

PRIMEROS DATOS SOBRE LA REFORESTACIÓN DE UN ÁREA DE  
CARRASCAL QUEMADO CON PLANTAS DE *Quercus ilex* subsp.  
*ballota* INOCULADAS CON *Tuber melanosporum*.

DE ROMÁN, M. y DE MIGUEL, A.M.

Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra, 31080  
Pamplona, España.

**RESUMEN**

DE ROMÁN, M. y DE MIGUEL, A.M. Primeros datos sobre la reforestación de un área de carrascal quemado con plantas de *Quercus ilex* subsp. *ballota* inoculadas con *Tuber melanosporum*. *Publ. Bio. Univ. Navarra, Ser. Bot., 16: 19-40.*

Se ha llevado a cabo un estudio acerca de la comunidad micorrícica de *Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp. en un carrascal situado en Nazar (Navarra, España) afectado en parte por un incendio. En la zona quemada de este carrascal, que se encuentra dentro de la zona de distribución potencial de la trufa negra en Navarra, se ha introducido una serie de plantas de carrasca inoculadas en vivero con *Tuber melanosporum* Vitt. acompañadas por plantas no micorrizadas de forma artificial que actúan como control, para así analizar la permanencia del hongo inoculado y la posible competencia con otras especies ectomicorrícicas que se encuentren en el medio. A partir de los datos obtenidos en esta investigación se puede concluir que las micorrizas de *Tuber melanosporum* persisten al cabo de 3 años de su introducción en la zona quemada del carrascal de Nazar, aunque han de competir con otros hongos micorrícicos presentes en el ecosistema, por lo que *T. melanosporum* puede ser un hongo adecuado para su utilización como inóculo micorrícico de plantas de *Quercus ilex* subsp. *ballota* usadas para reforestar carrascales incendiados que se encuentren situados dentro del área de distribución potencial de la trufa negra en Navarra.

**Palabras clave:** *Quercus ilex*, ectomicorrizas, *Tuber melanosporum*, trufa negra, reforestación, incendio.

### SUMMARY

We have undertaken a study about the ectomycorrhizal community of *Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp. in a forest located in Nazar (Navarra, Spain), within the potential black truffle-occurring area in Navarra, and which got partially burned. In the burned area of this forest we introduced saplings of *Quercus ilex* subsp. *ballota* inoculated with *Tuber melanosporum* Vitt. as well as control saplings without any induced mycorrhization in order to analyse the permanence of the inoculated fungus and the possible competition with other ectomycorrhizal fungi naturally occurring in the area. Three years after the introduction of the saplings in the burned area, we have observed that the black truffle ectomycorrhizae persist in field conditions, although they must compete with other ectomycorrhizal fungi occurring in the ecosystem. *T. melanosporum* may be therefore an appropriate inoculum for plants used for reforestation purposes in areas in which the black truffle can potentially occur.

**Key words:** *Quercus ilex*, ectomycorrhizae, *Tuber melanosporum*, black truffle, reforestation, fire.

### 1. INTRODUCCIÓN

Partiendo de la base de que la práctica totalidad de las plantas forman micorrizas, es decir, necesitan de la presencia de hongos simbioses para sobrevivir en condiciones naturales, y de que la simbiosis micorrícica favorece la producción de biomasa y aumenta la resistencia de las plantas a las enfermedades (HONRUBIA *et al.*, 1992), sorprende que el uso de plantas inoculadas no sea aún una práctica extendida en la reforestación de zonas degradadas (McAFEE & FORTIN, 1986). Según KUEK (1994), esto es debido, por una parte, a la falta de estudios a gran escala que demuestren los beneficios económicos que esta práctica conlleva, y, por otra, a la carencia de productores comerciales del inóculo apropiado. A este respecto, GROVE & MALAJCZUK (1994) opinan que aún hace falta adoptar la inoculación como una técnica más dentro del manejo cotidiano en silvicultura, y MARTÍNEZ & SANTAMARGARITA (1999) consideran que la micorrización debería ser una práctica habitual en cualquier vivero como garantía de calidad de la producción.

La investigación en reforestación con plantas micorrizadas se ha centrado hasta ahora en seleccionar, propagar y manejar los hongos más adecuados para mejorar la supervivencia y crecimiento de la especie utilizada en la reforestación (GÓMEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2001; HONRUBIA *et al.*, 1992; MARX *et al.*, 1994), ya que no todas las especies de hongos son igual de beneficiosas para todos los simbiontes arbóreos. MIKOLA *et al.* (1973) ya postularon en su día que los mejores resultados se obtendrían

probablemente inoculando los hongos específicos del simbiote arbóreo que se vaya a utilizar, y no los hongos cosmopolitas y generalistas comúnmente empleados, como *Pisolithus tinctorius* y *Laccaria laccata*.

CASTELLANO (1996) revisó la literatura existente acerca del comportamiento en campo de plantas inoculadas, y llegó a la conclusión de que la investigación estaba concentrada en zonas geográficas relativamente pequeñas, en concreto la costa noroeste y el sureste de Estados Unidos, en unos pocos géneros de plantas, sobre todo coníferas como *Pinus* y *Pseudotsuga*, y en un grupo muy limitado de hongos, donde destaca *Pisolithus tinctorius* como hongo más inoculado. También PARLADÉ (1999), en su revisión centrada en los estudios realizados en Europa y España relacionados con el comportamiento en campo de la planta micorrizada, concluyó que la mayor parte de los ensayos se habían realizado con especies del género *Pinus*, y que el hongo más utilizado había sido *Pisolithus tinctorius*. Como trabajos más recientes realizados en España acerca del uso de plantas micorrizadas en reforestación mencionaremos dos llevados a cabo en el País Vasco, el de DUÑABEITIA *et al.* (2001) con *Fagus sylvatica*, *Quercus pyrenaica*, *Sorbus aucuparia* y *Betula celtiberica* inoculados con *Scleroderma* y *Lactarius*, y el de PASCUAL *et al.* (2001) con *Pinus radiata* micorrizado con *Rhizopogon luteolus* y *Scleroderma citrinum*.

Como se puede observar, existe una gran escasez de estudios centrados en la zona mediterránea, y más en concreto en bosques de *Quercus ilex* subsp. *ballota*, de ahí nuestro objetivo de realizar un pequeño experimento de introducción de plantas inoculadas en el carrascal de Nazar, bosque afectado por un incendio, perturbación muy común en el área mediterránea tras la que a menudo es necesario llevar a cabo un plan de reforestación.

El carrascal de Nazar se encuentra dentro de la llamada área de distribución potencial de la trufa negra en Navarra, es decir, está enclavado en la zona en la que se cumplen las condiciones geográficas, climáticas, geológicas y edafológicas necesarias para el desarrollo de *Tuber melanosporum* Vitt. (SÁEZ & DE MIGUEL, 1995), hongo hipógeo ectomicorrícico muy apreciado por sus cualidades culinarias y con un alto valor económico.

La mayor parte de los estudios realizados con *T. melanosporum* se centran en la inoculación en vivero de plantas con esta especie y en su posterior introducción en parcelas más o menos controladas por el hombre, denominadas truferas cultivadas para distinguirlas de las truferas naturales, que son básicamente los bosques en los que la trufa se desarrolla de forma natural. Sin embargo, son muy escasos los estudios acerca de la

introducción de plantas inoculadas con trufa negra en zonas boscosas degradadas de cara a su posible uso en proyectos de reforestación. Los únicos datos de que disponemos a este respecto son los provenientes del estudio de DOMÍNGUEZ *et al.* (2001), que introdujeron plantas de *Quercus ilex* inoculadas con *T. melanosporum* en diferentes montes de la Comunidad Valenciana con posibilidad de producción trufera. Al cabo de tres años de la introducción de las plantas, tanto el desarrollo como la supervivencia de las plantas micorrizadas eran significativamente superiores que los de las plantas control, resultados que nos permiten ser optimistas en cuanto al posible uso de *T. melanosporum* como hongo micorrízico en la reforestación de zonas perturbadas siempre que éstas sean zonas de desarrollo potencial de la trufa negra, por supuesto.

A pesar de estos resultados prometedores, no existen datos que certifiquen la permanencia de las micorrizas de *T. melanosporum* en el lugar donde fueron introducidas, así como tampoco se dispone de información sobre la posible relación de competencia de la trufa negra con otros hongos ectomicorrízicos presentes en el ecosistema, por lo que se desconoce si, a largo plazo, la trufa negra sería capaz de fructificar en estas condiciones, lo que sin duda supondría un valor económico nada despreciable añadido a los beneficios que conlleva la recuperación de la zona mediante la reforestación en sí misma.

Para subsanar todas estas carencias, se planteó la realización de un experimento a pequeña escala consistente en la introducción de plantas de *Quercus ilex* subsp. *ballota* inoculadas con *T. melanosporum* en un carrascal afectado por un incendio, en concreto el carrascal de Nazar, en Navarra, para comprobar si, al cabo de tres años de su introducción, las micorrizas de la trufa negra siguen persistiendo, cuantificando además su abundancia en caso afirmativo, así como la de las micorrizas de otros hongos que hayan podido establecerse en las raíces durante el tiempo transcurrido desde la plantación, valorando también la capacidad de competición de cada hongo simbiote en esas condiciones. Dado el relativamente corto periodo de estudio, tres años, no ha sido posible comprobar si la trufa negra podría fructificar en estas condiciones, objetivo para el que es necesario un estudio más a largo plazo.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Descripción de la zona de estudio

El 10 de Septiembre de 1994 se produjo un incendio de baja intensidad en el carrascal de Nazar causado por la quema de rastrojeras de los campos de cereal situados al sur de la masa arbórea. Las carrascas han rebrotado, pero todavía distan mucho de ser

ejemplares maduros. No obstante, el incendio sólo afectó a una parte del monte, en concreto a 38 Ha, conservándose un área de 30 Ha que permite hacerse una idea del estado original de la masa arbórea.

El carrascal de Nazar se encuentra ubicado en el monte Montevejo del término municipal de Nazar, en la cara sur de la Sierra de Codés, dentro de la Merindad de Estella (Navarra), con unas coordenadas UTM entre 30TWN5821 y 30TWN5921 y una altitud media de 778 m. Con respecto a la geología, la zona se encuentra sobre materiales del Cretácico Superior. La litología predominante son calcarenitas, calizas y calizas arcillosas (GOBIERNO DE NAVARRA, 1997).

De acuerdo con la clasificación bioclimática de RIVAS-MARTÍNEZ (1995, 1996, 1997) y RIVAS-MARTÍNEZ *et al.* (1999), Nazar posee un macrobioclima mediterráneo, con un bioclima pluviestacional oceánico, con termotipo supramediterráneo y ombrotipo subhúmedo.

Biogeográficamente, Nazar se encuentra dentro de la región mediterránea, provincia aragonesa, y sector castellano-cantábrico (LOIDI & BÁSCONES, 1995). Según el mapa de series de vegetación de Navarra (LOIDI & BÁSCONES, 1995), la zona se encuentra ubicada mayoritariamente en la serie 26, correspondiente a la serie meso-supramediterránea castellano-cantábrica y colino-montana cantabro-euskalduna basófila de la carrasca (*Spiraeo obovatae-Querceto rotundifoliae* Sigmatum), aunque una pequeña parte de la zona se encuentra en la serie 25, o serie meso-supramediterránea castellano-cantábrica del quejigo (*Spiraeo obovatae-Querceto fagineae* Sigmatum).

En cuanto a la edafología, la zona de estudio se encuentra sobre suelos de la serie de Aibar (ÍÑIGUEZ *et al.*, 1986), que son suelos calizos, sobre materiales finos, que se corresponden con un Xerochrept calcixeróllico, limoso, fino, carbonatado y méxico según la clasificación de la Soil Taxonomy U.S.A., y con un Cambisol cálcico según la clasificación de la F.A.O.

## 2.2. Valoración del estado micorrícico de las plantas micorrizadas y control antes de su introducción en campo

Antes de introducir las plantas de *Quercus ilex* subsp. *ballota* inoculadas con *T. melanosporum* en la zona quemada del carrascal de Nazar, se procedió al análisis de su estado micorrícico con el objetivo de conocer el punto de partida a la hora de estudiar tanto el comportamiento del hongo inoculado, *T. melanosporum*, en campo como el proceso de colonización de las raíces por hongos autóctonos presentes en el ecosistema.

Además de las plantas inoculadas con la trufa negra, también se planteó la introducción de plantas no micorrizadas de forma artificial que pudieran actuar como control. Las plantas micorrizadas con *T. melanosporum* son cortesía del equipo de investigación del SIA (Servicio de Investigación Agroalimentaria) de Zaragoza, mientras que las plantas no inoculadas fueron proporcionadas por Viveros y Repoblaciones de Navarra S.A.

Se escogieron al azar tres plantas micorrizadas, denominadas Vm1, Vm2 y Vm3, y tres plantas control, llamadas Vc1, Vc2 y Vc3, para valorar su estado micorrícico y poder extrapolar así los resultados al resto de las plantas del lote, que son las que en realidad se introducen en campo.

Para ello se lavó el sistema radical bajo el grifo y se cortó en fragmentos de 2-3 cm de longitud. Primero se procedió al cálculo del porcentaje de micorrización total según el método de intersección de la cuadrícula de BRUNDRETT *et al.* (1996), según el cual se colocan al azar las raíces en una placa de Petri a la que se ha incorporado una plantilla con una cuadrícula de 1 cm de lado. Con la lupa binocular, a 15X, y con la ayuda de un contador manual doble, se van contando las intersecciones de las raíces con las líneas de la plantilla, teniendo en cuenta si están micorrizadas o no. Para calcular el porcentaje de micorrización se aplica la fórmula  $\%M = 100 * (ni/N)$ , donde ni es el número de intersecciones de ápices micorrizados y N el número total de intersecciones. Es necesario puntualizar que existen muchos métodos para calcular el grado de micorrización de una muestra, eligiéndose en este estudio el método aquí explicado por ser uno de los que mejor se adapta a las características de la carrasca, especie con un sistema radical especialmente frágil.

Después de calcular el porcentaje de micorrización se extrajeron los ápices micorrizados y se observaron uno a uno al microscopio de cara a la determinación de los morfotipos. La descripción se ha realizado de acuerdo con la metodología establecida por AGERER (1986, 1987-1998, 1994, 1999). Una vez determinados los morfotipos, se contó el número de ápices que pertenecen a cada uno de los presentes en la muestra, y se calculó su abundancia relativa, que es el número de ápices micorrizados por un determinado morfotipo de entre el total de ápices micorrizados presentes en una planta dada.

### 2.3. Metodología de campo

Dentro de la zona quemada del carrascal de Nazar se delimitó una parcela de 15 x 15 m en la que se introdujeron en noviembre de 1998 14 plantas de *Quercus ilex* subsp.

*ballota* inoculadas en vivero con *T. melanosporum* y 3 plantas no micorrizadas de forma artificial que actuaban como control. Las plantas se colocaron de forma aleatoria dentro de la zona delimitada y se protegieron con cilindros de plástico fabricados a tal efecto.

En febrero de 2002, es decir, a los tres años y tres meses de la plantación, se procedió al levantamiento de 5 plantas micorrizadas, denominadas M1, M2, M3, M4 y M5, y 1 planta control, llamada C, con cuidado de mantener todo su sistema radical intacto. El resto de las plantas se reservan para continuar con el experimento y así poder disponer de datos de un periodo de tiempo más largo del que es habitual en la mayoría de estudios de adaptación de plantas inoculadas a condiciones naturales, que generalmente suele ser de 3 años como máximo (CASTELLANO, 1996).

#### **2.4. Valoración del estado micorrícico de las plantas tres años después de su introducción en campo**

Esta valoración se realiza de forma análoga a lo explicado para el estudio de las plantas antes de su introducción en campo, con la peculiaridad de que el sistema radical de las plantas al cabo de 3 años está lógicamente más desarrollado, lo que hace que el análisis sea más laborioso.

### **3. RESULTADOS**

#### **3.1. Resultados del número de ápices extraídos de cada morfotipo**

Se han encontrado un total de 11 morfotipos en las 12 plantas estudiadas, 6 antes de la introducción en la zona quemada y 6 al cabo de 3 años de la plantación. En la tabla 1 se puede observar el número de ápices de cada morfotipo contados en cada planta, tanto micorrizada como no micorrizada. La última columna indica el número total de ápices observados en cada planta. Las abreviaturas utilizadas para los morfotipos son las siguientes: Cenoc (*Cenococcum geophilum*); Sphae (*Sphaerospora brunnea*); Tpilo (*Tomentella pilosa*); Tmela (*Tuber melanosporum*); Lact (tipo *Lactarius*); Scyti (tipo *Scytinostroma*); Tuber (tipo *Tuber*). El resto de morfotipos se abrevian anteponiendo solamente la palabra "tipo" al número que les corresponde. Los caracteres más destacados de los morfotipos encontrados aparecen en la tabla 2.

#### **3.2. Resultados del cálculo de la abundancia relativa de cada morfotipo**

Una vez contados el número de ápices de cada morfotipo presentes en cada planta, se calcula la abundancia relativa de cada morfotipo. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 1.-** Número de ápices de cada morfotipo presentes en cada una de las plantas analizadas.

	<b>Cenoc</b>	<b>Sphae</b>	<b>Tpilo</b>	<b>Tmela</b>	<b>Lact</b>	<b>Scyti</b>	<b>Tuber</b>	<b>Tipo2</b>	<b>Tipo4</b>	<b>Tipo7</b>	<b>Tipo47</b>	<b>Total</b>
<b>Vm1</b>	0	3	0	33	0	0	0	0	0	0	0	36
<b>Vm2</b>	0	12	0	74	0	0	0	0	0	0	0	86
<b>Vm3</b>	0	4	0	74	0	0	0	0	0	0	0	78
<b>Vc1</b>	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	6
<b>Vc2</b>	0	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	18
<b>Vc3</b>	0	15	7	0	0	0	0	0	0	0	0	22
<b>M1</b>	0	26	0	66	0	0	0	0	3	0	0	95
<b>M2</b>	4	0	0	16	0	0	0	0	0	2	0	22
<b>M3</b>	0	0	0	0	10	0	128	0	0	0	0	138
<b>M4</b>	3	6	0	74	0	0	0	0	9	0	1	93
<b>M5</b>	0	0	0	15	0	3	0	1	0	0	6	25
<b>C</b>	11	0	0	0	0	45	13	0	0	0	0	69

**Tabla 3.-** Abundancia relativa de cada morfotipo en cada una de las plantas analizadas.

	<b>Cenoc</b>	<b>Sphae</b>	<b>Tpilo</b>	<b>Tmela</b>	<b>Lact</b>	<b>Scyti</b>	<b>Tuber</b>	<b>Tipo2</b>	<b>Tipo4</b>	<b>Tipo7</b>	<b>Tipo47</b>
<b>Vm1</b>	0,000	0,083	0,000	0,917	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Vm2</b>	0,000	0,140	0,000	0,860	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Vm3</b>	0,000	0,051	0,000	0,949	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Vc1</b>	0,000	0,500	0,500	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Vc2</b>	0,000	0,500	0,500	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Vc3</b>	0,000	0,682	0,318	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>M1</b>	0,000	0,274	0,000	0,695	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032	0,000	0,000
<b>M2</b>	0,182	0,000	0,000	0,727	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,091	0,000
<b>M3</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,072	0,000	0,928	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>M4</b>	0,032	0,065	0,000	0,796	0,000	0,000	0,000	0,000	0,097	0,000	0,011
<b>M5</b>	0,000	0,000	0,000	0,600	0,000	0,120	0,000	0,040	0,000	0,000	0,240
<b>C</b>	0,159	0,000	0,000	0,000	0,000	0,652	0,188	0,000	0,000	0,000	0,000



### 3.3. Resultados del cálculo del porcentaje de micorrización total

En la Tabla 4 se indica el número de raíces micorrizadas, número de raíces no micorrizadas, número total de raíces observadas, y el porcentaje de micorrización total obtenido en cada una de las plantas analizadas.

**Tabla 2.-** Cuadro comparativo de las características más significativas de los morfotipos.

Morfotipo	Manto externo	Manto interno	Cistidios	Rizomorfos	Hifas
<i>Cenococcum geophilum</i>	Plectenquimático radiado	Plectenquimático	No	No	Marrones oscuras, no fibuladas
<i>Sphaerosporella brunnea</i>	Pseudoparenquimático con células angulares y red de hifas	Transición entre plectenquimático y pseudoparenquimático	No	No	Marrones, con septos constreñidos, no fibuladas
<i>Tomentella pilosa</i>	Pseudoparenquimático con células angulares y red de hifas con células angulares	Transición entre plectenquimático y pseudoparenquimático	Fibulocistidios, 40-60 µm de longitud, hialinos	Tipo C nodulosomorfos	Hialinas o amarillas, fibuladas, con septos secundarios
<i>Tuber melanosporum</i>	Pseudoparenquimático con células en puzzle y red de hifas	Pseudoparenquimático	Ramificados en ángulo recto, de hasta 320 µm de longitud, con septos no fibulados	No	No
Tipo <i>Lactarius</i>	Plectenquimático con ápices de hifas que sobresalen	Plectenquimático con laticíferos	No	No	No
Tipo <i>Scytinostroma</i>	Transición entre plectenquimático y pseudoparenquimático con red de hifas y matriz gelatinosa	Plectenquimático formando anillos	No	Escasos, de tipo A	Hialinas a amarillas, ramificadas en Y o trifurcadas, no fibuladas
Tipo <i>Tuber</i>	Pseudoparenquimático con células en puzzle y red de hifas	Pseudoparenquimático	No	No	Escasas, amarillas, no fibuladas
Morfotipo 2	Pseudoparenquimático con células angulares y red de hifas	Pseudoparenquimático	Capitados, de 40-70 µm de longitud, con septos no fibulados	No	No

<b>Morfotipo 4</b>	Pseudoparenquimático con células angulares y cúmulos de células	Plectenquimático formando anillos	En forma de aguja con base ensanchada, 150-460 $\mu$ m, marrones, sin septos o con uno basal	No	Escasas, amarillas, no fibuladas
<b>Morfotipo 7</b>	Pseudoparenquimático con células angulares y cúmulos de células	Transición entre plectenquimático y pseudoparenquimático	No	Tipo C nodulosomorfos	Marrones a amarillas, no fibuladas, con verrugas
<b>Morfotipo 47</b>	Pseudoparenquimático con células angulares y red de hifas	Transición entre plectenquimático y pseudoparenquimático	No	No	Hialinas, no fibuladas, con ensanchamientos

**Tabla 4.-** N° raíces micorrizadas (Mic), n° raíces no micorrizadas (NoMic), n° total de raíces observadas (Total) y porcentaje de micorrización (% Mic) de cada una de las plantas.

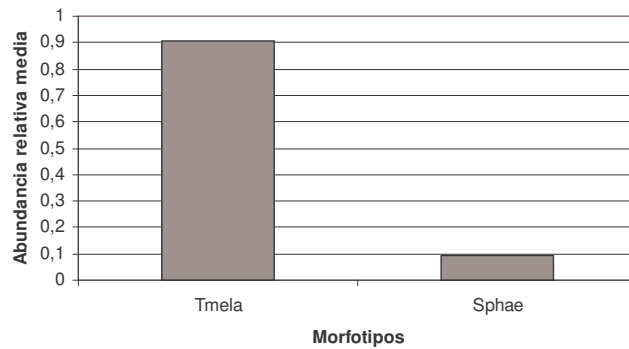
Planta	Mic	NoMic	Total	%Mic
Vm1	242	1124	1366	17,7
Vm2	410	2392	2802	14,6
Vm3	302	4412	4714	6,4
Vc1	40	1260	1300	3,1
Vc2	148	2890	3038	4,9
Vc3	88	1738	1826	4,8
M1	71	1273	1344	5,3
M2	37	640	677	5,5
M3	135	1022	1157	11,7
M4	72	447	519	13,9
M5	9	334	343	2,6
C	91	1045	1136	8

#### 4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

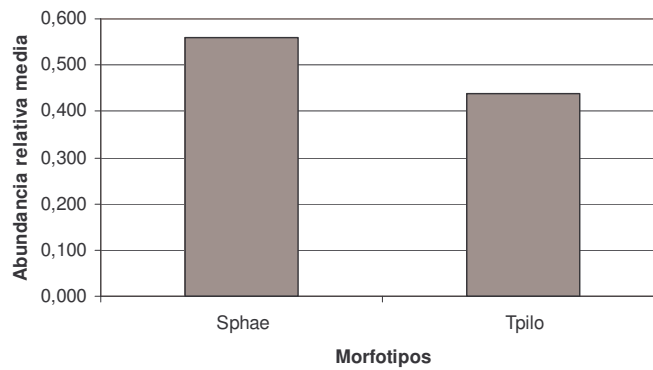
##### 4.1. Análisis de la abundancia relativa de los morfotipos presentes en las plantas micorrizadas y control

A partir de los datos de abundancia relativa de la Tabla 3, se han realizado una serie de gráficos en los que se refleja la abundancia relativa media (Fig. 1 a 4) de los morfotipos presentes en cada uno de los cuatro tipos de plantas estudiadas: Vm y Vc, que

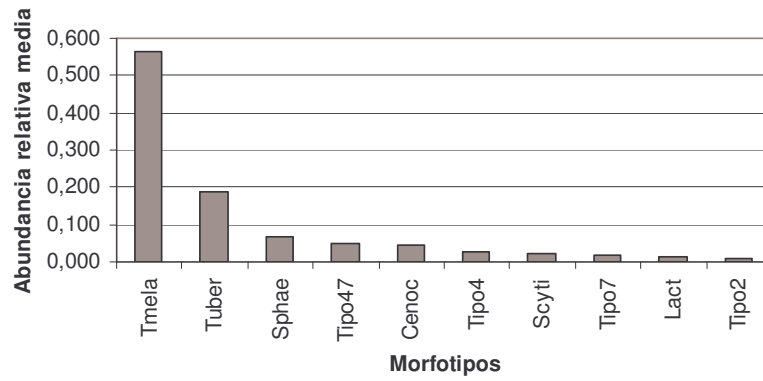
son las plantas micorrizadas y control analizadas antes de ser introducidas en campo, y M y C, que son las plantas micorrizadas y control estudiadas a los 3 años de su introducción en la zona quemada del carrascal de Nazar. En cada tipo de planta, los morfotipos están ordenados de mayor a menor abundancia relativa media. No se ha considerado apropiado realizar ningún tipo de análisis estadístico dado el bajo número de plantas analizadas.



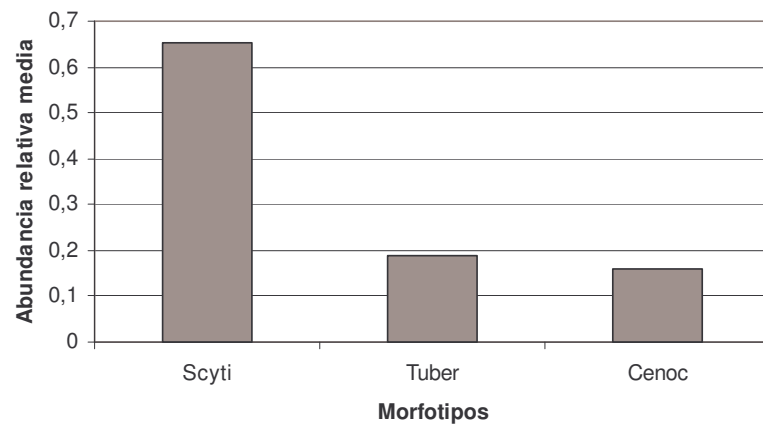
**Fig. 1.-** Morfotipos presentes en las plantas micorrizadas antes de ser introducidas en campo (Vm) ordenados de mayor a menor abundancia relativa media.



**Fig. 2.-** Morfotipos presentes en las plantas control antes de ser introducidas en campo (Vc) ordenados de mayor a menor abundancia relativa media.



**Fig. 3.-** Morfotipos presentes en las plantas micorrizadas a los 3 años de ser introducidas en campo (M) ordenados de mayor a menor abundancia relativa media.



**Fig. 4.-** Morfotipos presentes en las plantas control a los 3 años de ser introducidas en campo (C) ordenados de mayor a menor abundancia relativa media.

#### 4.2. Análisis de los resultados del cálculo del porcentaje de micorrización total de las plantas micorrizadas y control

Debido al bajo número de muestras analizadas, no se ha podido determinar si hay diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de micorrización total de cada uno de los tipos de plantas estudiados. No obstante, en la Tabla 5 se ofrecen las medias del porcentaje de micorrización de las plantas micorrizadas y control tanto antes (Vm, Vc) como después de ser introducidas en campo (M y C).

**Tabla 5.-** Porcentaje de micorrización medio (% Mic medio) de cada uno de los tipos de plantas, donde Vm y Vc son las plantas micorrizadas y control antes de ser introducidas en campo, y M y C las plantas micorrizadas y control levantadas a los 3 años.

Plantas	% Mic medio
Vm	12,9
Vc	4,3
M	7,8
C	8,0

#### 5. DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados preliminares de un experimento a pequeña escala, *Tuber melanosporum* parece ser un hongo adecuado para su utilización como inóculo micorrícico de plantas de *Quercus ilex* subsp. *ballota* usadas para reforestar una zona quemada potencialmente trufera, concretamente el carrascal de Nazar. Las micorrizas de trufa negra persisten al cabo de 3 años de su introducción en campo, aunque han de competir con otros hongos micorrícicos presentes en el ecosistema, como *Cenococcum geophilum*, dos tipos tomenteloides como son el morfotipo 4 y el 7, o el tipo *Scytinostroma*, que es un hongo corticiáceo. También aparecen dos morfotipos no identificados, el 47 y el 2, acerca de cuya identidad no se tiene ningún indicio. Así mismo, destaca la presencia de otros tres morfotipos, el tipo *Tuber*, *Sphaerospora* *brunnea* y el tipo *Lactarius*.

Numerosos estudios han demostrado que las micorrizas de *Tuber melanosporum* son en parte sustituidas por las de otros hongos presentes en el terreno cuando las plantas son introducidas en campo, aunque la mayoría de estos estudios se han llevado a cabo en trufas cultivadas, un ambiente más o menos controlado por el hombre (BACIARELLI FALINI & GRANETTI, 1998; CHEVALIER *et al.*, 1982; DE MIGUEL *et al.*, 2002; DONNINI & BENCIVENGA, 1995; GRANETTI & ANGELINI, 1992; GRANETTI & BACIARELLI FALINI, 1997). Sin embargo, normalmente no se ha prestado mayor

atención a la identificación de los hongos competidores de la trufa negra, limitándose las citas a otras especies del género *Tuber* como *T. aestivum*, *T. borchii*, *T. brumale* o *T. mesentericum* (BACIARELLI FALINI & GRANETTI, 1998; CHEVALIER *et al.*, 1982; SÁEZ & DE MIGUEL, 1995), a especies de los géneros *Hebeloma* (GRANETTI & ANGELINI, 1992) e *Hymenogaster* (BENCIVENGA *et al.*, 1992; DONNINI & BENCIVENGA, 1995) y a micorrizas no identificadas (BENCIVENGA *et al.*, 1992; DONNINI & BENCIVENGA, 1995; GRANETTI & BACIARELLI FALINI, 1997), entre las que destacan los morfotipos AD (angle droit, también llamado Forma 2 por BENCIVENGA *et al.*, 1995a) y SB (spinules buclées), micorrizas que fueron citadas por primera vez por GIRAUD (1988).

Micorrizas tan comunes en condiciones naturales como las de *Cenococcum geophilum* sólo han sido citadas en contadas ocasiones acompañando a *T. melanosporum* (BACIARELLI FALINI & GRANETTI, 1998; DONNINI & BENCIVENGA, 1995; ÁGUEDA HERNÁNDEZ *et al.*, 2001). El hecho de que *C. geophilum* esté presente en las raíces de las plantas micorrizadas con *T. melanosporum* plantadas en la zona quemada del carrascal de Nazar se debe probablemente a las características de la zona en que las plantas han sido introducidas, es decir, un bosque degradado en el que el inóculo de hongos micorrícicos presente es más diverso que en las truferas cultivadas, parcelas normalmente dedicadas al cultivo agrícola antes de la introducción de plantas micorrizadas con trufa negra en ellas. De hecho, *C. geophilum* también está presente en la única planta control levantada al cabo de 3 años de estudio, lo que confirma tanto la presencia del inóculo en la zona como su capacidad para micorrizar las raíces de plantas jóvenes.

Se han encontrado dos morfotipos tomenteloides (morfotipos formados por un hongo perteneciente al género *Tomentella* o muy próximos a él) en las raíces de las plantas micorrizadas con trufa negra e introducidas en campo, lo que corrobora la importancia de este grupo de hongos no sólo dentro de la comunidad micorrícica en general, sino también en relación con la truficultura, hecho ya mencionado de forma novedosa por DE MIGUEL *et al.* (2002).

Así mismo, el tipo *Scytinostroma* ha sido encontrado no sólo en las plantas micorrizadas, sino también en la planta control, lo cual indica que este hongo corticiáceo, es decir, perteneciente a otro de los grandes grupos tradicionalmente ignorados dentro de la comunidad micorrícica junto con los hongos tomenteloides, desempeña un papel importante en la colonización de raíces de plantas jóvenes tanto micorrizadas en vivero como carentes de cualquier tipo de inoculación previa.

En cuanto al tipo *Tuber*, cabe destacar que es el segundo más abundante encontrado en las plantas micorrizadas levantadas a los 3 años. Según se puede observar en la descripción del capítulo 4, es un morfotipo que carece de elementos que emanen, pero teniendo en cuenta que las micorrizas de otras especies de manto similar, como *T. melanosporum* o *T. brumale*, fácilmente distinguibles gracias a sus cistidios, no los presentan en ciertos estadios de desarrollo, es posible que el denominado tipo *Tuber* se corresponda con una de estas especies. Más aún, llama la atención que en una de las plantas levantadas, concretamente la M3, no se haya encontrado ninguna micorriza de *T. melanosporum*, mientras que en todas las demás inicialmente inoculadas la trufa negra sigue estando presente en las raíces. Sin embargo, en la planta M3 el morfotipo más abundante es precisamente el tipo *Tuber*, lo que nos lleva a pensar que es posible que las micorrizas del tipo *Tuber* sean en realidad micorrizas de *T. melanosporum* carentes de cistidios. No obstante, el tipo *Tuber* también ha sido encontrado en la planta control levantada, por lo que no se puede llegar a ninguna conclusión fiable ni acerca de la especie de *Tuber* que forma este morfotipo ni sobre la procedencia de su inóculo, que, en el caso de que fuera *T. melanosporum*, podría provenir bien de las plantas micorrizadas introducidas, o bien de la propia zona, que, como ya se ha dicho, es un monte potencialmente trufero.

Las micorrizas de *Sphaerospora brunnea* fueron ya detectadas al analizar las plantas antes de introducirlas en campo, es decir, el inóculo de *S. brunnea* estaba ya presente en el vivero en forma de contaminación. Es el tercer morfotipo en abundancia relativa tras *T. melanosporum* y el tipo *Tuber*, y es el último que sobrepasa la barrera del 5% de abundancia relativa, es decir, se considera que es uno de los morfotipos dominantes en las plantas micorrizadas después de su introducción en campo. BENCIVENGA *et al.* (1995a) y MEOTTO & PELLEGRINO (1989) afirman que *S. brunnea* es muy competitiva en vivero debido a su capacidad de comportarse como saprófita y como simbiote, pero sólo es capaz de sobrevivir en campo si el terreno mantiene una humedad elevada y constante, con lo que su competitividad en condiciones naturales disminuye sensiblemente. En nuestro caso se ha encontrado que las micorrizas de *S. brunnea* persisten en campo al cabo de 3 años de la introducción de las plantas, si bien es cierto que su abundancia relativa es menor que en el vivero. No obstante, existen dudas acerca de la procedencia del inóculo de *S. brunnea* encontrado en las raíces de las plantas micorrizadas levantadas, ya que, además de ser una especie muy competitiva en vivero, *S. brunnea* también está considerado como un hongo pionero en la colonización de zonas quemadas (MEOTTO & CARRATURO, 1987-88). De hecho, también se han encontrado micorrizas de esta especie en la zona quemada del carrascal de Nazar en la que no se introdujeron plantas micorrizadas (DE ROMÁN & DE MIGUEL 2000 y 2002),

por lo que desconocemos si las micorrizas de *S. brunnea* presentes en las raíces de las plantas micorrizadas levantadas proceden directamente del vivero o se corresponden con inóculo existente en el ecosistema.

La presencia de micorrizas del tipo *Lactarius* en las plantas micorrizadas levantadas a los 3 años de su introducción en la zona quemada del carrascal de Nazar puede resultar sorprendente en un primer momento. *Lactarius* está considerado como un género típico de estadíos avanzados dentro de la comunidad micorrícica, por lo que, en principio, no debería estar presente en una zona que comienza a recuperarse de una perturbación como el fuego. No obstante, no es la primera vez que se cita este fenómeno, ya que autores como PURDY *et al.* (2002) ya encontraron micorrizas de hongos considerados como tardíos, entre ellos *Russula*, *Cortinarius* y *Lactarius*, en plantas de *Picea glauca* germinadas de forma natural tras un incendio. En nuestro caso, esto puede ser debido a la presencia en la zona de plantas pertenecientes a las familias Ericaceae y Cistaceae, que pueden actuar como reservorio de hongos ectomicorrícicos hasta que las carrasacas, que son el simbionte ectomicorrícico típico, se recuperen tras el incendio, de ahí que el inóculo de *Lactarius* esté presente en la zona quemada del carrascal de Nazar.

Por último mencionaremos la presencia de *Tomentella pilosa* en las plantas control antes de ser llevadas a campo, morfotipo que desaparece una vez que las plantas han pasado 3 años en condiciones naturales. En un principio se identificó este morfotipo como *Thelephora terrestris* (DE ROMÁN & DE MIGUEL, 2001), pero tras la revisión de las muestras se llegó a la conclusión de que los caracteres de este morfotipo se ajustaban mejor a los de la micorriza descrita por JAKUCS & AGERER (1999).

Además de analizar la abundancia de los distintos morfotipos presentes en las raíces de las plantas micorrizadas y control antes y después de su introducción en la zona quemada del carrascal de Nazar, también se ha calculado el porcentaje de micorrización total de su sistema radical, es decir, la proporción de ápices que están micorrizados en relación al número total de ápices existentes en todo el sistema radical, sin importar qué hongo es el que forma las micorrizas.

Se observa que el porcentaje de micorrización de las plantas inoculadas con *T. melanosporum* disminuye al cabo de 3 años de su introducción en campo, al contrario de lo que ocurre en la planta control, que, aún sin haber sido inoculada de forma artificial, presenta un cierto grado de micorrización inicial debido a los hongos típicamente adaptados a las condiciones de vivero, y en la que el porcentaje de micorrización aumenta con el tiempo. No obstante, la proporción de ápices micorrizados es similar en todas las



plantas analizadas después de su introducción en la zona quemada del carrascal de Nazar, ya sean micorrizadas o control.

De estos resultados se deduce que, al cabo de 3 años, la micorrización inicial ha perdido protagonismo en favor de la micorrización llevada a cabo por los hongos presentes en el ecosistema, los cuales son perfectamente capaces de colonizar a medio plazo las raíces de las plantas introducidas. A pesar de ello, sí se ha detectado una mayor tasa de supervivencia entre las plantas micorrizadas en comparación con las plantas control (observación personal). A este respecto, GROVE & MALAJCZUK (1994) afirman que el mayor efecto de la inoculación se espera en las primeras etapas de crecimiento del árbol, cuando hay mayor requerimiento de nutrientes para desarrollar tejidos, siendo posible que las plantas ya se hayan adaptado completamente al medio a los 3 años de su introducción.

Otro aspecto que es necesario comentar es el porcentaje de micorrización inicial de las plantas inoculadas con *Tuber melanosporum*. El porcentaje inicial, 12,9%, puede parecer aparentemente bajo si lo comparamos con otros procedentes de estudios relacionados con la truficultura (DE ROMÁN & DE MIGUEL, 2001), pero es necesario puntualizar que el método utilizado para su cálculo es el descrito por BRUNDRETT *et al.* (1996), método usado en general para el estudio de comunidades micorrícicas en condiciones naturales. Sin embargo, los diferentes métodos empleados comúnmente para la cuantificación de la micorrización de plantas de vivero inoculadas con *T. melanosporum* (BENCIVENGA *et al.*, 1995b; FISCHER & COLINAS, 1996; PALAZÓN *et al.*, 2001; REYNA *et al.*, 2001) tienen un enfoque diferente, que no es otro que la certificación de que el estado de las plantas representa un punto de partida adecuado para su implantación en truferas de cara a la producción de trufa negra. Obviamente, queda fuera de lugar toda comparación entre porcentajes calculados mediante distintos métodos.

En conclusión, los resultados obtenidos a partir de este estudio preliminar demuestran que las micorrizas de *T. melanosporum* pueden permanecer durante un mínimo de 3 años en un lugar aparentemente hostil como es un carrascal quemado, compitiendo además con los hongos micorrícicos presentes en el lugar, todo ello teniendo en cuenta que la zona de estudio se encuentra dentro del área de distribución potencial de la trufa negra, área en la que en principio sería posible la reforestación mediante la introducción de plantas micorrizadas con este preciado hongo, pudiendo representar a largo plazo un valor económico añadido para la zona en caso de que el hongo fructifique.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- AGERER, R. (1986). Studies on Ectomycorrhizae II. Introducing remarks on characterization and identification. *Mycotaxon* 26: 473-492.
- AGERER, R. (1987-1998). *Colour Atlas of Ectomycorrhizae*. Einhorn-Verlag. Munich.
- AGERER, R. (1994). *Characterization of ectomycorrhiza*. En: NORRIS, J.R., READ, D. & VARMA, A.K. (eds.). *Techniques for mycorrhizal research. Methods in Microbiology*. Academic Press. London. Pp 25-73.
- AGERER, R. (1999). *Anatomical characteristics of identified ectomycorrhizas: an attempt towards a natural classification*. En: VARMA, A. & HOCK, B. (eds.). *Mycorrhiza. Structure, function, molecular biology and biotechnology*. 2ª ed. Springer-Verlag, Berlin. Pp 633-682.
- ÁGUEDA HERNÁNDEZ, B., FERNÁNDEZ TOIRÁN, M. & DE MIGUEL VELASCO, A.M. (2001). *Ectomicorrizas presentes en la plantación trufera "Los Quejigares" (Soria)*. En: *Actas del III Congreso Forestal Español*. Granada, Septiembre 2001. Mesa 3, pp 100-106.
- BACIARELLI FALINI, L. & GRANETTI, B. (1998). Analisi delle micorrize di *Tuber melanosporum* Vitt. e di altri funghi in una tartufaia coltivata a *Corylus colurna* L. *Micologia Italiana* 1998, 1: 3-12.
- BENCIVENGA, M., DI MASSIMO, G., DONNINI, D. & TANFULLI, M. (1995a). Micorrize inquinanti frequenti nelle piante tartufigene. Nota 1- Inquinanti in vivaio. *Micologia Italiana* 1995, 2: 167-178.
- BENCIVENGA, M., DONNINI, D., TANFULLI, M. & GUIDUCCI, M. (1995b). Tecnica di campionamento delle radici e degli apici radicali per la valutazione delle piante micorrizzate. *Micologia Italiana* 1995, 2: 35-47.
- BENCIVENGA, M., DONNINI, D. & DI MASSIMO, G. (1992). Analisi delle micorrize in una tartufaia coltivata di *Tuber melanosporum* undici anni dopo l'impianto. *Micologia e Vegetazione Mediterranea* 7: 159-171.
- BRUNDRETT, M., BOUGHER, N., DELL, B., GROVE, T. & MALAJCZUK, N. (1996). *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*. ACIAR Monograph 32. Canberra. 374 pp.
- CASTELLANO, M.A. (1996). *Outplanting performance of mycorrhizal inoculated seedlings*. En: MUKERJI, K.G. (ed.). *Concepts in mycorrhizal research*.

*Handbook of Vegetation Science* Vol 19/2. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Pp 223-301.

- CHEVALIER, G., GIRAUD, M. & BARDET, M.Ch. (1982). Interactions entre les mycorrhizes de *Tuber melanosporum* et celles d'autres champignons ectomycorhiziens en sols favorables à la truffe. *Les mycorrhizes: biologie et utilisation*. Ed. INRA. Pp 313-321.
- DE MIGUEL, A.M., DE ROMÁN, M. & ETAYO, M.L. (2002). *Mycorrhizal fungi competing with Tuber melanosporum Vitt. in cultivated truffle beds in NE Spain*. En: *Proceedings of the II International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms*. Christchurch (Nueva Zelanda), Julio 2001. CD-Rom.
- DE ROMÁN, M. & DE MIGUEL, A.M. (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). *Publ. Bio. Univ. Navarra, Ser. Bot.*, 13: 1-42.
- DE ROMÁN, M. & DE MIGUEL, A.M. (2001). *Identification and description of natural mycorrhizae in a potential truffle-occurring area*. En: *Actas del V Congreso Internacional sobre la Ciencia y el Cultivo de la Trufa y otros Hongos Comestibles Hipógeos*. Aix-en-Provence, Marzo 1999. Federation Française de Trufficulteurs. París. Pp 8.433-8.436.
- DE ROMÁN, M. & DE MIGUEL, A.M. (2002). *Post-fire dynamics of the ectomycorrhizal community in a Quercus ilex subsp. ballota forest*. En: TRABAUD, L. & PRODON, R. (eds.). *Fire and biological processes*. Backhuys Publishers, Leiden, Holanda. Pp 131-136.
- DOMÍNGUEZ, J.A., RODRÍGUEZ BARREAL, J.A., SAIZ DE OMEÑACA, J.A., ZAZO, J. & SIMÓN, J.A. (2001). *Primeros resultados de la implantación de planta forestal micorrizada en parcelas experimentales en la Comunidad Valenciana*. En: *Actas del III Congreso Forestal Español*. Granada, Septiembre 2001. Mesa 3, pp 22-28.
- DONNINI, D. & BENCIVENGA, M. (1995). Micorrize inquinanti frequenti nelle piante tartufigene. Nota 2 - Inquinanti in campo. *Micologia Italiana* 1995, 2: 185-207.
- DUÑABEITIA, M.K., GARTZIA, M., RODRÍGUEZ, N., SARRIONANDÍA, E. & SALCEDO, I. (2001). *Influencia de la micorrización en el establecimiento y desarrollo de una plantación de frondosas (Parque Natural de Urkiola)*. En:

- Actas del III Congreso Forestal Español*. Granada, Septiembre 2001. Mesa 6, pp 248-253.
- FISCHER, C.R. & COLINAS, C. (1996). *Methodology for certification of Quercus ilex seedlings inoculated with Tuber melanosporum for commercial application*. En: *Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Conference on Mycorrhizae*. Berkeley, August 1996. Pp 49.
- GIRAUD, M. (1988). *Prélèvement et analyse de mycorhizes*. En: CTIFL (ed.). *La truffe*. FNPT 10, Congrès de la trufficulture, Saintes, 27-28 novembre 1987. Pp 49-63.
- GOBIERNO DE NAVARRA. DEPARTAMENTO DE OBRAS PÚBLICAS, TRANSPORTES Y COMUNICACIONES (ed.) (1997). *Mapa geológico de Navarra. E. 1:200000 y memoria*. Pamplona. 142 pp.
- GÓMEZ-SÁNCHEZ, E., GONZÁLEZ-OCHOA, A.I., TORRES, P., DE LAS HERAS, J. & SIMARRO, E. (2001). Micorrización de plantas de *Pinus halepensis*, *Pinus pinaster* y *Quercus ilex* subsp. *ballota* para repoblación de zonas incendiadas de escasa regeneración natural. En: *Actas del III Congreso Forestal Español*. Granada, Septiembre 2001. Mesa 6, pp 302-308.
- GRANETTI, B. & ANGELINI, P. (1992). Competizione tra alcuni funghi ectomicorrizici e *Tuber melanosporum* in una tartufaia coltivata. *Micologia e Vegetazione Mediterranea* 7(1): 173-188.
- GRANETTI, B. & BACIARELLI FALINI, L. (1997). Competizione tra le micorrize di *Tuber melanosporum* Vitt. e quelle di altri funghi in una tartufaia coltivata a *Quercus ilex* L. *Micologia Italiana* 1997, 3: 45-59.
- GROVE, T.S. & MALAJCZUK, N. (1994). *The potential for management of ectomycorrhiza in forestry*. En: ROBSON, A.D., ABBOTT, L.K. & MALAJCZUK, N. (eds.). *Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Pp 201-210.
- HONRUBIA, M., TORRES, P., DÍAZ, G. & CANO, A. (1992). *Manual para micorrizar plantas en viveros forestales*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. ICONA. 46 pp.
- ÍÑIGUEZ, J., SÁNCHEZ-CARPINTERO, I., VAL, R.M., ARRIBITA, F.J. & VIDAL, M. (1986). *Mapa de suelos de Navarra. Hojas 171 (Viana) y 204 (Logroño)*. E. 1:50000. Departamento de Edafología, Universidad de Navarra.

- JAKUCS, E. & AGERER, R. (1999). *Tomentella pilosa* (Burt) Bourdot & Galzin + *Populus alba* L. *Descriptions of Ectomycorrhizae* 4: 135-140.
- KUEK, C. (1994). Issues concerning the production and use of inocula of ectomycorrhizal fungi in increasing the economic productivity of plantations. En: ROBSON, A.D., ABBOTT, L.K. & MALAJCZUK, N. (eds.). *Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Pp 221-230.
- LOIDI, J. & BÁSCONES, J.C. (1995). *Memoria del mapa de series de vegetación de Navarra. E. 1:200000*. Gobierno de Navarra. 99 pp.
- MARTÍNEZ, T. & SANTAMARGARITA, J.L. (1999). *Ensayo de inoculación de diversas especies de hongos ectomicorrícicos en planta forestal, con obtención de carpóforos de Boletus edulis en fase de vivero*. En: *Micorrización en áreas mediterráneas de la Península Ibérica*. Junta de Extremadura. Badajoz. Pp 101-106.
- MARX, D.H., RUEHLE, J.L. & CORDELL, C.E. (1994). Methods for studying nursery and field response of trees to specific ectomycorrhiza. En: NORRIS, J.R., READ, D. & VARMA, A.K. (eds.). *Techniques for mycorrhizal research. Methods in Microbiology*. Academic Press. London. Pp 383-411.
- McAFEE, B.J. & FORTIN, J.A. (1986). Competitive interactions of ectomycorrhizal mycobionts under field conditions. *Canadian Journal of Botany* 64: 848-852.
- MEOTTO, F. & CARRATURO, P. (1987-88). Ectomicorrizia di *Sphaerospora brunnea* (A. & S.) Svrcek & Kubicka in piantine tartufigene. *Allionia* 28: 109-116.
- MEOTTO, F. & PELLEGRINO, S. (1989). Comportamento in campo di querce e castagni micorrizati con *Boletus edulis* Bull. *L'Informatore Agrario* 47: 57-61.
- MIKOLA, P. (1973). *Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice*. En: MARKS, G.C. & KOZLOWSKI, T.T. (eds.). *Ectomycorrhizae, their ecology and physiology*. Academic Press. New York. Pp 383-411.
- PALAZÓN, C., CARTIÉ, G., DELGADO, I., BARRIUSO, J. & ESTEBAN, H. (2001). *Propuesta de un método de evaluación y control de calidad de planta (Quercus spp.) micorrizada con Tuber melanosporum Vitt., para la obtención, en España, de la etiqueta de certificación*. En: *Actas del V Congreso Internacional sobre la*

- Ciencia y el Cultivo de la Trufa y otros Hongos Comestibles Hipógeos*. Aix-en-Provence, Marzo 1999. Federation Française de Trufficulteurs. París. Pp 6.311 - 6.313.
- PARLADÉ, X. (1999). *Comportamiento en campo de planta de reforestación inoculada con hongos ectomicorrícicos*. En: *Micorrización en áreas mediterráneas de la Península Ibérica*. Junta de Extremadura. Badajoz. Pp 61-73.
- PASCUAL, M.T., DUÑABEITIA, M.K., MAJADA, J., ESPINEL, S., RODRÍGUEZ, N., ORTEGA, U. & TXARTERINA, K. (2001). *Resultados preliminares del comportamiento en campo de procedencias seleccionadas de Pinus radiata: efecto de la micorrización en condiciones desfavorables de crecimiento*. En: *Actas del III Congreso Forestal Español*. Granada, Septiembre 2001. Mesa 3, pp 278-284.
- PURDY, B.G., MACDONALD, S.E. & DALE, M.R.T. (2002). The regeneration niche of white spruce following fire in the mixedwood boreal forest. *Silva Fennica* 36(1): 289-306.
- REYNA, S., BORONAT, J. & PALOMAR, E. (2001). *Control de calidad en la planta micorrizada con Tuber melanosporum Vitt.* En: *Actas del III Congreso Forestal Español*. Granada, Septiembre 2001. Mesa 5, pp 640-646.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. (1995). Clasificación bioclimática de la tierra. *Folia Botanica Matritensis* 16: 1-25.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. (1996). *Geobotánica y bioclimatología*. Discurso del Acto de Investidura como Doctor Honoris Causa de la Universidad de Granada. Serv. Publ. Universidad de Granada. Granada, 98 pp.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. (1997). Syntaxonomical synopsis of the potential natural plant communities of North America, I. *Itinera Geobotanica*, 10: 5-148.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S., SÁNCHEZ-MATA, D. & COSTA, M. (1999). North american boreal and western temperate forest vegetation. (Syntaxonomical synopsis of the potential natural plant communities of North America, II). *Itinera Geobotanica*, 12: 5-316.
- SÁEZ, R. & DE MIGUEL, A.M. (1995). *La trufa negra. Tuber melanosporum Vitt. Guía práctica de truficultura*. ITGA. Universidad de Navarra. Pamplona. 94 pp.