bien marcadas, con tabiques simples, sin fíbulas, y ancho hifal de 3-8  $\mu\text{m}$ . (Figs. 7 y 8).

##### *Morfotipo Q1*

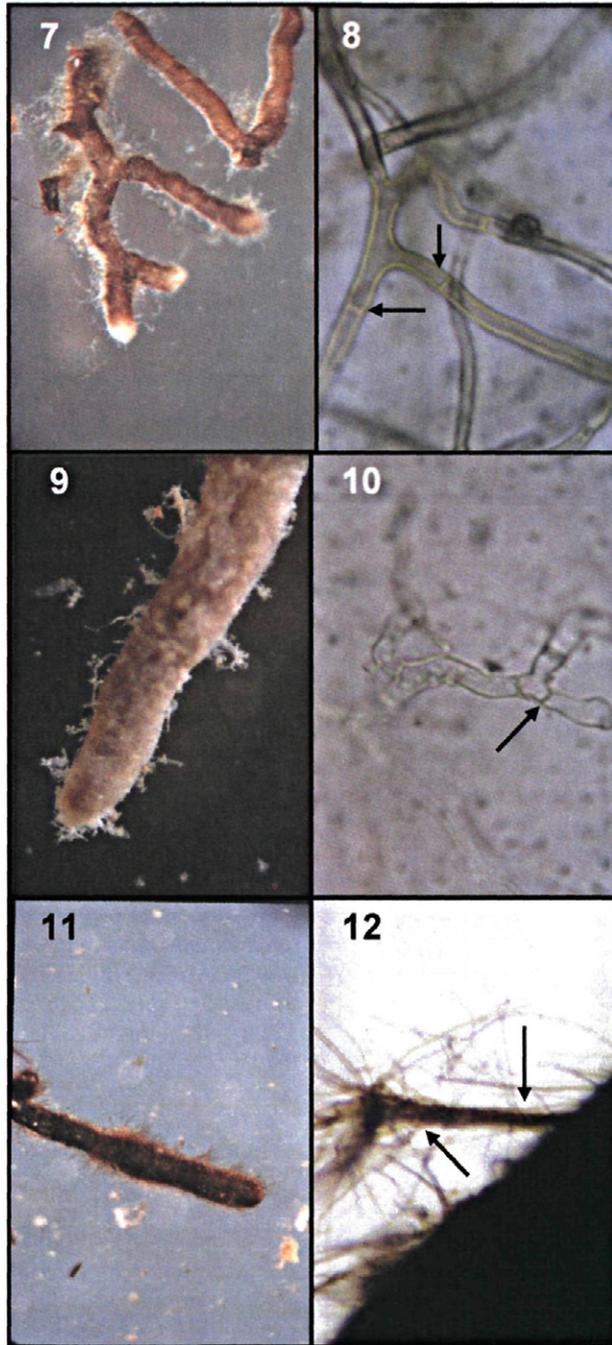
Micorriza simple o pinnada de ramificación perpendicular o algo angulosa; micorrizas hasta muy largas. Color nacar-marrón claro o nácar-verdoso claro. Superficie de la micorriza algo cérea o algodonosa. Micelio extramatricial repartido de forma irregular, con aspecto de estar en jirones o desprendido. Podría presentar rizomorfos de color amarillo claro. Manto fúngico poco definido, más bien pseudoparenquimático poligonal. Hifas extramatriciales con tabiques simples, sin fíbulas, hifas hialinas transparentes, a veces con ensanchamientos en forma de codo; hifas de unas 5-10  $\mu\text{m}$  de ancho. A veces se presentan estrechamientos de las hifas a la altura del tabique (Figs. 9 y 10). No identificada.

##### *Morfotipo Q2*

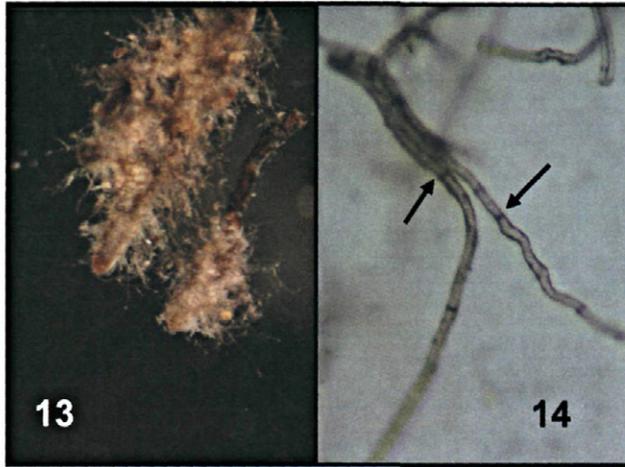
Micorrizas hasta muy grandes, generalmente de ramificación simple, a veces apuntadas en el extremo, de color marrón oscuro o negro. Superficie pelosa-rugosa muy marcada a lo largo de toda la micorriza. Hifas muy marcadas y rígidas distribuidas uniformemente a lo largo de la micorriza, aparentemente claras, y de longitud aproximada de  $1/2$  ancho de la micorriza. Presencia de rizomorfos hasta muy anchos de color marrón formando una verdadera malla. Manto negro no perceptible por la ocupación



Figuras 1-2. Ectomicorrizas de *Tuber melanosporum* Vitt. 1. Vista general (20x). 2. Detalle del manto fúngico (600x).  
 Figuras 3-4. Ectomicorrizas de *Telephora terrestris* (Ehrh.) Fr. 3. Vista general (20x). 4. Detalle del manto fúngico (600x).  
 Figuras 5-6. Ectomicorrizas de *Tuber aestivum* Vitt. 5. Vista general (20x). 6. Detalle del manto fúngico (600x).



Figuras 7-8. Ectomicorrizas de AD (Angle Droit; Giraud, 1988). 7. Vista general (20x). 8. Detalle de hifas en ramificación perpendicular y tabiques simples (600x). Figuras 9-10. Ectomicorrizas de Q1. 9. Vista general (40x). 10. Detalle de estrechamiento de las hifas en zona de tabicación simple (600x). Figuras 11-12. Ectomicorrizas de Q2. 11. Vista general (20 x). 12. Detalle de rizomorfo (150x).



Figs. 13-14. Ectomicorrizas de Q3. 13. Vista general (20x). 14. Detalle de hifas con tabicación simple (600x)

uniforme de hifas rígidas, aunque pudiera ser pseudoparenquimático poligonal con formaciones hifales. Hifas extramatriciales de tabiques con y sin fíbulas, de extremo apuntado, y de 3-5  $\mu\text{m}$  de ancho (Figs. 11 y 12). No identificada

### Morfotipo Q3

Micorrizas simples de color marrón oscuro poco perceptibles por una capa abundante de micelio algodonoso de color marrón-claro en el que se entrelazan hifas algo más oscuras. Superficie de la micorriza algo pedregosa poco visible y extremo de la micorriza a veces algo apuntado. Manto fúngico no visible aunque pudiera ser de tipo plectenquimático. Hifas extramatriciales formando un micelio abundante; hifas de unas 3-5  $\mu\text{m}$  de ancho, de color algo oscuras y tabiques simples. Hifas apenas sin ramificaciones. Sin rizomorfos (Figs. 13 y 14). No identificada

### 2. Cuantificación de ectomicorrizas

Después de 4 años desde la implantación, el análisis de ectomicorrizas muestreadas en diciembre de 2001 en las parcelas de *El Toro* y *Palancar* reflejó los resultados representados en la Fig. 15., y Cuadros 1, 2 y 3. No se produjeron interacciones entre el factor ino-

culación y el factor parcela. No parece que el origen de la parcela influyera en el número ni en la riqueza de ápices micorrizados, pero el factor inoculación influyó de forma significativa en el número de ápices micorrizados de *Tuber melanosporum* (obviamente) y en el de otros hongos ectomicorrizicos.

En la parcela de *El Toro* se encontró una media total de 125 y 68 ápices micorrizados en planta control e inoculada respectivamente (en 377  $\text{cm}^3$  de suelo), y no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos. El número medio de ápices micorrizados de *Tuber melanosporum* en planta inoculada fue de 64. El número medio de ápices de otros hongos de micorrización fue de 125 y 4 en planta control e inoculada respectivamente, y se produjeron diferencias significativas entre tratamientos. Se obtuvieron tasas de micorrización (Fig. 15) del 96 % de *Tuber melanosporum* y 4 % de Q1 en planta inoculada. En planta control las medias fueron del 51 % en AD, 24 % en Q1, 15 % en Q3 y 10 % en Q2.

En la parcela de *El Palancar*, se obtuvo una media total de 49 y 132 ápices micorrizados por planta control e inoculada respectivamente (en 377  $\text{cm}^3$  de suelo), y no se presentaron diferencias significativas entre

Cuadro 1. Análisis ANOVA. Cuantificación de ectomicorrizas

Factor	Total ectomicorrizas	<i>Tuber melanosporum</i>	Otras ectomicorrizas	Riqueza ectomicorrícica
Inoculación	NS	***	**	NS
Parcela	NS	NS	NS	NS
Interacción	NS	NS	NS	NS

NS, \* , \*\* y \*\*\* indican diferencias no significativas, o significativas con  $p < 0,1$ , 0,05 y 0,01, respectivamente.

Cuadro 2. Análisis de ectomicorrizas en la parcela de *El Toro*: N° de ectomicorrizas por muestra de suelo (377 cm<sup>3</sup>)

<i>El Toro</i>	Total ectomicorrizas	<i>Tuber melanosporum</i>	Otras ectomicorrizas	Riqueza ectomicorrícica
Control	125 (± 67) a	0 b	125 (± 67) a	1,5 (± 0,3) a
Inoculada	68 (± 26) a	64 (± 24) a	4,0 (± 4) b	1,5 (± 0,3) a

Valores entre paréntesis reflejan el error estándar. N=4

Valores de una misma columna con diferente letra, difieren significativamente ( $p < 0,05$ ) según test de Tukey.

Cuadro 3. Análisis de ectomicorrizas en la parcela de *Palancar*: N° de ectomicorrizas por muestra de suelo (377 cm<sup>3</sup>)

<i>Palancar</i>	Total ectomicorrizas	<i>Tuber melanosporum</i>	Otras ectomicorrizas	Riqueza ectomicorrícica
Control	49 (± 17) a	0 b	49 (± 17) a	1,5 (± 0,3) a
Inoculada	132 (± 48) a	130 (± 47) a	2 (± 2) b	1,25 (± 0,2) a

Valores entre paréntesis reflejan el error estándar. N=4

Valores de una misma columna con diferente letra, difieren significativamente ( $p < 0,05$ ) según test de Tukey.

tratamientos. El número medio de ápices micorrizados de *Tuber melanosporum* en planta inoculada fue de 130. El número medio de ápices micorrizados de otros hongos de micorrización fue de 49 y 2 en planta control e inoculada, respectivamente, y se produjeron diferencias significativas entre tratamientos. Las tasas de micorrización (Fig. 15) fueron del 99 % de *Tuber melanosporum* y 1 % de *Telephora terrestris* en planta inoculada. En planta control fueron 46 % de *Tuber melanosporum*, 32 % de *Tuber aestivum* y 23 % de *Telephora terrestris*.

## DISCUSIÓN

En nuestro estudio, las dos parcelas estudiadas corresponden a dos zonas con ecología muy parecida, si bien una de las parcelas correspondía a un monte natural y la otra había sido explotada anteriormente con cul-

tivos agrícolas, y por tanto el suelo tenía un historial diferente. En nuestros ensayos, y aunque los suelos de las parcelas de *El Toro* y *Palancar* tenían, previamente a la plantación (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2004), unas relaciones carbono/nitrógeno inferiores a los valores normales en suelos truferos según la bibliografía tradicional (REYNA, 1999), este aspecto no parece haber influido en la permanencia de la simbiosis con *Tuber melanosporum*, según los resultados de los análisis de micorrizas.

En el análisis de ectomicorrizas, y según el contraste realizado, el origen de la parcela (antiguo cultivo agrícola en *El Toro*, y monte trufero en *El Palancar*), no parece haber influido en la cantidad y riqueza de ectomicorrizas, aunque los hongos de micorrización encontrados fueron totalmente diferentes entre ambas parcelas, a excepción claro está, de *Tuber melanosporum*. Por otra parte,

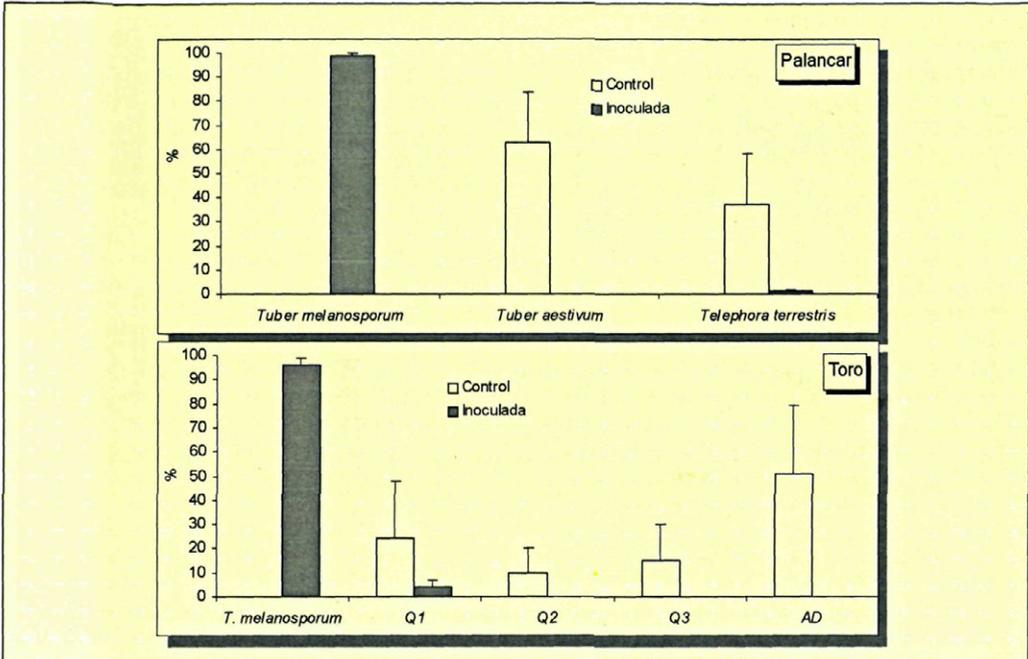


Figura 15. Cuantificación de ectomicorizas en las parcelas de El Toro y El Palancar. Las barras representan el error estándar. N=4

parece que la inoculación influyó de forma significativa en una disminución de la cantidad de otras ectomicorizas diferentes de *Tuber melanosporum* (es decir, autóctonas del lugar o procedentes de vivero), por una posible mayor competencia inicial de *T. melanosporum* (al menos durante los primeros 4 años desde la implantación).

El dominio de *T. melanosporum* en la planta inoculada fue muy claro. No se produjeron desplazamientos graves por otros hongos del ecosistema del suelo, aunque hongos identificados como *Tuber aestivum*, y AD podrían ser en el futuro importantes competidores de *Tuber melanosporum* (DI MASSIMO *et al.*, 1996; ETAYO y DE MIGUEL, 1998)

Aparentemente, la presencia inicial en vivero de hongos contaminantes como *Telephora terrestris*, *Sphaerospora brunnea* o *Laccaria laccata* (DOMÍNGUEZ, 2002) fue sustituida por otros hongos del ecosistema más competitivos que ellos, excepto en el

caso de *Telephora terrestris*, cuya presencia podría tener origen en vivero. De todas formas, la presencia de *Telephora terrestris* en planta inoculada fue casi despreciable a los 4 años de la implantación.

Como se observa del análisis de micorizas, una menor manifestación de la actividad de *Tuber melanosporum* en Palancar respecto de El Toro, tanto en la supervivencia como en el crecimiento (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2004) no ha tenido aparentemente una relación directa con la tasa de micorrización de este hongo, que en los dos casos ha sido alta, aunque el número de morfotipos de otros hongos encontrados fue levemente (aunque no de forma significativa) mayor en El Toro que en El Palancar.

Según los resultados obtenidos, podría ocurrir que en un suelo forestal (Palancar), aparentemente menos alterado que un antiguo cultivo agrícola (Toro), la aportación de la micorrización autóctona al crecimiento de la planta (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2004) haya sido

similar a la de la micorrización controlada con *Tuber melanosporum*, mientras que la micorrización autóctona en un suelo más alterado (*Toro*) pudiera aportar menor crecimiento a la planta que *Tuber melanosporum* (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2004). También pudiera ocurrir que la colonización con hongos autóctonos en la planta control requiriera de un tiempo durante el cual, la planta previamente inoculada dispusiera de una mayor ventaja para su instalación y crecimiento.

En definitiva, del análisis de ectomicorizas efectuado en las parcelas de *El Toro* y *Palancar* se observa que el hongo inoculado *Tuber melanosporum* permaneció y se estabilizó sobre la planta huésped desde que se realizó su implantación hace 4 años.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrolló gracias a los proyectos, mediante convenios entre la Universidad Politécnica de Madrid y la Fundación Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo C.E.A.M. y financiados por la Consellería de Medio Ambiente de la Comunidad Valenciana, denominados “Producción de plantas micorrizadas de calidad; implantación, mantenimiento y mejora de montes productores de trufa y otras setas” (1996-1999) y “Seguimiento de parcelas experimentales de planta forestal micorrizada” (2001-2004), dentro del Programa de Investigación y Desarrollo en Relación con la Restauración de la Cubierta Vegetal.

## ABSTRACT

DOMÍNGUEZ NÚÑEZ J. A., J. A. RODRÍGUEZ BARREAL, J. A. SAIZ DE OMEÑACA. 2005. Ectomycorrhizae occurring in evergreen oak (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) in two cultivated truffle bed in Castellón (Spain). *Bol. San. Veg. Plagas*, **31**: 147-157.

Two *Quercus ilex* plantations of four years of age have been studied. This plantations have been inoculated with the mycorrhizal fungus *Tuber melanosporum* (black Truffle) and located in *El Toro* (Castellón, Spain) in two zones of similar ecology; one parcel has been established in an old agricultural soil and the other parcel in a forest soil. Four years after, *Tuber melanosporum* ectomycorrhizal fungus has remained and has colonized the inoculated plants roots. *Tuber aestivum* fungus or *AD* fungus presence could suppose, in the future, a potential competition against *Tuber melanosporum*. The previous soil use in each parcel could have defined the native mycorrhizal fungi, although that did not influence in the *Tuber melanosporum* colonization.

**Key words:** *Quercus ilex*, *Tuber melanosporum*, reforestation, ectomycorrhizae, identification.

## REFERENCIAS

- AGERER R. 1987-1998. “Colour Atlas of Ectomycorrhizae”. Ed. Einhorn-Verlay (Munich).
- ÁGUEDA, B., FERNÁNDEZ, M. y MIGUEL, A.M. DE. 2001. Ectomicorizas presentes en la plantación trufera “Los Quejigares” (Soria). Actas del III Congreso Forestal Español. Granada.
- BENCIVENGA, M., DI MASSIMO, G., DONNINI, D. and TANFULLI, M. 1995. Micorrixe inquinanti frequenti nelle piante tartufigene: Nota 1-Inquinanti in vivaio. *Mic. Ital.*, **2**: 167-178.
- DI MASSIMO, G., GARCÍA-MONTERO, L.G., MANJÓN, J.L. y Díez, J., 1996. Hongos micorrícicos competidores de *Tuber melanosporum* Vitt. presentes en ecosistemas naturales y viveros del centro de España. *Boletín Sociedad Micológica de Madrid*, **21**: 189-199.
- DOMÍNGUEZ, J.A., 2002. Aportaciones de la micorrización artificial con trufa negra en planta forestal. Universidad Politécnica de Madrid. Tesis Doctoral. 402 pp.
- DOMÍNGUEZ, J.A., RODRÍGUEZ, J.A. y SAIZ DE OMEÑACA, J.A., 2004. Parcelas experimentales de *Quercus ilex* micorrizado con *Tuber melanosporum* en la Comunidad Valenciana. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**: 113-124.
- DONNINI, D., BENCIVENGA, M., 1995. Micorrixe inquinanti nelle piante tartufigene. Nota 2-Inquinanti in campo. *Micol. Ital.*, **2**: 185-207.
- ETAYO, M.L., y DE MIGUEL, A., 1998. Estudio de las ectomicorizas en una trufera cultivada situada en Olóriz (Navarra). *Publicaciones de Biología, Uni-*

- versidad de Navarra, *Serie Botánica*, **11**:55-114.
- ETAYO, M.L., MIGUEL, A.M. DE, ROMÁN, M. DE, 1999. Ectomycorrhizae occurring in hazel (*Corylus avellana* L.), Oak (*Quercus faginea* Lam.) and evergreen oak (*Quercus ilex* L. subsp. *Ballota* (Desf.) Samp) in a cultivated truffle bed along 4 sampling years. *Publicaciones de Biología, Universidad de Navarra, Serie Botánica*, **12**: 13-22.
- GARCÍA, G., 1998. Caracterización y aspectos dinámicos del componente ectomicorrícico de los ecosistemas forestales mediterráneos. Tesis Doctoral. Dpto. de Biología Vegetal. Universidad de Murcia. 641 pp.
- GIRAUD, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorrhizes. Pp. 49-63. In: CTIFL (ed.), *La truffe*, FNPT 10, Congrès de la trufficulture, Saintes, 27-28 novembre, 1987.
- GOODMAN, D.M., DURALL, D.M., TROFYMOW, J.A. AND BERCH, S.M., 1996-2000. A manual of concise descriptions of North American ectomycorrhizae. Mycologue Publications. British Columbia.
- GRANETTI, B., 1995. Caratteristiche morfologiche, biometriche e strutturali delle micorrize di *Tuber* di interesse economico. *Micol. Ital.*, **2**: 101-117.
- INGLEBY, K., MASON, P.A., LAST, F.T. AND FLEMING, L.V., 1990. Identification of ectomycorrhizas. *ITE. Research publication n°5*.
- MEOTTO, F.; NOSENZO, C.; FONTANA, A., 1995. Le micorrize delle specie pregiate di *Tuber*. *L'Informatore Agrario LI*, 31:41-45.
- MIGUEL, A.M. DE y SÁEZ, R., 1997. Análisis de micorrizas en trufas cultivadas de Navarra. *Publ. Biol. Univ. Navarra, Ser. Bot.* **10**: 11-18.
- REYNA, S., 1999. Aproximación a una Selvicultura Trufera. Universidad Politécnica de Madrid. Tesis Doctoral. 325 pp.
- RODRÍGUEZ J.A., REYNA, S., DOMÍNGUEZ, J.A., SAÍZ DE OMEÑACA, J.A., ZAZO, J., PÉREZ, R., GALIANA, F., 1999. Producción de Plantas Micorrizadas de Calidad; Implantación, Mantenimiento y Mejora de Rodales Productores de Trufa y Otras Setas. Reunión final 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). Castellón
- ROMÁN, M. DE y MIGUEL, A.M. DE. 2000. Identificación y descripción de las ectomicorrizas de *Quercus ilex* L. subsp. *Ballota* (Desf.) Samp. En una zona quemada y una zona sin alterar del carrascal de Nazar (Navarra). *Publicaciones de Botánica, Universidad de Navarra, Serie Botánica*, **13**: 1-42.
- ROMÁN, M. DE, MIGUEL, A.M. DE and ETAYO, M.L., 1999. Ectomycorrhizal morphotypes identified in two sites (burned and non-disturbed) in a *Quercus ilex* L. subsp. *Ballota* (Desf.) Samp. Forest in Navarra (Spain). *Publicaciones de Botánica, Universidad de Navarra, Serie Botánica*, **12**: 45-57.
- SAEZ, R. y DE MIGUEL, A. 1995. Guía práctica de truficultura. Ed. I.T.G. Agrícola S.A. y Universidad de Navarra. Pamplona. 94 pp. ISBN 84-235-1388-2
- USDA, 1985. Soil Taxonomy. A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys. Washington.
- VOIRY, H., 1981. Classification of ectomycorrhizae. En: Marks, G.C., Kozlowski, T.T. (eds.). *Ectomycorrhizae, their ecology and physiology*. Academic Press. New York. Pp. 43-78.

(Recepción: 3 mayo 2004)

(Aceptación: 17 noviembre 2004)