

PROGRAMA DE CAPTURA Y DIFUSIÓN TECNOLÓGICA

INFORME TÉCNICO Y DIFUSIÓN

Propuesta

“Uso de hongos micorrícicos comestibles como herramienta biotecnológica para el mejoramiento de la productividad de plantaciones forestales. Hongos micorrícicos comestibles: Tecnología y biotecnología al alcance del agro chileno”

BiD

Código : ~~EIA~~-CD-V-2005-1-A-134

PATRICIO CHUNG GUIN-PO

FEBRERO 2006

INDICE

1. Antecedentes Generales de la Propuesta.....	1
2. Resumen de la Propuesta.....	2
3. Alcances y Logros de la Propuesta Global.....	3
4. Aspectos Relacionados con la Ejecución de la Propuesta.....	10
5. Participantes de la Propuesta.....	42
6. Evaluación de la Propuesta.....	74
7. Conclusiones Finales de la Propuesta Completa.....	77

ANEXOS:

- Anexo 1
Diapositivas Elaboradas
- Anexo 2
Diapositivas Recolectadas
- Anexo 3
Fotografías



CONTENIDO DEL INFORME TÉCNICO

Fecha de entrega del Informe

1 de febrero de 2006

Nombre del coordinador de la ejecución

Patricio Moisés Chung Guin-po

Firma del Coordinador de la Ejecución

1. ANTECEDENTES GENERALES DE LA PROPUESTA

Nombre de la propuesta

Uso de hongos micorrízicos comestibles como herramienta biotecnológica para el mejoramiento de la productividad de plantaciones forestales. Hongos micorrízicos comestibles: tecnología y biotecnología al alcance del agro chileno. Participación en el IV Workshop Internacional de Hongos Micorrízicos Comestibles, en Murcia , España

Código

^{BID}
FIA-CD-V-2005-1-A-134 / BID-FP-V-2005-1-A-076

Entidad responsable

Instituto de Investigación Forestal (INFOR)

Coordinador(a)

Patricio Moisés Chung Guin-po

Tipo de Iniciativa(s)

Gira Beca Evento Consultores Documentos

Fecha de realización (inicio y término)

28 de noviembre al 2 de diciembre de 2005



2. RESUMEN DE LA PROPUESTA

Resumir en no más de una página la justificación, actividades globales, resultados e impactos alcanzados con la propuesta completa. Cuando exista más de una iniciativa, cada una de ellas debe ser resumida en forma específica. Estos resúmenes deben sintetizar los aspectos principales de la propuesta y cada una de sus iniciativas en forma general.

EVENTOS

El INFOR desde el año 1996 ha estado trabajando en una variedad de proyectos con financiamiento FONDEF, FIA e INNOVA, en los diferentes aspectos que tienen relación con los hongos comestibles y los hongos micorrícicos, desde el punto de vista económico-social.

Por tal motivo, el INFOR creyó pertinente la asistencia de una persona al IV Workshop Internacional sobre Hongos Micorrícicos Comestibles realizado en Murcia, España y organizado por La Universidad de Murcia. A través de esta asistencia se buscaría recoger las experiencias y conocimientos aplicados por especialistas de otros lugares del mundo, con respecto a temas diversos como la comercialización de los hongos, las especies de interés a nivel global, las técnicas utilizadas en los distintos niveles de manejo y cultivo de los hongos micorrícicos comestibles, los criterios de ordenación del recurso, entre otros temas., junto con el inicio de contactos con científicos en el tema. Por tal motivo, se realizó la postulación de una persona a una beca que entrega FIA en sus Programas de Captura y Difusión Tecnológica.

Dentro de este Workshop o taller se reunieron varios especialistas de diferentes países como España, Portugal, Italia, Francia, Bulgaria, Japón, China, Corea, Marruecos, Finlandia, México, Inglaterra, Irlanda, Canadá, Estados Unidos, entre otros. Del Hemisferio Sur, Chile, Nueva Zelanda y Argentina.

Dentro de los temas tratados se cuenta taxonomía, biología molecular y bioquímica, tecnología de cultivo, plantaciones de campo y ecología y silvicultura de hongos, desarrollo rural y cosecha de hongos y trufas, aspectos comerciales, conservación y leyes, entre otros.

Este taller se inició el 28 de noviembre con una breve salida a terreno, seguido por la inscripción de los asistentes y posteriormente una ceremonia inaugural de este evento.

Los días 29 de noviembre, 1 y 2 de diciembre se dedicaron a la presentación de trabajos bajo la modalidad de charlas, con un total de 46, y Postres, con un total de 57. Se dejó el día 30 de Noviembre para realizar visitas a diferentes sectores de Murcia, dando tiempo para relacionarse y compartir con otros científicos.

Como resultado de este taller, se recogieron algunos avances técnicos en las variadas discusiones y sesiones micológicas. Además se realizaron contactos con persona en el ámbito de los hongos micorrícicos comestibles, para a futuro realizar asociaciones entre instituciones para llevar a cabo proyectos en conjunto. Para ello se hicieron contactos principalmente con científicos de España.



3. ALCANCES Y LOGROS DE LA PROPUESTA GLOBAL

Problema a resolver, justificación y objetivos planteado inicialmente en la propuesta

El evento se desarrolló en la Ciudad de Murcia y fue organizado por la Universidad de Murcia, en España

El objetivo principal de la asistencia al evento fue "Capturar las nuevas tecnologías alcanzadas a la fecha con la utilización de hongos micorrícicos comestibles a nivel internacional".

Dentro de los objetivos específicos están:

- Asistir al IV Taller Internacional sobre hongos micorrícicos comestibles a realizarse en Murcia, España.
- Recopilar antecedentes sobre técnicas de cultivo, productos, precios y mercados de las principales especies de hongos micorrícicos
- Establecer redes de contacto internacionales en la temática

Objetivos alcanzados tras la realización de la propuesta

El objetivo principal planteado se logró plenamente, pues dentro de las charlas se recopiló información valiosa que pudiera ser aplicada en futuros trabajos en esta área. En sí, el avance logrado en otros países en esta área ha sido gracias al trabajo aplicado a sus propios recursos, siendo las tecnologías, en cierta forma, mayoritariamente conocidas. Por lo que en el caso de Chile, esta debiera aplicarse a sus recursos y potenciales nuevas especies, potenciando así la mayor diversidad de productos nacionales en este ámbito, y promoviendo nuevos productos, como lo comentaron varios especialistas como Wang Yun.

Respecto a los objetivos específicos, el primero se logró plenamente al asistir al evento en cuestión, asistiendo a todas las charlas, reuniones y salidas, permitiendo con ello el intercambio de opiniones y la captura de ciertos conocimientos.

En referencia al segundo objetivo, este se logró en parte pues algunas tecnologías fueron tratadas en las charlas como son la obtención de plantas inoculadas vía esporal o micelar en laboratorio y vivero (que por cierto son conocidas en sus conocimientos básicos), sin embargo, técnicas como la inoculación vía cultivo axénico, fue vista con bastante liviandad sin entrar en detalles que pudieran inducir a la aplicabilidad de esta tecnología a la producción por esta vía de plantas inoculadas en nuestro país, a lo cual esta técnica debiera abordarse en futuras investigaciones. Es así como técnicas de inoculación micelar con *Tuber melanoporum* vía cultivo axénico, fue una técnica bastante novedosa pero que no se dieron mayores detalles. Esta a futuro, pudiera reemplazar a las típicas técnicas de inoculación esporal aplicadas en la actualidad para obtener plantas inoculadas con esta y otras especies de hongos micorrícicos.



Con respecto a los productos, precios y mercados de los productos este no fue muy difundido en las charlas y poster, pues se avocaron principalmente a los temas investigativos. Sin embargo, a través de algunas conversaciones y ciertas presentaciones, muy puntuales, se vislumbra a un actual mercado exportador que es China, como la potencia en esta área, con diversos productos como boletos, chanterelles, trufas, matsutake, seguido muy de lejos a países europeos con boletos y trufas, o Corea con sus exportaciones de matsutake. En conclusión, esta información fue capturada en parte por informaciones individuales capturadas tras conversaciones y las escasas presentaciones referente a este tema.

Por último, el tercer objetivo se logró en gran parte por los contactos obtenidos con especialistas de varios países como Wang Yun de Nueva Zelanda; Lahsen Khabar de Marruecos; Andrés Oria de Rueda, Marcos Morcillo y Santiago Reyna de España; entre otros. El contacto con estos especialistas permitirá al INFOR realizar una serie de actividades que se están acunando como la elaboración de cursos, proyectos de investigación, entre otros varios posibles trabajos e intercambio de conocimientos y experiencias como las ofrecidas por los especialistas españoles.

Resultados e impactos esperados inicialmente en la propuesta

Conocimiento técnico sobre el cultivo de hongos micorrícicos.

Durante la participación en este taller se pretendió recopilar y analizar aspectos técnicos relacionados con el cultivo y manejo de hongos micorrícicos en plantaciones forestales. Así también se esperaba obtener información acerca de los centros de producción y elaboración de productos en base a hongos comestibles que contribuyeran al mejoramiento de la calidad de vida de los productores directamente involucrados en el negocio

Contactos con investigadores y productores

Se persiguió con este objetivo los contactos que puedan ser establecidos con investigadores y productores para realizar estudios complementarios, básicos y aplicados, en áreas tales como silvicultura, manejo de plantaciones y manejo de bosque nativo asociado a hongos micorrícicos comestibles. Con esto se pretendió que científicos y productores nacionales logren un conocimiento amplio para permitir la masificación de los cultivos en Chile, en el sector productivo – tecnológico y científico – académico

Fortalecimiento e intercambio de las instituciones a nivel internacional

Se esperaba lograr un fortalecimiento de la relación de intercambio con instituciones de investigación y desarrollo que ejecutan labores similares a las de INFOR en el ámbito técnico de la propuesta



Resultados obtenidos

Descripción detallada de los conocimientos y/o tecnologías adquiridos y/o entregados. Explicar el grado de cumplimiento de los objetivos propuestos, de acuerdo a los resultados obtenidos. Para consultorías es necesario anexar el informe final del consultor.

El conocimiento técnico obtenido como resultado de la asistencia a este taller, permitirá en cierta forma dar una pauta para seguir perfeccionando metodologías actuales como también para futuras aplicaciones en temas de investigación básica y aplicada en relación a los hongos micorrízicos comestibles que esta llevando a cabo el INFOR en nuestro país. Por la cantidad de temas tratados, se espera reunir los antecedentes factibles de utilizar para nuevas propuestas de proyectos que permitan fortalecer este tema en nuestro país, como es la aplicación de nuevas técnicas de inoculación, el uso de nuevas tecnologías de manejo y cultivo (Inoculación a nivel de laboratorio, vivero, árbol adulto, etc.), la introducción de nuevas especies que se están trabajando en otros lugares del mundo (*Tricholoma sp*, *Terfezia sp*, *Picoa sp*, etc), aplicar nuevas pautas de manejo (Fertilización, control de maleza, riego, etc), o establecer pautas de ordenación del recurso para una producción sostenida desde el punto de vista económico – social (Parques micológicos, control de cosecha, asignación de áreas de cosecha, derechos y obligaciones, etc.). Existen otros temas específicos como la protección en vivero que otorgan estos hongos a las plantas, la conservación de la variabilidad fúngica, valor medicinal de algunos hongos, entre varios otros, los cuales algunos pueden ser temas comercialmente aplicables, sin embargo otros como la conservación no es un tema económicamente válido a corto plazo, pero valioso para nuestra flora fúngica y que debiera abordarlo el estado.

A través del taller se realizó una serie de conversaciones con diferentes científicos e investigadores, los cuales estuvieron en todo momento abiertos a cualquier iniciativa en torno al tema. Se establecieron contactos con Marcos Morcillo de Micología Forestal & Aplicada, Santiago Reyna del CEAM, Andrés Oria de Rueda de la Universidad de Valladolid, Mario Honrubia de la Universidad de Murcia, entre otros.

Se esperaba lograr un fortalecimiento de la relación de intercambio con instituciones de investigación y desarrollo que ejecutan labores similares a las de INFOR en el ámbito técnico de la propuesta, como los nombrados anteriormente.

Resultados adicionales

Describir los resultados obtenidos que no estaban contemplados inicialmente como por ejemplo: formación de una organización, incorporación de alguna tecnología, desarrollo de un proyecto, firma de un convenio, entre otros posibles.

Por el corto tiempo de este taller no se pudo concretar otros resultados relevantes. Sin embargo se espera a futuro realizar alguna actividad en conjunto con alguna institución o especialistas en el tema. Es así como se iniciaron en el taller conversaciones con Andrés Oria de Rueda, Santiago Reyna y Marcos Morcillos de España, los cuales se presentaron abiertos a formalizar un trabajo en conjunto. Por otro lado, el representante de Finlandia



Dr Salem Shamekh realizó un ofrecimiento de ir a trabajar un período en su institución con estadía sin costo, costeando solamente el pasaje y así aprender algunas tecnologías que ellos están aplicando. Además realizó una invitación al próximo taller a realizarse en Finlandia en el tema de las trufas costeando la inscripción y así facilitar la participación en esa instancia científica, además de intercambiar con él aspectos como el cultivo de estos hongos y algunas tecnologías relacionadas.

Aplicabilidad

Explicar la situación actual del sector y/o temática en Chile (región), compararla con las tendencias y perspectivas presentadas en las actividades de la propuesta y explicar la posible incorporación de los conocimientos y/o tecnologías, en el corto, mediano o largo plazo, los procesos de adaptación necesarios, las zonas potenciales y los apoyos tanto técnicos como financieros necesarios para hacer posible su incorporación en nuestro país (región).

El conocimiento de los plantadores o silvicultores en Chile respecto a la sanidad de las plantas utilizadas, se limita muchas veces al aspecto que presenta su parte aérea, olvidando, su parte inferior, que son las raíces, las cuales serán de importancia posterior a la plantación pues entregarán el sostén y la alimentación de la especie forestal. La importancia dada de la planta tomada como un conjunto, considerando tanto su parte aérea como su parte radicular, a sido gravitante al momento de medir su crecimiento y sobrevivencia en las plantaciones forestales. Por lo cual, el uso de mecanismos que permitan fortalecer la masa radicular mediante la incorporación de simbiontes naturales como son las micorrizas, permitirá elevar los rendimientos de las plantaciones al disminuir los costos de plantación y mantención. Sin embargo, esta situación no está acorde en la actualidad con lo que sucede a nivel mundial, especialmente en los países forestales.

En nuestro país, la situación respecto a los hongos micorrícicos comestibles presenta un avance inicial respecto a las tecnologías que se están aplicando en otros países, desde el punto de vista de la producción de plantas micorrizadas. Este conocimiento se podría incorporar a corto plazo realizando charlas educativas a viveristas y usuarios de estas plantas para que se generen las oferta y demandas adecuadas para implementar esta tecnología, usualmente no utilizada en las PYMES y escasamente utilizadas en las empresas forestales. Por otro lado, la incorporación del componente hongos comestibles junto con el mayor crecimiento y sobrevivencia de las plantaciones, permitirá aumentar las ganancias económico- social de una localidad o región.

En el ámbito social, por el desconocimiento de la gran mayoría de la población chilena de estos productos naturales, que potencialmente pudieran dar alimento e ingresos familiares, han desechado un producto que cada día se hace más rentable y que a su vez se hará más escaso si no se toman los resguardos necesarios para un manejo sustentable asociado al manejo del recurso bosque. Para ello, se debe trabajar en la educación de la población, con actividades que permitan entregarles conocimientos en ámbitos tales como el reconocimiento de especies comestibles y peligrosas, como coleccionar, como procesarlo, como cultivarlos, etc.

Actualmente organismos como INFOR ha trabajado en varios proyectos relacionados y se ha encargado de la difusión de esta temática, editando una serie de documentos, realizando charlas, talleres y seminarios, logrando así despertar el interés de las personas

en la aplicación de esta tecnología. Por otro lado, la Universidad Católica del Maule ha realizado trabajos en el mismo sentido.

Analizando los trabajos hechos principalmente por estas instituciones, estos están relacionados mayoritariamente a la introducción de especies, y tomando las temáticas planteadas en este Taller, es primordial el conocimiento de la propia flora fúngica, para innovar en futuras nuevas especies. Es así que el INFOR ha estado trabajando, con especies nativas como son los géneros *Cortinarius*, *Morchella* y *Boletus* junto con otras especies saprófitas comestibles.

El incorporar nuevos conocimientos a mediano plazo de nuestros recursos fúngicos, permitirá entregar nuevos recursos generadores de nuevos productos, con posibilidades de generar ingresos a nivel local como también a nivel nacional, mediante su exportación. Para ello, es imprescindible saber cuales son esos recursos, sus características de cultivo, su manejo y su posterior procesamiento como un producto innovativo potencial.

La presentación de diferentes exposiciones me permiten concluir de que existe una enormidad de especies a nivel mundial que han salido a la luz gracias al conocimiento como país de sus propios recursos y aquellos han sabido sacar provecho del interés que tienen algunos países por el consumo de especies parecidas, como es *Tuber indicum* (trufa asiática), la cual ha sido introducida como producto en Europa con importantes montos de transacciones.

Por otro lado, se tienen a las trufas del desierto o Terfezias, las cuales crecen en zonas de desierto, áridas o semiáridas, recurso importante en las transacciones en los países árabes y que pudieran incorporarse a zonas similares de nuestro territorio.

Por otro lado, la temática del cultivo y manejo de las plantaciones micorrizadas hasta el momento en Chile, no se ha llevado a cabo, siendo este tema un asunto de gran importancia en la futura fructificación de los hongos en las plantaciones. Como toda investigación en el área forestal, esta tecnología podría adoptarse a mediano plazo, si se estudian las relaciones de las variables de cultivo y manejo en las futuras plantaciones con hongos micorrícicos comestibles.

Es así como en países como en China, el estudio de la ecología de los hongos, bajo diferentes ambientes se está estudiando para obtener pautas para un manejo sustentable del recurso. Por otro lado, en España la situación del conocimiento del cultivo y manejo de los bosques y plantaciones productoras de hongos comestibles está en pleno desarrollo, estableciéndose estudios de densidad, fertilización, clareos, riegos, entre otros factores que pudieran influir en el desarrollo de la micorriza y por ende de la producción final de los hongos silvestres comestibles.

Dentro de los temas relevantes está la disminución progresiva de las producciones mundiales de los hongos micorrícicos comestibles, y cuales serían las herramientas tecnológicas para revertir esta situación. En esta se presentaron casos como *Tuber melanosporum* y *Tricholoma matsutake* en la cual a disminuido dramáticamente en el último siglo pasando de 1.000 toneladas a solo 100 toneladas por año en algunos países. Esta problemática no está ajena a nuestros recursos, pues se sabe que los hongos especialmente nativos presentan una importante degradación, eliminándose por completo en algunas zonas, como es el caso de *Boletus loyo* o *Morchella sp*. A lo cual, la

tecnología aplicada en otros países como España, Corea, China, entre otros, pudiera aplicarse a nuestros propios recursos.

Todas estas tecnologías mencionadas anteriormente pudieran ser aplicadas, siempre y cuando exista un apoyo del estado a estas iniciativas a través de los diferentes mecanismos de financiamiento existentes en la actualidad.

Detección de nuevas oportunidades y aspectos que quedan por abordar

Señalar aquellas iniciativas que surgen como vías para realizar un aporte futuro para el rubro y/o temática en el marco de los objetivos iniciales de la propuesta, como por ejemplo la posibilidad de realizar nuevas actividades.

Indicar además, en función de los resultados obtenidos, los aspectos y vacíos tecnológicos que aún quedan por abordar para ampliar el desarrollo del rubro y/o temática.

Los hongos micorrízicos comestibles son un producto forestal no maderero cada vez más apreciado y que cuenta con gran prestigio en la alta cocina. Estos movilizan anualmente miles de millones de dólares en los mercados internacionales y son de interés para millones de personas en el mundo entero, por razones de tipo lucrativo o lúdico. Sin embargo, los conocimientos sobre su biología, hábitats y sostenibilidad no están en consonancia con la importancia, especialmente en Chile. Por otro lado, en las últimas décadas se vienen mencionando importantes daños en los bosques; el cambio climático afecta no solo a la vegetación, si no también a microorganismos y, en particular, a los hongos ectomicorrízicos. Otros efectos como los incendios forestales, la extracción de madera, la contaminación, la sequía o, a pequeña escala, en lugares muy concretos, la excesiva y descontrolada recolección de carpóforos, son también causa del mencionado decaimiento de la productividad micológica en grandes áreas. Otra cuestión a considerar es la escasa repercusión que tiene el comercio internacional de las callampas sobre el desarrollo rural de las regiones productoras.

Parece, en consecuencia, necesario y oportuno focalizar la investigación, no solo hacia aspectos biotecnológicos, ciclos de vida, ecología y aspectos moleculares, sino hacia la sostenibilidad de las especies y hábitats de los hongos, como componentes de la biodiversidad, pero también como elementos importantes para el desarrollo rural, en un contexto de multifuncionalidad del territorio rural y en la idea de un manejo integrado del medio ambiente.

Desde el punto de vista biotecnológico, falta mucho por avanzar en este sentido. La aplicación de biología molecular, uso de nuevas especies (nativas o introducidas), la aplicación de nuevas técnicas de micorrización, entre otras tecnologías, son temas que debieran ahondarse en nuevas investigaciones para ir a la vanguardia en lo que respecta a los hongos micorrízicos comestibles.

La interacción con expertos en el tema y el conocimiento de los trabajos que se desarrollan en otras latitudes en este tema es una opción que debiera tomarse en cuenta a futuro al momento de tratar de ir a la vanguardia en esta tecnología. Es así que a futuro

se presentan varias reuniones y talleres, como la que se desarrollará en Finlandia, Marruecos y China, siendo la de mayor importancia la que se desarrollará en el 2007 en China, actual potencia en lo que es la producción, consumo y exportación de estos productos y uno de los más importantes en el estudio del cultivo, manejo y ecología de los hongos. La asistencia a este evento, permitiría mantener los contactos para captar nueva información como también realizar el intercambio de ideas para generar nuevas líneas de investigación o actualizar las metodologías de aplicación, manejo y de uso del recurso.

En el tema social, el aporte de un conocimiento básico de los hongos silvestres, es un hecho que debiera abordarse, pues nuestros bosques presentan gran cantidad de hongos comestibles que debieran ser aprovechados por la población local, ya sea para alimentación y/o como fuente de ingreso adicional. Se deberían realizar actividades de difusión y de educación para este segmento de la población que no posee más recursos que la generada por los propios bosques, en lo que respecta a la identificación de los hongos, colecta, procesado, secado, envasado, entre otras actividades, con el objeto de que ellos puedan generar sus propios recursos adicionales tanto económicos como alimenticios.

Por otro lado, aspectos de cultivo y manejo todavía no han sido abordados en Chile, debido a que estamos en una etapa inicial del trabajo, en la cual se está investigando la producción de plantas micorrizadas, siendo esta solo una parte de todo un trabajo para generar posteriormente la fructificación en forma óptima. Es necesaria la recopilación de información referente a densidad de plantación, tipo y cantidad de fertilizantes, intensidad de riego, manejo del suelo antes y después de la plantación, el control de malezas, entre otras; como también, el conocimiento de la ecología del hongo. El conocimiento de estos y otras variables nos permitirá una mayor probabilidad de generar cuerpos frutales.

4. ASPECTOS RELACIONADOS CON LA EJECUCIÓN DE LA PROPUESTA

Programa Actividades Realizadas

Nº	Fecha	Actividad	Iniciativa
1	28/11/2005	Bienvenida y acreditación al Taller	
2	29/11/2005	Asistencia a Exposiciones y Charlas	
3	30/11/2005	Visita a zonas de Murcia	
4	01/12/2005	Asistencia a Exposiciones y Charlas	
5	02/12/2005	Asistencia a Exposiciones y Charlas	
6	12/12/2005 al 6/01/2006	Preparación de información y charlas	
7	10/01/06	Charla de Difusión	
8	17/01/06	Charla de Difusión	
9	18/01/06 al 02/02/2006	Elaboración de Informe Técnico y Financiero	

Dctallar las actividades realizadas en cada una de las Iniciativas, señalar y discutir las diferencias con la propuesta original, y rescatar lo más importante de cada una de ellas. Por ejemplo, en el caso de Giras discutir las actividades de cada visita; Becas, analizar las exposiciones más interesantes; Consultores, detallar el itinerario y comentarios del consultor; Eventos, resumir y analizar cada una de las exposiciones; y Documentos, analizar brevemente los contenidos de cada sección.

BECAS



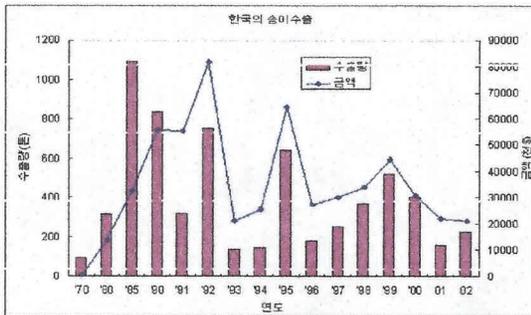
Charla 1: "Vegetation structure and function in *Tricholoma matsutake* production pine stand"

Chang-Duck Koo

Universidad Nacional de Chungbuk, Instituto de Investigación Forestal de Corea, Corea del Sur. e-mail:kooocdm@chungbuk.ac.kr

La especie *Tricholoma matsutake* (*Tm*, hongo del pino) es económicamente muy significativo en Corea y Japón, con valores entre los US\$ 200 a 600/kg. En el caso de Corea, este país obtiene 30 millones de dólares por año.

Esta especie de hongo micorrízico comestible forma ectomicorrizas con las raíces de *Pinus densiflora* y requiere nichos de sitios específicos. Este tipo de hongo comenzó a decaer su producción en el año 1985 en Corea y en 1940 en Japón.



Disminución de la producción de *Tricholoma matsutake* en Corea

Las causas del gran decrecimiento de la producción de matsutake se debe en gran medida a la disminución de los bosques de pino por el éxito en el crecimiento de especies deciduas tolerantes a la sombra. Por otro lado, está la invasión de colonias de otras especies de hongos micorrízicos que compiten por el agua y nutrientes del suelo, influyendo además, la alta acumulación de materia orgánica en el suelo procedentes de árboles deciduos.

Por último, las características biológicas de este hongo también han provocado la desaparición de sus colonias.

Por otro lado, las causas de la variación en la producción de matsutake, probablemente se deba a la variación anual de las condiciones climáticas durante las estaciones de fructificación, siendo los parámetros probables que influyen en ello, la precipitación y la temperatura diaria. La irrigación realizada por las lluvias varía de acuerdo a la estructura de la vegetación, que la gradúa de acuerdo al grado de intercepción de las diferentes copas de los árboles.

Algunos ensayos realizados con anterioridad, aplicaron algunos tratamientos en base al control de otras vegetaciones o por ciertas mejoras ambientales como la graduación de la fotosíntesis de los árboles de pino, la competencia con otros hongos o la disponibilidad de agua en el suelo para matsutake.

Como objetivo del trabajo presentado se persigue investigar la estructura vegetacional de áreas productoras de *T. matsutake* mediante la estimación del índice de área foliar (LAI: Leaf Area Index) y el reconocimiento de especies madereras influyentes. Por otro lado, se realizó un estudio de las funciones vegetacionales de las aguas potenciales de las vegetaciones mayores, el cambio de agua en las colonias bajo tierra y la fotosíntesis de la vegetación inferior (bajo dosel).



Diferentes Instrumentos de Medición



Como materiales y métodos se determinó un ensayo experimental en un bosque de pino productor de matsutake ubicado en el Parque Nacional Sogni en un sector montañoso de Corea. En esta área se ubicaron 3 ensayos de 10x10 m. El período de permanencia del ensayo fue de octubre a octubre (un año) y se tomaron una serie de parámetros como son: LAI (Licor 2000), fotosíntesis (Licor 6400), potencial de agua de la planta (PMS), agua y temperatura del suelo (Sensor portátil) y contenido de Ergosterol.



Parcela establecida en un bosque productor de *Tricholoma matsutake*

Como conclusión se determinó que la función y estructura de la vegetación están relacionadas con el consumo del agua, el índice de área foliar afecta la disponibilidad de agua en el suelo, las colonias de *Tricholoma matsutake* activas consumen más aguas que las no activas, existe competencias del género *Quercus* por el agua del suelo hasta el final de la estación y por último el incremento en el agua del suelo puede afectar directamente la producción de matsutake.



Charla 2: "Terfess" common to Morocco and Tunisia

Dr. Lahsen Khabar

Facultad de Ciencias, Universidad Mohammed V-Agdal, Rabat, Marruecos
e-mail: khabar@fsr.ac.ma

Las llamadas « trufas » se designan a los asporocarpos de tipo ascomicete hipógeo clásicamente reconocido como de los discomicetes del orden de los tuberales, orden que no obstante ha sido abandonado por distintos autores y estuvo vinculado al de los pezizales. Estudios de carácter citológico y ultraestructural, por lo que se refiere a las dos clases *Entubar* y *Terfezia* puso de manifiesto que los tuberales difieren de los pezizales sobre numerosos puntos esenciales; sí derivan probablemente de un antepasado común, pero que debieron evolucionar separadamente en los discomicetes.



Terfezias

Los tuberales son representados en Marruecos por muchas especies pertenecientes a los géneros *Delastria*, *Picoa*, *Terfezia*, *Tirmania* y *Tuber*. Estas diversas especies son comúnmente llamadas « terfezias ». Se diferencian entre ellas por la zona de colecta, el porte, el color, la consistencia del ascocarpo así como también por el hospedante asociado. Así son llamados « Terfass rouge de Tafilalet », « Terifass blanc de Tafilalet », « Terfass rose de Mamora », « Terifass noir de zaïr », « Terifass de taïda », « Terifass mâle », « Terfass indicateur », etc.

Estas son especies comestibles que son objeto de un comercio local importante y muy activo. La mayoría son de épocas de primavera, mientras que otros (*Delastria rosca*, *Terfezia leptoderma* y *Tuber oligaspermum*) aparecen en los meses de noviembre y diciembre.

Por regla general, las trufas marroquíes son recolectados cercanos a las plantas herbáceas del género *Helianthemum*, con las especies principales *H. gattatum* (syn. *Tuberaria guttata* L. Foureau) y *H. Iippii*, o en los pinos, *Pinus pinaster* var. *atlantica* en particular, con los cuales ellos forman las asociaciones micorrícicas. El método de colecta más usado es aquella llamada « a la marca » (el suelo se engloba y quebraja a los pies de la planta hospedante).

Los trabajos relativos a las trufas marroquíes son muy poco mencionados. Los estudios efectuados son esencialmente de tipo taxonómico y florístico o citológico y estructural. Dentro de la presente charla, se presentó un trabajo florístico ilustrando las diferentes especies de trufas recolectadas en las diversas regiones de Marruecos y Túnez y sus características ecológicas y climáticas relativas a su colecta.

Dentro de las prospecciones hechas, se ha constatado que el desarrollo de las trufas marroquíes necesitan, por un lado, de condiciones climáticas y edáficas particulares y, por otra parte, la presencia de plantas hospedantes en gran densidad y en pleno vigor. Ellos habitan, en general, suelos arenosos y livianos bien estructurados, aireados, y que permiten una buena circulación de los elementos minerales.



Desde el punto de vista climático, estos están adaptados a las condiciones templadas con alternancia de estaciones. Su producción está condicionada a los niveles de precipitaciones favorables de otoño. Sin embargo, su ciclo biológico puede ser perturbado por las precipitaciones excesivas o mal repartidas o por los períodos de fríos prolongados o de fuertes calores. Con las diferentes prospecciones se pudo establecer una carta de distribución de las trufas y de las zonas trufícolas en Marruecos; estas zonas son tres.

Zone A : situada al noroeste, de baja altitud (entre 0 y 300 metros); es el bosque de Mamora, al este de Rabat, constituido de robles-corcho (*Quercus felema*), de una superficie de 130.000 hectáreas, sobre suelo ácido y bajo clima semiárido. Las especies de trufas encontradas son *Terfezia arenaria*, *T. leptoderma* y *Tuber asa*, asociado a *Helianthemum gattatum* en los claros del bosque, así como *Tuber oligospermum* y *Delastria rosea*, asociadas a *Pinus pinaster* var. *atlantica*, recientemente utilizada en repoblación.

Zone B : situada en el este y el sureste del país, llamada la meseta de Marruecos oriental (1000 a 2000 metros de altitud), bajo clima árido y subsahariano; es el dominio de la alfalfa (*Stipa tenacissima*), sobre suelo calcáreo. Las especies presentes son *Tirmania pinoyi* y *T. nivea*, asociados a *Helianthemum hirtum*, así como *Terfezia boudieri*, *T. claveryi* y *Picoa juniperi* asociados a *Helianthemum lipii* y *H. apertum*.

Zone C : Corresponde a un bosque de encinas (*Quercus ilex*) en la región de Had-Hrata, situada al este de la ciudad de Safi en el llano de Abda; zona de baja altitud (0-300 m) sobre suelo calcáreo y bajo clima semiárido. La especie recolectada es *Terfezia boudieri* en relación con *Helianthemum* sp.



Zonas con presencia de fructificaciones de Tuberaceas



Lista de especies reportadas en Marruecos y Túnez:

- *Terfezia arenaria* Trappe, 1971 (sin. : *Tuber arenarium*, 1829 ; *Terfezia leonis* Tul., 1851)

Es el más común de las terfezias en el sur de Francia e Italia encontrándose bajo



Helianthemum guttatum. En España, Portugal, Grecia, Turquía, Argelia y Libia. Se encuentra en suelo ácido.

- *Terzezia boudieri* Chat., 1891 (sin. *T. boudieri* var. *arabica* Chat. 1892; *T. deflersii* Pat. 1894).

Se encuentra en Turquía, Israel, Siria, Italia, Argelia, Libia y Egipto. Se encuentra asociado a *Helianthemum lipii* y en suelos calcáreos.

- *Terzezia claveryi* Chat., 1891 (sin. *T. hafizi* Chat. 1892)

Se encuentra en Israel, Siria, Líbano, Irak, Irán, Kuwait, Arabia Saudita, Italia, España, Argelia, Libia, Egipto. Se ubica en suelos calcáreos y asociado a *Helianthemum lipii* y *H. apertum*



Tirmania pinoyi

- *Tirmania pinoyi* (Maire), Malençon, 1973 (sin. *Terfezia pinoyi* Maire, 1973; *Terfezia pinoyi* Maire, 1906)

Se encuentra en Siria, Kuwait, Argelia, Libia, Egipto. En suelo calcáreo asociado a *Helianthemum salicifolium* y *H. ledifolium*

- *Tirmania nivea* (sin. *Tuber niveum* Desf. : Fr., 1823, *Terfezia ovalispora* Patrouillard, 1890, *Tirmania ovalispora* (Pat.) Pat. 1892, *Tirmania africana* Chatin, 1892, *Tirmania camboni* Chatin, 1892).

Se encuentra en Italia, España, Kuwait, Argelia, Libia, Egipto. Se encuentra en suelo calcáreo en climas áridos y Sub Saharianos, haciendo asociaciones micorrícicas con *Helianthemum hirtum* y *H. lippii*.

- *Picoa juniperina* Vittadini, 1831 (sin. *Picoa juniperina* Tul. 1851)

Similar ecología que *Terfezia claveryi* encontrándose sobre *Helianthemum lipii* desde fines del mes de febrero, esta es una especie muy rara.

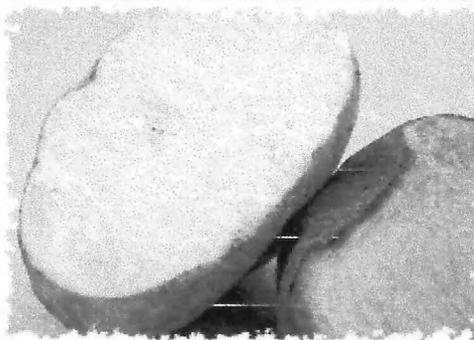
Lista de especies reportadas sólo en Marruecos:

- *Terzezia leptoderma* Tul., 1851 (sin. *Terfezia olbiensis* Tul., 1851; *Choiromyces leptodermus* Tul., 1845 ; *T. fanfanii* Matt. 1900)

Se encuentra en Francia bajo pino alepo, *Helianthemum marifolium*, *H. salicifolium*) en suelo arcillo limoso, levemente arenoso, en primavera (Abril - Mayo). En Italia en arena en especies de primavera, en suelo arenoso ácido, bajo *Cistus salviaefolius* y *Helianthemum*. En España bajo *Helianthemum guttatum* bajo suelo ácido. Se puede encontrar también en *Pinus pinaster* var. *Atlantica*.



Terfezia leptoderma joven (presenta a través de un corte, el interior blanco)



- *Delastria rosea* (Tulasne, 1843)

Llamado también "Terfezia amargo de taiga" Se encuentra en bosque de Mamora en Marruecos y en el cinturón verde de Temara (región de Rabat) en suelo ácido arenoso bajo *Pinus pinaster* var. *atlantica* en el mismo lugar que *Tuber oligospermum*.

- *Tuber asa* Tul., 1851 (syn. *Terfezia gennadii* Chatin 1896; *Tuber lacunosum* Mattir., 1900; *Tuber gennadii* (Chat.) Pat., 1903)

Se encuentra en Francia en suelo arenoso bajo *Pinus halepensis* y *Cistus*. En Italia en suelo arenoso del litoral bajo clima mediterráneo y zonas desérticas bajo *Cistus (incanus, salvifolius)*, *Tuberaria* y *Helianthemum*. También se encuentra en España y Grecia. En Marruecos se encuentra en suelo ácido bajo *Helianthemum guttatum*

- *Tuber oligospermum* (Tul. et C. Tul.) Trappe, 1979 (sin. *Terfezia oligosperma* Tul. y C. Tul. 1851; *Delastreopsis oligosperma*).

Se encuentra en Francia bajo pino de Alepo, en Italia bajo *Pinus picea, pseudotsuga*), en España, Portugal, el medio este de Palestina. En Marruecos se encuentra bajo *Pinus pinaster* var. *atlantica* en suelo ácido.

- *Tuber rufum* Pico 1823

Especie común en toda Europa. En Marruecos se encuentra en Dayete Aoua, Jbel Hebbri, Azrou).

- *Tuber aestivum* Vitt. (syn. *T. uncinatum* Chatin 1887 and *Tuber escavatum*)

Se encuentra en toda Europa, sur de España, Suecia, Irlanda, Ucrania y Turkía. En Marruecos se encuentra en bosques de Jaâba, Ifrane, entre los 1.600 y 2.000 metros de altitud.

Discusiones y Conclusiones

Existe una fuerte analogía entre las especies que se desarrollan en los dos países. Las especies encontradas en Marruecos, como *Terfezia arenaria*, *T. leptoderma*, *Tuber asa*, *T. oligospermum*, *Delastria rosea* son encontrados en el sur de España, sur de Francia y en el sur de Italia. Estas especies pueden ser encontradas en todos los países en África del norte.

Por otra parte, las especies *Picoa juniperi*, *Terfezia claveryi*, *T. boudieri*, *Birmania pinoyi*, *T. nivea*, recogidas en el sur y sureste de Marruecos y en los desiertos de Túnez, son también colectadas en el Medio-Este, en el sur de algunos países mediterráneos



(sur de España: Extremadura; sur de Italia: Sicilia, Cerdeña). *Tuber aestivum*, *T. rufum*, *T. escavatum* son comunes en toda Europa, se localiza en Marruecos, en la zona de la montaña (atlas medio).

Los géneros *Terfezia* con *T. arenaria*, *T. leptoderma* y *Tuber* con *T. asa* and *T. oligospermum*, Constituyen la zona intermedia común entre Europa y África.

La distribución de las especies de Terfezias están condicionadas por varias e importantes factores: suelo, vegetación y clima.

Suelo :

- Suelos ácidos: *Terfezia arenaria*, *T. leptoderma*, *Delastria rosea*, *Tuber asa*, *T. oligospermum*
- Suelos calcáreos: *Terfezia claveryi*, *T. boudieri*, *Tirmania pinoyi*, *T. nivea* y *Picoa juniperi*.
- Sin embargo alguna especies son indiferentes al pH del suelo como *Terfezia olbiensis*

Vegetación:

- Anual: *Helianthemum* (*H. guttatum*): *Terfezia arenaria*, *T. leptoderma*, *Tuber asa*
- Perenne (or hemicritofita): *Helianthemum* (*H. lippi*, *H. sessiliflorum*...) : *Terfezia claveryi*, *T. boudieri*, *Tirmania pinoyi*, *T. nivea* y *Picoa juniperi*.
- Pinos (*Pinus halepensis*, *P. pinaster*): *Terfezia leptoderma*, *Tuber oligospermum*, *Delastria rosea*

Clima

- Semi árido : *Terfezia arenaria*, *T. leptoderma*, *Tuber asa*, *T. oligospermum*, *Delastria rosea*
- Árido : *Terfezia claveryi*, *Picoa juniperi*,
- Sub saharico : *Terfezia boudieri*, *Tirmania pinoyi*
- Saharico : *Tirmania nivea*

Nuevos resultados obtenidos ponen de manifiesto que, por su riqueza particular en un ácido graso no saturado esencial, el ácido linoleico, las terfezias presentan un valor alimenticio innegable. Las terfezias son abundantes en las zonas arenosas bajo clima semiárido o árido, se utilizan como un tipo de verdura en la cocina. Tienen un gusto un poco especial: entre el fondo de artichaux y la seta.

fond d'artichaux

Charla 3 : "Approach of the french truffle cultivation"

Dr. Pierre Souzart

Liceo Profesional Agrícola de Cahors

Estación experimental sobre la trufa de Cahors, Francia

e-mail: station.truffle@wanadoo.fr

Esta charla tiene por objetivo dar a conocer una serie de principios o normas y técnicas aplicadas a los trabajos dentro del ámbito del cultivo de trufas como resultados técnicos de experimentación en el uso práctico de los cultivadores de trufas. A la base del esquema de cultivo de trufas propuesto, se distinguió tres etapas esenciales en el itinerario técnico de la plantación de las trufas, etapas surgidas principalmente por los



problemas que plantean las contaminaciones por *Tuber brumale* en las plantaciones de las trufas del Suroeste, y consolidadas por los resultados de las experiencias y observaciones. Las etapas propuestas son:

Etapa 1: Asegurar el mejor ambiente posible de la planta micorrizada por *Tuber melanosporum* el primer año de plantación.

Etapa 2: no favorecer el crecimiento de los árboles micorrizados para evitar las contaminaciones por distintas setas e instalar el ambiente natural buscado por la trufa antes de la producción.

Etapa 3: después del desencadenamiento de la fructificación, mejorar la producción en cantidad y calidad conservando al mismo tiempo su perpetuidad.

Etapa 4: después de haber observado la decadencia o la desaparición de la producción, renovar la plantación o restaurar las condiciones ecológicas exigidas por la trufa para su fructificación.



Etapa 1 : plantar



Etapa 2 : mantener



Etapa 3 : producir

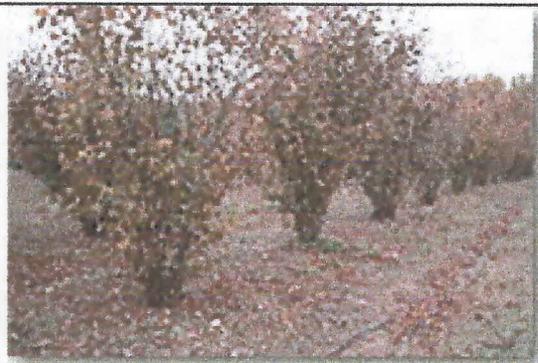


Etapa 4 : renovar

A través de las investigaciones realizadas se crearon en 1994 dos principales sistemas o modelos de cultivo de trufas: "Pallier" y "Tanguy". Con el sistema Pallier (o de arboricultura de las trufas), se establecen árboles micorrizados por *Tuber melanosporum* que se mantiene como en una huerta frutal durante toda la vida de la plantación. Con el sistema Tanguy, los árboles micorrizados se someten a un abandono relativo después del segundo o tercer año de plantación. La vegetación natural coloniza el medio transformado en césped calcícola y retrasa la entrada en producción pero sin contaminación aparente, en particular, por *Tuber brumale*. El esquema de cultivo de trufas que se intenta proponer a futuro es la síntesis de los dos sistemas de cultivo de trufas "Pallier" y de "Tanguy" ensayados



Método Tanguy



Método Pallier

Tipo de establecimiento de plantaciones truferas

SISTEMA PALLIER

Trabajos iniciales en el sistema Pallier

Inicialmente este método se compuso de una plantación en fila de 625 plantas/ha, más la introducción de plantas micorrizadas. Se realizaba anualmente una mantención para eliminar todo arbusto y/o maleza, asegurando que la plantación recibiera una combinación equilibrada de sol y sombra.

Una solución alcanzada para introducir estos árboles micorrizados fue la separación a 6 x 3 m. Las plantas micorrizadas no estaban entonces disponibles, por lo que la plantación fue iniciada con plantas no micorrizadas. Más tarde las plantas micorrizadas fueron plantadas entre los árboles de robles y los avellana en cantidades iguales. La preparación del suelo fue hecha mecánicamente, usando arados de disco y cincel alternativamente. Cuando los primeros círculos aparecieron, característicos de la presencia de Trufas (quemados), los cultivadores mecánicos fueron disminuidos a un paso por año y dosis pequeñas de productos químicos fueron utilizadas para tratar las malezas jóvenes.

Después de 25 años del ensayo y práctica esta se puede resumir en que la plantación poseía el 50% de plantas no micorrizadas, y el 25% de plantas con mala micorrización. La razón fue que la mejor planta local utilizada de árbol de avellano no era conocida, a lo cual se perdió una producción excepcional. Los 6.000 árboles de avellano plantados a 5 x 3 m, en el Norte-Sur hubieran podido producir 500 kilogramos de trufas por año después de 12 años, en los suelos de Sainte-Alvère. La opción del monocultivo de árboles de avellano, sin fertilización fue una opción incorrecta; además que los árboles de avellano preferían agruparse juntos.

Metodología estándar del método Pallier

Esta metodología de plantación presenta un sistema de alta densidad. La plantación en formaciones cuadradas debe ser evitada, utilizándose espaciamientos de 6m x 4 m, 6 m x 3 m, 5 m x 3 m, los cuales son lo más convenientes para los suelos estériles. Las exposiciones Norte-Sur son preferibles. Después de arar y de rastrillar según la profundidad del suelo, se debe realizar el estacado. La plantación debe realizarse cuidadosamente, sin dañar la parte radicular de la planta. Las plantas se deben plantar



sobre una cama de tierra fina, completando los agujeros realizando movimientos suaves. Pudiera proporcionarse protección contra daño del conejo.

El primer año se realizan remociones de la superficie del suelo en forma alternadas con arados de disco y cincel (a 15 cm de profundidad) cerca de las filas de plantaciones y manualmente con azadón cercano a la planta.

Al segundo año, se realizan los mismos trabajos de suelo que en el primer año pero estos se realizan a los 30 cm. de las filas.

Para el tercer año, se continúa con los trabajos pero se reduce la profundidad hasta los 10 cm. y el aumento de la distancia a 70 centímetros. El protector para daño contra conejo debe ser quitado pero una malla se debe poner alrededor de la plantación. Si existe ganado superior, se debe utilizar cuatro alambres en 20, 50, 110 y 180 centímetros. En este período, los primeros quemados o brules serán visibles.

En el cuarto año, solamente una rastra a 6 u 8 centímetro. La maleza se puede controlar en su estado de crecimiento inicial con Round-Up (1litro /ha).

Para el quinto y siguientes años se podrán obtener las primeras trufas, realizando un rastraje por año sobre tierra seca.

SISTEMA TANGUY

Trabajos iniciales en el sistema Tanguy

Estas surgieron a menudo por plantaciones accidentales producto de propietarios que transformaron estas áreas en un pequeño parque sin saber qué hacer con él, o que siendo estos terrenos abandonados fueron tomados por un dueño más emprendedor asumiendo el control. La producción comenzaba más allá de los 10 años en un pequeño a mediano porcentaje de los árboles. La producción para cada árbol era a menudo abundante y de alta calidad.

Este método posee un manejo fácil en donde se asegura un buen comienzo de la plantación parando toda operación después de los tres años. No se realiza poda o si esta se lleva a cabo, es muy reducida, con un corte del pasto opcional. Se realiza un riego razonable. Este método puede ser exitoso sólo en suelos sin hongos invasores u otros hongos micorrícicos comestibles. De lo ya conocido, este método causa actualmente mucha discusión, sin embargo presenta un buen trabajo hipotético.

Metodología estándar del método Tanguy

Con una densidad levemente más baja (6 m x 6 m por ejemplo). Las mismas precauciones de cuidado de la planta con respecto al sistema radicular. La orientación es menos importante pero ojala plantar con pendiente.

El primer año uso alternado de arado de discos y cincel con la pendiente y a 1,5 a 2 m. sobre cada lado de las filas. Se rodea el centro y se siega a menudo. La protección de las hileras de árboles se puede mantener limpia con Round-up con las precauciones usuales.



En el segundo año, se paran todos los trabajos mecánicos y se mantiene limpio con Round-up a 1 m. a cada lado de la fila de plantación, dejando la protección.

Por último, al tercer año, y los siguientes se paran los controles de malezas y solo se siega.

Otros sistemas que se usan actualmente son:

SISTEMA DE MALAURIE (P.Sourzat)

Se basa en la mejora de los suelos pobres, a través del uso de niveles de baja densidad de plantación (60/80 árb./há) con un mínimo de inversión y para mantener un ambiente del campo conveniente para el turismo. Para producir en 15/20 año.

SISTEMA TRADICIONAL

Consiste en la plantación de árboles a menudo no micorrizados, de una manera muy intensiva (100/150 trees/ha). La producción es a los 15 a 20 años. Un sistema bien probado pero con mucho desecho: solamente el 15% de lo producido es posible utilizarlo.

RENOVACIÓN

Consiste en restaurar los sitios antiguos de productores de la trufa. Esto puede algunas veces, pero raramente, traer grandes y felices sorpresas. Pero son lo que a menudo presentan resultados negativos. Sin embargo, de acuerdo a medios financieros y tiempo libre disponible, ésta es una manera agradable de comenzar el cultivo de la trufa.

Charla 1: "Plan of Conservation and sustainable use of mushrooms and truffle of Andalucía. Plan Cussta"/ "Plan CUSSTA: Plan de Conservación y Uso Sostenible de Setas y Trufas de Andalucía "

Baldomero Romero A.

Director del Plan CUSSTA, Consejería de Medio Ambiente

Junta de Andalucía, ESPAÑA

e-mail: Baldomero.moreno.arroyo@juntadeandalucia.es

La región de Andalucía es una zona rica en hongos, posiblemente una de las regiones del mundo más biodiversas en lo que a especies de trufas se refiere, aunque, paradójicamente, de escasa tradición micológica.

La escasa tradición micológica que presentaba esta zona, es ahora precisamente una aliada para la gestión ordenada de este recurso. El plan elaborado por la Consejería de Medio Ambiente de Andalucía partió de cero hacia una gestión sostenible del recurso y hacia la conservación de especies para que no lleguen a verse amenazadas.

Su mayor importancia es en gran medida a raíz de los últimos avances técnicos y científicos que han logrado científicos de esta zona, poniendo de manifiesto varios aspectos:



- el papel de los hongos como componentes esenciales de los ecosistemas
- el declive generalizado de las poblaciones de setas y trufas
- Promisorias valoraciones económicas sobre estos recursos micológicos

De acuerdo a estos puntos, la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía puso en marcha un programa de actuaciones encaminado a la conservación, disfrute y uso sostenible de las setas y trufas de Andalucía, denominado Plan CUSSTA. Este programa forma parte de un ambicioso reto que propone a los ecosistemas mediterráneos de Andalucía como base de un nuevo modelo de desarrollo rural. Para el funcionamiento de dicho modelo se requirió de un alto grado de participación social.



El Plan Cussta se estructura en cinco líneas de actuación:

- **Participación social y educación ambiental.**- Comprende una serie de actuaciones relacionadas con la organización y participación en jornadas, cursos, seminarios, congresos y exposiciones. Así mismo incorpora la elaboración de material didáctico y divulgativo con un alto grado de interactividad (manuales, guías, unidades didácticas, folletos, trípticos, pegatinas, carteles, maquetas, etc.). Con todos estos recursos se trabaja, prioritariamente, en poblaciones del espacio rural andaluz con mayor potencialidad micológica, y con los colectivos sociales directamente relacionados (Asociaciones Micológicas, Agentes de Medio Ambiente, Inspectores de Sanidad, colectivos educativos, Fuerzas y Cuerpos de Seguridad, etc.)
Se creará un Centro Andaluz de Micología (CAM), Puntos de información micológica, rutas micológicas, etc.
- **Investigación.**- Se considera un aspecto básico para el desarrollo del programa de actuaciones. Pone en manos de los gestores el conocimiento necesario para actuar racionalmente. Las líneas generales de investigación puestas en marcha son:
 - Inventario de especies.- En la primera fase (año 2003) denominada IMBA (Inventario Micológico Básico de Andalucía), se catalogaron más de 3.800 especies de setas y trufas, confirmándose Andalucía como la Región Europea con mayor diversidad micológica.
 - Productividad y Aprovechamiento de setas y trufas.
 - Viabilidad de micorrizaciones en plantaciones vegetales así como en labores de restauración de la cubierta vegetal y control de la erosión.



- Seguridad sanitaria y toxicológica de las principales setas comestibles.
- **Conservación.**- Se impulsarán actuaciones encaminadas a la conservación de las especies y de sus hábitat promoviendo medidas de conservación sobre zonas de interés micológico y actuando sobre las especies cuyas poblaciones se encuentren amenazadas. Para ello se inicia la elaboración de la "Lista Roja de las Setas y Trufas Andaluzas". Así mismo se potenciarán las relaciones simbióticas entre hongos, flora y fauna consiguiendo que las actuaciones de gestión propicien una mayor integración ecosistémica.
- **Uso sostenible.**- Enfocado en tres líneas específicas:
 - **Uso público recreativo y de esparcimiento** de las poblaciones locales
 - **Micoturismo.**- Creación de un programa pionero de turismo asociado a las setas, basado en 8 Puntos de Información Micológicos (PIM), 8 Rutas Micológicas, Gastronomía Micológica, etc., destacando por su singularidad en España, la creación del único Jardín Micológico existente hasta la fecha en Europa.
 - **Aprovechamiento y comercialización** de setas y trufas.
- **Regulación de usos.** Para ordenar este uso, hacerlo sostenible y velar por la conservación de las especies, surge la necesidad de una regulación efectiva de este recurso. En este sentido el Plan establece el encargo a la Universidad de la elaboración de unas líneas directrices para la conservación y uso sostenible de las setas y trufas de Andalucía, basadas en un amplio proceso previo de la participación de los colectivos sociales relacionados con la materia para conseguir un elevado grado de consenso social.

De las investigaciones realizadas de la flora fúngica en el monte mediterráneo andaluz, se confirmó que:

- El monte mediterráneo andaluz es el más rico y diverso en setas y trufas de Europa.
- Estos hongos macromicetos son indispensables para el funcionamiento del monte mediterráneo donde se encuentran plenamente integrados.
- Algunos constituyen los ejemplos más representativos y claros de interacciones simultáneas entre 4 Reinos: hongos, plantas, animales y bacterias.
- Numerosas especies son susceptibles de un aprovechamiento sostenible, de forma que en ocasiones son el aprovechamiento más rentable del monte mediterráneo, superando con creces a los aprovechamientos tradicionales maderables.

El porcentaje hongos comestibles ofrece un diagnóstico de la salud del monte mediterráneo. En un bosque mediterráneo sano los hongos micorrizógenos deben suponer entre el 50 y el 66 %, los sapróbios ente 40 y 60 %, y los parásitos entre el 0 y el 5 %. En general, un porcentaje de hongos micorrizógenos superior al 30 % es indicador de un bosque vigoroso.

El caso más extremo de adaptación fúngica al monte mediterráneo lo constituyen los Hongos Hipogeos, un grupo de hongos que fructifican bajo tierra. Son lo que popularmente se denomina hongos subterráneos o trufas.



El modo de vida hipogeo responde a una estrategia adaptativa a la economía hídrica de ambientes semiáridos, economía hídrica a la que también tienden las plantas del monte mediterráneo. Todo parece indicar que estas simbiosis son igualmente la máxima expresión micológica y botánica de una estrategia adaptativa confluyente de plantas y hongos a su desarrollo en estos medios mediterráneos. De esta forma ambos organismos (plantas y hongos) coevolucionaron en nuestra región convirtiéndola en una de las regiones del mundo con mayor biodiversidad de trufas.

La especie micorrizógena de hipogeos por excelencia es la encina (*Quercus ilex* subsp. *ballota*). En Andalucía se han detectado más de 50 especies de trufas asociadas a la encina, sin contar a un número mucho más elevado de especies de hongos epigeos o setas. Entre ellas, se encuentra la trufa negra (*Tuber melanosporum*), el producto más valioso del monte mediterráneo.

Pero la situación de los macromicetos en el monte mediterráneo es mucho más compleja. Los hongos están sometidos a los procesos sucesionales propios de estos medios, de forma que existen hongos de primer estadio, segundo o tercero, dependiendo del momento de la sucesión o etapa de regresión en la que se encuentre el monte. El monte mediterráneo es un sistema dinámico en el que cada etapa sucesional mantiene un cortejo fúngico diferenciado que podría y debería encajar en los estudios fitosociológicos como una modalidad complementaria, la micosociología.

Todos los tipos de monte mediterráneo: encinares, alcornocales, pinares, bosques de galería ribereños, e incluso pastizales, poseen un interés no sospechado como fuente productora de setas y trufas de importancia comercial.

Entre las setas micorrizógenas presentes en la zona de Andalucía, se encuentran un buen número de especies de interés económico y gastronómico. Como aprovechamientos micológicos de estos montes podemos citar a las chantarellas (*Cantharellus cibarius*), donde algunos años se recolectan durante su temporada más de 1.000 kg. diarios. O los tentullos (*Boletus aereus*) de los encinares y alcornocales acidófilos. Por su parte, la zona más productora de España de tana (*Amanita caesarea*) está constituida por los encinares acidófilos adhesionados, alcornocales y castañares. Los pinares de todo el monte andaluz desarrollado sobre sustratos ácidos producen una gran cantidad de níscalos (*Lactarius* spp.). Un capítulo especial necesitaría el gurumelo (*Amanita ponderosa*), una seta de gran porte que cada vez más se va introduciendo en el mercado andaluz. En los pastos destacan como micorrizógenas un tipo de trufas conocidas como "trufas del desierto", "criadillas de tierra" o "turmas".

El aprovechamiento sostenible del recurso micológico supone una importante fuente de ingresos para las poblaciones locales de los lugares donde se producen estos hongos. En realidad, la plantación de árboles o arbustos micorrizados representa un ejemplo de desarrollo y uso sostenible, ya que al valor intrínseco que supone para el medio natural la plantación de vegetales silvestres como medio de restauración de la vegetación y control de la erosión, se suma el valor económico de las fructificaciones fúngicas que se desarrollan asociadas a estas plantas. De esta forma surge una nueva alternativa de futuro para los campos y montes.

El Inventario Micológico Básico de Andalucía (IMBA).

El desconocimiento y dispersión de datos sobre las setas y trufas de Andalucía ha hecho plantearse a la Consejería de Medio Ambiente la elaboración urgente de un inventario

micológico de básico de Andalucía. Los objetivos han sido los siguientes:

- Recopilar toda la información sobre la diversidad fúngica andaluza (macromicetos) que se encontraba dispersa en herbarios españoles y en numerosas publicaciones de carácter científico o divulgativo, nacionales o extranjeras.
- Recopilar información sobre el terreno a través de campañas de muestreo en los distintos ecosistemas andaluces.
- Cartografiar la información recopilada de los taxones.
- Elaborar una herramienta informática que apoyase, por un lado, la toma de decisiones en la gestión del medio natural y que, por otro lado, permitiese un mejor conocimiento de la diversidad, distribución y ecología de los hongos andaluces así como la divulgación y el acercamiento al público de distintos aspectos relacionados con el mundo de los hongos

Las campañas de recolección se desarrollaron en 18 espacios naturales abarcando todos los ecosistemas andaluces mayoritarios. Para el trabajo de campo se establecieron 9 equipos integrados por 18 micólogos pertenecientes a diversas Universidades y asociaciones micológicas andaluzas. En total se han estudiado 294 zonas que ocupan un área de 17555 Has., lo cual es suficiente para los objetivos del IMBA. El diseño de las áreas de muestreo se ha efectuado con una aplicación informática propia denominada RETAMA-CUSSTA y que permite la edición de diferentes capas de información geográfica o ecológica junto con las ortofotos del área de muestreo.

Una consecuencia directa del cumplimiento de los objetivos por parte del IMBA fue la creación de un herbario institucional que centralizó la diversidad de especies de macromicetos de Andalucía. Las muestras depositadas son testigos válidos de referencia ante la comunidad científica internacional que permiten comprobar, corregir o actualizar la existencia de las especies que conforman la diversidad fúngica andaluza.

Este inventario ha obtenido 5.476 muestras de unos 1.500 taxones; dichas muestras constituyen el grueso del **herbario JA** y en la actualidad es reconocido internacionalmente desde el año 2003 (***Index Herbariorum***).

Los datos bibliográficos previos fueron recopilados por un equipo en Madrid y en Córdoba y proporcionaron 32.900 citas de 545 artículos o publicaciones, con una diversidad estimada de 3.830 especies.

Los datos procedentes de herbarios previos, de bibliografía y de las campañas de muestreo se integraron en una base de datos que es gestionada dinámicamente por Internet mediante una aplicación informática (BD-CUSSTA). Desde esta aplicación podrán elaborarse en breve las consultas que relacionen los taxones con caracteres ecológicos o geográficos y viceversa. También permitirá el volcado de datos para elaborar etiquetas de herbario, listados, informes con gráficas, estadísticas o mapas de distribución.

Estudio bromatológico y toxicológico de las principales setas comestibles de andalucía.

Con la finalidad de conocer la seguridad sanitaria y componentes nutricionales de estos recursos del monte mediterráneo usados como alimentos, el Dpto. de Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad den Córdoba realizó estudio bromatológico y toxicológico de 9 especies de setas de Andalucía distribuidas por toda



la región.

Este estudio se basó en 602 muestras analizadas determinado los siguientes elementos, plomo, cadmio, mercurio, arsénico, cobre, hierro, cinc, manganeso, calcio, fósforo, magnesio, sodio y potasio.

Los resultados han permitido elaborar una serie de Consejos Básicos para la recolección de setas que posteriormente han sido publicados en formato divulgativo.

Trufa negra

La Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, en el invierno de 2003 inició la primera actuación para el reforzamiento de las poblaciones naturales andaluzas de trufa negra (*Tuber melanosporum*). En total, las actuaciones se desarrollaron en una superficie de 28,55 has (11.420 plantas) ubicadas en las provincias de Jaén y Granada. Estas actuaciones se realizaron partiendo de material genético autóctono de la zona (bellotas y trufa) que tras su recolección fueron tratadas en viveros especializados para conseguir la encina micorrizada que se plantó en campo.

Seta de Cardo

El Plan Cussta puso en marcha también la primera repoblación de Seta de Cardo en la Comunidad Autónoma, que constituye, a su vez, la primera repoblación para Europa.

Se trata de la primera vez en el mundo que se aplican técnicas de siembra directa en el campo para establecer pequeñas parcelas productoras de seta de cardo. El proyecto se ejecuta en dos fases. En la primera se plantan los cardos en poblaciones similares a las naturales. Una vez el cardo llegue a su madurez biológica, se inocula en campo la seta.

Las parcelas de repoblación de este proyecto actuarán como zonas de dispersión natural de la seta de cardo, ayudando a paliar los efectos de la sobre recolección que ha sufrido esta especie, promoviendo el uso sostenible de este destacado patrimonio de los montes andaluces.

Trufa del Desierto

Esta actuación constituye la mayor plantación de jarilla almeriense asociada a trufa del desierto realizada en Europa.

Al valor que supone para el medio natural la plantación de vegetales silvestres como medio de restauración de la vegetación y control de la erosión, se suma el valor gastronómico, económico y social de las fructificaciones o turmas que surgen asociadas a la jarilla.

Los últimos estudios valoran muy positivamente las cualidades dietéticas de la trufa del desierto, al tratarse de un alimento completo y muy equilibrado, por su contenido proteico, fibras y ácidos grasos insaturados como el linolénico, destacando también su capacidad antioxidante.

Exposición itinerante

La exposición pretende dar a conocer la importancia de las setas y trufas tanto desde el



punto de vista histórico y social, como desde el punto de vista medioambiental, destacando su integración en los montes andaluces donde, en este caso, se desarrollan.

Además, las propiedades antibióticas de algunas de sus especies (*Penicillium* sps., del que procede la penicilina y sus derivados), convierten a estos seres vivos en los que más vidas humanas han salvado. Hoy se están descubriendo nuevas propiedades farmacológicas, y se ha comprobado que son uno de los elementos más importantes en los ecosistemas donde están integrados, hasta el punto de que numerosas especies vegetales deben su existencia a la presencia de hongos asociados simbióticamente a sus raíces. Simultáneamente estos hongos, que fructifican en los montes andaluces, tienen un elevado valor comercial, superando, a veces, a los convencionales aprovechamientos maderero, apícola, etc.

Todo esto, junto a otros datos interesantes como toxicología y comestibilidad, aparecen reflejados en los distintos paneles que componen la exposición, la cual pretende ser un elemento útil de educación ambiental accesible a cualquier persona o colectivo.

Con ella se pretende informar al inexperto de que existen especies tóxicas muy semejantes a las tradicionales especies comestibles. Una confusión podría tener graves consecuencias, que en el peor de los casos conduciría a la muerte. Con ello se podrá recomendar al recolector, que la prudencia es la mejor actitud para evitar esto, dejando en claro que no hay que temer a las setas. En cambio hay que conocerlas e identificarlas perfectamente para así poder disfrutarlas.



Puntos de Información Micológica (PIM)

En 2004 se inició con este Plan la creación de 8 Puntos de Información Micológica. Tres de ellos se ubican en los municipios de Aracena (Huelva), Jimena de la Frontera (Cádiz) y Siles (Jaén). Durante este mismo año se iniciarán los trabajos para dotar a Andalucía de 5 PIM más. Se pretende que al final existan un Punto de Información Micológica por provincia. Los objetivos finales se concretan en los siguientes: proporcionar al público los conocimientos necesarios para conseguir un uso sostenible, corregir los actuales usos desordenados y abusos del recurso micológico, y servir como elemento de atracción para un turismo de naturaleza de calidad medioambiental.



Jardín micológico

Se crea el Jardín Micológico de Zagalla, único asociado a setas y trufas de toda la Comunidad Andaluza, y el primer Jardín Micológico de Europa. Sus objetivos son:

- Impulso y ejecución de proyectos de conservación e investigación de las Setas y Trufas de Andalucía.
- Divulgación sobre la gran importancia de los hongos andaluces respecto al resto de Europa, identificando claramente sus bondades (singularidades, elevada biodiversidad, alta productividad y rentabilidad de ciertas comarcas, etc.).
- Desarrollo de programas de uso público que informen sobre la necesidad de conseguir un uso sostenible de este nuevo recurso de gran valor medioambiental, social y comercial.
- Realización de campañas y programas de Educación Ambiental para favorecer los anteriores objetivos.

En este Jardín se tratará de conseguir fructificaciones de más de 130 especies de hongos de los tres grupos tróficos: micorrizógenos, sapróbios y parásitos. Los hongos son organismos muy afectados por las condiciones climáticas, y edafológicas de la zona donde se desarrollan; mucho más que las plantas. En el jardín de Zagalla, se debe reproducir estas condiciones microclimáticas y otras relacionadas con la ecología de las especies (suelo, especies vegetales asociadas, etc.). Para ello se deben recrear los sistemas naturales mayoritarios de Andalucía: encinar, alcornocal, quejigal, pinar, bosque de ribera, matorral y pradera. En cada uno de ellos se inocularán hongos micorrizógenos y sapróbios. Cada árbol o arbusto será micorrizado con la seta correspondiente. Así mismo, se aportarán los substratos necesarios para el desarrollo de las setas sapróbias (paja, estiércol, madera, etc.). Todo será interpretado mediante maquetas y paneles interactivos distribuidos a lo largo de los senderos que recorrerán todos los medios. Como complemento se creará una sala de exposiciones, y otra sala microclimática con setas en vivo, dotadas de medios interpretativos.

Pero, si bien el interés, novedad y espectacularidad, serán algo intrínseco a este Jardín Micológico, no menos lo serán los procesos y procedimientos técnicos para conseguir fructificaciones de setas asociadas a los distintos elementos vegetales de los ecosistemas andaluces. Esto también será interpretado y puesto en valor como una herramienta más a disposición de los programas de Educación Ambiental.

Su singularidad, su extremado valor conservacionista, y la vertiente de uso público y educativa que se pretende desarrollar, supone una oferta destacada que conseguirá la atracción social esperada para favorecer la sostenibilidad del conjunto, actuando como destino de un turismo de naturaleza y rural de gran calidad.

Rutas Micológicas

Se estará a disposición del público 8 rutas micológicas, una por cada provincia andaluza. Se trata de la edición de estas rutas en lenguaje ameno y asequible al público en general para favorecer el acercamiento, conocimiento y conservación de las setas y trufas de Andalucía.

Unidad Didáctica

Este plan presentará la primera Unidad Didáctica oficial sobre las setas y trufas de Andalucía llamada "El Reino Oculto de los Hongos". Esta publicación es fruto de una



estrecha colaboración entre las Consejerías de "Medio Ambiente" y "Educación y Ciencia" de la Junta de Andalucía. Con ella se pone en manos del colectivo docente un instrumento útil para emplear directamente en el aula y en los programas educativos que estos centros desarrollan. El resultado será un conocimiento por parte del alumnado de los procesos biológicos de este recurso natural y de la importancia ambiental y socioeconómica del mismo, obteniendo de esta forma una participación activa en los programas de conservación y uso sostenible emprendidos por la administración ambiental andaluza.

Regulación de Usos

A través del Dpto. de Biología Vegetal de la Universidad de Córdoba se elaborarán unas Directrices Técnicas a partir de las cuales se elaboraría el futuro texto jurídico que regulase la conservación y uso sostenible de las setas y las trufas de Andalucía. Para la elaboración de tales Directrices fueron consultadas, tanto las Asociaciones Micológicas como a Municipalidades y distintas personas estrechamente relacionadas con el tema, a las cuales se les remitió el texto para que hiciesen las observaciones que estimasen oportunas.

La Consejería de Medio Ambiente comenzó a dar forma jurídica a las citadas Directrices, elaborando la propuesta de Decreto. En dicho texto jurídico se incorporaron en gran medida las observaciones realizadas por los colectivos anteriormente citados, siendo objeto de distintas modificaciones.

En estos momentos, esta Consejería cuenta con el primer borrador de Decreto y se están depurando aspectos relativos a la regulación mediante un proceso de participación extraordinariamente activo. Una vez que se realicen todas las modificaciones y mejoras necesarias, se procederá a la iniciación del procedimiento formal de elaboración de la citada disposición, siendo de obligado cumplimiento todas las fases de procedimientos requeridas para garantizar la seguridad jurídica de la norma.

Como conclusión se diría que estos recursos naturales son susceptibles de un aprovechamiento ordenado y racional que beneficie a las poblaciones locales donde se desarrollan. Con este trabajo la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, pretende descubrir para la sociedad andaluza un nuevo recurso natural y socioeconómico nunca antes valorado en esta región. Por último, el interés socioeconómico de las setas y trufas en sus múltiples facetas, se propone como uno de los pilares del desarrollo rural.



Contactos Establecidos

Presentar los antecedentes de los contactos establecidos durante el desarrollo de la propuesta (profesionales, investigadores, empresas, etc.), de acuerdo al siguiente cuadro:

Institución Empresa Organización	Persona de Contacto	Cargo	Fono/Fax	Dirección	E-mail
New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited	Dr. Wang Yun	Micólogo	64-3-4890163/ 64-3-4890674	Private Bag 50 034 Mosgiel New Zealand	wangy@cro p.cri.nz
Chungbuk National University	Dr. Chang-Duck Koo	Profesor	82-43-2612537/ 82-43-2725921	12 Gaeshin- dong Cheongju Chungbuk 361-763, Korea	koocdm@ch ungbuk.ac.kr
Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas	Dr. Jesús Pérez-Moreno	Profesor	01-595-9520200/ 01-595-9520287	Km 36.5 Carr. México- Texcoco, Montecillo, Texcoco, México	jpérezm@co lpos.mx
Ibaraki Prefectural Forestry Research Institute	Dr. Kobayashi Hisayasu	Investigado r	81-29-2958070/ 81-29-2706005	TO 4692, Naka, Ibaraki 311-0122, Japan	hkoba@agri. pref.ibaraki.j p
Kanso Technos	Dr. Koji Iwase	Director micología, Micorrizas	81-774-215001/ 81-774-215005	8-4 Ujimatafuri, Uji, Kyoto 611-0021, Japan	lwase_koji@ kanso.co.jp



Institute of Mycology, Agricultural University of Jilin	Dr. Li Yu	Director, Profesor	86-431-4532989/ 86-431-4510971	2088, Xincheng Street, Changchun City, Jilin Province P.R. China	yuli966@126.com
Helsinki University of Technology	Dr. Salem Shamekh	Cientista Senior	358-9-451-2545/ 358-9-462-373	P.O. Box 6100(kemistintie) FI-02015 TKK, Finland	Salem.shamekh@tkk.fi
Université Mohammed V-Agdal	Dr. Lahsen Khabar	Micólogo	212 37 77 54 61/ 212 37 77 79 34	B.P. 1014 Av. Ibn Battouta – Rabat - Maroc	khavar@fsr.ac.ma
University of Missouri	Dr. Johann N. Bruhn	Investigador. Profesor	573-882-1471/ 573-882-0588	108 Waters Hall, Columbia, MO 65211	BruhnJ@missouri.edu
Micología Forestal & Aplicada	Marcos Morcillo S.	Director Técnico, Biólogo	93-8155455	Rbla Arnau de Villanova, 6 localD, 08800 Vilanova i la Geltrú, Barcelona	micofora@terra.es
Fundación de Estudios Ambientales del Mediterráneo (CEAM)	Dr. Santiago Reyna D.	Director. Ingeniero de Montes	34-96-1318227/ 34-96-1318190	Parque Tecnológico, C/Charles R. Darwin 14, 46980 PATERNA, España	santiago@ceam.es
Cesefor. Centro de Servicios y Promoción Forestal	Rodrigo Gómez C.	Informática	975-212453/ 975-231636	Pol.Ind. Las Casas, calle C. Parcela 4, 42005, Soria	rgomezcc@cesefor.com



Material elaborado y/o recopilado

Entregar un listado del material elaborado, recibido y/o entregado en el marco de la propuesta. Se debe entregar adjunto al informe un set de todo el material escrito y audiovisual, ordenado de acuerdo al cuadro que se presenta a continuación.

También se deben adjuntar fotografías correspondientes a la actividad desarrollada. El material se debe adjuntar en forma impresa y en un medio electrónico (disquet o disco compacto).

Elaborado

Tipo de material	Nombre o identificación	Preparado por	Cantidad
Diapositivas ANEXO 1	Charla de Difusión "Asistencia a IV Workshop internacional sobre Hongos Micorrícicos Comestibles"	Patricio Chung G.	1

Recopilado

Tipo de Material	Nº Correlativo	Caracterización (título)
Libro ANEXO 4	1	Actas VI Workshop Internacional sobre Hongos Micorrícicos Comestibles
Diapositivas en ANEXO 2		
Diapositiva	1	Ricardo Ramírez C. Agrobiotruf
Diapositiva	2	Tracking edible <i>Lactarius</i> Strains in Different Phases of the manager mycorrhizal symbiosis
Diapositiva	3	Enviromental, ecology and vegetative propagation of Libyan Truffles
Diapositiva	4	Relative quantification of DNA from <i>Tuber melanosporum</i> mycelium in soil around productive and non-productive trees in a truffle orchard
Diapositiva	5	GIS Analysis to manage <i>Lactarius deliciosus</i> Fr. harvests in the Almazan forestry range (Soria, Spain)
Diapositiva	6	Ecophysiological and pedological factors and black truffle (<i>Tuber melanosporum</i> Vitt.) production in an

		evergreen holm oak (<i>Quercus ilex</i> L.) truffle orchard
Diapositiva	7	METLA Finnish Forest Research Institute
Diapositiva	8	Germination of Black Truffle Ascospores
Diapositiva	9	Growth of three different <i>Lactarius</i> species under different in vitro conditions
Diapositiva	10	Post Fire Forest Regeneration with cash crop: Truffles
Diapositiva	11	Mycocoenosys in a truffle plantation
Diapositiva	12	Ascocarp density in a truffle plantation
Diapositiva	13	Vascular and mycorrhizal biodiversity of truffières in Navarra(Northern Spain)
Diapositiva	14	Mycorrhization profile in a truffe plantation of <i>Tuber aestivum</i> Vittad.
Diapositiva	15	Success of burgundy truffle oak host grown in several potting mixes
Diapositiva	16	<i>Lactarius deliciosus</i> Fr. Performance in a pure and mixed Pinus stand of <i>Pinus pinaster</i> Ait. And <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. In the southeast of the province of Soria
Diapositiva	17	Effect of different carbon sources on growth of three different <i>Lactarius</i> species
Diapositiva	18	Management of edible mycorrhizal mushrooms as a tool for wildfire prevention in Mediterranean ecosystems
Diapositiva	19	Effect of truffle sylviculture treatments on the mycorrhization and tree regeneration of a mixed forest with spontaneous black truffles
Diapositiva	20	Comparison between the variability of the its and igs regions in <i>Tuber borchii</i>
Diapositiva	21	Bases for economic valuation of mushroom productions in forest ecosystems
Diapositiva	22	Fungal selviculture: forest management to produce wild edible mushrooms



Diapositiva	23	Comparison of the mycorrhization in three young truffle orchards of different ages in el Toro
Diapositiva	24	Invertases in the ectendomycorrhizal association <i>Helianthemum almeriense</i> x <i>Terfezia claveryi</i>
Diapositiva	25	Rapid identification by molecular tools of the most common species of the <i>Terfezia</i> genus in the iberian peninsula
Diapositiva	26	International truffle orchards Workshop. 16-17/10/2006 Juva, Finland.
Fotografías en ANEXO 3		
Foto	1	Primera Charla Difusión Instituto Forestal en Santiago
Foto	2	Primera Charla Difusión Instituto Forestal en Santiago
Foto	3	Segunda Charla Difusión Liceo A-15, Duao, Talca
Foto	4	Segunda Charla Difusión Liceo A-15, Duao, Talca
Foto	5	Wang Yung (China), Patricio Chung (Chile), Oria de Rueda (España)
Foto	6	Parte de asistentes a Workshop en la Universidad de Murcia, Murcia, España
Foto	7	Miguel Torrejón (España), P. Chung (Chile), Pierre Sourzat (Francia)
Foto	8	P. Chung (Chile), Lahsen Khabar (Marruecos), Koji Iwase (Japón)
Foto	9	Alexandra Zambonelli (Italia), Wang Yun (China), Gabriella di Massimo (Italia)
Foto	10	Universidad de Murcia en Murcia, España
Foto	11	Poster: Microbiological characterization, decontamination and preservation of <i>Tuber aestivum</i> Vitt
Foto	12	Poster: New Advances about asiatic truffle species commercialized in Spain
Foto	13	Poster: Optimization of the mycorrhization process of <i>Pinus halepensis</i> in controlled conditions

Foto	14	Poster: Characterization o fan esterase from ascocarps of <i>Terfezia claveryi</i>
Foto	15	Poster: Characterization of phosphatase activity in <i>Terfezia claveryi</i> Chatin ascocarps
Foto	16	Poster: Comparative essay of mycorrhization with different doses of inoculum from different years. Precocity of simbiosis establishment
Foto	17	Poster: Effects of the initial level of mycorrhization on the evolution of young plants inoculated with <i>Tuber melanosporum</i>
Foto	18	Poster: Optimization of factors for the production of <i>Pinus halepensis</i> mycorrhized with <i>Lactarius deliciosus</i> under nursery conditions
Foto	19	Poster: Contribution to understand <i>Xolantha guttata</i> mycorrhizal association with <i>Tuberaceae</i> species in midland of Portugal
Foto	20	Poster: Some data to the knowledge of Chinese truffle's (<i>Tuber indicum</i>) taxonomy and habitat preference in Yunnan provence
Foto	21	Poster: Antioxidative properties of wild edible mushrooms: Individual cap and stipe activity
Foto	22	Poster: Comparative analysis of the mycorrhiza formed by <i>Lactarius indigo</i> , <i>L. deliciosus</i> and several neotropical or euroasiatic pine species
Foto	23	Poster: Piedmont white truffle (<i>Tuber magnatum</i> Pico) mycorrhization: new basis
Foto	24	Poster: Truffles cultivation and other edible mushroom from Teruel (Spain)
Foto	25	Poster: Effect of the ectomycorrhizal fungi <i>Laccaria laccata</i> and <i>Suillus luteus</i> on Dumping off by <i>Fusarium monilliforme</i> and <i>F. oxysporum</i> on scots pine seedlings
Foto	26	Poster: Comparison of truffle aroma of different cultures of <i>Tuber melanosporum</i>
Foto	27	Poster: Influence of a low and economical black truffe mycorrhization on <i>Quercus ilex</i> subsp <i>ballota</i> growth



Foto	28	Poster: Statistical analysis of <i>Sphaerosporella brunnea</i> impact on <i>Tuber melanosporum</i> cultures
Foto	29	Poster: Influence of active carbonate of the soil on the presence of black truffle species: <i>Tuber melanosporum</i> , <i>T. aestivum</i> y <i>T. mesentericum</i>
Foto	30	Poster: Mean precipitation influence on the natural production of <i>Tuber melanosporum</i> in central Spain
Foto	31	Poster: Optimization of the mycorrhization process of <i>Pinus halepensis</i> in controlled conditions
Foto	32	Poster: Current state and perspectives of truffle cultivation in Chile
Foto	33	Poster: Collection of carpophores of edible ectomycorrhizal mushroom in mine sites
Foto	34	Poster: Valdemeca (Cuenca Spain): an experience in local regulation of mycological resources
Foto	35	Poster: Edible ectomycorrhizal mushroom for birch and douglas-fir clear-cut plantations and mature forest in the southern interior of British Columbia, Canada
Foto	36	Poster: Study of the macrofungi community associated with pinus (<i>Pinus pinaster</i>), chestnut (<i>Castanea sativa</i>), oak (<i>Quercus pirenaica</i>) in the northeast of Portugal
Foto	37	Poster: Soil impact in <i>Cistus laurifolium</i> L. populations with low production of <i>Tuber melanosporum</i>
Foto	38	Poster: Influence of active carbonate and soil features on <i>Tuber melanosporum</i> productivity
Foto	39	Poster: Soil features and climate conditions in a <i>Tuber dryophilum</i> habitat in Central Spain (Alto Tajo Basin)
Foto	40	Poster: Potential production areas of <i>Tuber nigrum</i> in Albacete and Cuenca Provinces(Spain)
Foto	41	Poster: Soil feature and <i>Tuber melanosporum</i> production in <i>Tilia platyphyllos</i> populations in Central Spain (Alto Tajo Basin)
Foto	42	Poster: Truffle cultivation in Morocco: The first results
Foto	43	Poster: The morphological and molecular identification

		of the main truffle species in China
Foto	44	Poster: Characterization and quantification of the ectomycorrhizae of the truffle plantations "Los Quejigares"(Soria, Spain)

Programa de difusión de la actividad

En esta sección se deben describir las actividades de difusión de la actividad, adjuntando el material preparado y/o distribuido para tal efecto.

En la realización de estas actividades, se deberán seguir los lineamientos que establece el "Instructivo de Difusión y Publicaciones" de FIA, que le será entregado junto con el instructivo y formato para la elaboración del informe técnico.

De acuerdo a exigencias de FIA, se vinculó las actividades de difusión de los Resultados de la participación en el IV Workshop: Edible Mycorrhizal Mushrooms con aquellas que realizaron los también participantes becados, señores Ricardo Ramírez y Ricardo Suarez de la empresa Agrobiotruf S.A.. Las actividades de difusión se realizaron en conjunto a fin de incrementar el número de asistentes e incrementar el impacto del programa. Como acuerdo entre los becarios, la primera charla fue organizada por el INFOR y, la segunda, organizada por la empresa Agrobiotruf S.A.,

Actividad 1: Primera charla de difusión organizada por INFOR, en su edificio de la Sede Centro Norte, ubicado en Huérfanos 554, Santiago. Esta fue dirigida a Propietarios, productores, ONGs, Institutos de investigación, Investigadores, Académicos. Esta fue presenciada por 20 profesionales, entre los que se cuenta personas independientes como del sector público y privado como CONAF, INIA, U. de Chile, Forestal Mininco, Midesa S.A., Fungi Australe S.A., INFOR, Agroland S.A. y cuya charla tuvo una duración aproximada de 2 horas.

Actividad 2: La segunda charla de difusión organizada por Agrobiotruf S.A., se realizó en el Liceo Agrícola A-15 de Duao, Camino a Duao S/N, Comuna de Maule. A esta charla asistieron un total de 13 personas.



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN

CHARLA: "Resultados de asistencia y participación en el IV Workshop Internacional sobre Hongos Micorrízicos Comestibles" realizado en la Universidad de Murcia, en Murcia, España, entre los días 28 de noviembre y 2 de diciembre de 2005



Fecha y Lugar: 10 de enero de 2006, en INFOR, Sede Centro Norte, Santiago, calle Huérfanos 554.

PROGRAMA:

- | | |
|---------------|---|
| 10:30 a 10:35 | Recepción y Bienvenida
Representante de INFOR |
| 10:35 a 10:45 | Palabras del Representante de FIA |
| 10:45 a 11:30 | Charla: Resultados de asistencia a Workshop Internacional Parte I
Sr. Patricio Chung G., INFOR. |
| 11:30 a 11:45 | Café |
| 11:45 a 12:30 | Charla: Resultados de asistencia a Workshop Internacional Parte II
Sr. Ricardo Ramirez C., Agrobiotruf |
| 12:30 a 12:45 | Preguntas |

Instituto de Investigación Forestal, Santiago, 10 de enero de 2006

Información de contacto: Patricio Chung G., Instituto Forestal, Sede Bio Bio, Concepción
Tel: 41 - 742090 Anexo 11, e-mail: pchung@infor.cl



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACION PARA LA
INNOVACION AGRARIA

Tarjeta de Invitación Charla de Difusión en el Instituto Forestal



INFOR
Instituto Forestal



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACION PARA LA
INNOVACION AGRARIA

El Instituto de Investigación Forestal (INFOR) y la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), tienen el agrado de invitar a Usted a una charla de difusión sobre los resultados obtenidos en la asistencia al IV Taller Internacional sobre "Hongos Micorrízicos Comestibles", en Murcia, España, entre los días 28 de noviembre y 2 de diciembre de 2005. En la ocasión, se entregara información relevante que permita mejorar y actualizar el nivel de conocimiento sobre los hongos micorrízicos comestibles y su cultivo

Esta actividad se realizará sin costo el día martes 10 de Enero de 2006 a las 10:30 horas, en la Sede Centro Norte del INFOR, ubicado en calle Huérfanos 554, Santiago.

Desde ya agradecemos su asistencia y la difusión de esta invitación a otras personas interesadas.

**S.R.C.: Fono (41) 749090
email: pchung@infor.ci**



ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN

CHARLA: “Resultados de asistencia y participación en el IV Workshop Internacional sobre Hongos Micorrícicos Comestibles” realizado en la Universidad de Murcia, en Murcia, España, entre los días 28 de noviembre y 2 de diciembre de 2005.

El objetivo de esta actividad es difundir conocimientos adquiridos sobre tecnologías para el cultivo de setas y trufas, la producción de inóculo micorrícico, el control de la micorrización, las plantaciones forestales y la silvicultura fúngica. Todo ello encaminado además hacia la mejora de la productividad de setas y trufas comestibles y su incidencia en el entorno rural.



Fecha y Lugar: martes 17 de enero de 2006, en Liceo Agrícola A15 de Duao, Camino a Duao S/N Comuna de Maule.

PROGRAMA:

- | | |
|---------------|---|
| 10:30 a 10:35 | Recepción y Bienvenida
Representante de Agrobiotruf |
| 10:35 a 10:45 | Palabras del Representante de FIA |
| 10:45 a 11:30 | Charla: Resultados de asistencia a Workshop Internacional Parte I
Sr. Patricio Chung G., Investigador Instituto Forestal (INFOR) |
| 11:30 a 11:45 | Café |
| 11:45 a 12:30 | Charla: Resultados de asistencia a Workshop Internacional Parte II
Sr. Ricardo Ramírez C., Gerente Técnico Agrobiotruf S.A. |
| 12:30 a 12:45 | Preguntas |

Duao, 17 de enero de 2006

Información de contacto: Ricardo Ramirez., Agrobiotruf S.A., Talca.
Fonos.: 71- 233011 - 08-6691747, e-mail: agrobiotruf@trufaschile.cl
www.trufaschile.cl

Tarjeta de Invitación Charla de Difusión en Liceo agrícola A 15 de DUAO



La empresa Agrobiotruf S.A. y la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), tienen el agrado de invitar a Usted a una charla de difusión sobre los resultados obtenidos en la asistencia al IV Taller Internacional sobre "Hongos Micorrícicos Comestibles", realizado en Murcia, España, entre los días 28 de noviembre y 2 de diciembre de 2005. En la ocasión, se entregara información relevante que permita mejorar y actualizar el nivel de conocimiento sobre hongos de micorriza y trufas comestibles.

Esta actividad se realizará sin costo el día martes 17 de Enero de 2006 a las 10:30 horas, en el Liceo Agrícola A15 de Duao, ubicado en Camino a Duao s/n, comuna de Maule, VII Región.

Desde ya agradecemos su asistencia y la difusión de esta invitación a otras personas interesadas.

S.R.C.: Fono 08-6691747
email: agrobiotruf@trufaschile.cl



5. PARTICIPANTES DE LA PROPUESTA

GIRAS, BECAS: Ficha de Participantes

CONSULTORES: Ficha de(l) Consultor(es)

EVENTOS: Ficha de Expositores y Organizadores

DOCUMENTOS: Ficha de Autores y Editores

Nombre	Patricio Moisés
Apellido Paterno	Chung
Apellido Materno	Guin-po
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Camino a Coronel km. 7,5, San Pedro de la Paz, Concepción, VIII Región
Fono y Fax	41 – 749090 / 41 - 749090
E-mail	pchung@infor.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Instituto Forestal
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Investigador
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Eduardo
Apellido Paterno	Costoya
Apellido Materno	Arrigoni
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Versalles 3041, Las Condes, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 3256916
E-mail	ecostoya@entelchile.net
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Particular
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	Particular
Cargo o actividad que desarrolla	Ingeniero
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Telecomunicaciones



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Juan Eduardo
Apellido Paterno	Donoso
Apellido Materno	Gutiérrez
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Santa Julia Oriente 135., La Florida, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 3142997
E-mail	jdonoso@uchile.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	U. de Chile
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Profesor Titular
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Micología y Biodeterioro de la madera



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Sandra
Apellido Paterno	Perret
Apellido Materno	Durán
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Huérfanos 554. Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 6930890 / 69300741
E-mail	isperret@infor.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Instituto Forestal
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Gerente Regional
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Zonas Áridas / Agroforestería



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Marlene
Apellido Paterno	González
Apellido Materno	González
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Huérfanos 554, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 6930743/ 6930890
E-mail	magonzal@infor.gob.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Instituto Forestal
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Investigador
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Pestes y Plagas / Estadísticas



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Pablo
Apellido Paterno	Vasquez
Apellido Materno	Gassibe
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Av. Simón Bolívar 6866, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 2265383
E-mail	pvasg@yahoo.com
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Red de Productos Forestales no maderables, Osorno
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Colaborador
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Investigación



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Francisco
Apellido Paterno	Figueroa
Apellido Materno	Navarro
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Fidel Oteiza 1956, Providencia, RM.
Fono y Fax	02 – 2055086 / 2055184
E-mail	Figueroa@algasmarinas.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	MIDESA S.A.C.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Grte. Comercial
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Agroindustria / Acuícola



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Graciela
Apellido Paterno	Lorca
Apellido Materno	Acuña
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Moneda 2155. Depto 410, Santiago, RM.
Fono y Fax	09 – 0236598
E-mail	g.lorca@entelchile.net
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Independiente
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Elaboración de Proyectos (Asesorías)
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Productos naturales



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Ximena
Apellido Paterno	Aravena
Apellido Materno	González
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Calle Nueva 4975. Ñuñoa, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 2771533
E-mail	ximena.aravena@gmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Independiente
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Asesorías y elaboración de Proyectos
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Servicios Forestales



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Eduardo
Apellido Paterno	Nudman
Apellido Materno	Gordon
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Fidel Oteiza 1956, of. 103, Providencia, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 2445252 / 2445353
E-mail	edo@agroland.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	AGROLAND S.A.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Gerente General
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Agroindustria Deshidratados



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Catalina
Apellido Paterno	Gómez
Apellido Materno	Pierotic
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Portugal 48 Torre 6 Dpto 54, Santiago, RM.
Fono y Fax	09 3493698
E-mail	
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Particular
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Ing Forestal
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Mónica
Apellido Paterno	Quiroga
Apellido Materno	Peña
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Exequiel Fernández 4737, Santiago, RM.
Fono y Fax	08 3522241
E-mail	monicaquiroga@vtr.net
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Universidad de Chile
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Memorante Ing. Forestal
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	David Andrés
Apellido Paterno	Flores
Apellido Materno	Ahumada
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Pozo al Monte 1613, Maipú, Santiago, RM.
Fono y Fax	09-2304563
E-mail	dafa@vtr.net
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Particular
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Ingeniero Forestal
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	David
Apellido Paterno	Campos
Apellido Materno	Roasio
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Huérfanos 554, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 6930740
E-mail	dcampos@infor.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Instituto Forestal
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Gerente Sede Centro Norte
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Investigación Forestal



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Giuliana María
Apellido Paterno	Furci
Apellido Materno	George-Nascimento
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	José Zapiola 8240 Casa E, La Reina , Santiago, RM.
Fono y Fax	09 – 1212099 02- 4188183
E-mail	gfurci@hongos.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Fungi Australe S.A.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Gerente General
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Micología

Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Ricardo
Apellido Paterno	Romero
Apellido Materno	Alpe
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Av. Bulnes 285, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 3900218
E-mail	romero@conaf.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	CONAF
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Asesor Dirección Ejecutiva
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Área Pública



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Manuel
Apellido Paterno	Acuña
Apellido Materno	Soto
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Roberto Lorca 216, Santiago, RM
Fono y Fax	02 5582508
E-mail	Manuel.acuña.s.t.@gmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	INIA, La Platina
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Investigador
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Agrícola



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Mario
Apellido Paterno	Olmedo
Apellido Materno	Sánchez
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Avda Alemania 751, Los Ángeles, VIII Región
Fono y Fax	43 – 1974666
E-mail	Mario.olmedo@forestal.cmpc.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Forestal Mininco S.A.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Encargado de vivero
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Rodrigo
Apellido Paterno	Nuñez
Apellido Materno	Infante
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Viña del Mar 6463. Depto 33-a. La Florida, Santiago. RM.
Fono y Fax	02 – 2866909
E-mail	ranunezi@uchile.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Universidad de Chile
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Estudiante Ingeniería Forestal
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 1

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Ricardo
Apellido Paterno	Ramírez
Apellido Materno	Carrasco
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Parcela 10 Alto Las Cruces Lote M, Talca, VII Región
Fono y Fax	08 – 6691747
E-mail	agrobiotruf@trufaschile.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Agrobiotruf S.A.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Gerente Técnico
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Pedro
Apellido Paterno	Béjares
Apellido Materno	Silva
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Camino Duao S/N, Duao, Maule, VII Región
Fono y Fax	71 – 638220
E-mail	duao.direccion@codesser.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Liceo Agrícola
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Director
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Agrícola-Forestal



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Ana María
Apellido Paterno	Ibarra
Apellido Materno	Cerda
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Rosa de los Andes 1941, Santiago, RM
Fono y Fax	09-7991425
E-mail	anyibarra@gmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Particular
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Ingeniero Comercial
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Productor Agrícola



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Claudio
Apellido Paterno	Rodríguez
Apellido Materno	Figueroa
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Avenida San Miguel 3605, Talca, VII Región
Fono y Fax	71 – 203500
E-mail	crodrig@ucm.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Universidad Católica del Maule
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Ingeniero Forestal, Académico
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Christian
Apellido Paterno	Andrade
Apellido Materno	Castro
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Providencia 2145, Depto 801, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 4242134
E-mail	canito@esfera.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Particular
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Particular
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Productor



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Rafael
Apellido Paterno	Henríquez
Apellido Materno	
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	21 Oriente 320, Talca, VII Región
Fono y Fax	71 – 233011
E-mail	rafael.forestal@gmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Universidad Católica del Maule
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Ingeniero Forestal, Docente
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Karoline Inés
Apellido Paterno	Casanova
Apellido Materno	Del Río
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Camino a Coronel km 7,5, San Pedro de la Paz, Concepción, VIII Región
Fono y Fax	41 – 749090
E-mail	kcasanova@infor.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Instituto Forestal
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Ingeniero en Ejecución Forestal
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Eduardo
Apellido Paterno	Ávila
Apellido Materno	Acevedo
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Avenida San Miguel 3605, Talca, VII Región
Fono y Fax	71 – 233011
E-mail	eavila@ucm.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Universidad Católica del Maule
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Ingeniero Forestal, Investigador
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal

Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Pablo
Apellido Paterno	Iracheta
Apellido Materno	Parot
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Parcela El Canelo S/N, Duao, Maule, VII Región
Fono y Fax	71 – 238612
E-mail	piracheta@salmonescolbun.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Salmones Colbún Ltda.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Ingeniero Comercial
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Agrícola-Forestal-Acuícola



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Ricardo
Apellido Paterno	Weber
Apellido Materno	Dietrich
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Camino a Tres Esquinas km 23, Coihueco, VIII Región
Fono y Fax	08 – 9019394
E-mail	ricardoweber@gmx.at
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Particular
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Productor
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Agrícola



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Ricardo
Apellido Paterno	Suárez
Apellido Materno	Olave
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	General Holley 2363. Of. 401, Providencia, Santiago, RM.
Fono y Fax	02 – 3343094
E-mail	rsuarez@antgroup.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Antgroup S.A.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Ing. comercial, Productor
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Agrícola-Forestal



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Bernard
Apellido Paterno	Yve
Apellido Materno	Steinmetz
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Parcela Los Maitenes, San Clemente, Talca, VII Región
Fono y Fax	09 – 7428506
E-mail	bernard@steinmetz.com
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Particular
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Técnico Agrícola, Productor
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Agrícola-Forestal



Participantes en actividades de difusión 2

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	Ricardo
Apellido Paterno	Ramírez
Apellido Materno	Carrasco
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	Parcela 10 Alto Las Cruces Lote M, Talca, VII Región
Fono y Fax	08 – 6691747
E-mail	agrobiotruf@trufaschile.cl
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Agrobiotruf S.A.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Gerente Técnico
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Forestal

6. EVALUACIÓN DE LA PROPUESTA

Evaluación de la actividad para cada INICIATIVA

En esta sección se debe evaluar la actividad en cuanto a los siguientes ítems:

a) Efectividad de la convocatoria (cuando corresponda)

La efectividad de la convocatoria se podría decir fue un tanto engañoso debido a que estas se realizaron en fechas en que muchas personas se encontraban en sus vacaciones legales y en otros casos tenían otras obligaciones con sus respectivos trabajos. Esto se notó en la segunda convocatoria con una asistencia de 9 personas. Sin embargo, en la primera charla de difusión se notó mayor asistencia con una amplia participación de varias instituciones tanto fiscales como particulares, asistiendo además funcionarios de INFOR, totalizando una asistencia de 18 personas.

Una forma de poder mejorar la asistencia a estas charlas es la de realizar estos eventos en épocas diferentes a las ya conocidas fechas de vacaciones (enero y febrero). Por otro lado, pudiera hacerse más llamativa la convocatoria a través de títulos más sugerentes que permitan incentivar por sí solos la asistencia a estas charlas.

Por otro lado, la temática ofrecida a la potencial audiencia no permite realizar una invitación en forma masiva, siendo esta más dirigida a ciertos actores tanto de empresas como de instituciones y particulares que estén inmersos en estos temas que son de gran trascendencia para el país desde el punto de vista económico, social y ecológico, pero el cual es hasta el momento un tema poco conocido.

b) Grado de participación de los asistentes (interés, nivel de consultas, dudas, etc)

En ambas charlas se observó gran interés por la temática, principalmente ligado a la parte productiva y comercial de estos hongos. Especialmente de interés fueron las consultas respecto al proceso de inoculación de las plantas, su manejo en las plantaciones y cuidados a tener en cuenta para la obtención final de los cuerpos frutales.

Se manifestaron dudas, sobre aspectos de costos y resultados en la instalación de plantaciones con plantas inoculadas con *Tuber melanosporum*, pues los costos de instalación bordean los 6 millones de pesos más los costos de mantención anual lo que, nos lleva a que no es una plantación accesible a los pequeños o medianos propietarios.

Algunas personas como la ligada a Forestal Minínco, solicitó la copia de las diapositivas presentadas para su difusión en la empresa. Por otro lado, se manifiesta el interés de obtener productos secundarios de bosques de tipo forestal para obtener una mayor rentabilidad de la plantaciones, debido a que las empresas forestales como Minínco, desean aplicar una política social con las plantaciones, permitiendo un mayor beneficio a las familias cercanas a sus plantaciones y que pueden beneficiarse con la colecta y venta de este tipo de productos.

Otras personas manifiestan la poca importancia que tienen estos productos en Chile, y cual serían los mecanismos para que estos productos fueran más utilizados por la

población chilena en aspectos como el consumo de estos.

Algunos investigadores como Juan Donoso y Giuliana Forci, opinan de la poca investigación que existe en Chile respecto de las especies nativas que pudieran utilizarse con diversos objetivos productivos y solicitan un trabajo conjunto que permita potenciar el tema. En especial, la Sr Giuliana Forci, en conversaciones luego de terminada la charla, plantea la posibilidad de trabajar en conjunto para temas de difusión, entre otros.

Por otro lado, se presentaron preguntas respecto a cuales son los productos fúngicos que existen en los bosques comerciales en Chile, cuales son los más valiosos y como poder identificarlos. Mencionando también, los procesos que se deberían tomar para obtener un producto exportable, tomando aspectos desde su cosecha hasta su procesamiento

Además, los exportadores manifestaron su interés en la producción de nuevos productos como son los boletos, y el tiempo que se demorará un bosque instalado con plantas inoculadas para producir este hongo.

Otra duda planteada es para qué se usan técnicas como los marcadores moleculares en los hongos, a lo cual se responde que, esta es una técnica que permite la exacta identificación de las especies y de sus posibles variedades y es una herramienta útil para corroborar la inoculación de plantas con el hongo deseado.

c) Nivel de conocimientos adquiridos por los participantes, en función de lo esperado (se debe indicar si la actividad contaba con algún mecanismo para medir este punto y entregar una copia de los instrumentos de evaluación aplicados)

El nivel de conocimientos adquiridos por los participantes estuvo dado por la información entregada en las charlas respecto a temáticas de acercamiento a los hongos micorrizicos comestibles e información respecto al cultivo, manejo y cosecha de estos hongos. Estos temas mostrados pueden ser visualizados en las presentaciones realizadas en las charlas respectivas. No se contempló ningún mecanismo de evaluación del conocimiento adquirido por los asistentes a las charlas.

d) Problemas presentados y sugerencias para mejorarlos en el futuro (incumplimiento de horarios, deserción de participantes, incumplimiento del programa, otros)

El principal problema para un mejor resultado de difusión de las charlas programadas, fue la fecha. Esta presentó el inconveniente de caer en época de vacaciones para muchas personas lo que conspiró en contra de la asistencia y participación. Esto se notó en la segunda Charla, cuya asistencia fue mucho menor a la primera

Por otro lado, el poco tiempo de preparación del material, su traducción y su preparación para la difusión de los temas tratados en el taller, no permitieron profundizar en los diferentes temas que se abarcaron. Además, existían diferentes temáticas con diferentes niveles de conocimiento, por lo que se debería haber realizado una diferenciación de temas de acuerdo al público que se quiso entregar este conocimiento.



Aspectos relacionados con la postulación al programa de Captura y Difusión

a) Información recibida por parte de FIA para realizar la postulación

amplia y detallada aceptable deficiente

Justificar: Los documentos con las bases y formularios presentan una adecuada pauta para realizar la postulación a este tipo de programa, sin requerir de consultas adicionales a esta, por lo cual encuentro suficientemente detallada la información recibida

b) Sistema de postulación al Programa de Formación o Promoción (según corresponda)

adecuado aceptable deficiente

Justificar: El sistema de postulación para el caso de becas es adecuado y correcto. La información solicitada es precisa y oportuna, lo que permite una postulación más expedita. Por otro lado, la respuesta a esta postulación fue ajustada a las pautas y plazos comprometidos por FIA

c) Apoyo de FIA en la realización de los trámites de viaje internacionales (pasajes, seguros, otros) (sólo cuando corresponda)

bueno regular malo

Justificar: Este apoyo fue excelente, pues la postulación presentada fue en el límite de tiempo fijado por FIA a lo cual se esperaría una tardanza en este trámite. Sin embargo, esta estuvo disponible rápidamente en el tiempo justo, funcionando en forma precisa y efectiva.

d) Recomendaciones (señalar aquellas recomendaciones que puedan aportar a mejorar los aspectos administrativos antes indicados)

Por lo visto y lo vivido en cuanto a aspectos administrativos de FIA, sólo quiero decir que han cumplido una buena tarea, con una alta eficiencia.



7. Conclusiones Finales de la Propuesta Completa

En el caso de Giras Tecnológicas, en lo posible presentar conclusiones individuales por participante.

En general, los objetivos propuestos se cumplieron, en relación a captar conocimientos nuevos respecto a captar algunas tecnologías, información de mercado, la situación de los hongos micorrízicos en otros países desde el punto de vista económico-social y algunas posibles innovaciones a aplicar en nuestro país. Se espera que estos conocimientos adquiridos puedan ser empleados para generar propuestas en Chile, que permitan realizar un aporte en innovación en cuanto a nuevas especies, nuevos procedimientos o tecnologías.

La gran cantidad de temas presentes en este taller nos permiten concluir que en nuestro país todavía existe mucho por investigar, tanto en los aspectos biotecnológicos, de conocimiento de la diversidad fúngica, generación de productos desde especies nativas, el uso sostenibles de los recursos, el ordenamiento de los recursos, la generación de estos productos en zonas no productivas como son las áridas y semiáridas, conocimiento del manejo y cultivo de las diferentes especies de hongos micorrízicos comestibles, etc.

En nuestro país existe una variedad de climas y suelos que permiten tener una gran diversidad de hongos micorrízicos comestibles por lo que se debieran definir estrategias que permitan llevar a diferentes zonas de nuestro país, estos recursos que permiten entregar un gran impacto social y económico para personas cercanas a los bosques productores y así poder impactar en la migración de personas o familias desde las zonas rurales a los centros urbanos. Esto permitiría generar un recurso alimenticio y generador de ingresos, permitiendo a familias enteras encontrar empleos en las estaciones de producción de estos hongos.

Las investigaciones en otros países especialmente del hemisferio norte, pueden ser un aporte a lo que se está haciendo en Chile, por lo que es necesario realizar convenios o coordinar la visita de expertos que pudieran entregar conocimientos aplicables a diferentes situación de nuestro país. La investigaciones en Chile presentan cierto avance en materia de producir plantas inoculadas, sin embargo existe nulo desarrollo y conocimiento en el manejo y cultivo de estos hongos en plantación.

Las plantaciones en Chile desde el punto de vista de la forestación, poseen incentivos que entrega el estado a través de sus bonificaciones. Sin embargo, las plantas con que realizan estas forestaciones y los montos de bonificación no son medidas en cuanto a su impacto económico social desde el punto de vista de generar un producto secundario como son los hongos comestibles. El estado a través de CONAF debiera entregar una diferenciación entre plantas sin micorrizas y plantas con micorrizas, ya sea para producir un mayor impacto económico como es el mayor crecimiento que pudiera otorgar esta micorriza como también la potencial producción de productos secundarios no maderables como son estos hongos silvestres comestibles de alto valor económico y social.

Por último, la explotación de los recursos fúngicos en nuestro país se ha hecho sin un conocimiento previo de la ecología de los hongos y de la cuantificación del recurso, por lo que el peligro de acabar el recurso está presente. Por tanto, urge un plan de



ordenamiento de este recurso, generando con ello educación a las personas que en muchos casos no tienen conocimiento de lo que colectan generando en muchos casos la invalidez o muerte de muchas personas por el consumo de hongos peligrosos como lo que a ocurrido en la actualidad con *Amanita phalloides*.



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

ANEXO 1

Diapositivas Elaboradas

INFOR Instituto Forestal

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROARIA

Uso de hongos micorrícicos comestibles como herramienta biotecnológica para el mejoramiento de la productividad de plantaciones forestales.

Hongos micorrícicos comestibles: tecnología y biotecnología al alcance del agro chileno

Patricio Chung G.

Universidad de Murcia, España
28 de noviembre-02 de diciembre de 2005

SANTIAGO, 10 DE ENERO DE 2006



INFOR Instituto Forestal

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROARIA

**“UNIDAD DE INVESTIGACIÓN Y SERVICIOS”
Sede Bio Bio, Concepción**



serbifor
SERVICIOS BIOTECNOLÓGICOS FORESTALES

INFOR Instituto Forestal

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROARIA

Introducción

El Instituto de Investigación Forestal (INFOR), en su trayectoria en el tema, ha estado trabajando en varios proyectos relacionados:

- Hongos Micorrícicos Comestibles: Una alternativa para Mejorar la Rentabilidad de Plantaciones Forestales. FONDEF
- Uso de Herramientas Biotecnológicas para Aumentar la Rentabilidad de Plantaciones de Castaño en la VIII Región, FIA-INNOVA
- Demonstration of Increase in Carbon Sink in Chilean Forestry Plantations using Mycorrhizal Inoculation of Tree Seedlings, MIKRO-TEK
- Desarrollo de Planta Piloto para la Producción industrial de los Hongos Grifola Frondosa y Grifola Gargal. COESAM



INFOR Instituto Forestal

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROARIA

Introducción

❖ Bajo este marco se realiza la postulación a los programas de formación de FIA para asistir al VI Taller Internacional sobre Hongos Micorrícicos Comestibles (IV IWEMM) realizado por la Universidad de Murcia, en Murcia, España

SIV

❖ Asistieron los principales investigadores de hongos micorrícicos comestibles de países mayoritariamente del Hemisferio Norte en la cual se cuentan: España, Portugal, Italia, Francia, Bulgaria, Japón, China, Corea, Marruecos, Finlandia, México, Inglaterra, Irlanda, Canadá, Estados Unidos, entre otros. Del Hemisferio Sur, Chile, Nueva Zelanda y Argentina,



IV Taller Internacional sobre Hongos Micorrícicos Comestibles

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PÚBLICA INNOVACIÓN AGROARIA

BULLAS MUSEO DEL VINO

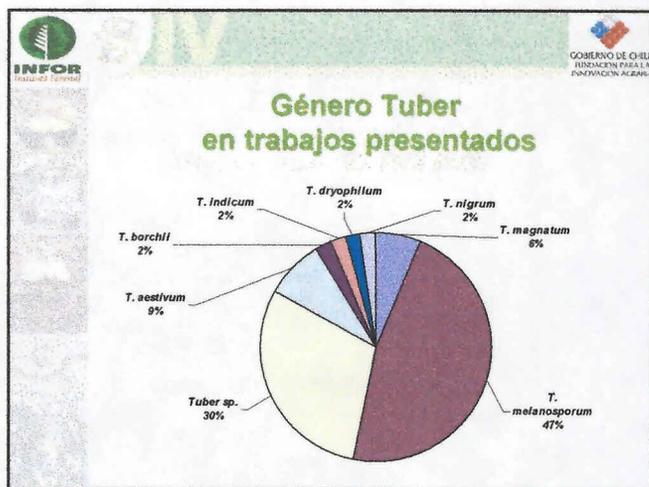
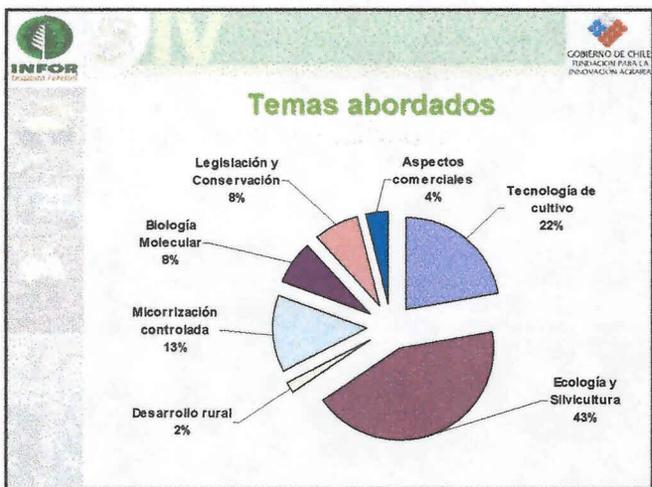
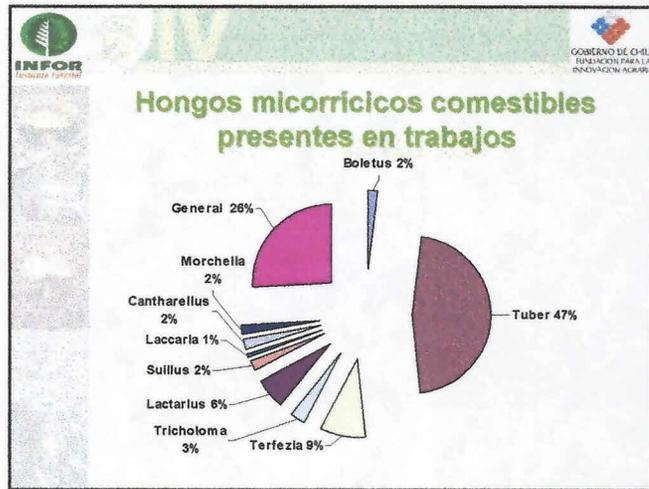
LOS BAÑOS DE ALHAMA

UNIVERSIDAD DE MURCIA

MUSEO DE LA HUERTA

LOS BARRANCOS DE GEBÁ

PARQUE NACIONAL SIERRA ESPUÑA



INFOR FONDOS FORESTALES

GOBIERNO DE CHILE FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA

HONGOS ECTOMICORRÍDICOS COMESTIBLES

cultivo, manejo y cosecha



INFOR FONDOS FORESTALES

GOBIERNO DE CHILE FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA

Introducción

- **Hongos:**
 - Carentes de clorofila. No sintetizan azúcares, pero pueden transformarlos
 - Requieren alimentos elaborados
 - Estrategias nutricionales:
 - Saprófitos: Descomponedores de la materia orgánica
 - Parásitos: Causantes de daños a hospedantes
 - Simbiontes: Liqueenes, micorrizas



INFOR FONDOS FORESTALES

GOBIERNO DE CHILE FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA

Visión General

- Introducción
- Importancia
- Cosecha de hongos ectomicorrícicos comestibles (HECs)
- Disminución de la Producción
- Cultivo y Manejo
- Investigación
- Conclusiones



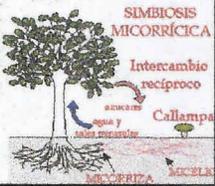
INFOR FONDOS FORESTALES

GOBIERNO DE CHILE FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA

Introducción

Micorriza: Simbiosis hongo + raíz

- 95% de especies vegetales presentan asociaciones simbióticas (Ecto, Endo, Otros)
- Solo el 3% presenta hongos del tipo ectomicorrícico (*Pinaceae*, *Fagaceae*, *Salicaceae*, *Myrtaceae*, *Mimosaceae*, entre otros).



INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Introducción

- 2.500 hongos “comestibles” registrados
- Alrededor de 300 especies son ectomicorrizas
- Los más valiosos son las ectomicorrizas



INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Introducción

Ocho especies han sido establecidas en los mercados a nivel mundial

Nombre Científico	Precio de venta US\$/kg (Primera calidad)
<i>Tuber magnatum</i>	1,500 - 2,000 (112,000)
<i>Tuber melanosporum</i>	500 - 1,750
<i>Tricholoma matsutake</i>	375 - 1,250
<i>Tuber aestivum</i>	100 - 630
<i>Tuber indicum</i>	100
<i>Boletus edulis</i>	15 - 150
<i>Cantharellus cibarius</i>	10 - 70
<i>Lactarius deliciosus</i>	15 - 50
* <i>Morchella sp</i>	100 - 300



INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Introducción

• Hongos comercializados a nivel mundial

- *Tuber*
 - T. magnatum* (trufa blanca)
 - T. melanosporum* (trufa negra)
 - T. brumale* (trufa negra)
 - T. aestivum* (trufa de verano)
 - T. indicum*
- *Terfezias* (trufa de desierto) (*Delastria, Terfezia, Tirmania, Picoa*)
- *Tricholoma*
 - T. matsutake* (matsutake japonés)
 - T. magnivelare* (matsutake americano)
- *Boletus*
 - B. edulis* (Boleto)
 - B. pinicola o pinophilus* (Boleto)
 - B. aereus* (Boleto)
 - B. aestivialis* (Boleto)
- *Cantharellus cibarius*
- *Morchella sp*
- *Lactarius*
- *Suillus*



INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Introducción

Muchas otras especies son importantes a nivel local

Thelephora vialis
China

Leccinum extremorientale
China



INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Introducción

• Hongos Micorrizicos presentes en Chile

Mercado local y Exportación Mercado local

Suillus luteus
Suillus granulatus
Lactarius deliciosus
Morchella sp
Boletus lloydii
Boletus lloydii
Ramaria flava
Ramaria botrytis
Cortinarius lebre

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Introducción

• Los HECs muestran una creciente importancia e interés

- **Importancia**
 - Una fuente de alimento
 - Una fuente de ingresos
 - Sanidad del bosque
- **Interés**
 - Nuevos recursos y oportunidades de exportación
 - Problemas de sobre cosecha y daño al recurso
 - Declinación de la producción
 - Pautas de Cultivo y manejo

Hunan, China

• Necesidad de potenciar la imagen de los HECs

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Introducción

• Mercado: Hongo Fresco

Mercado Local	Mercado Local y de Exportación
<i>B. lloydii</i> : \$3.000 /kg	<i>Suillus sp</i> \$60-150/kg \$4.000-6.000/kg seco
<i>Ramaria sp</i> \$3.000/kg	<i>Lactarius deliciosus</i> \$60-100/kg
	<i>Morchella sp</i> \$1.800-10.000/kg US\$ 140-280/kg

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

COSECHA HECs

• **Colecta Recreacional**

- Actividad Popular
- Pequeñas cantidades para alimento e ingresos
- Pequeño o nulo impacto sobre el ambiente

INFOR
INSTITUTO TECNOLÓGICO

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGROPECUARIA

• Cosecha comercial de HECs

- Industria de Multi-millones de dólares
 - Chanterelles: US\$ 1.25-1.62 billones
 - Trufas: > US\$ 300 millones
 - Porcini: > US\$ 250 millones
 - Matsutake : > US\$ 200 millones

Puesto Matsutake
Oregon USA 1994



Venta matsutake
China 1979



INFOR
INSTITUTO TECNOLÓGICO

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Sustento y empleo para millones de personas

- En Yunnan, China : Actualmente 250.000/día cosechan matsutake
- En poblado de Zhong-dian, Yunnan, China
 - 80% de agricultores dedicados a la cosecha de matsutake
 - El 45% de los ingresos promedios de agricultores viene de la cosecha de matsutake
 - Cerca de US\$ 6.000-7.000 anuales por familia (ingreso medio anual US\$ 300/agricultor en China)

INFOR
INSTITUTO TECNOLÓGICO

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Ingresos importantes generados para la economía local

- Provincia Yunnan, China 2004:
 - Exportados HECs: >US\$60 millones (valorado para Yunnan)
 - Matsutake: > US\$40 millones
 - Porcini: US\$20 millones
 - ¼ del valor total de los productos agrícolas exportados

(Huang *et al.* 2004)

INFOR
INSTITUTO TECNOLÓGICO

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Mercado de Hongos Silvestres



中国昆明野生菌批发市场
The largest wild mushrooms (edible) market of Chinese Yunnan
中国大型野生菌市场
主营
生鲜 冻干片
各类野生菌

Kunming, China

INFOR INNOVACIÓN PARA EL FUTURO

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Mercado de Hongos Silvestres

Kunming, Yunnan, China



3000 mayoristas, 40,000kg, US\$100,000/día

INFOR INNOVACIÓN PARA EL FUTURO

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA



Tratos en puesto de matsutake

Proceso de secado de porcini, Diqing, Yunnan, China

INFOR INNOVACIÓN PARA EL FUTURO

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA



Cazando matsutake en Diqing, Yunnan, China

Cazando trufas en Rengren, Yunnan, China

INFOR INNOVACIÓN PARA EL FUTURO

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Producción de HECs en Declinación

- En Japón, producción de matsutake desde más de 1000 t a 100 t en los últimos 50 años.
- En Francia, *Tuber melanosporum* cosechas cercanas a 1000 t a menos de 100 t en el último siglo

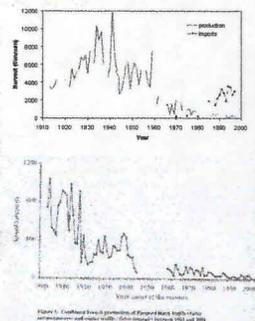


Figure 5. Long-term trends in production of European Black truffle (*Tuber melanosporum*) and major quality factors (measured) during 1963 and 2003.

INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Razones en la declinación de la producción

- Natural
 - Envejecimiento del Bosque
 - Transformación del bosque
- No natural
 - Deforestación:
 - Sobre explotación
 - Cambio de estilo de vida



INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Razones Naturales

- **Envejecimiento del Bosque:** ej. Bosque *Pinus densiflora* con matsutake
 - Fructificación: **comienza** (20-30 años), **máximo** (40-50 años), **declina** (60-70 años) y **para** (80 años)
 - Enfermedades & daños de insectos se acentúan con el envejecimiento del bosque. ej. **nemátodo** (*Bursaphelenchus xylophilus*)

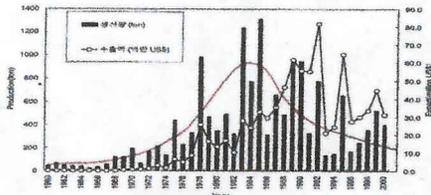
INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Razones Naturales:

- **Envejecimiento del bosque:** ej. en Corea del Sur la producción total de matsutake ha declinado en 7% por año desde los 80's. (C.D. Koo *et al.* 2001, modificado)

Figure 2. Pine mushroom production and export of Korea



INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Razones Naturales

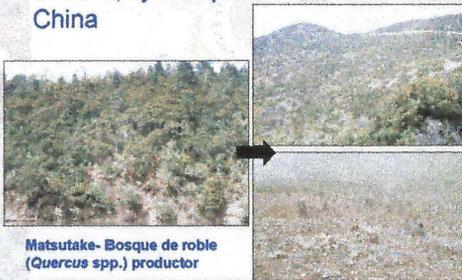
- **Cambio en el Bosque (sucesión):** ej. Bosques de *Pinus densiflora* con matsutake en NE China
 - Envejecimiento del bosque
 - Cambio medioambiental



INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Razones No Naturales

- **Deforestación:** Corta comercial y colecta de leña, ej. bosque de matsutake en SO China



Matsutake- Bosque de roble (*Quercus* spp.) productor

Bosque de roble deteriorado. Sin matsutake

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Razones No Naturales

- **Sobreexplotación:** trufas en Europe
 - De acuerdo a Reyna et al (2002), la continua explotación comercial en España, determinará que en los próximos 20-30 años los bosques naturales perderán su capacidad productiva



INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Razones No Naturales

- **Sobreexplotación:** ej. en Poblado de Zhong-dian, Yunnan, China
 - Producción de Matsutake decrece en 5% por año causado por sobreexplotación. En 30 años no quedará matsutake (Gong et al., 1999)



Matsutake inmaduro

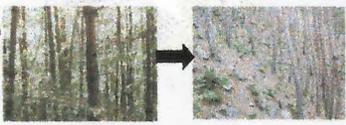
INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Razones No Naturales

- **Cambios en bosques de matsutake por cambios en estilo de vida en Japón**



- **Sistema de manejo de bosques con matsutake**

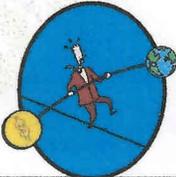


(Desde F. Yoshimura, 2004)

SIV INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Soluciones para la declinación de la producción

- Cultivo
- Manejo de recursos naturales
- Nuevos recursos



SIV INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Manejo de recursos naturales

- Educación
- Regulación y Leyes. Control explotación
 - Permisos: licencias
 - Limitación de cantidad cosechada
- Mejorar las prácticas de cosecha
- Determinar tipos de manejo de los bosques con HECs
- Conservación del recurso

SIV INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Cultivo de HECs

- Cultivo Comercial – sólo 6 especies:
 - *Tuber melanosporum*: Francia, España, Italia...
 - *T. aestivum*: Francia...
 - *T. borchii*: Italia
 - *Terfezia claveryi*: España
 - *Lactarius deliciosus*: Francia, NZ, España
 - *Lyophyllum shimeji*: Japón
- Plantaciones establecidas pero sin fructificación:
 - *Cantharellus cibarius*: Suecia
 - *Boletus edulis*, *B. pinophilus*: Chile
 - *Morchella conica*: Chile
 - *Tuber melanosporum*: Chile
- Sin éxito
 - *Tuber magnatum*
 - *Tricholoma matsutake*
- Sin embargo la disminución en la producción continúa



Plantación de trufa negra N.Z

SIV INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Educación

- Talleres
- Seminarios
- Medios:
 - ✓ TV
 - ✓ Diarios
 - ✓ Posters
 - ✓ Libros
- Cursos de Entrenamiento




Zhongdian, Yunnan, China

INFOR
Iniciativa Forestal

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

• Regulación y Leyes

- **Explotación controlada**
 - ✓ Permisos: licencias
 - ✓ Limitación de la cantidad cosechada
 - ✓ Herramientas y medios de cosecha predeterminados
- **Tala por sectores en bosques naturales**



Regulaciones para el manejo de bosques en una aldea comunal, China

INFOR
Iniciativa Forestal

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

• Bosques de HECs ligadas a las comunidades locales

- Cosecha de HECs sólo durante la estación de explotación fijada
- Manejo de los bosques en el resto de la estación
- Beneficios distribuidos equitativamente



INFOR
Iniciativa Forestal

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

• Mejoramiento de prácticas de cosecha

- Cierre de sectores para facilitar el repoblamiento de los HECs
 - ✓ Suprimir colectas y otros disturbios
 - ✓ Fijar fechas de cosecha




Chuxiong, Yunnan, China

INFOR
Iniciativa Forestal

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

• Manejo de bosques productores de hongos

- Inoculación de árboles maduros con esporas
 - ✓ Resultados promisorios
 - Trufa negra
 - Lactarius deliciosus ?
 - ✓ Sin éxito
 - matsutake
- Retrasar o revertir la sucesión
- **Establecimiento de plantaciones jóvenes**



España

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROARIA

Establecimiento de plantaciones jóvenes

- Producción de plantas inoculadas mediante la aplicación de:
 - Inóculo micelar (micelio)
 - Inóculo esporal (espora)
- Formato del inóculos
 - Puro
 - Acarreador

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROARIA

Preparación de Inóculo Micelar

Agitador orbital

Bioreactor

- ◆ Inóculo Micelar puro
- ◆ Inóculo Micelar en turba y vermiculita
- ◆ Inóculo Micelar en Cápsulas de Alginato

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROARIA

Producción de inóculo micelar

Esporas

Micelio

Multiplicación de micelios

Inoculación de medio líquido para masificación y producción de inóculo micelar líquido

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROARIA

Preparación de Inóculo Esporal

Seco

Húmedo

Esporas

Cuerpo frutal y agua destilada estéril

- ◆ Inóculo Esporal en Cápsulas de Alginato
- ◆ Inóculo Esporal en Polvo
- ◆ Inóculo Esporal líquido

INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Inoculación de plantas bajo condiciones controladas

- Esterilización
 - Sustrato
 - Contenedor
 - Semillas
 - Materiales y utensilios
 - Área de inoculación de plantas
- Aplicación de inóculo bajo condiciones controladas



INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

• Conservación

- Tema urgente en países en desarrollo
 - ✓ Reservas específicas: e.g. Reservas de Matsutake establecidas en China
 - ✓ Reservas Naturales

Reserva natural
Lago Bitá, Yunnan,
China



INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

• Conservación de recursos

- Áreas de estudio:
Oregon, USA

Matsutake Study Area



INFOR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

• Nuevos Recursos

- Conocimiento limitado de HECs en países en desarrollo
 - África
 - Sud América
- China
 - El más grande productor de hongos comestibles
 - Limitado conocimiento de los HECs

(From Eric Boa 2002)



INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Especies de trufas comestibles Chinas

Tuber spp. *Tuber* spp.

Tuber cf. indicum *Tuber pseudoexcavatum*

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Investigación

- Proveer conocimiento básico
 - ✓ Biología, ecología y fisiología de HECs
- Desarrollar conocimiento básico para
 - ✓ Cultivo
 - ✓ Manejo
- Post-cosecha, procesamiento, almacenado, envasado y transporte

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Especies de trufas encontradas en China

- Más de 20 especies
- Las más comestibles e importantes:
 - Complejo *Tuber indicum*, 1988 (similar a *T. melanosporum*)
 - *T. aestivum*, 2004 (idéntica a especie Europea)
 - *T. borchii*, 1988 (idéntica a especie Europea)
 - *T. pseudoexcavatum*, 1993 (similar a *T. excavatum*)

Tuber indicum

T. aestivum (China)

T. aestivum (Italia)

INFOR GOBIERNO DE CHILE FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Bosques de Matsutake en SO China

Bosques de *Quercus pannosa* con matsutake, 3700m, Diqing, Yunnan, China



INFOR
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGROPECUARIA

Investigación

- **Plantas Hospedantes**
- **Especie relacionadas**
- **Correlaciones de producción con**
 - Tipos de bosques
 - Edad de los bosques
 - Estructura de los bosques
 - Alteraciones por actividades humanas





CONCLUSIONES

- HECs son recursos valiosos de alimentación y de ingresos
- Disminución de la producción
- Esencial - Manejo de los recursos HECs y generar nuevos recursos
- Tema urgente - Conservación
- Investigación – Creación de conocimiento básico para el manejo y cultivo de los HECs
- Se espera un prometedor futuro para los HECs






**Mis Agradecimientos
al Dr. YUN WANG del New Zealand Institute
for Crop & Food Research Limited, Invermay
Agricultural Centre, Private Bag 500034,
Mosgiel, New Zealand**



Gobierno de Chile
Fundación para la
Innovación Agraria

ANEXO 2

Diapositivas Recolectadas

DIPOSITIVA 1

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGROARIA

SIV

CHARLA: "Resultados de asistencia y participación en el IV Workshop Internacional sobre Hongos Micorrízicos Comestibles" Parte II. "Trufas. Ecología, fisiología y cultivo"



Ricardo Ramírez
Gerente Técnico Agrobiotruf S.A.

Agrobiotruf

1. Introducción

a) ¿Qué son las trufas?

- Hongos comestibles hipógeos (subterráneos) que emiten fuertes aromas (Alto valor por sus cualidades gastronómicas)
- Dentro de los representantes del género *Tuber* en Europa, se encuentran alrededor de 30 especies, conocidas comúnmente con el nombre de trufas, hongos que se caracterizan por ser hipógeos (subterráneos). Entre estas especies destacan como comestibles las siguientes: *Tuber aestivum* syn *uncinatum*, *Tuber borchii*, *Tuber brumale*, *Tuber magnatum* y *Tuber melanosporum* o Trufa Negra de Perigord.
- Forman una asociación de tipo simbiótico, denominada micorriza, con determinadas especies de árboles hospederos.
- Estas trufas crecen en forma natural, preferentemente sobre suelos con pH alcalino (7,5 – 8,0) ricos en carbonato de calcio.
- Para su dispersión natural necesitan de ciertos animales como vectores (Jabalí, conejos, ardillas, etc.) a los cuales atraen con sus fuertes aromas.
- En Francia, tradicionalmente se buscaba trufas con la ayuda de cerdos, sin embargo en la actualidad se admite como forma de cosecha más adecuada, el uso de perros adiestrados para detectarlas.

Agrobiotruf

b) Principales tipos de trufas

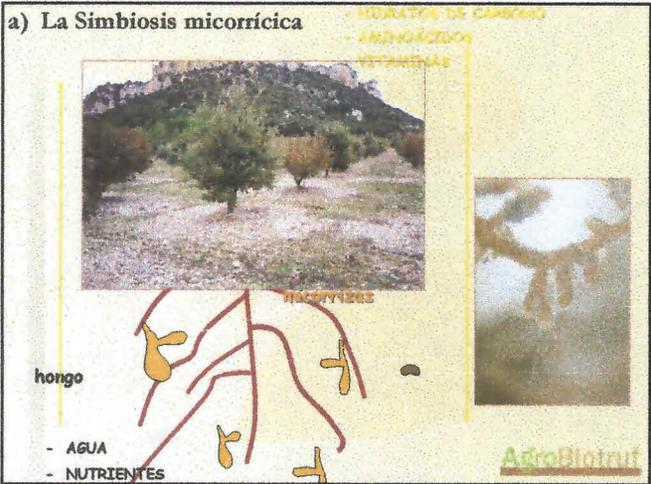
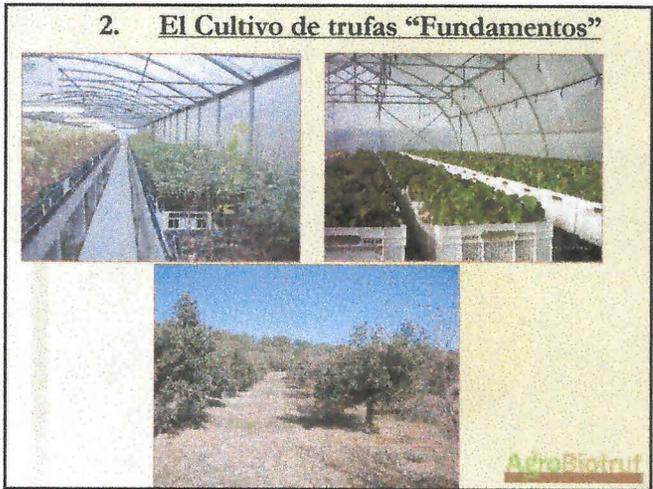
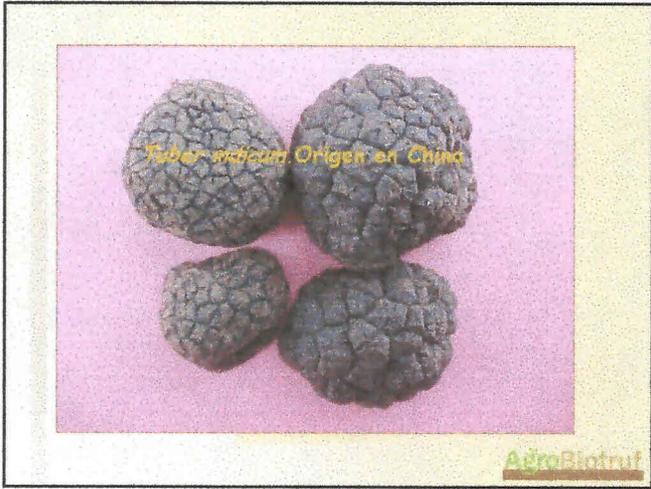


T. brumale *T. melanosporum* *T. aestivum*

Agrobiotruf



Tuber magnatum (Tartufo del Piemonte, Italia)





3. Producción y control de plantas micorrizadas con trufas

- Desde finales de los setenta es la base en que se sustenta el cultivo moderno de trufas (Truficultura). Desarrollo de método de micorrización INRA-ANVAR.
- En la actualidad se han desarrollado varias técnicas para la micorrización controlada de plantas con trufas y normalmente son mantenidas como secreto comercial por los viveros especializados.
- Los viveros comerciales que producen plantas micorrizadas (Principalmente *Tuber melanosporum* y *Tuber aestivum*), alrededor del mundo, se basan principalmente en métodos de inoculación esporal. (Resultados efectivos y de menor costo que inoculaciones usando aislados miceliares); además los aislados miceliares de *Tuber sp.* son difíciles de masificar debido a su lento crecimiento con los medios de cultivo más comunes.
- En el caso de *Tuber magnatum*, la producción de plantas micorrizadas presenta serios problemas técnicos que aún no se han logrado resolver plenamente.

AgroBioTruf

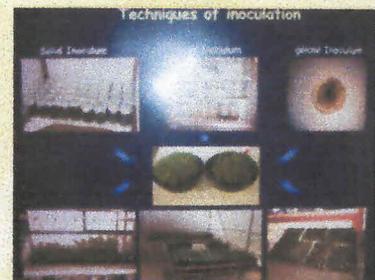
Ej. Invernadero para la producción de plantas micorrizadas con trufas. Centro experimental de truficultura. San Angelo in Vado Italia.



AgroBioTruf

a) Producción de plantas micorrizadas con aislados miceliares de *Tuber sp.*

- Técnicas más efectivas que mediante inoculación esporal. Obtención de mayores grados de colonización con *Tuber sp.* y en menor tiempo de incubación (Técnicas aún en desarrollo, solo a escala piloto)
- Ventajas para la producción de plantas libres de contaminaciones con otros hongos de ectomicorriza.
- Actualmente se ha logrado obtener cultivos puros de *T. melanosporum*, *Tuber brumale*, *Tuber borchii* y otras trufas de interés para su cultivo.
- Los medios, know how y equipamiento técnico escapan a la mayoría de los viveristas



AgroBioTruf

b) Producción de plantas micorrizadas con *Tuber magnatum*. Nuevas bases

- El problema: En los últimos 15 años la obtención de plantas micorrizadas con *T. magnatum*, mediante métodos de inoculación esporal, ha fallado debido a contaminaciones con otras trufas, principalmente del grupo de *T. borchii*
- Las fallas en las plantaciones con esta trufa se originan en este punto
- Experimentos recientes, demuestran que los cuerpos fructíferos de *T. magnatum*, llevan, tanto en la superficie como dentro de la gleba, propágulos de hongos saprófitos y de micorriza.
- Dentro de los ascomicetos identificados se encuentran *Tuber borchii*, *T. maculatum*, *T. aestivum*, *T. macrosporum*, etc.
- Las esporas de *T. magnatum* presentan una baja capacidad germinativa, por lo cual frente a propágulos de las especies mencionadas, las cuales son más agresivas, forma pocas o no forma micorrizas, mientras que la micorrización con otras trufas, principalmente *T. borchii*, es muy abundante.
- Los métodos de inoculación esporal con *T. magnatum*, deben considerar estos aspectos de cara a la obtención de plantas micorrizadas de calidad.

AgroBiotruf

c) El control de la micorrización en los viveros. Evaluación de la calidad de la planta inoculada con *Tuber* sp.

• Importancia del control de calidad

- Garantía de micorrización de las plantas: obtención de niveles adecuados de micorrización con el hongo seleccionado y minimizar las contaminaciones con otros hongos de ectomicorriza.



AgroBiotruf

• Importancia del control de calidad

- Estudios recientes llevados a cabo en Francia, ponen de manifiesto que los niveles de micorrización obtenidos con *T. melanosporum* en plantas en vivero, están altamente correlacionados con los niveles de micorrización encontrados en las plantaciones, después de 4 años del establecimiento en campo.
- Un alto nivel de micorrización en vivero no asegura ni tampoco protege a las plantas de la invasión de competidores fúngicos en campo.

• ¿Identificación de contaminantes?

- Aún falta por estudiar las especies de hongos de ectomicorriza que compiten efectivamente con las trufas inoculadas artificialmente, tanto en vivero como posteriormente en el campo.
- Por ejemplo en Europa la especie *Sphaerospora brunnea* es un contaminante que comúnmente ha aparecido en algunos viveros de Francia, España e Italia, bajo ciertas condiciones. Sin embargo, estudios recientes llevados a cabo en España, muestran que este hongo no ha afectado la micorrización con *Tuber melanosporum*, a diferencia de otras especies que sí compiten efectivamente con *Tuber* sp. (Ej. *Hebeloma* sp., *Scleroderma*, *Laccaria* sp., etc.)
- Otros problemas de contaminación se producen cuando aparecen especies de *Tuber* sp. distintas de *T. melanosporum* o *T. aestivum* que afectan negativamente las producciones de vivero y en este caso, los controles de calidad aplicados en Europa rechazan completamente estos lotes, independiente del grado de contaminación encontrado.

• ¿Inoculaciones de árboles adultos en campo?

AgroBiotruf

4. Factores ecofisiológicos relativos a la producción de trufas (*Tuber* sp.)

a) Importancia de algunos factores

- *T. melanosporum* es una trufa estrictamente calcícola
- La producción de trufas varía considerablemente entre árboles dentro de las plantaciones.
- Factores ecofisiológicos y pedológicos podrían explicar esta variabilidad.
- Crece en horizontes superficiales húmedos, Relaciones C/N cercanas a 10 (Humus biológicamente activo). Estructura de suelo balanceada. Aunque tolera variaciones.
- Recientes Investigaciones españolas han demostrado que la productividad de *T. melanosporum* está influenciada por la acción total del carbonato extraíble, pedregosidad, carbono orgánico, contenido de arcillas y cationes de intercambio presentes en la superficie del suelo.

AgroBiotruf

- La heterogeneidad en los suelos dentro de las plantaciones podría ser responsable de la variabilidad de la producción.
- Se ha encontrado una correlación muy estrecha entre el carbonato activo del suelo (carbonato extraíble) y la producción de *T. melanosporum*.
- Carbonato activo: Fracción fina de la piedra caliza, susceptible a una rápida movilidad y químicamente muy activo.
- ¿Aplicaciones en truficultura?



AgroBiotrúf

b) Contaminaciones con otros hongos de ectomicorriza en el cultivo de trufas

- En Francia ha ocurrido que plantaciones con árboles micorrizados inicialmente con *T. melanosporum*, producen *T. brumale*, lo cual ha afectado el desarrollo del cultivo.
- Principales factores de este fenómeno:
 - Presión de contaminación de árboles existentes. Coexistencia de diferentes especies de *Tuber* sp. En los alrededores de las parcelas de cultivo (*T. aestivum*, *T. melanosporum*, *T. brumale* y otras).
 - ¿Mayor afinidad de *T. brumale* con avellano (*Corylus avellana*)?
 - Técnicas usadas en el cultivo: Control de malezas, riego, laboreo frecuente, etc.
- Datos recientes indican que la presencia de otros *Tuber* no afectan la producción de *T. melanosporum*, si esta última es agresiva contra la maleza mediante crecimientos de brules (quemados-alelopatía) del orden de 20 a 30 cm por año en promedio.
- Observaciones en diferentes áreas indican que cuanto más rápidamente se incrementa el Brule, mejora la producción de *T. melanosporum*.
- Aun existen dudas sobre si la agresividad de *T. melanosporum* o la resistencia a presión de contaminantes, son una cualidad natural del medioambiente (o suelo).
- Se evidencia que el laboreo lineal en las trufas, por reducción de la biodiversidad y desorganizándolo los hongos presentes contribuye a aumentar la presión de los contaminantes fúngicos.

AgroBiotrúf

- Otros estudios llevados a cabo en plantaciones en España (Soria), muestran que a pesar de que los árboles tienen altos porcentajes de micorrización con trufa (*T. melanosporum*), también indican la presencia de una alta diversidad y abundancia de otros hongos de ectomicorriza.
- A pesar del alto número de morfotipos de micorriza encontrados en estas plantaciones, estas especies no reemplazan a *T. melanosporum*, mostrando que existe un balance dinámico en la comunidad fúngica asociada a las raíces.
- Otras investigaciones desarrolladas en plantaciones de *T. aestivum* en Italia indican que la distribución de especies de hongos es influenciada por la especie simbiote de planta, características de suelo, granulometría y pH principalmente.
- Observaciones de fructificación de distintos hongos junto a las trufas en los mismos sitios y hospederos, es consistente con la hipótesis de que los hongos micorrizicos presentes en plantaciones productivas de trufas no son competidores de *Tuber* sp.
- Aunque se han realizado numerosas investigaciones sobre la biología y el desarrollo de la trufa, aun existen aspectos desconocidos sobre la ecología y el medioambiente en el cual se desarrollan bajo el suelo.
- ¿Interacciones, competencia, factores biológicos y ecofisiológicos?
- Todos estos factores que aún quedan por estudiar son de suma importancia para el mejoramiento del cultivo, tanto de trufa negra, como otras trufas de valor culinario (*T. aestivum*, *T. magnatum*?)

AgroBiotrúf

c) Otros estudios llevados a cabo en plantaciones de *T. aestivum*

- De acuerdo al conocimiento actual, las micorrizas de *Tuber* se localizan preferentemente en las capas superficiales de suelo donde a menudo aparecen las trufas.
- En el caso de *T. aestivum* al igual que *T. melanosporum* las fructificaciones son encontradas normalmente en suelos sueltos.
- Recientes investigaciones en plantaciones italianas han examinado la distribución de micorrizas de *T. aestivum* a diferentes profundidades de suelo (Hasta incluso 80 cm.). Encontrando que estas micorrizas se ubican preferentemente hasta 60 cm. de profundidad.
- Los resultados indican que a mayores profundidades disminuye la cantidad y ramificación de micorrizas de *T. aestivum*, sin embargo, comparaciones en sectores productivos y no productivos de la plantación muestran que esta distribución de micorrizas al parecer no afecta la producción.
- Aplicaciones en truficultura: ¿Laborear menos las trufas si no es tan necesario. Esto no afectaría el proceso de micorrización ni la producción de carpóforos de trufa.

AgroBiotrúf

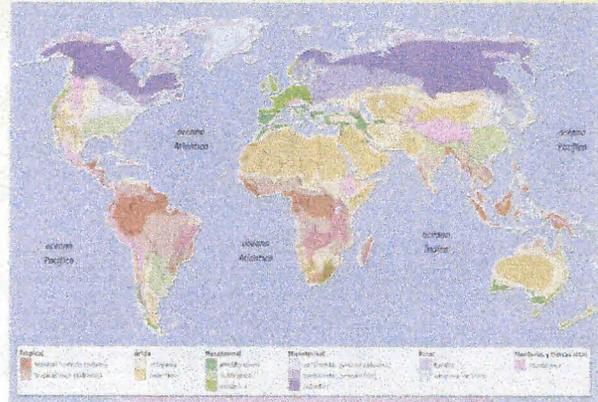
- Durante los últimos años, las plantaciones truferas han comenzado a registrar altos niveles de producción (70 a 100 Kg por hectárea)
- La productividad potencial de las plantaciones, medida por el N° de primordios formados y los que se desarrollan hasta trufas maduras es aun desconocido.
- En Italia se realizó un estudio para evaluar la densidad de ascocarpos de *T. aestivum* en una plantación de alta productividad (140 kg/ha) ubicada en Spoleto-Umbria.



- La ausencia de micorrizas y la presencia de hifas en el peridio de las trufas colectadas evidencian (Tal como ha sido señalado por algunos autores) una etapa saprofitica en el ciclo de vida de las trufas.
- El alto número de ascocarpos encontrados en este estudio, por unidad de superficie, sugieren que la productividad potencial de las plantaciones es mayor a la observada.
- Se pone de manifiesto un mayor interés en identificar las posibles medidas agronómicas capaces de promover el desarrollo y maduración de la mayoría de las trufas que son formadas en las plantaciones.

AgroBioNutri

5. Las trufas y la truficultura en el mundo



AgroBioNutri

a) ¿Trufas del hemisferio Norte?

- Los hongos del género *Tuber* crecen en forma natural exclusivamente en el hemisferio Norte. (Europa, Asia, Norte de Africa, Estados Unidos, Mexico y Canada).
- Algunas especies se han introducido accidentalmente en algunos países del hemisferio sur, por ejemplo, en Nueva Zelanda recientemente se han reportado colectas de trufas europeas (*T. maculatum*, *T. borchii*, *T. rufum*) y otras especies aun sin identificar. Estas trufas aparecen asociadas a árboles del género *Quercus*, *salix*, *Populus*, *Corylus*, *Tilia*, *Pinus* y *Pseudotsuga*. También existen reportes de fructificaciones de especies de trufas en Argentina (*Tuber californicum*, *T. maculatum* y *T. borchii* asociado a Pino Oregon y *Pinus ponderosa*).
- En Europa existen mas de 30 especies, de las cuales solo algunas presentan valor culinario.
- Principalmente *T. melanosporum*, *T. aestivum* syn *uncinatum*, *Tuber magnatum*, *T. brumale* y *T. borchii* tienen valor en los mercados.
- Todas estas especies han sido objeto de cultivo en Europa y en los últimos 10 años se ha introducido en otros países como: E.E.U.U. (1981), Nueva Zelanda (1987), Australia (1992), Marruecos (1998), Israel (1999), Chile (2002) y Canada (2004).
- Resultados productivos se han obtenido principalmente en las plantaciones de *T. melanosporum* y solo recientemente *T. aestivum* syn *uncinatum* (Francia, Italia), y *T. borchii*. (Italia)

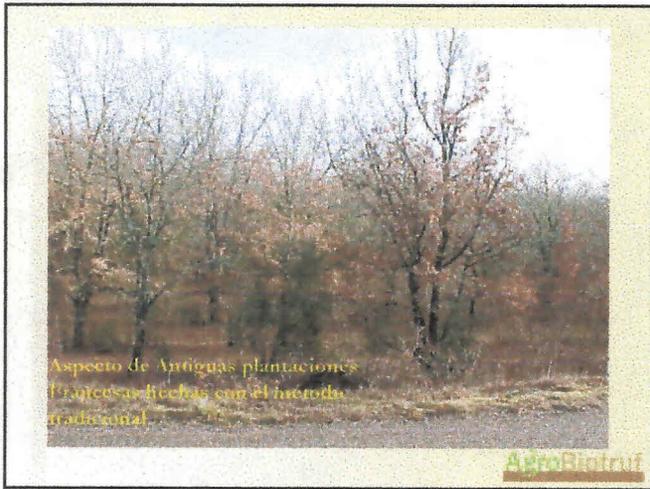
AgroBioNutri

b) La truficultura en Europa

El cultivo de trufas en Francia.

- Las técnicas de cultivo aplicadas en Francia no son homogéneas según las diferentes regiones
- El cultivo de trufa con el método tradicional, aún persiste en áreas truferas del Sur-oeste y Sur-este de Francia (Método Original de Talon)
- El cultivo de árboles truferos se ha desarrollado en Francia cuando aparecieron en el mercado, las primeras plantas micorrizadas en forma controlada. (1974).
- El método de cultivo más utilizado en algunas regiones es el denominado Pallier (Técnicas de fruficultura aplicadas al cultivo de trufa: Poda, laboreo, fertilización, control de malezas, riego, etc.). Este método ha mostrado resultados muy variables en la producción y ha causado problemas de contaminantes.
- Cultivo de trufa bajo un ecosistema empastado: En este método la plantación es manejada manteniendo el equilibrio natural de las trufas silvestres y en suelos en barbecho (Buenos resultados de producción)
 - i. Plantas se establecen los 2 primeros años con el mayor cuidado posible (control de malezas, riegos de apoyo, etc.)
 - ii. Mantenimiento de la plantación con malezas (ecosistema de empastado) hasta el inicio de la producción (sin laboreo o laboreo mínimo)
 - iii. Durante la etapa de producción: Laboreo y riego

AgroBioNutri



- **La truficultura en España**
 - En los últimos años, la producción natural de trufa negra en España se encuentra en constante declive, situación similar a la que ocurre en Francia.
 - Las causas principales:
 - Aumento de la espesura de las masas productoras naturales.
 - Las plantaciones forestales (*Pinus* sp.), y el sobreaprovechamiento, a veces unido a una gestión y prácticas culturales poco cuidadosas.
 - Otras causas que también pueden haber influido son la tendencia del clima a la sequía, los incendios forestales, el aumento de las poblaciones de jabalí y la contaminación atmosférica.
 - El precio de la trufa ha tenido en los últimos años una tendencia alcista en consonancia con el descenso de la producción.
 - Los precios que perciben los truferos: entre 200 y 850 €/kg.
 - Se estima que el valor de la trufa en manos de los recolectores y truficultores españoles estaría comprendido entre 2.500.000 € y 10.000.000 € anuales, dependiendo de precios y producciones, aunque se obtendría un valor muy superior tras el proceso de comercialización y envasado.
 - La producción española supone un 30-50% de la mundial (Tabla III)
- AgroBiotruif

Tabla III Producción anual de trufa negra en Tm. Fuente: Federación Francesa de Truficultura y Grupo Europeo Tuber.

	España	Francia	Italia	Total Europa
1990/91	30	17	5	52
1991/92	10	20	5	35
1992/93	23	31	3	57
1993/94	9	22	2	33
1994/95	4	12	30	46
1995/96	20	19	25	64
1996/97	25	50	20	95
1997/98	80	30	24	134
1998/99	7	14	4	25
1999/2000	35	40	10	85
2000/01	6	35	4	45
2001/02	20	15	5	40
Media periodo	22,4	25,4	11,4	59,3

AgroBiotruif

- **La truficultura en España**
 - Aunque en sus inicios partió imitando las técnicas de cultivo usadas en Francia e Italia, la truficultura española ha desarrollado su propia personalidad
 - La cosecha de trufa silvestre en España comenzó recién a partir de los años 50. Actualmente este tipo de producción representa la mayor parte de la oferta española, a diferencia de Francia donde las mayores producciones provienen de plantaciones.
 - Las plantaciones de trufa negra en España se iniciaron en los años 70. La primera plantación establecida en España es actualmente la de mayor superficie en el mundo (600 ha. -- ubicada en Soria).
 - Actualmente la Provincia de Teruel es la que mantiene una mayor tasa de plantaciones artificiales con *T. melanosporum* (Más de 300 has anuales) y a la vez una de las zonas de mayor producción de trufa negra en España. Estimaciones en el mercado de Mora (Teruel) indican que más del 20% de la trufa vendida proviene de plantaciones.
- AgroBiotruif



Plantación de Arotz-catesa en Soria, España. *Quercus ilex* x *T. melanosporum* (600 ha.)

AgroBiotruuf

c) Introducción y cultivo de trufas europeas en América del Norte

- **Cultivo de *Tuber melanosporum* en British Columbia, Canadá.**
 - El establecimiento del cultivo de *T. melanosporum* en Canadá comenzó el año 2004 junto con la creación de la Asociación de Trufas de BC (TABC).
 - En esta zona se han identificado algunas áreas con condiciones adecuadas para el cultivo de *T. melanosporum*.
 - Dentro de los objetivos de esta asociación se encuentran la I+D y la promoción del establecimiento de nuevas plantaciones de trufa en BC.
 - Existe actualmente solo 1 vivero comercial que produce plantas micorrizadas en Canadá.
- **Cultivo de *Tuber melanosporum* en Estados Unidos**
 - La primera plantación de *T. melanosporum* en E.E.U.U. fue establecida en los años '80 en Carolina del Norte. En 1991 se cosecharon las primeras trufas en esta plantación.
 - Esta plantación fue establecida en un suelo ácido que ha sido enmendado con cal para corregir el pH, de cara a la producción de trufas.
 - Posteriormente se han establecido plantaciones en el Norte de California, Texas, Oregon y recientemente en Missouri.
 - Actualmente existen más de 200 pequeñas plantaciones alrededor del país, de las cuales se encuentran en producción algunas en California y Carolina del Norte.
 - Existen 2 viveros comerciales que producen plantas micorrizadas en E.E.U.U.

AgroBiotruuf

d) Introducción y cultivo de trufas en el hemisferio sur

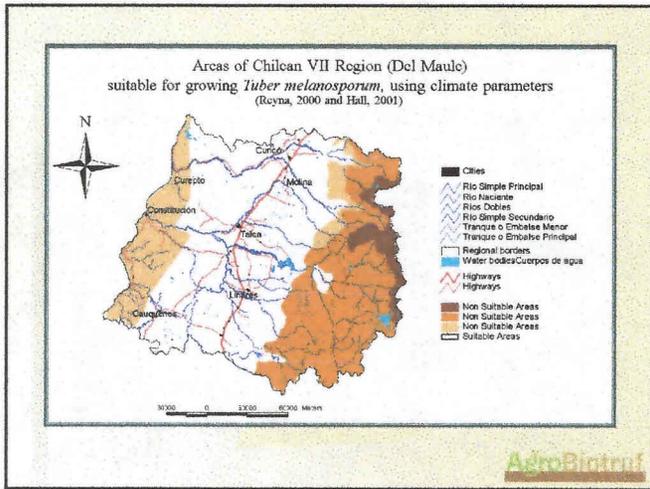
- **Cultivo de trufas en Nueva Zelanda**
 - El cultivo de trufas comenzó en NZ en 1967, después de 2 años de investigaciones desarrolladas por el Crop and Food Research Institute. En 1990 existían 11 plantaciones en Nueva Zelanda, distribuidas entre la Bahía de Plenty en la isla norte (38° S) y Norte de Otago (45° S) en la isla sur.
 - Actualmente existen más de 200 ha establecidas en NZ.
 - La primera trufa cosechada en Nueva Zelanda (Primera en el hemisferio Sur) se encontró en 1993 en una plantación cercana a Gisborne (Sur de Bahía de Plenty), 5 años después del establecimiento (Existe una pequeña plantación que actualmente produce el equivalente a 300 Kilos por hectárea de *T. melanosporum*).
 - La mayoría de las plantaciones de NZ han sido establecidas sobre suelos ácidos. Como regla general, se han aplicado del orden de 2 Toneladas de cal por hectárea, por cada 0,1 unidad de pH a elevar. Existen plantaciones productivas en NZ en suelos de cenizas volcánicas, tan ácidos como pH 5,3, que ha sido corregido con grandes aplicaciones de cal.
 - ¿Las consecuencias del encalado?
 - Beneficios: Mejora del suelo y disminución de contaminaciones
 - Desventajas: Deficiencias nutricionales

AgroBiotruuf

• **Cultivo de trufas en Chile**

- **Introducción:**
 - El establecimiento del cultivo de trufas en Chile (*Tuber melanosporum*) comenzó el año 2002, a través de un proyecto de investigación desarrollado por la Universidad Católica del Maule en asociación con Fundación CEAM de España y apoyado por FIA (Fundación para la Innovación Agraria).
 - Primera etapa: Se estudiaron los principales parámetros agroclimáticos para determinar las posibilidades de cultivo en nuestro país.
 - Se implementó un proceso de inoculación piloto bajo condiciones de invernadero.
 - En el año 2003 se obtuvieron las primeras plantas micorrizadas con *T. melanosporum* en Chile.
 - Durante 2003 y 2005 se establecieron 10 ha de plantaciones experimentales en diferentes áreas de Chile, entre la RM y XI Región.
 - A gran escala, se han identificado macrozonas adecuadas climáticamente para el cultivo de *T. melanosporum*, principalmente en áreas entre la VII y X Región (35° a 40° S).
 - Estas áreas no presentan suelos de origen calcáreo y los pH encontrados en estos suelos comúnmente varían de ácidos a neutros (5,5 a pH 7,0).
 - Necesidades de encalado con carbonato de calcio para corregir el pH y niveles de Calcio y Magnesio en el suelo.
 - También existen áreas posibles de implantar en la Región Metropolitana y VI Región.

AgroBiotruuf



Primeros resultados

- La sobrevivencia y adaptación inicial de micorrizas de *T. melanosporum* bajo condiciones de campo, ha sido exitosa en la mayoría de las plantaciones establecidas en Chile.
- Las técnicas de inoculación, plantación y manejo han sido adecuadas para mantener la simbiosis con las diferentes especies hospederas (*Quercus ilex*, *Quercus robur* y *Corylus avellana*).



• *T. melanosporum* presenta una buena adaptación inicial a las condiciones de suelo y clima en nuestro país. Algunas plantaciones presentan una alta incidencia de hongos de ectomicorriza competidores los cuales pueden afectar el desarrollo de *T. melanosporum*.

Nuevos proyectos llevados a cabo actualmente en Chile

- **INFOR**
 - A partir del 2004; Proyecto que considera de producción de plantas micorrizadas de Castaño con *T. aestivum* y establecimiento de plantaciones de castaño con objetivo de producción mixta (madera y trufas). Financiamiento Innova Bio-Bio
- **Agrobiotruf S.A.**
 - Producción de plantas micorrizadas con trufas en forma comercial: A partir del año 2004.
 - A partir de esta iniciativa privada se han establecido 5 ha de plantaciones en primavera del 2005.
 - Se están preparando 5 ha para plantación en otoño 2006
 - Producción de plantas 2006 con el objetivo de establecer 22 ha de plantaciones con *T. melanosporum*.
 - Modelo de desarrollo: proyectos de plantaciones de propiedad de productores privados y contratos de inversión tipo Joint venture con los productores.
- **Universidad de Concepción y Universidad de Murcia, España**
 - Proyecto de investigación para desarrollar una micología forestal aplicada en Chile (Financiamiento AECI).
 - Año 2006: Investigación y Producción de plantas micorrizadas con *T. magnatum* y *T. borchii* para el establecimiento de plantaciones experimentales en Chile

Plantación de 2 ha establecidas en primavera 2005. Comuna de Coihueco, VIII Región.
Plantación mixta: *Q. ilex* y *Corylus avellana*



**MUCHAS GRACIAS
POR SU ATENCIÓN**

AgroBiotraf

DIAPOSITIVA 2

TRACKING EDIBLE *LACTARIUS* STRAINS IN DIFFERENT PHASES OF THE MANAGED MYCORRHIZAL SYMBIOSIS

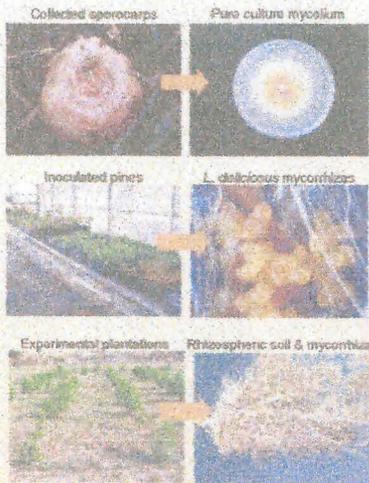


Hortal, Sara; Pera, Joan & Parladé, Javier

Departament de Protecció Vegetal, Ctra. Cabrils s/n, 08348 Cabrils (Barcelona)

Mycorrhizal inoculations of pine species with edible *Lactarius* is a promising alternative for sustainable production of these appreciated fungi. Methods for qualitative and quantitative tracking of the introduced strains are necessary to determine fungal persistence both in the plant and in the plantation soil. Molecular methods offer the possibility of characterizing the strains in different phases of the symbiosis. The objective of this study is to test molecular techniques for specific and intraspecific identification of selected *Lactarius deliciosus* strains in pure cultures, mycorrhizas and extraradical mycelium in experimental plantations.

FUNGAL SAMPLING



MOLECULAR METHODS

1. **Fungal DNA extraction** from mycelium, mycorrhizas and rhizospheric soil samples.
2. **PCR and sequencing** of rDNA-ITS region from different *Lactarius* spp. isolates.
3. **Specific primer design** for *L. deliciosus*. A specific reverse primer named LDITS2R complementary to the universal ITS1 has been used. PCR from pure culture mycelium, mycorrhizas and rhizospheric soil samples were performed for specific characterization of *L. deliciosus*.
4. **Microsatellite-primed PCR** using (GTG)_n as a unique primer. PCR with DNA templates from *Lactarius* spp. mycelium, mycorrhizas and pine roots were performed for intraspecific characterization.
5. **SSCP analysis** of *L. deliciosus* specific PCR products obtained with primers ITS1-LDITS2R from pure culture mycelium, mycorrhizas and rhizospheric soil samples aimed to intraspecific characterization.
6. **Real-time PCR** with two specific primers and a TaqMan®-MGB probe for quantification purposes.

RESULTS

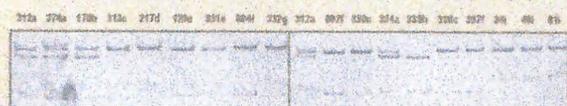
Specific *L. deliciosus* PCR from pure cultures (C), soil-mycelium added (SM) and rhizosphere samples (R). Numbers refer to corresponding isolates. M: 100 bp marker. Wpcr: control PCR.



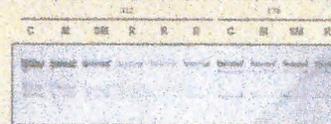
Microsatellite-primed PCR Products obtained from pure cultures (black number for *L. deliciosus* isolates and red for *L. sanguifluus* ones), mycorrhizas (isolate+host plant) and pine roots. M: 100 bp marker. Pine: *Pinus pinus*. Wpcr: control PCR.



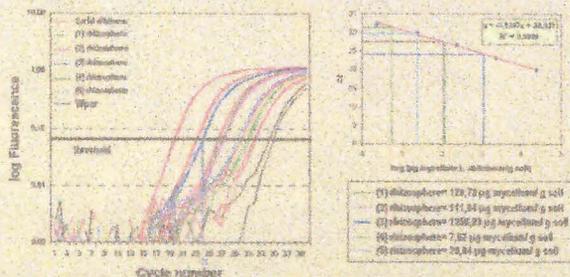
SSCP analysis for PCR products obtained by specific ITS amplification (primers ITS1, LDITS2R) from different *Lactarius deliciosus* isolates in pure culture. Isolates sharing the same letter are in the same pattern group.



SSCP analysis for PCR products obtained by specific ITS amplification from different samples corresponding to *L. deliciosus* isolates 312 and 178, pure culture mycelium (C), *Pinus pinus* mycorrhizas (M), soil + mycelium added (SM) and rhizosphere soil (R) from an experimental plantation.



TaqMan® Real-time PCR from different rhizosphere samples of inoculated plants established in an experimental plantation. Absolute quantification was done by generating a standard curve with serial dilutions of DNA soil extracts with known amounts of mycelium from pure cultures of *L. deliciosus* (red lines). Wpcr: control PCR.



CONCLUSIONS

Molecular techniques based on the rDNA-ITS region analyses are reported to be useful for fungal species identification but intraspecific variability is low. However, available genotyping techniques as SSCP are sensitive enough to detect SNPs and can be used for intraspecific characterization in all the phases of the symbiosis including extraradical mycelium.

Microsatellite-primed PCR showed clear intraspecific polymorphisms. This technique is a potential tool for detecting microsatellites without constructing a genomic library.

Real time PCR is a powerful technique for quantitative detection of a target mycelium in the soil at species level. This is of particular importance in the study of extraradical mycelium, a phase of the symbiosis especially unknown in spite of its physiological importance.

DIAPOSITIVA 3



ENVIROMENTAL, ECOLOGICAL AND VEGETATIVE PROPAGATION OF LIBYAN TRUFFLES

S. Shamekh,* Y. El-Mabsout**, A. Ashur**, N. Madi**, A. El-Hamdy** and M. Leisola*

*Laboratory of Bioprocess Engineering, Helsinki University of Technology

**Faculty of Agriculture, Al-Fateh University, Tripoli, Libya



INTRODUCTION

Truffle is the common name for subterranean fungi belonging to the class ascomycetes. Several genera are recognized around the world. These include *Terfezia*, *Tirmania* and *Tuber*. In Libya, the most common truffles are *Tirmania* (the white truffle, photo 1) and *Terfezia* (the black or red truffle). *Tuber aestivum* Vitt., the Burgundy truffle or Summer truffle (black truffle) is the species which is grown in France and Sweden (photo 2). The present study was initiated to study the environmental and ecological conditions and the host plants which promote the natural growth of Libyan truffles compared to *T. aestivum* (Sweden & France).

EXPERIMENTAL

A- Physical, Chemical and Microbiological properties of the soil analysis:

A number of soil samples from the Libyan truffle habitat area were collected & mixed together. Soil samples were kept in aluminum bags before they were subjected to the following analysis:

1- Physical analysis: Textural class, porosity, true & bulk density of the soil sample were determined.

2- Chemical analysis: Mineral content, pH value and electrical conductivity of the truffle habitat soil were determined.

B- Vegetative propagation of truffles: Production of truffle mycelium from *Tuber aestivum* and from the Libyan truffles were performed in Laboratory of Bioprocess Engineering, Helsinki University of Technology and in The Laboratories of the Faculty of Agriculture, Al-Fateh University, Libya respectively.

C- Plants in truffle habitat: All the plants found in the Libyan truffles habitat were collected & identified. The host trees of *T. aestivum* were also identified.

RESULTS

The textural class name of the Libyan truffle habitat soil was identified as sandy loam, using the textural triangle whereas the texture of the Swedish *T. aestivum* soil was silty to sandy, while French soils were more clayey (Figure 1). The most common among the plants collected from Libyan truffles habitat soil was *Helianthium* spp. it was found whenever there were truffles. The host trees in Sweden were oak & pine. The harvest season of Libyan truffles falls between November & March whereas *T. aestivum* harvesting time falls between August & January. Cold and dry climate in Sweden made the harvesting season of *T. aestivum* starts and ends earlier than in France and in Libya. Our results also showed that manual periodically irrigation of the truffle habitat areas increased the yield compared to control.

pH of the Libyan truffle soil was more or less as *T. aestivum* soil (Sweden and France). The vegetative propagations of Libyan truffle and Swedish *T. aestivum* were performed in Faculty of Agriculture, Libya and in the Laboratory of Bioprocess Engineering, Finland respectively. The results showed that more or less the same solid medium would promote the propagation of both truffle species.

Conclusion

We conclude that truffles have a wide soil texture tolerance and irrigated water is an important parameter to obtain a good truffle crop.

REFERENCES

1. Weden, C., Chevalier, G. and Danell, B. 2004. *Tuber aestivum* (syn. *T. auricatum*) biotopes and their history on Gotland, Sweden Mycol. Res. 108 (3):304-310

ACKNOWLEDGMENTS

Financial support from Helsinki University of Technology, Finland and Faculty of Agriculture, Al-Fateh University, Libya are appreciated



Photo 1



Photo 2

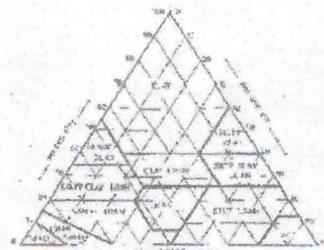


Figure 1

International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms
28/11-2/12/2005 Murcia, Spain

e-mail: salem.shamekh@hut.fi

DIPOSITIVA 4

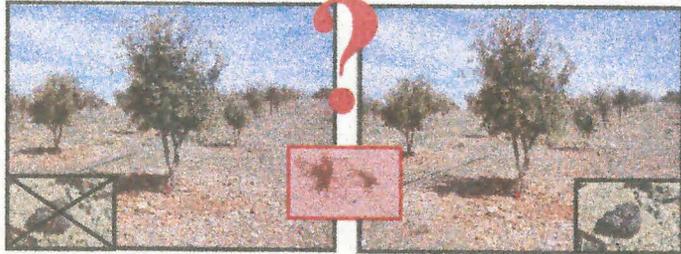
RELATIVE QUANTIFICATION OF DNA FROM *Tuber melanosporum* MYCELIUM IN SOIL AROUND PRODUCTIVE AND NON-PRODUCTIVE TREES IN A TRUFFLE ORCHARD

Laura M. Suz¹, María P. Martín² and Carlos Colinas¹

¹Centre Tecnològic Forestal de Catalunya, Pujada del Seminari s/n, E-25200 Solsona, Spain, ²Real Jardín Botánico (CSIC), Pza Murillo, 2, E-28014 Madrid, Spain



INTRODUCTION



Different ascomata (truffle) productions are usually registered between trees within the same truffle orchard. Variations in the amount of *Tuber melanosporum* Vittad. mycelium in soil may explain these differences.

Objective

To check if the amount of *T. melanosporum* mycelium in soil could be different around productive and non-productive inoculated *Quercus ilex* L. trees.

MATERIALS AND METHODS

Study area and field measurements

- 10-yr-old truffle orchard (Teruel, Spain).
- Twelve non-productive trees and 12 truffle-productive trees (>1 kg of truffles produced the previous season) randomly selected.
- Soil cores in opposite directions at 1 m from the stem and 5-10 cm of depth.
- Each soil sample (7g): combined mixture of 2 soil samples from opposite directions.
- Measure of tree growth variables, burn extension and surface rock cover.

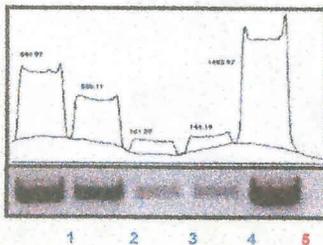


DNA Analysis

- Direct total-DNA extraction method and PCR protocol with *T. melanosporum*-specific primers ITS1TM-ITS2TM according to Suz *et al.* (2005).
- Comparison of band-intensities with a known standard (*T. melanosporum* ascoma) using NIH software (U.S. National Institutes of Health, v.1.1.63).

$$\text{Relative band intensity} = \frac{\text{Intensity sample}}{\text{Intensity standard}}$$

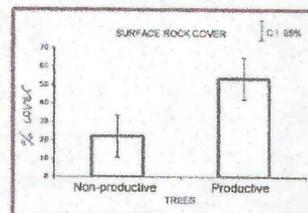
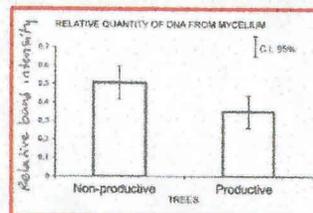
RESULTS



Agarose gel from amplification with ITS1TM-ITS2TM of DNA-extractions from soil samples. Lanes 1-2: soil samples from non-productive trees. Lanes 3-4: soil samples from productive trees. Lane 5: *Tuber melanosporum* ascoma (standard).

In soil around productive trees, we detected significantly lower ($p < 0.05$) amounts of DNA from black truffle mycelia at 5-10 cm.

The surface rock cover of the burns around productive trees was significantly greater ($p < 0.001$).



DISCUSSION

We hypothesize that the relatively smaller quantity of mycelium found in the soil surrounding productive oak trees reflects the shift in total fungal biomass from vegetative thallus to ascomata (truffle) production. Further physiological explanations to these findings are needed.

Quantitative aspects can be problematic as band intensities do not continue to increase after a certain number of PCR cycles. Further work employing DNA quantification techniques such as real-time-PCR is needed to obtain a more precise measure of mycelium quantity.

References

Suz, L.M., Martín, M.P. and Colinas, C. 2005. Detection of *Tuber melanosporum* in soil. FEMS Microbiology Letters (accepted).

Acknowledgments

This work was supported in part by the DMAH-GENCAT, by scholarship 2002FI-00711 to L.M. Suz from the DURSI-GENCAT, and by the research project FMI-REN2002-04058-CQ2-01. We are indebted to M. Doñate for his collaboration and the facilities to sample his truffle orchard.

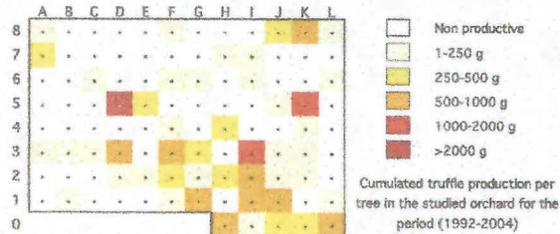
DIAPPOSITIVA 6

Ecophysiological and pedological factors and black truffle (*Tuber melanosporum* Vitt.) production in an evergreenholm oak (*Quercus ilex* L.) truffle orchard

Oliach, D.¹ Barrière, P.² Ruiz, G.³ Souche, G.³ Jaillard, B.³

Introduction and objective

Truffle production varies considerably among trees within truffle orchards. May ecophysiological and pedological factors explain this variability?



Material and methods

We carried out this study in one truffle orchard (Fig. A) placed in Roullens nearby Malepère Mountains (Aude, France). A sum of 101 trees were measured.

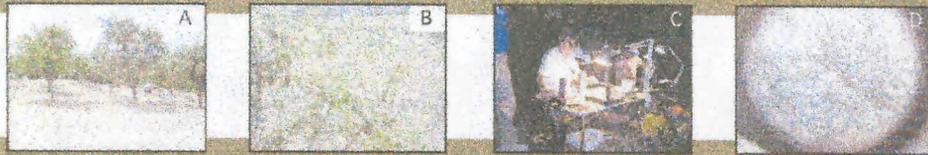
The **Dependent variable** was the accumulated truffle production. It was available data of the production yielded per each tree since it began to produce.

Explanatory variables:

Ecophysiological: Diameter of trees, shoot strength (6 classes) (Fig. B) and both predawn and midday leaf water potential (Fig. C).

Pedological: Soil of orchard area was mapped by performing 25 samplings. We also considered the stone content as an extra variable (5 classes).

Figures

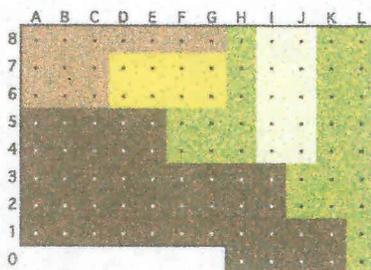


Results

	Truffle Production	Diameter	Predawn leaf water potential	Midday leaf water potential	Difference between potentials	Shooting strength	Stone content
Truffle production	1						+++
Diameter		1				+++	+
Predawn leaf water potential			1		---	--	+++
Midday leaf water potential				1	+++		+++
Difference between potentials					1	++	
Shooting strength						1	
Stoniness							1

+, ++, +++ indicate a positive correlation respectively at $p < 0.10$, $p < 0.05$ and $p < 0.01$; and vice versa for negative correlations.

MORE PRODUCTIVE TREES APPEARED TO BE ON AREAS WITH GREATER STONE CONTENT



We identified 5 soil types within the same orchard

- CALCOSOL
- CALCOSOL 1
- CALCOSOL RENZIIFORME
- CALCOSOL RENZIIFORME 2
- CALCOSOL LITHIC

Slightly significant truffle production differences were detected between the five soil types ($p=0.06$)



MORE PRODUCTIVE TREES APPEARED TO GROW ON CALCOSOL LITHIC AREAS

1) Presence of calcified roots (Fig. D) (Jaillard et al. 1991).
2) Depth ranging 20-30 cm instead of 40-50 cm of the latter.

Discussion

We only considered one truffle orchard in this research. Thus, its results should not be generalized.



The only explanatory variable positively correlated with truffle production was stone content. Calcisol lithic soils had the greatest stone content. Whether stone content is responsible for increased truffle production or not needs to be tested experimentally.

References:

Jaillard, B., Cayon, A., Malin, F. (1991). Structure and composition of calcified roots, and their identification in calcareous soils. *Geoderma*, 50: 187-210.

EFFECT OF IRRIGATION ON FRUITBODY PRODUCTION OF MUSHROOMS IN A FINNISH SCOTS PINE FOREST

T. Sarjala, E.-M. Savonen, H. Potila

Finnish Forest Research Institute, Parkano Research Unit

INTRODUCTION

It is known that several climatic factors such as precipitation and temperature during the growing season affect mushroom production. In this study we monitored the yield of fruitbodies in a Scots pine forest during three growing seasons in order to clarify the effects of irrigation on the above and below ground growth of fungal biomass.

MATERIALS AND METHODS

- Eight experimental plots (four irrigated, four control, size 20x20m) in a homogenous Scots pine forest in western Finland.
- Irrigation, twice a week in 2002, 2003 and 2004. Target amount of water (precipitation plus irrigation) was 400 mm from the beginning of June to the end of August.
- Fruitbody collection once or twice per week.
- Fungal biomass from the humus layer was measured as ergosterol with HPLC.
- For measurement of growth of mycorrhizal fungal mycelium in the soil Nylon mesh bags (mesh size 50 µm) filled with quartz sand were buried in soil in June and picked up in September in 2004.
- Dissolved nitrogen (NH₄⁺, NO₃⁻, dissolved organic N) was determined with flow injection analyser.
- Fungal community structure in the mesh bags will be studied in near future with PCR-DGGE method.



Figure 1. Experimental plots in Scots pine forest in Finland.

RESULTS

- Irrigation increased the total biomass of fruitbodies of *Cortinarius* sp. in 2002 (p=0.042, t-test) and *Lactarius* sp. in 2003 (p=0.042, ANOVA), whereas no effect was found for example in the total number of *Suillus variegatus*, *Lecaninum* sp. or *Rozites caperata*.
- Irrigation did not affect significantly the total number of the fruitbodies, fungal biomass in the humus or dissolved N-compounds (NH₄⁺, NO₃⁻, dissolved organic N).
- Precipitation in the growing season 2004 was higher than in 2003, which may explain the smaller effect of the irrigation treatment in 2004.

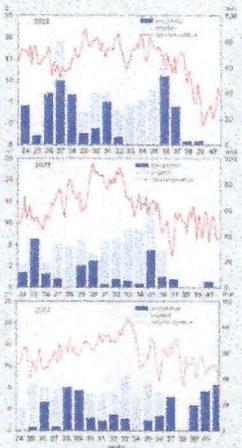


Figure 2. Air temperature (C) in the experimental area and precipitation plus sprinkler irrigation (mm) on irrigated and non-irrigated plots in 2002, 2003 and 2004.

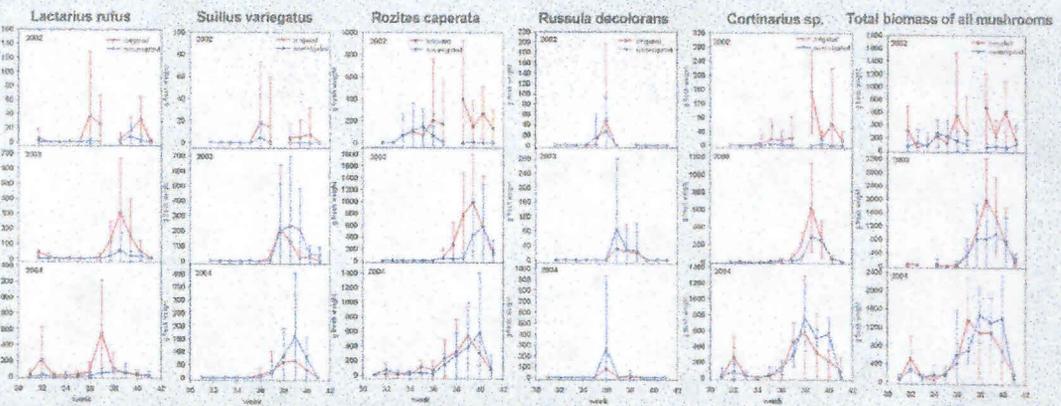


Figure 3. Fresh weight of fruitbodies in 2002, 2003 and 2004 on irrigated and non-irrigated plots. Error bars indicate 95 % confidence interval for means.

CONCLUSIONS

As a conclusion, irrigation affected significantly the fruitbody production of some fungal species (*Lactarius rufus*, *Cortinarius* sp.), but did not affect significantly the total number of the fruitbodies or the fungal biomass in the soil.

Growth of fungal mycelium into the mesh bags did not correlate with the biomass production of fruitbodies.

Acknowledgement

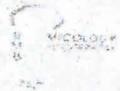
This study has been funded by Metia and EU Leonardo da Vinci project "MYKOS, Fungi as a Resource of Employment, Sustainable Development and Economic Diversification within the Rural Realm".

DIPOSITIVA 9

pauvila@um.es



GROWTH OF THREE DIFFERENT LACTARIUS SPECIES UNDER DIFFERENT IN VITRO CONDITIONS.



Vila, P.1.2, Honrubia M.1 and De Las Heras J.3

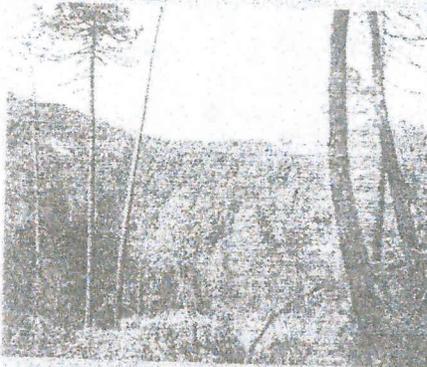
1 Universidad de Murcia, Departamento de Botánica Campus Espinardo 30100 Espinardo (Murcia)

2 Mycetus Biotechnology S.L. Polígono Campollano C/G nº 4 02007 Albacete

3 Universidad de Castilla la Mancha, Departamento de producción vegetal y tecnología agraria, Campus de Albacete, 02071 Albacete

mycetus
BIOTECH

Introduction



L. deliciosus (Linnaeus ex Fries) S. F. Gray is probably the most appreciated edible mycorrhizal fungus in Spain. According to Hail (2003), more than 1000 tons of saffron milk cap are collected world-wide, representing considerable income for many families. In several regions of Spain there is a great interest in making plantation of pine mycorrhizal with *Lactarius* species. The first step for this procedure is to optimize the inoculum production (Sánchez et al. 2004). We have studied the growth parameters of fungi *in vitro*: pH, temperature and culture media.



Materials and methods.

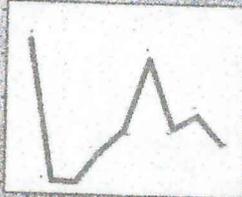
Growth conditions

The effect of 4 different growing media (BAF (Moser, 1960), MMN (Marx 1969), 5X and WB) adjusted to 5 different pH values (5, 5.5, 6, 6.5, 7) and at two growth temperatures (18 and 23 °C) was studied on fungal biomass formation of 9 strains of *Lactarius* (7 *L. deliciosus* (Linnaeus ex Fries) S.F. Gray, 1 *L. sanguifluus* (Paulet) Fries, 1 *L. semisanguifluus* Heim and Leclat).

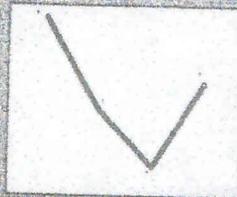
The experiment was lasted over 60 days, and the fresh weight was measured in a precision scale. Fresh micelia was dried in oven 70° C for 48 h. and weighed again.

Results and discussion

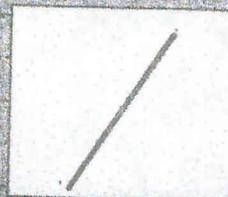
L. deliciosus showed a greater growth than the other two species.



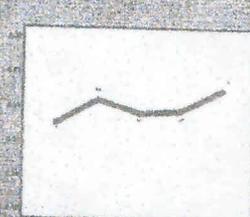
WB medium produced the highest biomass formation.



23 °C encouraged the greater fungal development.



The effect of the pH was not relevant.



Post Fire Forest Regeneration with Cash Crop: Truffles

Juan Martínez de Aragón, Antoni Olivera, Christine Fischer and Carlos Colinas
 Área de Defensa del Bosc. C.I.F.C. Pujada del Seminari s/n. 25280 Sabana.
 C.A. truficultura@aragon-olivera.com or christine.fischer@ufc.cat or carlos.colinas@upf.edu



INTRODUCTION

Fire is a serious threat to Mediterranean forests and the corresponding rural populations (Plana, 1999). The current increase in forested areas and fuel loads increase the probability of large forest fires. After a devastating fire, these lands lose profitability and frequently are no longer managed, resulting in fire-prone shrub communities that inhibit forest regeneration. Reforestation immediately following fire poses a high investment cost with poor financial returns given the trends in wood markets.

Reforestation with seedlings inoculated with black truffle (*Tuber melanosporum* Vitt.) that potentially produce a marketable commodity could provide a viable alternative for these sites (Samils et al., 2003; Bonet and Colinas, 2001; Reyna, 2000). A major biological concern for this solution is the ectomycorrhizal inoculum resident in the soil, which may compete or displace the truffle mycorrhizae in the inoculated out planted seedlings (McAfee and Fortin, 1986). We address this concern with the vision of establishing multi-use forest cover as opposed to establishing more labour-intensive truffle orchards.

MATERIAL & METHODS

Following the 1998 forest fire, which burned 26,000 ha of conifer forests with occasional oaks in the understory in north-eastern Spain, we established experimental plots with holm oak (*Quercus ilex* L.) nursery seedlings inoculated with *T. melanosporum* where climate and soil properties were adequate for black truffle habitat. Four plot conditions were evaluated:

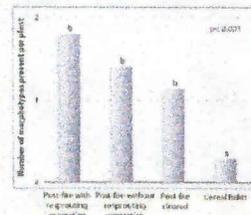
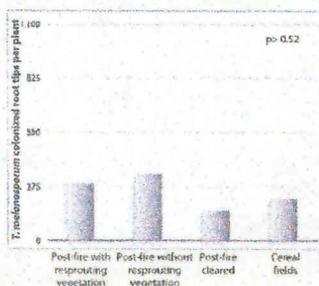
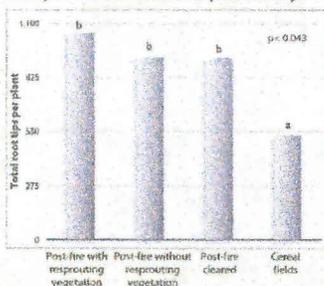
- > T1: post-fire with resprouting vegetation
- > T2: post-fire without resprouting vegetation
- > T3: post-fire cleared
- > T4: cereal fields

After 3 years we removed whole plants to evaluate the influence of the plot history on seedling growth and the persistence of black truffle mycorrhizae, and the overall mycorrhizal diversity present in the roots.



RESULTS & DISCUSSION

We found that seedlings in T1, T2 and T3 (Burned forest) had significantly higher total root tips per plant. Plot history influenced the diversity of mycorrhizal morphotypes ($p < 0.003$), but the proportion of *T. melanosporum* colonization remained constant ($p > 0.52$), suggesting that *T. melanosporum* can thrive in post-fire conditions within the ectomycorrhizal fungal communities just as well as in a cereal field lacking inoculum of ectomycorrhizal fungi. Follow-up work is necessary to observe for truffle productivity.



Morphotypes more frequently observed

LITERATURE CITED

Bonet, J.A. and Colinas, C. 2001. Cultivo de *Tuber melanosporum* Vitt. Condiciones y rentabilidad. *Forestalia*, 5: 38-45.
 Plana, E. 1999. Grandes incendios forestales y desarrollo rural. El incendio de la Catalunya central de 1998. *Revista de desarrollo rural y cooperativismo agrario*. Unidad de economía agraria. Universidad de Zaragoza, 3: 163-174.
 McAfee, B.J. and Fortin, J.A. 1986. Competitive interactions of ectomycorrhizal mycobionts under field conditions. *Can. J. Bot.*, 64: 848-852.
 Reyna, S. 2000. La trufa, truficultura y selvicultura trufera. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 229 Pp. ISBN 84-7114-891-9.
 Samils, N.; Olivera, A.; Danell, E.; Alexander, S.J. and Colinas, C. 2003. Aportación de la truficultura al desarrollo socioeconómico. *Vida Rural*, 15: 54-60.

Acknowledgments

This work was supported in part by the Departament de Medi Ambient i Habitatge (Generalitat de Catalunya) and SILVAPYR project.

DIPOSITIVA 11

MYCOCOENOSYS IN A TRUFFLE PLANTATION



G. Di Massimo, L. Baciarelli Falini, D. Donnini, M. Bencivenga

Dipartimento di Biologia Vegetale e Biotecnologie Agroambientali e Zootecniche Università degli Studi di Perugia

Borgo XX giugno 74, 06121 Perugia

Tel. 075/5856433

E-mail jofu@unipg.it

IV International Workshop on edible mycorrhizal mushrooms
F1 Murcia, Spain, 29 november - 2 december 2005

Description of the truffle plantation:

Location: Spoleto, Umbria (Italy)

Plantation Year: 1985

Altitude: 350 m a.s.l. - Surface area: 5 Hectares - Exposition E-SI

Plant symbionts: *Ostrya carpinifolia* Scop., *Corylus avellana* L.,

Quercus ilex L., *Quercus pubescens* Willd.

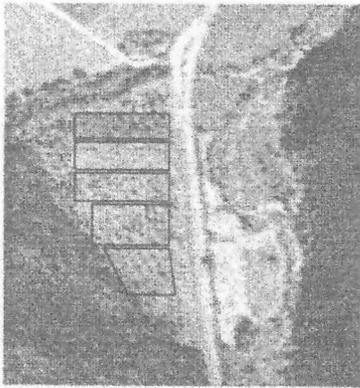
Initial mycorrhization: *Tuber melanosporum* Vittad.

Plant density: m 4 x 5

Investigation period: 2004 - 2005

In some truffle plantations the production of truffles is accompanied by fruit body formation of other mycorrhizal and saprophytic fungal species. In most cases, the ectomycorrhizal fungi present are considered competitor versus *Tuber* spp.

In order to assess the possible competitive phenomenon, a truffle plantation that produces high amounts of both *Tuber aestivum* and epigeous basidiomycetes fungi has been studied.



Truffle plantation overview

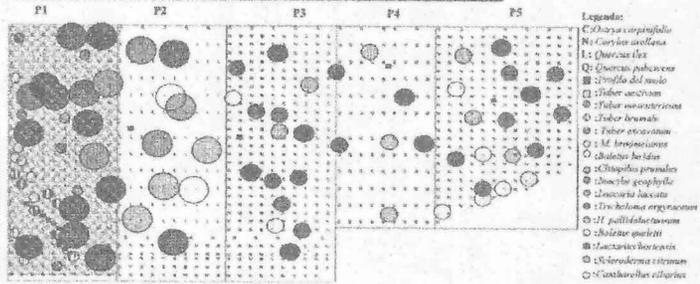
In P1 of the plantation, during the years 2004-2005, an abundant production of both *Tuber aestivum* and other ectomycorrhizal fungi, *Tricholoma argyraceum* in particular, has been observed.

Some ectomycorrhizal fungal species collected in P1



Tuber aestivum *Laccaria laccata* *Boletus torquatus* *Claviceps purpurea* *T. argyraceum*

P1			Ectomycorrhizal species: <i>Tuber aestivum</i> Vittad. <i>Tuber mesentericum</i> Vittad. <i>Tuber brumale</i> Vittad. <i>Tuber escaurosum</i> Vittad. <i>Melanogaster leucophaeus</i> Berk. ex Tull. & Tull. <i>Boletus torquatus</i> Schaeff. Fr. <i>Claviceps purpurea</i> (Scop.) Fr. Kuntz. <i>Claviceps spathulata</i> (Fr.) Kuntz. <i>Laccaria laccata</i> (Scop.) Cooke <i>Tricholoma argyraceum</i> (Hoff.) Kuntz.
P2			Ectomycorrhizal species: <i>Helvella pollidobolusorum</i> Gröger & Zschieschang <i>Laccaria laccata</i> (Scop.) Fr. Cooke
P3			Ectomycorrhizal species: <i>Boletus queletii</i> S. Schult. <i>Laccaria laccata</i> (Scop.) Fr. Cooke <i>Lactarius hortensis</i> Velet. <i>Scleroderma citrinum</i> Pers.: Pers.
P4			Ectomycorrhizal species: <i>Laccaria laccata</i> (Scop.) Fr. Cooke <i>Scleroderma citrinum</i> Pers.: Pers.
P5			Ectomycorrhizal species: <i>Boletus queletii</i> S. Schult. <i>Laccaria laccata</i> (Scop.) Fr. Cooke <i>Cantharellus cibarius var. ferruginaceus</i> (P. D. Orton) Cooke <i>Lactarius hortensis</i> Velet. <i>Scleroderma citrinum</i> Pers.: Pers.



Ectomycorrhizal species distribution correlated to soil properties and plant symbionts

Conclusions

In the plantation, *Tuber melanosporum* mycorrhizae have been replaced by those of other fungi; the distribution of these latter ones seems to depend upon the plant symbiont and the soil properties.

The presence of *Tuber aestivum* seems to be related mainly to the soil properties: its fruitbodies are found mainly in soils with abundant coarse fragments and well-drained.

The presence of both *Boletus queletii* e *Lactarius hortensis* seems to be related mainly to the plant symbiont *Corylus avellana*. *Laccaria laccata* seems ubiquitous.

The observation that a copious fruit body formation of both *Tuber aestivum* and *Tricholoma argyraceum* can be found at the same site and with the same plant symbiont is consistent with the hypothesis that mycorrhizal fungi present in productive truffle plantations are not competitor versus *Tuber* spp.

It is highly probable that in truffle plantations symbiotic fungi characterised by similar ecological needs can co-exist creating a relation similar to that observed in the higher plants forming phytocoenosis.

Soil Profile	Soil Horizon	Soil Depth cm	Moist soil colour	Coarse fragments size		Structure	Effluence
				mm	%		
P1	Ap1	0-13	7.5YR5.2	5-30	15	Crumbly	2-4
	Ap2	13-32	7.5YR3.3	5-30	25	Crumbly-subangular	5-10
	Nc	32-62	7.5YR4.4	10-100	75	Single grains	Violent
	Bc	62-120	5YR3.4	0-10	2	Crumbly-subangular	20-30
P2	Ap1	0-12	5YR3.2	2-10	15	Crumbly	2-5
	Ap2	12-32	5YR3.4	1-50	18	Subangular blocky	5-10
	Bc	32-62	5YR3.4	5-30	25	Polyedric Subangular	5-15
P3	Ap1	0-12	5YR3.2	3-10	10	Crumbly	2-5
	Ap2	12-30	5YR3.2	5-40	10	Subangular blocky	5-10
	BW1	30-60	5YR3.3	3-10	10	Prismatic	20-30
	Bw2	60-120	5YR3.3	3-10	10	Prismatic	30
P4	Ap1	0-12	5YR3.3	2-10	10	Crumbly	2-5
	Ap2	12-45	5YR3.4	2-10	10	Subangular blocky	5-10
	BW4	45-55	5YR4.2	3-10	3	Massive	20-30
P5	Bg	55-120	5YR3.3	2-10	30	Massive	30
	Ap	0-25	7.5YR5.4	2-5	3	Angular blocky moderate	10
	BW	25-48	7.5YR4.4	2-10	2	Polyedric subangular	40
	2Bg	48-120	5YR4.6	Absent	Single grains	2-5	Absent

Field soil characteristics

BIBLIOGRAPHY

ARNOLDS E. 1981. Ecology and zoogeography of macrofungi in grassland and mesothalands in Drenthe, The Netherlands. Part I. Introduction and methodology. *Phytocoenosis*, 55, 40-59p.
 ARNOLDS E., ZIEFFER TH. W., SCHROEDERSON B. H. (eds.) 1995. *Oecologie van de paddenstoelen in Nederland*. Vakland
 BRAGATO G., LIBRILI, C. CASTRIGNANO A., BENCIVENGA M., 2005. Rustification analysis of some soil factors related to *Tuber melanosporum* production in an experimental truffle bed.
 Atti del Ventesimo Simposio Internazionale Scienze ed. Cultura da Truffe, 8-6 pages 1999, Agr. in. Perugia, Umbria, 251-256
 CANNON M., J. ANTONI G., 1986. *Funghi truffle*. Leggato s.r.l. Ed. Doretta Boffa G., Soriano
 F. A. O. 1990. *Guida ai funghi*
 CORTICONE R., LUJIBI B., 1994. *Guida alle coltivazioni del Frantoio d'Elaborazione*. "L'Alto" - Paolo - Trebbiano e Nocelli 1994
 JACCHI V., 1989. *Guida alla Determinazione dei Funghi Vol. 2* (Aplo) (Basidiomycetes, Basidiomycetes) Ed. Natura, Trento
 LAGANA A., MAZZINI B. A., PERINI C., 2004. *Indirizzo micologico della truffa*. Simbio nella Ricerca Nazionale Regionale del Bosco (AR). *Parade di Micologia*, n. 21, 71-77
 MOREM M., 1995. *Guida alla Determinazione dei Funghi Vol. 1* (Oocystozoa, Basidiomycetes, Ascomycetes, Russulales, Russulales) Ed. Natura, Trento
 STANGI, T. 1991. *Guida alla Determinazione dei Funghi Vol. 2* (Ascomycetes) Ed. Natura, Trento

DIPOSITIVA 12

ASCOCARP DENSITY IN A TRUFFLE PLANTATION



G. Di Massimo, L. Baciarelli Falini, D. Donnini, M. Bencivenga
 Dipartimento di Biologia Vegetale e Biotecnologie Agroambientali e Zootecniche Università degli Studi di Perugia
 Borgo XX giugno 74, 06121 Perugia
 Tel. 075/5856433
 E-mail inf@unipi.it



IWEMM4 - IV International Workshop on edible mycorrhizal mushrooms
 Murcia, Spain, 29 november - 2 december 2005

Over the last years, truffle plantations of *Tuber aestivum* Vittad. have started recording high levels of production (70-100 kg per hectare). At present, the actual potential productivity of a plantation, ie the number of truffle primordia that are formed and the number of those that develop into ripe truffles, is unknown. An initial study has been undertaken on a highly productive truffle plantation of *Tuber aestivum* Vittad. (140 Kg per hectare).

Truffle plantation description

Location: Perugia, Italy
 Plantation year: 1985
 Altitude: 390 m a.s.l.; surface area: 5000 m² - plain field
 Plant symbiont: *Obryza carpiniifolia* Scop.
 Cultivated truffle: *Tuber aestivum* Vittad.
 Plant density: 4,5 x 5 m

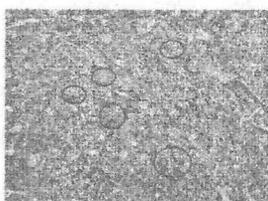
Investigation undertaken in the year 2005.



Cultivated Truffle bed of *Obryza carpiniifolia* Scop. x *Tuber aestivum* Vittad.



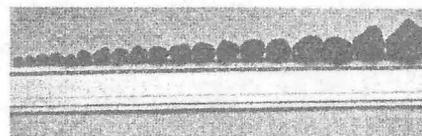
1 m² surface within a productive area



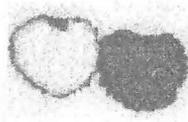
Primordia of *T. aestivum* Vittad. within the test area

Over the first decade of May 2005, a 1 square meter area comprised between 2 productive plants has been delimited, and all the ascocarps present within it have been collected, at a depth of 0-5 cm.

In a 1 m² test area, 52 unripe fruit bodies have been collected, characterised by a diameter comprised between 0,6 cm a 2,2 cm; furthermore, along a 30 m transect, carpophores have always been observed within a 20 cm² surface investigated every 50 cm. In the truffle bed, 34 kg of truffles have been collected, ie 68g per square meter, corresponding to 2-4 fruitbodies; this means that only a little percentage of truffles (3-10%) gets ripe.



Minimum and maximum sizes of truffles collected at the test area

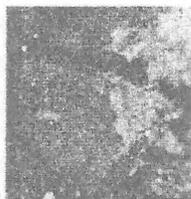


Section of an unripe *T. aestivum* Vittad.



6 mm diameter fruitbody of *T. aestivum* Vittad.

The morphological analysis of their peridium revealed the presence at the verrucose apex of hyphal whorls. The hyphae are simple, with an average length of 600 µm and an average basal diameter of 3 µm. Hyphal septa are rare, cell walls are slightly thickened and appear darker than the intracellular content, which shows a light amber colour. The hyphal apex can be pointed, or more commonly enlarged, and finely granular. The morphology of these hyphae resembles that of the cystidia observed in the mycorrhizae of *T. aestivum*.



Verrucae associated with vesicelid hyphae of *T. aestivum* Vittad.



Details of verruca with vesicelid hypha



Details of vesicelid hyphae

The absence of mycorrhizae and the presence of hyphal whorls on the peridium are consistent with the theory advanced by many authors of a saprophytic stage in the life cycle of the truffle.

The high number of ascocarps found per unit of surface suggests a potential productivity higher than that observed. This finding enhances the interest in identifying the possible agronomic measures (irrigations, prunings, mulchings, amendments, etc.) able to promote the development and the ripening of the majority of the truffles that are formed in a plantation.



Cultivation technique: irrigation



Cultivation technique: pruning

Bibliography

Callot G., coord., 1999 - *La truffe, la terre, la vie*. Ed. INRA, Paris, 246 p.
 Donetti B., De Angelis A., Mennucci G., 2005 - *Truffe, storia di un mito*. Regione Umbra, Associazione Regionale Agricoltori, Foligno, Perugia, 101 p.
 Rousset L. G., Chevales G., Baudet M. C., 1981 - *Truffles d'Europe et de Chine*. CITEF - Ed. INRA, 151 p.

DIPOSITIVA 13

VASCULAR AND MYCORRHIZAL BIODIVERSITY OF TRUFFIÈRES IN NAVARRA (NORTHERN SPAIN)



B. González-Armada, R. Y. Cavero y A. M. de Miguel

Departamento de Biología Vegetal. Sección Botánica
 Universidad de Navarra, 31080 Pamplona (Navarra) Spain
 E-mail: mgonzale6@alumni.unav.es



MATERIAL AND METHODS

The vascular and mycorrhizal flora has been sampled from autumn 2003 to spring 2005 in



Oligoyca (SOTIMPOZT), 3 holes-hole

TRUFFLE PLANTATION

More disturbed and anthropized



Oligoyca (SOTIMPOZT), 4 holes-hole



Lagar (Elveta Estrella, 2014/11/22)

NATURAL AREA

Not disturbed area



Pedo Unzué (Valderrán, SOTIMPOZT)

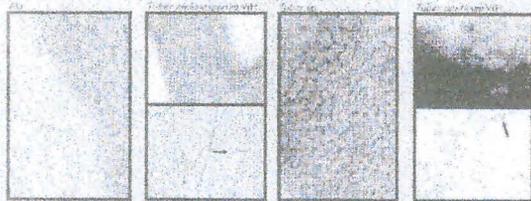
RESULTS

MYCORRHIZAE

• At the moment, many of the 12 mycorrhizal morphotypes found in the plantations have been identified at the level of genus or species, thanks to the comparison with other studies about the mycorrhizae of plantations

• The most frequent mycorrhizae in the plots are *Tuber melanosporum* Vitt., AD and *Tuber* type

• A process of evolution and natural colonization is observed: new competitor species from natural inoculum are introducing, indicating that the ecosystem is evolving towards its natural state. New species with networks of wider hyphae (like AD morphotype, very extended in these plots) or with powerful rhizomorphs (*Quercirhiza squamosa*, *Scleroderma* or *Tomentella*), which are very competitive, settle down



FLORA

• **Taxonomy:** the highest percentage are *Asteraceae* and *Poaceae*

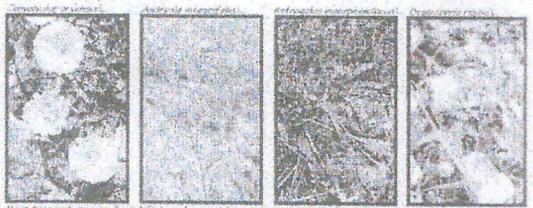
• **Live forms:** therophytes (weeds are abundant, as well as plants typical of disturbed places)

• **Chorological elements:** mainly *Mediterranean* and *Euro Siberian* but *subcosmopolitan* species take importance. Some *orophilous* species also appear

• **Habitat:** weeds and typical species of *disturbed* places. Species from *dry, luminous* and *stony* grasslands also appear

• **Plant cover:** very low, mainly in the most *stony* places (Oligoyen) and in *winter* (because of the high percentage of therophytes)

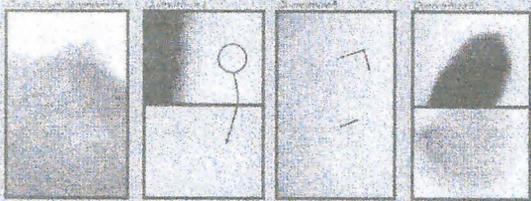
• **Sociality:** isolated individuals or in small or relatively big groups



Most frequent species: from left to right, most frequent species to the least frequent one

• The big majority of the 7 morphotypes found in the areas of natural production, correspond to mycorrhizae in which the mushroom that forms them is *unknown*, since its morphology doesn't fit to any of the descriptions in the consulted bibliography

• The most abundant mycorrhizae is *Cenococcium geophilum* Fr. It has a very high presence due to its ecology, since it is a *cosmopolitan* and *xerophytic* mushroom adapted to big variety of environments and especially resistant to *drought*, suitable conditions or *truffle* production areas. However, this fungi hasn't invaded the *truffle* plantations yet



• **Taxonomy:** *Asteraceae* and other families

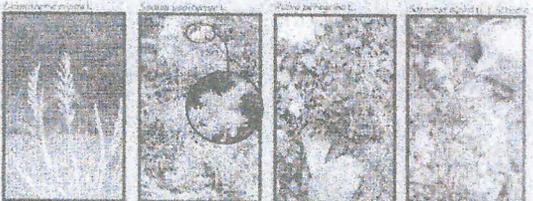
• **Live forms:** *hemicryptophytes*

• **Chorological elements:** mainly *Mediterranean*. No *subcosmopolitan* species

• **Habitat:** species of *dry, luminous* and *stony* grasslands take importance, but *weeds* and species typical of *disturbed* places also appear

• **Plant cover:** very low

• **Sociality:** *isolated individuals*



Most frequent species: from left to right, most frequent species to the least frequent one

1. We can ensure the presence of *Tuber melanosporum*, accompanied by other inevitable species, which compete with those of the black truffle. As a whole, they constitute the collection of mycorrhizae of the truffle producing trees, providing biodiversity, in a dynamic balance that allows the correct functioning of the truffle growing ecosystem

1. The 121 taxa of 38 families sampled in brûlés are mainly *annual* or *hemicryptophyte* species and belong to *Mediterranean* and *Euro Siberian* taxa. Besides, they are *nitrophilous* species, *ruderals* and typical of *dry, luminous* and *degraded* environments

2. The vascular flora of brûlé has *low plant cover*, *dwarfism* or *changes in the life cycle*

CONCLUSION

The mycelium of the mushroom produces *inhibiting substances* that act as a *powerful disturbing agent* that explains the diversity of the vascular flora of brûlés as well as its characteristics

MYCORRHIZATION PROFILE IN A TRUFFLE PLANTATION OF *TUBER AESTIVUM* VITTAD.



D. Donnini, G. Di Massimo, L. Baciarelli Falini, M. Bencivenga

Dipartimento di Biologia Vegetale e Biotecnologie Agroambientali e Zootecniche, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX Giugno, 74 - 06121 Perugia - Italy, e-mail domizia@unipg.it

IWEMM4 - IV International workshop on edible mycorrhizal mushrooms, Murcia, Spain, 29 november - 2 december 2005

Introduction

According to the present knowledge, mycorrhizae of *Tuber* are localised within the superficial soil layer, where truffles are often collected. This is particularly true in the case of *Tuber melanosporum* Vittad. and *Tuber aestivum* Vittad., that are frequently found in shallow soils (Chevalier, 1978; Bencivenga, 1994; Raglione *et al.*, 2001; Granetti *et al.*, 2005). It is indeed common opinion not to remove soil from the surface of a truffle plantation and to till the soil at a depth of a few centimeters (Vinay, Pirazzi, 2001; Donnini *et al.*, unpub.).

Aims of the work

In order to evaluate the distribution of ectomycorrhizae on the basis of the soil profundity, a study has been undertaken on a truffle plantation of *T. aestivum*.

Methods

During the Autumn of 2004, an excavation was made along the borderline of the productive and the unproductive truffle plantation parts. Along the excavation profile, which is 45 m-long and 1.5 m-deep, plant root samples have been collected at a distance of 1 m one from the other, and at 3 different depths: 0 to 20 cm, 21 to 40 cm, and 41 to 60 cm. In some cases further deep samples have been taken (61 to 80 cm). Plant root samples have been analysed by morphological characterization of their mycorrhizae (Agerer, 1987-2002).



Geographical location of the plantation

Description of the truffle bed

The plantation was realised in Umbria (Central Italy) in 1985, using various plant symbionts. The plantation is located at the altitude of 350m asl, it has 2 degrees of inclination, it is exposed to E-SE. The total area is about 50.000 square meter wide.



Plantation area with *Corylus avellana* L. and *Quercus pubescens* Willd.



The excavation site

The plot investigated was planted with hazelnut trees (*Corylus avellana* L.) and hornbeams (*Ostrya carpinifolia* Scop.). The area is about 8000 square meter wide, and truffle production is localised only at the hornbeam site (Bencivenga, Di Massimo, 2000). The lack of production of hazelnut trees, next to the hornbeams, stimulated the investigation of the nature of both the soil and the mycorrhizae present.



Plant root samples collected



Excavation profile

Results

The examination of the root samples collected revealed the presence of mycorrhizae of *Tuber aestivum* down to a depth of 60 cm, more rarely at a major depth (61 to 80 cm). The percentage of mycorrhized root apexes was also high (up to 80%). Samples collected from deeper soil layers showed the presence of mycorrhizae scarcely branched.



Mycorrhiza and mantle of *Tuber aestivum* Vittad.

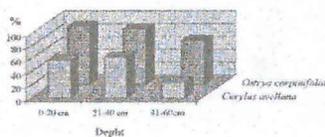
Mycorrhizae and mantle of morpho-type AD

Mycorrhiza and mantle of morpho-type 13

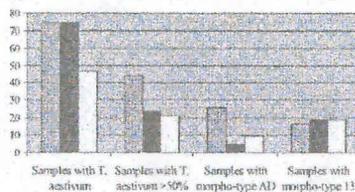
The percentage of mycorrhized root apexes decreased at increased soil profundity, while the presence of mycorrhizae of another morpho-type designated *Morpho-type 13*, also found in other truffle plantations (Donnini, 1994; Donnini, Bencivenga, 1995), increased (Benucci, 2005).

Moving from the unproductive to the productive area of the plot, along the excavation site, a higher frequency of high percentage levels of mycorrhization with *T. aestivum* was observed.

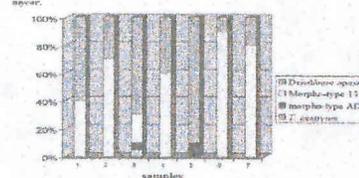
Percentage of samples with *T. aestivum* in the productive (*Ostrya carpinifolia* Scop.) and the unproductive (*Corylus avellana* L.) area



Percentage of samples with *T. aestivum* and various morpho-types, at different soil depths



Percentage of mycorrhized apexes in root samples collected at 61 to 80 cm depth



Conclusions

The lack of truffle production observed in the area where hazelnut trees were planted, despite the presence of mycorrhizae, may be due to different soil characteristics, which have started been studied and will be shown in a later work.

The results of the investigation relative to the distribution of *Tuber aestivum* mycorrhizae at different soil depths have important applications, because it establishes that less shallow soil tillages in a truffle plantation, if necessary, do not affect the mycorrhization process and the production of sporophores.

Acknowledgements. The authors are grateful to Comunità Montana Monti Martani e del Serano di Spoleto (PG - Italy) for the technical assistance during the field work and to Dr. Laura Zacchi for the english revision.

BIBLIOGRAPHY

Agerer R. (ed.), 1987-2002 - *Colour Atlas of Ectomycorrhizae*. 1st-12th ed., Eubank-Verlag, Schwäbisch-Gmünd.

Bencivenga M., 1994 - *Attuali conoscenze sull'ecologia di Tuber magnatum Pico e Tuber melanosporum Vitt.*, Giorn. Bot. Ital., 120 (1): 31-48.

Bencivenga M., Di Massimo G., 2000 - *Risultati preliminari di un'indagine colturale di Tuber melanosporum Vittad. in Umbria*, Mic. Ital., 29 (2): 38-44.

Bencivenga M., 2005 - *Produzione di funghi e tartufi in una area forestale coltivata di Tuber*, Tesi di laurea, Università degli Studi di Perugia, A.A. 2004/2005.

Chevalier G., 1978 - *Le ceps: Tuber aestivum Vitt.*, *Etologie*, Mémoires Sciences X (part 1) Proceedings of the Tenth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi, France.

Donnini D., 1994 - *Evoluzione delle micorrizze del ceppo Tuber e dei funghi commestibili nelle aree coltivate*, Tesi di Dottorato di Ricerca, Biotecnologia dei Funghi (VI ciclo), Università degli Studi di Perugia, A.A. 1993/1994.

Donnini D., Baciarelli Falini L., Di Massimo G., Bencivenga M., - *Essais expérimentaux de culture des truffes en Umbria (Italie du Centre)*, Premier Symposium sur les Champignons Hypogés du Bassin Méditerranéen, Rabat (Maroc), 6-8 avril 2004 (unpub.).

Donnini D., Bencivenga M., 1995 - *Micorrizze importanti frequentate nelle piante arborescenti*, Nota 2 - *Registrazione in campo*, Mic. Ital., 24 (2): 185-207.

Granetti B., De Angelis A., Matarozzi G., 2005 - *Umbra terra di tartufi*, Regione Umbria - Gruppo Micologia Toscana, Terni, pp. 300.

Raglione M., Spadoni M., Cavelli S., Lescarand P., De Simone C., 2001 - *Les associations mycorrhiziennes de Tuber melanosporum Vittad. dans l'Apsone Central-Italique*, Actes du Ve Congrès International «Science et culture de la truffe», 4-6 mars 1999, Arc-en-Provence, France, 276-280.

Vinay M., Pirazzi R., 2001 - *Realtà ed ipotesi per la coltivazione di Tuber borchii Vittad. e Tuber aestivum Vittad. nell'Italia Centrale*, Actes du Ve Congrès International «Science et culture de la truffe», 4-6 mars 1999, Arc-en-Provence, France, 525-530.



SUCCESS OF BURGUNDY TRUFFLE OAK HOST GROWN IN SEVERAL POTTING MIXES

Grechen Pruett, Johann Bruhn and Jeanne Mihail
 University of Missouri - Division of Plant Sciences
 108 Waters Hall, Columbia, MO 65203 - USA - gbec07@mizzou.edu



Grechen Pruett truffle hunting in Sweden

ABSTRACT

The European Burgundy truffle (*Tuber aestivum* syn. *T. uncinatum*) is a valuable food commodity and may be a profitable commercial crop in the south central USA. As a host tree, we are using open pollinated seeds from a *Q. bicolor* x *Q. robur* hybrid selected for resistance to powdery mildew and leaf-galling insects. *Quercus bicolor* (Swamp White Oak) is a native USA oak species tolerant of high pH soils. This study evaluated the performance of this tree host in seven potting mixes. The mixes consisted of different proportions of rice hulls, ground bark, sand, lime and fertilizer and were based on the RPM (patent pending) plant production system developed by Forrest Keeling Nursery, Ellsberry, Missouri, USA. In general trees performed best in media with pine bark and high sand content.

BACKGROUND

We are evaluating a *Q. bicolor* x *Q. robur* hybrid for its potential as a host tree for *Tuber aestivum* syn. *uncinatum* in the USA. The hybrid tolerates high pH soils and is resistant to powdery mildew and native insect pests. Because this hybrid has not previously been used as a host for *Tuber aestivum* syn. *uncinatum*, it is important to determine the optimum nursery growth substrate for this host-truffle combination. The substrate recipe we are starting from is based on the RPM™ (Root Production Method) tree production technique developed by Forrest Keeling Nursery, Ellsberry, Missouri, USA. The RPM process involves planting seeds in February, culling, transplanting, and inoculating the plants in March; transplanting again in May; and out planting the following spring. The original RPM substrate recipe is not optimized for truffle seedling production because of its low pH values (between 5.0 and 6.0). To increase pH but maintain the substrate structure (water holding capacity and percent air space), we exchanged the ground pine bark for ground hardwood bark and exchanged sand for crushed limestone. As hardwood bark decomposes it becomes more basic so is a logical substitution for pine bark. By exchanging sand for crushed limestone, we maintain roughly the same particle size but increase the pH over time.

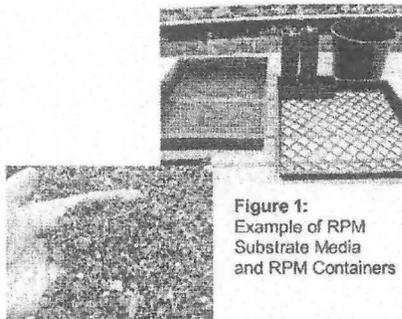


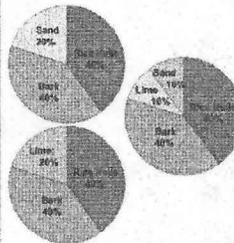
Figure 1: Example of RPM Substrate Media and RPM Containers

METHODS

A preliminary study was conducted to determine how the exchange of bark types and crushed limestone for sand would affect the pH and water holding capacity of the substrate in the absence of trees. Seven substrate mixes were prepared based on Fig. 2 below. They were watered weekly with either distilled (pH ~ 7.0) or greenhouse water (pH ~ 7.8) for 10 weeks. At the end of 10 weeks, pH, total soil porosity, aeration porosity, and water holding porosity were measured. This experiment had 5 replicates and was conducted twice. Next, *Q. bicolor* x *Q. robur* acorns were grown for 12 weeks in the same seven potting mixes. Each treatment was replicated 10 times. *Tuber aestivum* syn. *T. uncinatum* spores from Sweden were incorporated into each substrate at a rate of 1 gram per pot at the time of planting. After 12 weeks of growth in the greenhouse the trees were destructively sampled and the total soil porosity, aeration porosity, water holding porosity, and pH of the substrate in each pot were measured, and the height, root volume, and number of root tips calculated using WinRhizo Software.

Fig. 2: Composition of seven potting substrate recipes evaluated for effectiveness in growing *Q. bicolor* x *Q. robur* seedlings. Pie graphs represent the three different lime/sand treatments.

Composition of 7 different recipes by volume:
Rice Hulls: 40%
Bark: 40%
 ■ ½ treatments with hardwood bark
 ■ ½ treatments with pine bark
Sand/Lime Levels:
 0%/20%
 10%/10%
 20%/0%
Osmocote Fertilizer (14:14:14)
Recipe 7 (Control) was normal RPM substrate



PIE CHARTS: ½ of substrate recipes contained pine bark the other ½ contained hardwood bark for the bark component.

RESULTS

Experiments without Trees (unplanted substrate):

- Watering with greenhouse water instead of distilled water increased the average substrate pH by 0.1 pH units ($p < 0.05$).
- Percent Lime (0%, 10%, 20%) affected:
 - pH which increased with increasing lime ($p < 0.01$) (fig. 3a)
 - Total porosity which decreased with increasing lime ($p < 0.01$) (fig. 3b)
- Hardwood bark produced a mean pH that was 0.7 units higher than the mean pH for pine bark. ($p < 0.1$)

Figure 3a: pH vs % Lime

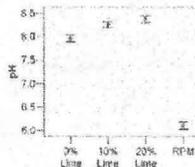
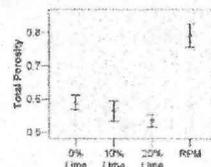


Figure 3b: Total Porosity (ratio of pore space to total volume) vs. % Lime



RESULTS continued...

Experiments with trees vs. without trees:

- The mean pH of planted substrates was 0.7 units higher than unplanted substrates ($p > 0.05$)
- Planted substrates had 32% lower mean total porosity ($p < 0.1$), 8.8% lower mean aeration porosity, and 23.5% lower mean water holding porosity than unplanted substrate ($p > 0.01$).

Experiment with trees (planted substrate):

- Use of hardwood bark resulted in mean pH values 0.4 units higher than pine bark ($p < 0.1$).
- With increasing percent lime, pH increases, root volume decreases (Fig. 4a) and height decreases (Fig. 4b).

Fig 4a)

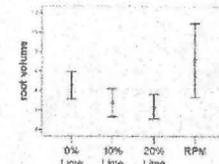
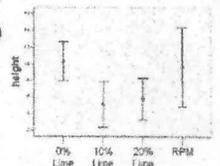


Figure 4: Planted substrate comparison of root volume (cm³) and height (cm) at the three lime levels and in the unmodified RPM mixture

Fig. 4b)



DISCUSSION

Varying the lime/sand ratios and the type of bark in these potting substrates affected pH, porosity and tree growth. Higher percentages of lime fill substrate pores, reducing porosity and consequently suppressing root and shoot growth. Additionally, the use of hardwood bark increased the substrate pH to levels above the optimum growing range for the tree species. Growth of a seedling in any substrate increased substrate pH and decreased porosity. Going forward, we will monitor changes in substrate pH and porosity over the course of seedling production to improve long-term growth. After 12 weeks of growth, some of our substrate recipes generated pH values that were in the upper pH range of what this tree species is able to tolerate, even though in the absence of trees the pH was in an acceptable range. Our trees performed best (greatest height, largest root system) in mixes with ground pine bark instead of hardwood bark and with low levels of lime. This combination appears to produce pH values and porosity values in an acceptable range for the trees. Currently, we have selected the three mixes that the trees appear most compatible with and have established one year greenhouse trials that will allow us to determine if these mixes are acceptable to the truffle fungus.

PRESENTADO EN EL IV INTERNATIONAL WORKSHOP ON EDIBLE MYCORRHIZAL MUSHROOMS, MURCIA DEL 22 AL 26 DE NOVIEMBRE DE 2005.

Lactarius deliciosus Fr. PERFORMANCE IN A PURE AND MIXED *Pinus* STAND OF *Pinus pinaster* Ait. AND *Quercus pyrenaica* Willd. IN THE SOUTHEAST OF THE PROVINCE OF SORIA (SPAIN).

Ágreda Cabo, T.¹, Fernández Toirán, M.², Martínez Peña, F.³

¹ADEMA, C/ Mayor, 45. 42211 Matamala de Almazán (Soria). E-mail: tarasa.agreda@ite.adema.es. ²Escuela Universitaria de Ingenierías Agrarias de Soria. Campus de los Pajaritos. 42003 Soria. E-mail: luzmtoiran@pys.uva.es. ³Departamento de Investigación Forestal de Valdeaznovo, Consejería de Medio Ambiente, Junta de Castilla y León. Apdo. de correos 175 Soria. E-mail: mperpefo@fyl.es

Introduction and objectives

The present study is part of the project "Micología y Calaña" led by A.D.E.M.A. (Association for the Endogenous Development of the Region of Almazán and other municipalities) and the permanent collaboration with the Department of Forest Research of Valdeaznovo, dependent on the Castilla & León Regional Government.

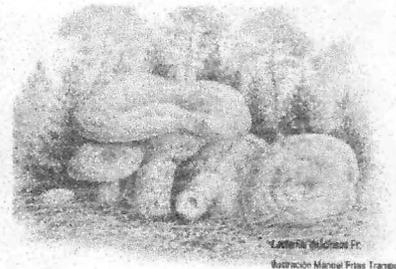
The objectives of the project are the quantification of mycological production and the description of fungal succession based on the age of the trees in a stand of *Pinus pinaster* Ait. This stand covers a surface of 11,000 ha and is the first Mexican Replantation Project in the province. The main species of *Pinus pinaster* Ait. but in vast areas this species is mixed with *Quercus pyrenaica* Willd.

The pinewood is located in the Macizo de Soria, with climate type IV (V), tempero-Mediterranean True Fresh (Añel, 1996). Most of the area is dominated by tertiary and quaternary materials derived from the River Duero. These stands are located at altitudes between 1,000 and 1,200 metres and the average rainfall is between 560 and 700 mm. Concerning vegetation and climate with the chorological terminology of Rivas (1987), the pinewood belongs to the supra-Mediterranean: Cisalpino/Suizo-León and Alcarreño sub-humid Atlantic series of *Quercus pyrenaica* or Pyrenean Oak. (Luz de Forest-Quercus *pyrenaica* agnada). Potential vegetation is *Pinus* oak forest.

The mountain was organized using a permanent section method which has been in more or less constant use for one century. The period used is 80 years and the regeneration period is 10 years. This is achieved by falling at two periods: with an initial removal of better trees and a final felling that is performed once regeneration has been guaranteed. If this cannot be achieved in a natural way, leveling and reforestation tasks are performed.

Resin, which in the past was, together with wood, the main product from the mountain is only used occasionally today. Wood is the main product. Concerning fungal species, the saffron milk-cup, *Lactarius deliciosus* Fr., is the species of greatest commercial interest. Other species such as *Hygroplitis* spp and *Tricholoma* spp. are harvested on a smaller scale.

The objectives of this study are: 1) the quantification of *Lactarius deliciosus* production, 2) the description of fungal succession among forest age-classes, 3) the comparative study between the pure and mixed zone (with preliminary analysis), and 4) the phenology of this production.



Methodology

Since in wide areas of this stand the pine is mixed with *Quercus pyrenaica* Willd. the study that initially was reduced to the pure pinewood, was extended to all the stand. As the production is quantified depending on the age of the stand, the study examined three groups of age-classes: 3-40, 41-60 and more than 61. They were established thirty three 150 m² plots to perform a random stratified survey. These fixed plots were sampled every week over three falls from 2002 to 2004.

The plots are rectangular, with a surface of 150 m² (5x30). The sample was performed on a weekly basis, collecting all the carpophores that had developed and that were in good conditions. In the laboratory, the different species were identified and the number of carpophores per species, their weight and dimensions were noted. The specimens collected were dehydrated in an oven at 30 - 40°C and conserved at the Center of Nature "Rio Tormo" (CRI-Fungi) in Matamala de Almazán and in the Department of Forest Research of Valdeaznovo (VAL-Fungi).

The estimation of the production was performed by means of two parameters: number of carpophores (NCP) and fresh weight (g/150m² or g/lga).

The influence of age on the fruitification mass (number of carpophores) of the total number of species, of mycorrhizal and edible species was studied. This was achieved using an analysis of the ANOVA variance (balanced food effects model), taking as the independent variable, the age of the stand grouped into the following levels: 1e: 0-10 years, 2e: mixture of represented and higher trees, 2: 11-40 years, 3: 41-50 and 4: >60. These intervals are used to facilitate the interpretation of results. The parametric conditions of the ANOVA method have been verified and deviations have been corrected, for which it has been necessary to use transformations such as log(y+1), (y)^{1/2} and (y+1)^{1/2}. The significance was evaluated at 90 % using the Duncan test.

Results

Lactarius deliciosus Fr. (Saffron milk-cup)

Sporocarp production presents a wide variability between different years consequent to the climatic conditions. In this way, the year 2004 *Lactarius deliciosus* didn't appear in the plots. Sporocarp yields for the falls 2002 and 2003 8.9 g/lga in the pure zone and 28.7 g/lga in the mixed zone. In early-age ecosystems the production is higher with 11.8 and 46.8 g/lga respectively. In both ecosystems the production shows the maximum number in the young forest, but it's differed more from biomass in the pure forest. This production up in the last year, typical situation in other studies. Nevertheless, in the mixed zone the production declines and the lowest production take place in the mature stand.

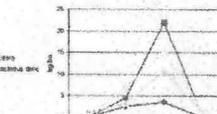
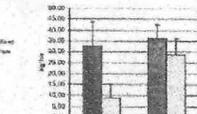
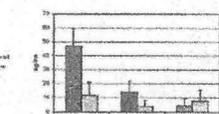
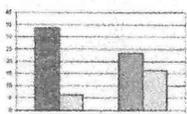
Edible species.

Apart from *Lactarius deliciosus*, in the plots has been picked other edible species. Some of them mycorrhizal as *Tricholoma terreum* (Schw.) Kuntze, different species of the genus *Hygroplitis* (*H. apothecus* (Fr.) Fr. and *H. chrysodon* (Bresch.) Fr.), different species of *Suillus* (*S. granulatus* (L.) Kuntze, *S. bellus* (Fr.) Widing, *S. almuta* (L.) S.F. Gray) and others saprotrophic as *Aporrhiza calocoma* (Vitt.) Sacc., and different species of *Macrolepiota* (*M. proreus* (Sacc.) Sing., *M. exornata* (Fr.) Wessing).

The average production of edible species is similar in both ecosystems (32.8 and 38.0 in the mixed and pure zone respectively), nevertheless in the pure zone is almost four times higher than that of *Lactarius deliciosus* and only 1.3 times higher in the mixed zone.

Phenology.

October and November are the months more productive in *L. deliciosus*. In November it's found the 82 % of the *Lactarius deliciosus* biomass in the pure zone and the 74 % in the mixed zone. The variability among the years can be noticed in the figure 4.



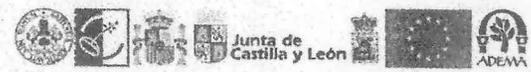
Conclusions

Production where pine and oak coexist is twice higher than that of pure zones, which suggest that tree diversity has increased *Lactarius deliciosus*. In both cases, in early-age stands this species has the greatest production and there is a remarkable upturn in older stands in the pure pine forest. So, mixed young forests are the most productive areas of saffron milk-cup.

Edible mushrooms production and edible species has not changed significantly in both forest types, exception *Aporrhiza calocoma* only present in the mixed zone but not in the study plots. At present, a lot of these species are not picked for commercial deals.

Mycological production is very changeable between different years, so in the pure zone has been found productions of *L. deliciosus* from almost 0 kg to 26 g/lga.

November has resulted to be the most productive period and specifically the first half.



DIAPOSITIVA 17

pauvila@um.es

EFFECT OF DIFFERENT CARBON SOURCES ON GROWTH OF THREE DIFFERENT LACTARIUS SPECIES.



Vila P.^{1,2}, Honrubia M.¹ and De Las Heras J.³

¹ Universidad de Murcia. Departamento de Botánica Campus Espinardo 30100 Espinardo (Murcia)

² Mycetis Biotechnology S.L. Polígono Campollano C/o nº 4 02007 Albacete

³ Universidad de Castilla la Mancha. Departamento de producción vegetal y tecnología agraria. Campus de Albacete. 02071 Albacete



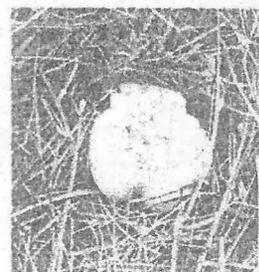
mycetis
BIOTECH

1. Introduction

Carbohydrates are needed for fungal development. In nature fungi find this carbon source by establishing symbioses with the root of trees, forming mycorrhizas. It is common that in this type of symbiosis mutual benefit between the partners is due to the exchange of plant-derived carbohydrates for amino acids and nutrients supplied by the fungus (Harley and Smith 1989; Smith and Read 1997).

Sucrose is the major transport form of photoassimilates in most higher plants but the growth of ectomycorrhizal fungi on sucrose as the only carbon source is negligible or very poor (Salzer and Hager, 1991) that sucrose is hydrolysed by a plant-derived, cell-wall-bound acid invertase (Salzer and Hager 1991; Schaeffer et al. 1995).

Previous data have focused on ectomycorrhizal development, supported by glucose and fructose, (Schaeffer et al. 1995) but no other sugars have been studied in depth in this respect.



2. Materials and methods

The effect on the biomass formation of 3 different *Lactarius* species (*L. deliciosus* (Linnaeus ex Fries) S. F. Gray, *L. sanguifluus* (Paulet) Fries and *L. semisanguifluus* Heim and Leclair) was compared after feeding with different sugars fungus-specific mannitol and trehalose, plant-specific saccharose, and non-specific sugars glucose, arabinose, and fructose. The culture medium was WB. The effect of pH was studied at three different levels (5, 5.5 and 6). Mycelium was dried in an oven (70°C, 48 hours) and weigh.

3. Results and discussions.

In general, biomass formation was higher in media containing glucose for all fungi and pH levels (fig 1). A positive effect in the use of glucose on mycorrhiza formation was also observed by Gibson and Deacon (1990), followed by mannitol that is supposed to be the more frequent sugar in *Lactarius* species (Koide et al., 2000). The fungus *L. deliciosus* resulted in a significant increase in biomass formation for all the sugars of the study (fig 2 and 4). The lower pH value (5) produced better results in biomass production for almost all treatments (fig3).

Further research is needed to decode the relation between feeding sugar and storage sugar in fungi, in order to optimise growth conditions of mycorrhizal fungi in pure culture.

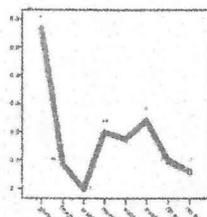


Fig 1. Biomass formation in the different sugars

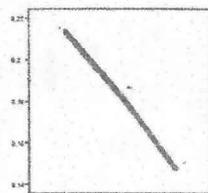
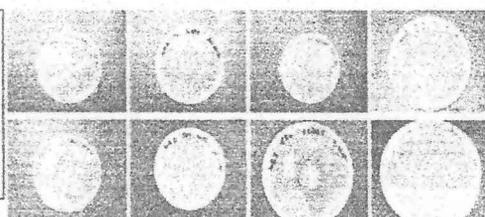


Fig 3. pH effect in biomass formation

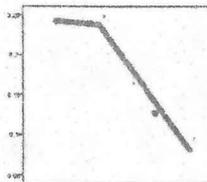
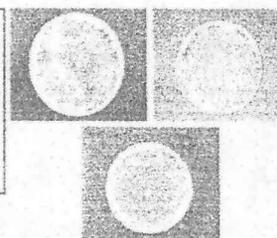


Fig 2. Biomass formation for the different *Lactarius* species

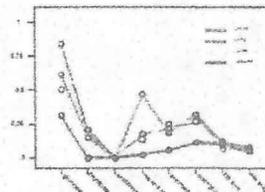
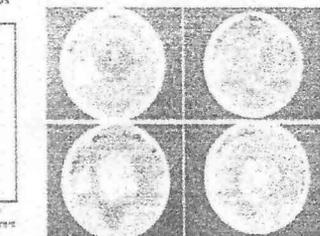


Fig 4. Biomass formation of each fungus and sugar treatment

References

- Gibson, F and Deacon, J.W. (1990). Establishment of ectomycorrhizas in sterile culture: effects of glucose, nitrogen and phosphorus in relation to succession. *Mycol. Res.* 94: 155-172.
- Harley, J.L. and Smith, S.E. (1983). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London.
- Koide, R.T., Shanley, D.L. and Gleason, C.M. (2000). Soluble carbohydrates of red pine (*Pinus resinosa*) mycorrhizas and mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.* 104: 929-940.
- Salzer, P., Hager, A. (1991). Sucrose utilization of the ectomycorrhizal fungi *amanita muscaria* and *resinicium crustuliniforme* depends on cell wall-bound invertase activity of their host. *Plant Physiol.* 95: 439-445.
- Schaeffer, C., Walther, T., Guttenberger, M., Hamid, R. (2005). Acid invertase in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of Norway spruce (*Picea abies* L.) Karst seedlings. *New Phytol.* 129: 417-429.
- Shi, L., Guttenberger, M., Kozicki, L., Hamid, R. (2002). The effect of drought on mycorrhizal of beech (*Fagus sylvatica* L.): changes in community structure and content of carbohydrates and nitrogen storage bodies of the fungi. *Mycorrhiza* 12: 333-337.
- Smith, S.E., Read, D.J. (1997). *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd edn. Academic Press.

Acknowledgements

The authors are grateful to "Servicio de cultivos celulares" from CACE, Universidad de Murcia for providing technical support.

MANAGEMENT OF EDIBLE MYCORRHIZAL MUSHROOMS AS A TOOL FOR WILDFIRE PREVENTION IN MEDITERRANEAN ECOSYSTEMS.

ORIA-DE-RUEDA, J. A.¹; OLAZOLA, J.² & MARTÍN-PINTO, P.² VAQUERIZO, H. AND PEÑALVER, F.

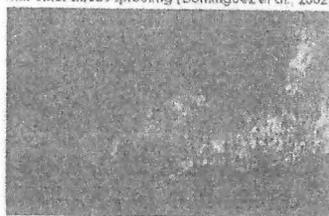
Universidad de Valladolid, E.T.S. Ingenierías Agrarias, AVI Madrid 57, 44004, Palencia, España

¹ Departamento de Ciencias Agroforestales, oria@agro.uva.es, ² Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales, jmartin@vva.uva.es, penalver@vva.uva.es



INTRODUCTION

Wildland fire is one of the major disturbance factors in Mediterranean ecosystems and most forest organisms are presumed to have evolved under a strong selection pressure from fire (Johnson, 1992; Dahlberg, 2002). High-intensity fire is common in temperate forests strongly affecting fungal and vegetal communities (Torres and Nonrubia, 1997). The studied area is one of the most disturbed by wildfires in Spain. In the studied area, *Cistus* species play an important role in the pattern of recolonization of *Pinus pinaster* stands after wildfire. These shrub species are obligate seeders and pioneers after a fire when they germinate rapidly from a persistent soil seed bank which is stimulated by a thermal increase (Ne'eman et al. 1995; Trabaud and Renaud, 1999; Calvo et al. 2003). Late summer-early autumn fires have high intensities, favouring in some cases, *Cistus* germination in comparison with other shrubs sprouting (Dominguez et al., 2002).



Forest fire in Castilla y León region.

MATERIAL AND METHODS

The analysis was carried out in two Mediterranean ecosystems dominated by *Pinus pinaster* and *Cistus ladanifer*, respectively. These two sites are located at 750-780 m above sea level in the northwest of Zamora province (NW Spain).

Twenty-four sampling plots were analysed, 12 in each location, fire and aspect were the studied factors. Consequently, four treatments (unburned-north; unburned-south; burned-north; burned-south), each replicated three times (plots) were established. Plots of 2 x 50 m were established in accordance with previous studies (Ohenaja, 1989; Dahlberg and Stenlid, 1994). In the forest burned treatment, the distribution of the plots was designed to avoid direct interactions with roots from the adjacent unburned forest as much as possible. Plots were analysed from October through December. Fungi were collected once a week in accordance with other studies (Dahlberg, 1991; Ohenaja, 1984).



Bolletus edulis (upper photograph) associated with rock rose (*Cistus ladanifer*) is very frequent together with *Bolletus aereus* in *Cistus* scrubs in Zamora and León. These shrubs grow in thin soils, often in almost rock. *Bolletus edulis* and *Bolletus aereus* are negatively affected by the shrub fires scrubs are burnt. They do not produce sporocaps during several years.

Diversity, uniformity and richness calculations and statistical analysis
Shannon's H' Diversity Index (Shannon and Weaver, 1949), based on dry weight of the fruiting bodies (Dahlberg 1991), was calculated. Species Evenness J' (Pielou, 1969) and Richness (S) (Martínez-Ruiz et al. 2001; Straatsma and Krijsta-Graiffhuber, 2003) were also analysed.

RESULTS

Mycorrhizal species were significantly affected by wildfire in *Pinus pinaster* plots, decreasing from 57% in unburned treatments to 29% in burned. On the other hand, saprophytic fungi showed a contrary trend, increasing to 71% in burned treatments. However, no differences were found in relation with aspect. Furthermore, the influence of fire and aspect on dry weight for both functional groups agrees with the trend described above. Thus, dry weight for mycorrhizal species significantly decreased from unburned plots (75%) to burned plots (54%), while dry weight percentages for saprophytic species increased from 25% to 44% in burned treatments. As in the previous case, no differences were found between aspect.

Differences between percentages of mycorrhizal fungal taxa in burned and unburned plots were also found in *Cistus ladanifer* plots (57% and 42% respectively). Similarly dissimilarities were also observed for percentages of saprophytic fungi for these two treatments. Furthermore, the number of mycorrhizal and saprophytic fungal taxa collected was affected by aspect, thus, mycorrhizal species presence was higher in the North oriented plots whereas saprophytic were more frequently collected in the South oriented plots.

Dry weight for mycorrhizal species was significantly higher than biomass for saprophytic in burned and unburned plots, and in spite of taxa results, biomass for both functional groups was affected by wildfire. In this sense, dry weight for mycorrhizal species decreased significantly from unburned plots (93%) to burned plots (81%). However, dry weight percentages for saprophytic species increased from 7% to 19% in burned treatments. Differences were also found depending on aspect and mycorrhizal species biomass was significantly increased in the North oriented plots in opposition to the observations for saprophytic fungi. Fresh weight production of edible taxa in *Pinus pinaster* plots represented 62% (272.82 kg ha⁻¹ fresh weight) of the total weight in unburned plots. The weight was significantly lower for burned treatments (5.97 kg ha⁻¹ fresh weight, 59%). The same trend was observed in *Cistus* plots where edible taxa significantly decreased from 49.6 kg ha⁻¹ fresh weight in the unburned plots to 13.6 kg ha⁻¹ fresh weight in the burned.

Regarding the aspect influence, 40.2 kg ha⁻¹ fresh weight of edible sporocaps were collected from the North *Cistus* plots, significantly higher than the fresh weight production obtained in the South *Cistus* plots.

Due to their value in local markets, specific analyses were carried out for *Hygrophorus glyocyclus*, *H. agathomus* and *Lactarius deliciosus* in *Pinus* stands. Their behaviour following wildfire was common with a significant reduction of the fresh weight productions. For the same reason, the same detailed analyses were performed for *Bolletus edulis* and *Leccinum scabrum* productions in *Cistus* dominated areas. *B. edulis* fruits were only found in unburned plots and their production were significantly higher in the North oriented plots (34.11 kg ha⁻¹ fresh weight). *L. scabrum* production was also affected by both wildfire and aspect, and fresh weight was only obtained in burned-North treatment (19.59 kg ha⁻¹ fresh weight) and in unburned-south plots (3.43 kg ha⁻¹ fresh weight).



On the left you can see sporocaps collected during a work day and prepared for the research in laboratory. On the right you can see some exemplars of *Bolletus aereus* (*B. aereus* var. *caesarius*). This is an edible mycorrhizal mushroom which associates with several *Cistus* species in Mediterranean region. In this research, we have studied its saprophytic character. In fact, it increases yields in burned *Cistus* plots. Moreover, it has been found that phytophagous communities of *Cistus ladanifer* associate with extensive ectomycorrhizal fungi, but also include a large amount of generalist fungi that also associate with *Pinus* and *Quercus*.

DISCUSSION

The richness of the fungal community associated with the *Cistus* ecosystem was higher than that observed in the *Pinus* site. In this sense, it is necessary to take into account that *Cistus* species form natural stands in the studied area whereas *Pinus* stands resulted from reforestation. This fungal community is composed of both single-host fungi (*Hebeloma cicutophilum*, *Lactarius leucomus* and *Leccinum scabrum*) and multiple-host fungi. Thus, *Cistus* species can act as a bridge for ectomycorrhizal fungi since many of these fungal species (*Amanita muscaria* and *A. pantherina*, *Bolletus edulis*, *Tricholoma equestre* and *T. tritaceum*, *Laetaria laetaria*, *Paxillus involutus* and *Xerocomus ferrugineus*) can establish symbiotic relations with a wide range of host forming mycorrhizas with this shrubs as well as with *Pinus* stands (Moreno et al., 2003; Méne, 2002).

For *P. pinaster* plots, the 39 fungal taxa collected reveal a high fungal diversity, since in single-species pine stands of approximately 0.1 ha, 15 to 35 species of fungi are typically reported (Bruns et al., 2002). Our results indicate adverse effects of fire on the number of fungal species which produce sporocaps in accordance with a previous study of *Pinus pinaster* stand in Spain where similar ecological conditions were observed. Those results also pointed towards a decrease of fruits presence in burned plots (Fernandez 2000). For *C. ladanifer* plots, fungal taxa were also affected by wildfire, as was previously observed by other authors in other studied host species (Torres and Nonrubia, 1997; Baar et al., 1999; Dahlberg et al. 2001).

DIPOSITIVA 19

EFFECT OF TRUFFLE SYLVICULTURE TREATMENTS ON THE MYCORRHIZATION AND TREE REGENERATION OF A MIXED FOREST WITH SPONTANEOUS BLACK TRUFFLES



Santiago Reyna, Sergi Garcia Barreda

Fundación Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo (CEAM). C/ Charles Darwin 14. Parque Tecnológico. 46980 Paterna, Valencia, Spain: santiago@ceam.es

INTRODUCTION

The production of Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vitt) follows the pattern of open *Quercus* forests and shrublands that receive direct sunlight on their floor.

Spontaneous black truffle production has suffered a generalized decline due largely to crown closure of forests and over-harvesting of sporocarps.

A TRUFFLE SYLVICULTURE model was designed by Foundation CEAM to combat this situation. From 1998 to 2001, a pilot project was carried out in a forest with spontaneous black truffles, in which truffle-producing areas ran the immediate risk of disappearing.



In 2001, the monitoring of truffle production, mycorrhization and tree regeneration was begun in some of the treated truffières, in order to evaluate the effectiveness of the truffle sylviculture treatments.

MATERIALS AND METHODS



Experimental site
Eastern Spain (Iberian mountain range)
Height: 1000-1100 m a.s.l.
Mediterranean climate
Colluvial calcicole soils
Dense pine (*Pinus nigra* Arnold) - holm oak (*Quercus ilex* L. *ballota* Samp) mixed forest

Truffle sylviculture treatments

A circular clearcut was opened around each truffière, in which:

- All pines were cut down
- *Quercus* were cleared and pruned
- Shrubs were selectively removed (*Quercus* shrubs were respected)
- The resulting debris were splintered far from the brûlé
- The resulting clearcut was subsoiled in a star-shaped pattern



Monitoring of truffle sporocarp production

It was estimated through the number of digs (holes dug to extract truffles; in previous years, a mean weight of 47 g of truffles was extracted per dig).

Monitoring of mycorrhization

- in representative points:
- Brûlé (where truffle sporocarps appear)
 - Base of the trunk of the truffle tree
 - Holm oak young regeneration in the clearcut, outside the brûlé (non truffle-producing tree)
 - Holm oak living in control pine forest stands (non truffle-producing tree)

Monitoring of tree regeneration

Composition and structure of vegetation is likely to affect the ectomycorrhizas (ECM) community that will establish in the clearcut.

RESULTS AFTER 5 YEARS OF MONITORING

Production of truffle sporocarps

- Production of truffle sporocarps varies pronouncedly according to meteorological conditions. Thus, when looking at truffle production of the treated truffières, yearly meteorological suitability must be taken into account. Regional truffle production is used as an indicator of yearly meteorological suitability for truffle production (Fig. 1).
- Within a term of five years (truffle campaign 2004/05), the treated truffières have doubled their truffle production with respect to a campaign with the same meteorological conditions before the truffle sylviculture was applied (1997/98).
- The raising of truffle production is not immediate: it is appreciated from the third year, matching a campaign with favourable meteorological conditions (2002/03).

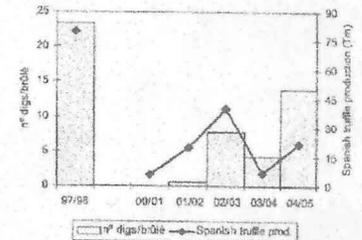


Fig. 1 Response of truffle sporocarp production (solid bars) to the treatments (2000, 2001) and yearly climatic regional suitability for truffle production (Spanish truffle production, black line)

Mycorrhization

- Only in the brûlé do *T. melanosporum* percent mycorrhization reach significant levels.
- *T. melanosporum* ECM show a positive trend in the brûlés, which is statistically non significant because of the enormous variability (Fig. 2).
- Outside the brûlé (in the base of the trunk of the truffle tree, in non truffle-producing trees in the clearcut and the pine forest) the ECM community is very different: total ECM density is higher, percentage of roots colonized by fungi is higher, *Cenococcium geophilum* Fr is predominant, richness of ECM fungi is lower and diversity of ECM fungi is lower.

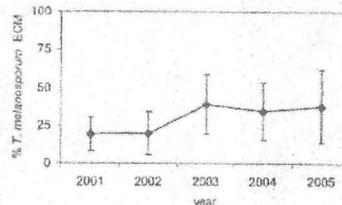


Fig. 2 Response of *T. melanosporum* percent mycorrhization in the brûlé

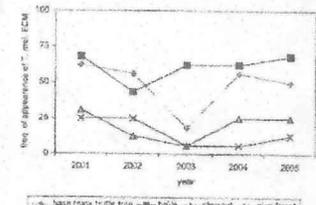


Fig. 3 Frequency of appearance of *T. melanosporum* ECM after the treatments

Tree regeneration

- Clearcut logging favours *Quercus* regeneration, which had already shown an abundant dormant regeneration prior to treatments. In the short term, *Pinus nigra* regeneration finds it difficult to establish itself in the clearcuts (Fig. 4). A change in the future tree dominant species of the forest is taking place. *Quercus* species are much more suitable plant symbionts for truffle production than pines.
- The structure of the vegetation in the clearcuts is very open, and thus favourable for truffle production. However, the high density of *Quercus* regeneration and its active growing (Fig. 5) make it probable that the forest will close in a few years. It would be recommendable to plan the clearing and pruning of *Quercus*.

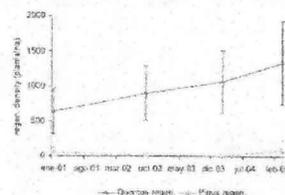


Fig. 4 Response of tree regeneration density to truffle sylviculture

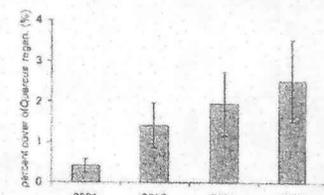


Fig. 5 Response of tree regeneration percent soil cover to truffle sylviculture

IMPLICATIONS ON MANAGEMENT

- *T. melanosporum* shows a positive response, especially through sporocarp production.
- Response of *T. melanosporum* has not been immediate (around 3 years are required).
- Composition and structure of vegetation are suitable for truffle production, but new sylvicultural treatments will probably be necessary to keep a dehesa-like structure.

COMPARISON BETWEEN THE VARIABILITY OF THE ITS AND IGS REGIONS IN *TUBER BORCHII*

Enrico Bonuso, Mirco Iotti, Alessandra Zambonelli

ebonuso@agrsci.unibo.it, miele99@agrsci.unibo.it, zambonell@agrsci.unibo.it

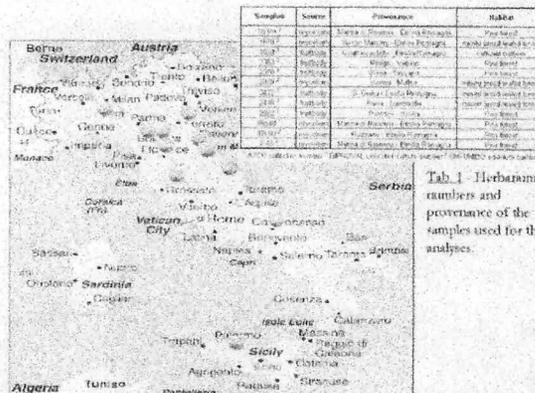
Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, Via Fanin 46, 40127, Bologna, Italy.

Truffles are ectomycorrhizal ascomycetes belonging to the genus *Tuber* many of which have edible ascoma of great economic value. The most valuable species are *Tuber magnatum* Pico and *Tuber melanosporum* Vittad. and less extensively *Tuber borchii* Vittad. and *Tuber aestivum* Vittad. *Tuber borchii* (Fig. 1) is an excellent truffle with a significant local market in the northeast of Italy. This truffle has high ecological adaptability and low host specificity, forming ectomycorrhizas with broad leaf trees and coniferous species in different natural habitats [1]. Despite the great use of this truffle in scientific experiments, knowledge on its genetic variability is scarce.

The aim of this study was to analyse the genetic variability of the internal transcribed spacer (ITS) and the intergenic spacer (IGS) of the nuclear ribosomal DNA using the Single Nucleotide Polymorphism (SNP) approach.

The IGS is commonly considered the most variable part of the rDNA unit, both in sequence and in length, and it is known to display differences at the intraspecific and intraindividual levels [2]. Ascomas of *T. borchii* were collected in several natural truffieres located in different regions of Italy (Fig. 2, Tab. 1). The primer pairs ITS1-ITS4 [3] and primers CNL12 and NS1rev [4] were used to amplify the ITS1-5.8S-ITS2 region and IGS regions of the nuclear rDNA respectively.

PCRs were conducted without previous DNA extraction and were carried out directly from the pure cultured mycelia or fruit bodies with addition of bovine serum albumin (BSA) to the reaction mixture, according to Iotti *et al.* [5].



Tab. 1. Herbarium numbers and provenance of the samples used for the analyses.

Fig. 2 - Map of Italy and sample origins.



Fig. 1 - *Tuber borchii* truffle body

The amplified products were first purified and then sequenced using both the primers ITS1 and ITS4 for ITS region and IGS4 and IGS3 rev for IGS region.

Comparing ITS regions of all strains analysed we noted that there is no significant variability. On the contrary, IGS sequences have a higher number of polymorphisms (Fig. 3) and the most variable region was from the repeat family named Bb, by Ciarmela *et al.* [6], up to the end. Furthermore from the present sequence analysis it would appear that polymorphisms in size are not present in the IGS region.



Fig. 3 - Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) found in IGS sequences analysed

The amplicons obtained validated the absence of the 5 S region in rDNA in all strains analysed and confirmed the 3.5 kb size of the *Tuber borchii* IGS region as studied by Ciarmela *et al.* [7].

References

- Zambonelli A., Iotti M., Giomaro G., Hall L., Stocchi V. (2002). *T. borchii* cultivation: an interesting perspective. In: Hall L., Wang Y., Daniell R., Zambonelli A. (eds) Edible Mycorrhizal Mushrooms and their Cultivation, Proceedings of the Second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms, New Zealand Institute for Crop & Food Research, CD ROM
- Selosse M. A., Costa G., Di Battista C., Le Tacon F., Martin F. (1996). Segregation and recombination of ribosomal haplotypes in the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* monitored by PCR and heteroduplex analysis. *Curr. Genet.* 30, 332-337.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocol: a guide to methods and applications (Irwin M.A., Gelbard D.H., Sninsky J.J. & White T.J. eds.), S. Diego, Academic Press, pp. 315-322.
- Martin F., Selosse M. A., Le Tacon F. (1999). The nuclear rDNA intergenic spacer of the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* structural analysis and allelic polymorphism. *Microbiology* 145, 1695-1611.
- Iotti M., Zambonelli A. (in press). A quick and precise technique for identifying ectomycorrhizas by PCR. *Micol. Res.*
- Ciarmela P., Potenza I., Zeppa S., Cucchiari L., Stocchi V. (2002). Structural Analysis of the rDNA Intergenic Spacer of *Tuber borchii*. *J. Biom. Struct. Dyn.* 19, 701-708.
- Ciarmela P., Potenza I., Cucchiari L., Zeppa S., Stocchi V. (2002). PCR amplification and polymorphism analysis of the intergenic spacer region of ribosomal DNA in *Tuber borchii*. *Microbiol. Res.* 157, 69-74.



BASES FOR ECONOMIC VALUATION OF MUSHROOM PRODUCTIONS IN FOREST ECOSYSTEMS

ÁLVAREZ-NIETO, M.A.¹; ORIA DE RUEDA, J. A.²

Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de Palencia. Universidad de Valladolid. Avda. Madrid, 57. 34004 Palencia. España

(1) Departamento de Ingeniería Agrícola y Forestal. Área de Economía, Sociología y Política Agraria.
(2) Departamento de Ciencias Agroforestales. Área de Botánica.

INTRODUCTION

Valuation is a method to determine individual or collective utility obtained with certain good or services. To express this value in monetary units is not necessary. In fact, utility obtained for a person can be measured in time, effort, money, etc. that the person spends for obtaining that good or service. Monetary units permit simpler comparisons, so it is often used. Anyway, value can also be expressed in relative form analyzing the preferences hierarchy between a group of goods and/or services.

Thus it is important to clarify definitions between two economic concepts: price and value. Value is a human perception and it is related to utility that a good provides to a person in a particular time and situation. It can be expressed or not in monetary units. Price is always expressed in monetary units and it refers to the amount of money necessary for buying/selling the good or service in a market. All goods and services have value, but not all of them have price, only goods or services with a market have price determined for supply-demand equilibrium. Traditionally, forest valuation had only paid attention to productions with price, particularly, wooden products. Now, society prefers forests as complex systems that provide many goods and services, most of them without price. For this reason, these production environmental valuation techniques have been developed.

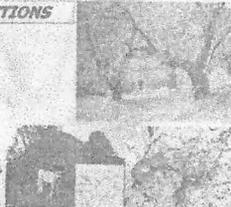
ECONOMIC CLASSIFICATION OF FOREST PRODUCTIONS

Forest systems ↔ complex multifunctional ecological systems ↔ environmental, social and economic productions

FOREST PRODUCTIONS

PUBLIC GOODS: biodiversity, soil and water protection, CO₂ fixation, landscape, recreational value, etc.

PRIVATE GOODS (they have markets): wood, resins, pastures, fruits, mushrooms, etc.



MUSHROOMS: They are in both groups

Species which don't have a market. They provide mainly environmental and social functions.

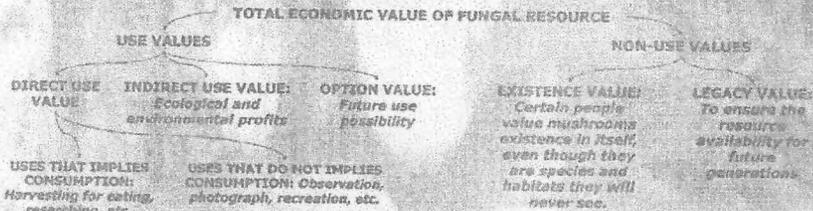


Species which have markets, and therefore prices. Nevertheless, they can be also considered in first group.



CONSTITUENTS IN MUSHROOM VALUATION

$$\text{TOTAL ECONOMIC VALUE} = \text{USE VALUE} + \text{NON-USE VALUE}$$



TECHNIQUES: APPLICATION TO FUNGAL RESOURCE

FOREST SYSTEMS

PRIVATE GOODS: PRODUCTIONS WITH MARKET PRICE
Valuation techniques for these goods are based on price and they only determine use values. They are two main methods:

- **Stipendium method** (based on comparison with similar goods)
- **Analytic method** (based on adding future profits)

In forest systems and systems with relative mushroom production, market price is not available. Valuation in this case this method provides the value of a forest system. It can be considered a particular product of an amount of mushrooms, or the product that will be sold in markets, generating income in harvest. This method is based on adding future annual potential income (R) to the initial investment (I) expressed as percentage of annualized yield.

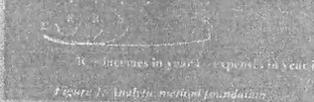


Figure 1. Analytic method foundation.

When applying this method to fungal resources three main cases can be marked out:

First case: annual constant and constant revenue:

Level value (V) is obtained using the expression: $V = \frac{R}{r}$

where R: annual constant revenue, supposed constant and periodic and r: positive interest rate selected by analyst for defining future amounts of money to year 0.

Second case: production cycles (seasonal):

Level value (V) is obtained using the expression:

$$V = \frac{R}{r(1+r)^T} + \frac{R}{r(1+r)^{2T}} + \dots + \frac{R}{r(1+r)^{(n-1)T}}$$

where R: annual constant revenue, supposed constant and periodic and r: positive interest rate selected by analyst for defining future amounts of money to year 0.

Third case: production cycles (seasonal) and year in production beginning (0 years to 1 pine forest):

Level value (V) is obtained using the expression below, where RT stands for the amount of revenues obtained during cutting period.

$$V = \frac{RT}{r(1+r)^T} + \frac{RT}{r(1+r)^{2T}} + \dots + \frac{RT}{r(1+r)^{(n-1)T}}$$

Application example: Diaz Balleiro et al., 2001.

PUBLIC GOODS: PRODUCTIONS WITHOUT MARKET PRICE

Valuation techniques for these goods are based on consumer's surplus. They can be organized in two groups:

• **Direct or stated preference methods.** Modalities of contingent valuation method (CVM) are included here. These methods are able to determine both use and non-use values.

• **Indirect or revealed preference methods.** This group includes travel cost method (TCM), hedonic pricing technique, production function method, damage cost avoided, etc. These determine only use values.

Not the whole fungal resource can be sold. Some harvesters eat mushrooms themselves and they also enjoy looking for fungi and harvesting them. Even more, other mushrooms aren't harvested but observed, dried or photographed. These are new components of value that do not imply consumption. Apart from based on sale price methods (see above) that implies consumption, market valuation techniques are necessary for determining these new direct use values related to recreation, research, enjoyment, education or gastronomy. In this sense, TCM is the most applied. These method allow to estimate three components of mushrooms value showing the amount of money people spend looking for mushrooms in terms of time, meals, lodging, etc.

A new component of value must be considered: indirect use value. Actually, mushrooms provide lots of environmental benefits. For example, mycorrhizal fungi contribute to better development of vegetation and saprophytic fungi contribute to improve soil quality. These functions generate indirect use value. There aren't studies in which these values are measured, the same methods which could be applied to production function method and damage cost avoided.

However, fungal value is still most complex because of its non-use value. How can be determined the value? More than, how can be determined use and non-use values apart from sale in a market and as a whole? Most of people in this valuation method value positive fungi existence in itself. This is an important component of fungal value that can't be determined with previously described methods. It is necessary to use indirect CVM (there are current several variations for use indirect CVM for mushroom decision making paradigm).

Application examples: Martínez de Azagón (2008) uses TCM and CVM for estimating recreational value of mushrooms in a region of Catalonia (Spain); Martínez-Pana (2005) uses TCM in the same sense in Sorla (Spain).

CONCLUSIONS

- It is possible to value fungal productions in forest in a correct economic sense using methods based on traditional forest valuation and environmental valuation.
- When valuing forests, only wooden productions are usually taken into account. Suitable and contrasted methods for valuing mushrooms will allow a better approximation to forest total economic value than one obtained considering only wooden products.
- Valuation of fungal resource will provide economic and quantifiable value to marginal forest lands and to forest which provide very few valued wooden products.
- Valuation of different forest productions can be used in forest management to identify society preferences.
- To progress in mushrooms production valuation investigation is essential in several aspects:
 - Estimation of production and cycles in production ("cyclical")
 - Study of prices for sale and expenses in harvesting
 - To utilize new values
 - To study social preferences for consumption

BIBLIOGRAFIA

• Álvarez, A., Díaz Balleiro, L. y Oca de Rueda, J.A. 2001. Valoración de la producción económica de macromicetos. Aplicación al caso de la Carballeda (Zamora). Actas del III Congreso Forestal Español. Páginas 775-780.

• Díaz Balleiro et al. 2003. Integración de la producción fúngica en la gestión forestal. Aplicación al monte "Licudo" (Zamora). Revista de Investigación Agraria, Silvicultura y Recursos Forestales, nº 12 (1), 5-19.

• Martínez de Azagón, J. 2008. Producción de hongos comestibles de bosques ectomicorrízicos y valoración socioeconómica. Tesis Doctoral. Universidad de Lleida.

• Martínez-Pana, J. 2005. Producción y aprovechamiento de setas de seta. PhD. Ph.D. en Ciencias de Forestal. Universidad de León.

• Oca de Rueda, J.A., Díaz Balleiro, L. y Martínez-Pana, J. 2006. Valoración de la producción económica de macromicetos en un monte de castaños (Zamora). Actas del III Congreso Forestal Español. Páginas 775-780.



FUNGAL SELVICULTURE: FOREST MANAGEMENT TO PRODUCE WILD EDIBLE MUSHROOMS.

ORIA DE RUEDA, J. A.; DE LA PARRA, B.; OLAIZOLA, J.; MARTÍNEZ DE AZÁGRA, A. & ALVAREZ, A.

Universidad de Valladolid, E.T.S. Ingenierías Agrarias, Avenida del Madrid 57, 47004. Palencia, España
(1) Departamento de Ciencias Agroforestales.

FUNGAL SELVICULTURE

Fungal Selviculture includes the whole of techniques and skills in order to preserve and promote wild edible mushrooms (MARTÍNEZ DE AZÁGRA & ORIA DE RUEDA, 1996). This science comes up worried by the preservation and promotion of fungal riches in forest systems. It proposes technical skills or methods for achieving sustainable management of wild edible mushrooms. Currently, forest edible mushrooms are greatly demanded in both national and international markets. In this situation, it is essential to develop Fungal Selviculture in order to avoid depletion or breakdown of this resource, which is feasible if harvesting is not technically controlled. In fact, edible mushroom production is decreasing at an alarming rate in some very industrialized countries.

LOW-VALUED FORESTS WITH VALUED FUNGAL POTENTIAL



Picture 1. Detail of a young oak wood (*Quercus pyrenaica*). This is one kind of valued edible mushroom producer forests. In these woods are produced *Cantharellus cibarius*, *Boletus aereus*, *Boletus aestivalis* and *Amanita caesarea*.

A) *Calcareous subhumid plateau with no trees or very few trees*. In these areas valued species like *Tricholoma gaeumii*, *Tricholoma gonzalespernum*, *Rhodesyia trimecki*, etc. can be produced.

Next kinds of low-valued forest but mushroom producers can be distinguished:

- a) Pine woods of low qualities in marginal and very poor soils, mainly acid soils. These woods are producers of *Boletus edulis* and *Boletus pinophilus* (in areas with annual rainfall over 600 mm). They produce also *Lactarius deliciosus*, *L. sanguiifluus*, *L. vinosus*, *Tricholoma terreum*, *T. equestre*, *Hydnum repandum*, *Sarcodon imbricatum*, etc.
- b) Xerophytic pine woods of low qualities in basic soils. They are producers of *Hygrophorus delicosus*, *Lactarius sanguiifluus*, *Suillus bellinus*, *Cantharellus lutescens*, etc.
- c) Deciduous forests (*Quercus pyrenaica*, *Quercus ilex* and *Q. faginea*) in acid soils. They can produce *Boletus aereus*, *Amanita caesarea*, *Amanita ponderosa*, *Cantharellus cibarius*, *Hydnum repandum*, *Hydnum rufescens*, *Cantharellus lutescens*, etc.
- d) Woods of *Castanea sativa*. They are producer of *Boletus* genus (*B. pinicola*, *B. aereus* & *B. edulis*) and also of *Cantharellus cibarius*, *Amanita caesarea*, *Russula cyanoxantha*, etc.
- e) Oak woods in basic soils. Woods with *Quercus ilex*, *Quercus robur*, *Quercus coccifera*, *Quercus cerridis* and *Q. humilis* are producers of *Tuber melanosporum* and *Tuber magnatum*, and also of *Boletus lepidus*, *Hygrophorus rosacea*, etc.

Fungal Selviculture and Fungal Management are essential tools to achieve sustainable management in low-valued forests. Most of these forests were valued in the past but now they have been neglected or they are close to be. This is the case of numerous woodlands in Mediterranean region (Spain, Portugal, Provence, Corsica, Italy, Greece, Albania, etc.) and sub-tropical region (Siberia, western and eastern Europe, etc.) and also in other parts of the world (Malaysia, Guatemala, China, Pakistan, Ethiopia, Mozambique, Tanzania, etc.).

It is also important to apply these skills in post-fire forest plantations located in very poor soils, many times rich in stone. They are usually neglected or left for wooden furniture or animal charcoal uses. Many marginal lands in numerous countries could be considered to produce highly priced wild mushrooms in the future. In this sense, fungi could be harvested for tourism purposes, food or recreation (Chenopodium).

Some of the forests can produce large amount of wild mushrooms without reduce or affect other resources used, like wood, cereals, fruits, hunting, etc. This is the case of numerous pine woods, oak, scrub oak woods, cork oak woods, green oak woods, chestnut woods, fresh woods, etc. This harvesting can be made in special habitats with special interest based on the type of its flora, and also in protected areas. Obviously, in these cases, appropriate harvesting and forest management and regulation rules.

It is possible to classify woodlands with similar approaches to trees. According to sun light preferences, there are full light species, shade tolerant species and intermediate. Similarly, we can distinguish between xerophilic (open and cold) and mesophilic (open and cold) and according to climate, there are several groups of species: thermophilic, xerophilic, etc. For example, in humid conditions proliferate in open lands and to promote them fungal Selviculture purposes, specific treatments in forest structure would be required to produce woodlands ARE FACTS, where population expansion of fungi grows. In fact, these woods produce *Urechis helva*, *Urechis helva* and *Urechis helva* with high yields after forest fire. Appropriate management of forest remains burning can provide conditions to deliberate and uncontrolled fires caused by hunters.

Low-valued forests can be defined as forests with low production according to wooden resources caused by low price of wood, slow growing up and also caused by forest structure degradation, low soil fertility, etc. Most of them are woodlands where non-productive timber recently have been harvested, sometimes mixed with cattle. We can consider as low-valued forests certain highland landscapes with forest which have been typical in several regions. These landscapes are being neglected in the present for a while. Fungal Selviculture or other kind of activities where fungi are abundant can be also considered as low-valued forests. In these forests, established in forest management alternative procedures like treatments, soil protection, grazing or cattle. Many low-valued forests have high fungal yields and these production can be the key for new profitable management which could be based on Fungal Selviculture.



Picture 2. There are fungi with superabundance in dry places, extremely valued because they are grown in dry woodlands. This is the case of *Cantharellus cibarius* showed in picture above. This species can grow in green oak woods with only 400 mm annual rainfall and some times only 250 mm annual rainfall.

Picture 2. *Boletus aereus* yields plentiful yields in Mediterranean *Quercus* woods in acidic soils. There have been detected many morphological types in this species. Some of them have large thickness, homogeneous appearance and weight, like those in the picture. But others have different textures and shapes.

MAPA MICOLÓGICO POTENCIAL DE CASTILLA Y LEÓN



Legenda del mapa micológico potencial en zonas de *Quercus pyrenaica*
 Zona de *Quercus pyrenaica*
 Productores de *Boletus aereus*, *Boletus edulis* y *Cantharellus cibarius*
 Productores de *Urechis helva*, *Urechis helva* y *Urechis helva*
 Productores de *Urechis helva*

MAPA MICOLÓGICO POTENCIAL DE CASTILLA Y LEÓN



Legenda del mapa micológico potencial en zonas de *Urechis helva*
 Zona de *Urechis helva*
 Productores de *Urechis helva*, *Urechis helva* y *Urechis helva*
 Productores de *Urechis helva*

DIPOSITIVA 23

COMPARISON OF THE MYCORRHIZATION IN THREE YOUNG TRUFFLE ORCHARDS OF DIFFERENT AGES IN EL TORO



Diana Lopes, Geraldine Goergen, Sergi Garcia Barreda, Santiago Reyna

Fundación CEAM. C/ Charles Darwin, 14. Parque Tecnológico. 46980 Paterna, Valencia, Spain. santiago@ceam.es

INTRODUCTION

Cultivation of Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vitt) is increasingly interesting since this fungus reaches high prices and spontaneous production is drastically decreasing.

The cultivation of black truffle began in France more than 100 years ago, but in Spain the oldest known plantation dates to 1968.

Edafoclimatic and socioeconomic conditions in typical Spanish truffle plantations:

- Mountainous zones at altitudes between 800 and 1200 m a.s.l. and dry continental mediterranean climate regime. The climate is very irregular, both annually and interannually. The agricultural potential is very limited.
- Plots are small, hard to mechanise and without easy access to water.
- Soils are very stony, with scarce organic matter and low land use capability. The previous land use was agricultural (cereal, almond trees, etc.).
- Rural areas without profitable development alternatives, suffering from depopulation and aging.

Main characteristics of Spanish truffle plantations:

- Inoculated plants are produced by the truffle cultivator or by small-sized nearby nurseries
- Holm oak (*Quercus ilex* L. *ballota* Samp) is the overwhelmingly dominant symbiont tree used
- One-year cereal cultivation is carried on prior to plantation
- Soil preparation: single mouldboard plough and shallow plough
- Wide planting references: 6x6 m, 7x7 m
- During the first summers, some irrigation is performed to facilitate establishment (only when the summer is very dry)
- Spring shallow plough is performed until truffle production begins
- Pruning is carried out to raise the tree crown and favour ground insolation

Most Spanish truffle orchards are still too young to produce truffles. This causes misgivings with respect to the criteria for cultural interventions and to take on new plantations.

During this pre-productive phase, assessment of the mycorrhization is useful as an indicator of orchard evolution and early identification of problems.



OBJECTIVE

Characterising the development of plant and fungal symbionts in the pre-productive phase of Spanish typical truffle plantations.

MATERIALS AND METHODS

Experimental site

Eastern Spain (Iberian mountain range)

Height: 1000-1050 m a.s.l.

Mediterranean climate

Colluvial calcicole soils

Previous land use: cereal crops, walnut trees plantation

Experimental design

Three truffle orchards of 4, 6 and 8 years of age with homogeneous climate regime, soil and cultural practices (typical unirrigated Spanish truffle plantations) were selected. All of them had used inoculated plants from the same commercial nursery (holm oak of 2 years of age, 4500-6000 *T. melanosporum* ECM per plant, percentage root apices colonized by *T. melanosporum*: 30-50%, fungal contaminants: less than 20%).

Plant growth was measured on around 30 trees per orchard. Ectomycorrhizas (ECM) were sampled on 12 trees per orchard.

RESULTS

Plant growth

- Holm oak shows an active growth thanks to the cultural practices applied (Fig. 1).
- The brúiles appear around the fifth year (Fig. 2)

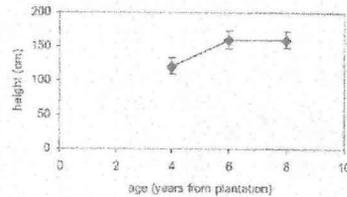


Fig. 1 Effect of age on cultivated holm oaks mean height

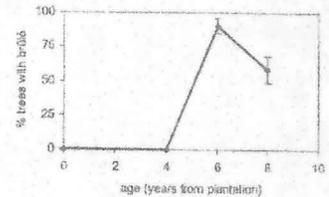


Fig. 2 Effect of age on the formation of the brúiles (percentage of plants with brúile)

Evolution of *T. melanosporum* ECM

- All the analysed trees maintain *T. melanosporum* ECM, but in addition 78% of them incorporate other soil-borne ECM.
- None of the analysed trees maintain ECM of the nursery contaminant *Sphaerospora brunnea* Svrcek et Kubicka.
- *T. melanosporum* accounts for 75-95% of the ECM. No significant differences caused by age (among 4, 6 and 8 years of age) have been found (Fig. 3).
- The following factors appear to significantly affect *T. melanosporum* percent mycorrhization:
 - Intensity of the brúile (intensity of the biocidal effects of truffle): an intense brúile implies higher *T. melanosporum* percent mycorrhization (Fig. 4).
 - Height growth in the last year (elongation of the apical ramet): trees of reduced growth in the last year show higher *T. melanosporum* percent mycorrhization.
 - Ectomycorrhizal competition (richness of soil-borne ECM): higher richness of soil-borne ECM implies lower *T. melanosporum* percent mycorrhization.

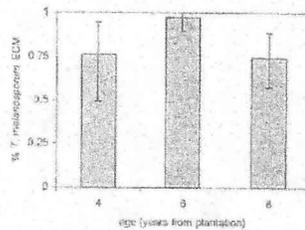


Fig. 3 Effect of age on relative abundance of *T. melanosporum* ECM (with respect to total number of ECM)

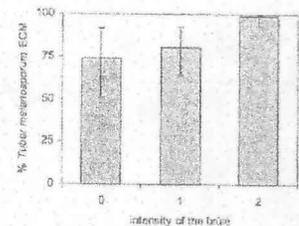


Fig. 4 Effect of the intensity of the brúile (0: not present, 1: brúile of low intensity, 2: intense brúile) on relative abundance of *T. melanosporum* ECM.

- Richness of soil-borne ECM depends on:

◦ Age: older plantations show higher richness of soil-borne ECM

◦ Presence of *Quercus* trees beside the plot and proximity to forests

- The most commonly found soil-borne ECM are: *Tuber brumale* Vitt, type *Scleroderma*, type AD, *Cenococcum geophilum* Fr and type *Pisolithus*.

CONCLUSIONS

The predominant cultural practices in unirrigated Spanish truffle plantations, besides the use of quality inoculated plants, succeed in maintaining *T. melanosporum* ECM during the pre-productive phase.

Under these conditions, ectomycorrhizal competition of soil-borne fungi seems the most important factor responsible for the reduction in *T. melanosporum* percent mycorrhization. *Quercus* trees beside the plot help soil-borne fungi to contaminate the inoculated plants.

RAPID IDENTIFICATION BY MOLECULAR TOOLS OF THE MOST COMMON SPECIES OF THE *TERFEZIA* GENUS IN THE IBERIAN PENINSULA



Gutiérrez A.¹, Galián J.², Morte A.¹ and Honrubia M.¹

¹ Department of Plant Biology, University of Murcia, Campus de Espinardo 30100, Murcia, Spain

² Department of Animal Biology, University of Murcia, Campus de Espinardo 30100, Murcia, Spain



Introduction



Terfezia clavervii sporophores



Terfezia obiensis sporophores

Desert truffles included in the genus *Terfezia* (Ascomycetes) mainly constitute one of the main edible fungi in semi-arid areas of the Mediterranean Region. Basically *Terfezia boudieri*, *T. clavervii* and *T. obiensis* grow in basic soils and *T. arenaria* and *T. leptodermis* in acid ones. *T. clavervii* and *T. obiensis* are confused commonly because they are collected when spores are immature. A rapid method for identifying these two species is required.

Materials and Methods

Fungal isolates

They were used from different biological origins: fresh mycelium, fresh and dried sporophores.

DNA extraction

It was made with E.Z.N.A. Fungal RNB (Omega)

PCR Amplification

PCR was performed in 25µl, using Ready To Go RTI PCR Beads (Amersham Pharmacia Biotech) with 0.5-10 µg of DNA and 0.05 µM of each primer (1:2.1 and 1:2.4, White et al., 1995).

Sequencing analyses

PCR products of the ITS region were sequenced directly by the dideoxy chain terminator method using the Big Dye 3.1 Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit with AmpliTaq DNA Polymerase FS in an ABI PRISM 317 DNA sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA).

A search of restriction sites in the ITS region that differentiate both species was performed using Webcutter. From all the possible enzymes that cut the fragment differently in all populations of both species, we chose *Xba*I, *Msp*I and *Hae*III.

Restrictions reactions

Five µl aliquots of the resulting PCR products were digested with 10 µl of each enzyme (*Xba*I, *Msp*I and *Hae*III) overnight.



Results and Discussion

The amplified ITS showed an interspecific size polymorphism. Its size was 580 bp for all the species.



Amplification of ITS region. Lane 1: *Terfezia obiensis* (AF387647), lane 2: *Terfezia clavervii* (AF387657), lane 3: *Terfezia obiensis*.

The sequencing of the ITS region allowed us to look for restriction enzymes that differentially cut the fragment in each species.



PCR amplified ITS region digested with *Xba*I, *Msp*I and *Hae*III. Lane 1: *Terfezia clavervii* (AF387657), lane 2: *Terfezia obiensis* (AF387647).



PCR amplified ITS region digested with *Xba*I, *Msp*I and *Hae*III. Lane 1: *Terfezia obiensis* (AF387647), lane 2: *Terfezia clavervii* (AF387657).



PCR amplified ITS region digested with *Xba*I, *Msp*I and *Hae*III. Lane 1: *Terfezia clavervii* (AF387657), lane 2: *Terfezia obiensis* (AF387647).

This technique was used to identify different species of genera *Tuber* (Harrison et al., 1994; Mabeu et al., 2001). Some of these sequences were deposited in Genbank. The accession number of these sequences are:

- AF387647, AF387647, AF387648 and AF387645 for *T. clavervii*
- AF387657, AF387658 and AF387655 for *T. obiensis*

Conclusion

PCR amplification of the ITS region and subsequent restriction analysis by the enzymes *Xba*I, *Msp*I and *Hae*III allows us additional corroborative data for proper identification of these two species, by performing the restriction with *Xba*I, *Msp*I and *Hae*III, and strongly corroborating patterns easily visualized in agarose gels.

Acknowledgements

Thanks to the support by the FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional).

References

Harrison, P., Gams, W., Schuster, R. and Krieger, H. (1994) Molecular biology of the truffles. In: The truffles. Ed. by G. G. Gams, pp. 1-10. Springer-Verlag, Berlin.

Mabeu, J., Gams, W., Gams, P., Gams, J., Gams, C., Gams, H. and Gams, W. (2001) Molecular biology of the truffles. In: The truffles. Ed. by G. G. Gams, pp. 1-10. Springer-Verlag, Berlin.

White, R. G., Black, G. S. and Gams, W. (1995) Molecular biology of the truffles. In: The truffles. Ed. by G. G. Gams, pp. 1-10. Springer-Verlag, Berlin.

DIPOSITIVA 26

METLA



HELSINKI UNIVERSITY OF TECHNOLOGY
Laboratory of Bioprocessing Engineering



INTERNATIONAL TRUFFLE ORCHARDS WORKSHOP 16-17/10/2006 JUVA, FINLAND

WELCOME

Commercial truffle orchards have lately been established in many countries such as Sweden, Denmark and New Zealand. Different species of truffles are suitable for commercial cultivation depending on ecological and climate conditions, soil properties and host plants. We invite Scientists as well as truffle and mushroom companies to discuss various aspects of establishing new truffle orchards and the developed techniques to increase the truffle crop.

TOPICS

- 1- INOCULATION OF PLANT SEEDLINGS WITH SPORES AND MYCELIA
- 2- FORMATION OF ECTOMYCORRHIZA
- 3- IMPORTANCE OF CLIMATE AND SOIL TYPE IN TRUFFLE ORCHARDS
- 4- HOST PLANTS IN TRUFFLE ORCHARDS
- 5- IMPORTANCE OF TRUFFLE ORCHARDS FOR RURAL COMMUNITY
- 6- OTHER RELATED TOPICS

FURTHER INFORMATION

<http://www.tkk.fi/Units/BioprocessEngineering/truffles.html>

Dr S. Shamekh WORKSHOP CHAIRMAN
E-MAIL: shamekh@cc.hut.fi

WORKSHOP SECRETARIAT

IF YOU ARE INTERESTED TO PARTICIPATE IN THE WORKSHOP
PLEASE CONTACT OUR WORKSHOP SECRETARIAT TO GET THE
BROCHURE

Ms KIRSTI PITKANEN
FAX: + 358-9-462 373

E-MAIL: kirsti.pitkanen@tkk.fi



JUVA MUNICIPAL



PERTUNMAA MUNICIPAL



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

ANEXO 3

Fotografías



Foto 1: Primera Charla Difusión Instituto Forestal en Santiago



Foto 2: Primera Charla Difusión Instituto Forestal en Santiago



Foto 3: Segunda Charla Difusión Liceo A-15, Duao, Talca



Foto 4: Segunda Charla Difusión Liceo A-15, Duao, Talca.



Foto 5: Wang Yung (China), Patricio Chung (Chile), Oria de Rueda (España)



Foto 6: Parte de asistentes a Workshop en la universidad de Murcia, Murcia, España



Foto 7: Miguel Torrejón (España), P. Chung (Chile), Pierre Sourzat (Francia)



Foto 8: P. Chung (Chile), Lahsen Khabar (Marruecos), Koji Iwase (Japón)



Foto 9: Alexandra Zambonelli (Italia), Wang Yun (China), Gabriella di Massimo (Italia)



Foto 10: Universidad de Murcia en Murcia, España

FOTO 11



MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION, DECONTAMINATION AND PRESERVATION OF *TUBER AESTIVUM* Vitt.

C. S. Rivera*, J. E. Reyes**, M. E. Venturini, M. Rodríguez, R. Oria and D. Blanco

Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Zaragoza

Miguel Servet 177, 50013 - Zaragoza (España)

*Departamento de Educación, Puerto Rico

**Universidad del Bío-Bío, Chile

e-mail: dblanco@unizar.es



INTRODUCTION

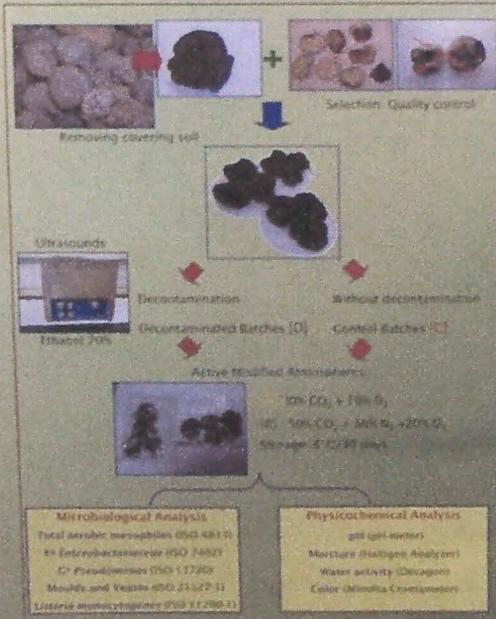
Truffles are one of the most expensive delicacies on the market. They are very renowned and are of high economic and gastronomic value. Nevertheless, the marketing of the fresh product does not follow the laws and regulations, and postharvest technologies are currently unavailable due to the paucity of research in this area. Aragón, is one of the Spain's main producers of the highly coveted truffles (*Tuber aestivum* and *Tuber melanosporum*). The production, to a great extent, are exported as a fresh product to food markets in France, Italy, England, Japan, United States and other countries. The harvest of truffles has been in constant decline but the demand has never stopped increasing. To satisfy actual demand it is necessary to improve the production and to extend the shelf life by effective storage strategy.

OBJECTIVES

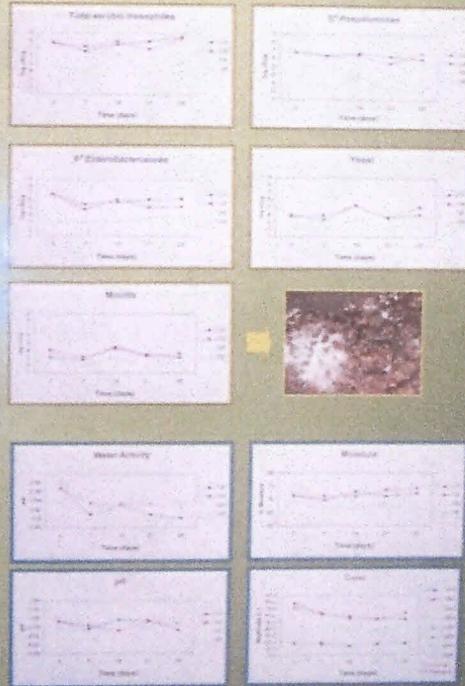
- Microbiological characterization of *Tuber aestivum* to determine microbial burden and the sanitary aptitude.
- To select a decontamination procedure that maintain the quality characteristic of fresh truffles.
- Designing the hurdle technology that increase the shelf life of summer truffles and consequently improve the international competitiveness of the product.

MATERIALS AND METHODS

The summer truffles (*Tuber aestivum*) used in these studies were obtained from the producing area of Sariñén, in Teruel (Aragón).



RESULTS



CONCLUSIONS

- Microbial load of *Tuber aestivum* after removing covering soil is high (10^6 microorganisms/g), therefore, carelessness in conservation techniques will affect product shelf life.
- Candida* spp. and *Enterobacteriaceae* are dominant epiphytic microflora of *Tuber aestivum*, in lowest number moulds and yeasts.
- Species of *G. listerae* have been detected in our study, but none of them have been identified as *Listeria monocytogenes*.
- Decontamination by ultrasound with ethanol 70% was selected on previous studies, based on its efficacy (2.9×10^4 log microbial burden reduction), its compatibility with other antimicrobial substances (e.g. sodium hypochlorite).
- Both active modified atmospheres used in this study suppress microbial growth throughout storage period (two months).
- Conservation parameters used in this study, alongside the physicochemical values, with a little increase in water activity. Moisture remains constant throughout the storage period, as a consequence, decrease of weight loss and modification.

NEW ADVANCES ABOUT ASIATIC TRUFFLE SPECIES COMMERCIALIZED IN SPAIN

L.G. García-Montero¹, P. Díaz², J.L. Manjón³, E. Ibáñez⁴, F.J. Señoráns⁵, G. Moreno¹

¹Dpto. Ing. Forestal, ETSI Montes, Universidad Politécnica Madrid ²Dpto. Química Industrial y Polímeros, EUIT Industrial, Universidad Politécnica Madrid ³Dpto. Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de Alcalá ⁴Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC) ⁵Área de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma Madrid



Key words: taxonomy, aroma, commercial aspects, asiatic truffles, truffle market, Spain

Introduction and Objectives

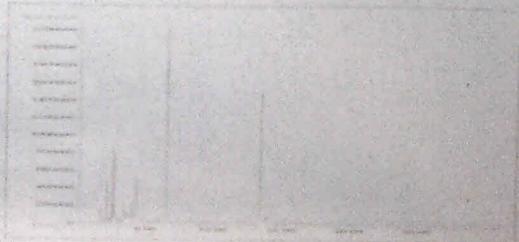
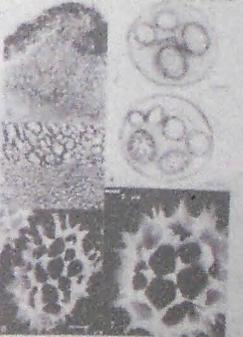
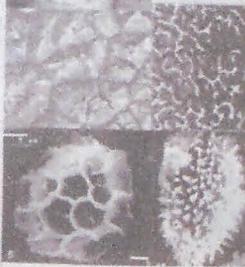
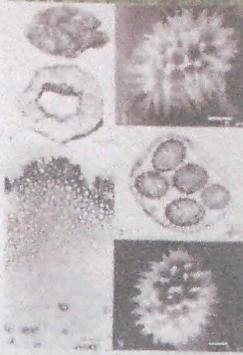
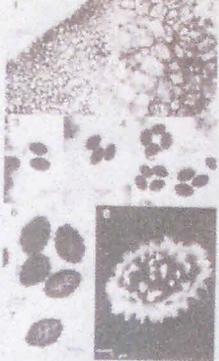
Importation of a great quantity of exotic fungi could have a negative effect on the canning industry and truffle breeding. Truffle breeding is mentioned because of the substitution observed (for economical reasons) of cheaper fruit body varieties and the impact it may have on the production of mycorrhizal plants. Regarding this problem, a first step is to study the taxonomy of the fungi involved. In this study line, the aim of this work has been to report new researches of asiatic truffles commercialized in Spain: market, taxonomy and aroma.

Materials and methods

Some optic and electronic microscope studies are supplied. A comparison with the type of material of *Tuber indicum* and *T. himalayense* is also applied. Spore samples were rehydrated with 100% ammonium hydroxide for 30 min, then dehydrated in aqueous ethanol solutions (70%) for 1-1.5 h, before fixation in formaldehyde dimethylacetal, (after immersion in acetone for at least 2 h). The spores were subsequently dried to a critical point, mounted onto an aluminium stub, and coated with gold-palladium in a Polaron E-5000 sputter coater for 120 sec at 1.4 kV and 18 mA (argon atmosphere) to create a metal coating, approximately 500 Å thick. Light microscopy (LM) photos were taken with a Nikon Labophot microscope equipped with an automatic photographic system. Headspace solid phase microextraction combined to Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry has been used to analyse the volatile compounds from Asiatic truffle aroma.

Results and Conclusions

The first results about taxonomy of Asiatic truffles are reported in Manjón et al. (1996), García-Montero et al. (1997), Moreno et al. (1997), and Wang et al. (1998). In this work has been report new dates about asiatic truffles commercialized in Spain: a new specie of *Tuber* and fraudulent sales. The presence the Asiatic truffles in canned truffle has been verified in products called *T. aestivum* as well as in products called *T. melanosporum*. Besides, different volatile compounds have been found and their aroma is less intense than the *T. melanosporum* aroma.



OPTIMIZATION OF THE MYCORRHIZATION PROCESS OF *PINUS HALEPENSIS* IN CONTROLLED CONDITIONS

Ei Mostafa Ouerraqi^{1, 2}, Loaziza Ben Khaled¹, Zineb Diani², Asunción Morte³, Mario Honorado³, Abdellah Oihabi² and Cherkaoui EL Modafar²

(1) Lab. Physiologie végétale, Faculté des Sciences Semlali, Département de Biologie, B.P. 2390, 40000 Marrakech, Maroc.
 (2) Lab. Biotechnologie et Phytopathologie moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques Gueliz, Département de Biologie, B.P. 616, 40000 Marrakech, Maroc. (3) Lab. Mycologie, Departamento de Biología Vegetal, Campus de Espinardo, 30100 Murcia, Spain.

INTRODUCTION

The *Pinus halepensis* Mill. constitute a very important Moroccan forested masses. Several biotic and abiotic factors reduce considerably the potential of production in forested masses. Nevertheless, the currently available particularly scarce which exist in the Mediterranean region require the use of forested seedlings of excellent quality, capable of ensuring the success of reforestation, by the improvement of the rate of their recruitment and the stimulation of their growth. The development of new processes of production, as the controlled mycorrhization, constituted these last decades a remarkable progress in production of the qualitative seedlings. In addition to their nutritional role, ectomycorrhizal mushrooms confer to their hosts plants a protection against pathogenic microbe and viruses of the forest. Among the factors which intervene in the success of the controlled mycorrhization, the choice of formulation of the inoculum condition the procedure of inoculation and can affect the survival of the mycelia and their capacity to infect receptive roots.

Our work integrates in the general setting and less far objectives, the optimization of the culture techniques, the multiplication, the production of inoculum and the controlled mycorrhization, as the evaluation of the effect of ectomycorrhizal mushrooms tested (*Suillus hubei*, *Suillus bellii*, *Hebeloma mesophaeum*, *Tricholoma terreum* and two isolates of *Suillus mediterraneensis* the isolate 3830 and the isolate 3532) on the growth and the development of *Pinus halepensis*.

MATERIAL & METHODS

The seedlings of pine, object of our study, are produced by germination of seeds (obtained from the regional center of forest research, Marrakech).

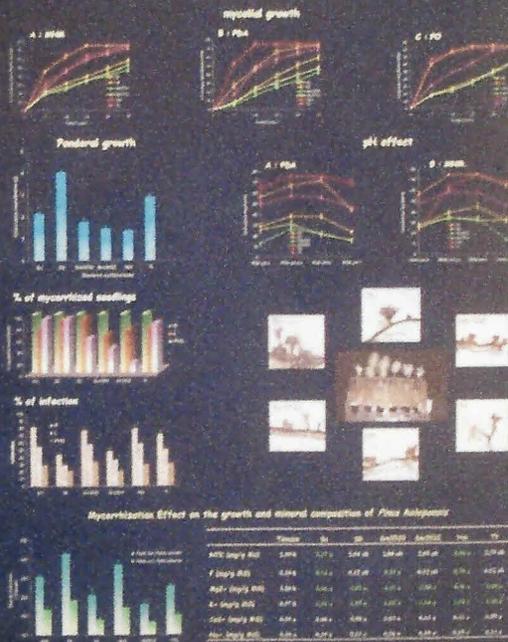
The ectomycorrhizal mushrooms used notably *Suillus hubei* (Fr.) O. Kuntze, *Suillus bellii* (Det.) Wain, *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Oudem., *Tricholoma terreum* (Sch.) Fr.) Langer and two strains of *Suillus mediterraneensis* (Hopper & Blum) Berkouh, the strains 3830 and the strain 3532, are collected through prospecting in the pine forests of the Haouz region, Morocco. The culture and evaluation of the mycorrhizal mushrooms growth were made on FDA, wheat and PO media at pH 5.5.

Techniques of inoculation



The control of the growth and the mycorrhization of seedlings of the various treatments was made after 8 months of culture, for the selection of the best mode of inoculation the most adapted to our conditions of work and the evaluation of the mycorrhizal effect in the growth and the mineral nutrition of seedlings pine.

RESULTS & DISCUSSION



CONCLUSION

- All used symbiotic species showed the capacity to develop on FDA, PO and wheat media.
- The optimum of the mycelial growth is observed in a pH 5.5-6.
- The mycorrhization success of pine seedlings depends:
 - Infectious potential of mycorrhizal strains toward roots;
 - The optimization of culture conditions of the strains;
 - Choice of effective formulations of inocula.
- The use of solid inoculum allows to obtain a very high degree of mycorrhization (100 % of mycorrhizal seedlings).
- The symbiotic species *Suillus hubei*, *Hebeloma mesophaeum* and the strain 3830 of *Suillus mediterraneensis* showed a positive correlation between the intensity of infection and the stimulation of the growth and the mineral nutrition.

CHARACTERIZATION OF AN ESTERASE FROM ASCOCARPS OF *TERFEZIA CLAVERYI*

M. Pérez-García¹, A. Martín¹, R. Kaila-González¹, M. Novales¹ and F. Ballejo-Campos¹

¹ Dept. Microbiología, Escuela de Biología, Universidad de Murcia, Spain



Introduction

Mycelial colonization is reported to cause an increase in the activity of esterase in roots (2). This widely distributed enzyme has been taken as an indication of the enhanced metabolic activity produced during the establishment of mycorrhizal associations (7).

In addition, this esterase (ascaryn) has been used in taxonomic studies of edible mushrooms (2,3). On the other hand, the products of the esterase reaction constitute a well known class of aromatic molecules in foods. However, there are no reports on the catalytic properties of non-specific esterase in edible mushrooms.

Materials and Methods

Fungal Material. Ascocarps of *T. clavari* were collected in Zafra de la Sierra (Cádiz, Spain), where they were associated with *Helianthemum aemula* P. Salm.

Extraction of Esterase from *T. clavari* Ascocarps. Pieces of ascocarps were suspended in phosphate buffer pH 7.0 and homogenized. The homogenate was then centrifuged and subjected to temperature phase partitioning with TX-114. The clear detergent-poor supernatant was used as the enzyme source.

Histochemical Localization of Esterase in Ascocarps of *T. clavari*. It was investigated by incubating ascocarp sections for 40 min with 1 mM pNPP in 50 mM sodium phosphate buffer pH 7.4. Controls were incubated for 5 min with inhibitor and then with 1 mM pNPP 1 mM for 45 min or only with buffer.

Results and Discussion

An esterase activity from *T. clavari* Chara ascocarps is described for the first time (4).

The enzyme was partially purified using phase partitioning in Triton X-114 (5X:114), achieving a reduction of 87% in the triglyceride content and the removal of 63% of phenols (Table 1).

Table 1. Purification of esterase from *T. clavari* ascocarps

Step	Yield (%)	Specific activity (U/mg)	Protein (mg)	Triglyceride (%)	Phenol (%)
Initial material	100	0.1	100	100	100
TX-114 (5X:114)	100	0.1	100	100	100
TX-114 (1X:114)	100	0.1	100	100	100
DEAE Sepharose	100	0.1	100	100	100
DEAE Sepharose (pH 7.4)	100	0.1	100	100	100
DEAE Sepharose (pH 7.4) + Triton X-114	100	0.1	100	100	100
DEAE Sepharose (pH 7.4) + Triton X-114 + Triton X-114	100	0.1	100	100	100
DEAE Sepharose (pH 7.4) + Triton X-114 + Triton X-114 + Triton X-114	100	0.1	100	100	100

Legend:
 ○ 100% triglyceride
 ○ 100% phenol

The enzyme showed the maximum activity towards short chain p-nitrophenyl esters and no interfacial activation was observed, thus indicating that the enzyme responsible for this activity is an esterase and not a lipase (Figure 1).

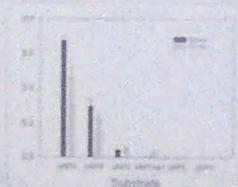


Figure 1. Substrate specificity of esterase from *T. clavari* in both sides the reaction mixture incubated for 40 min without inhibitor buffer pH 7.4 and 1 mM pNPP 1 mM. The substrate was p-nitrophenyl acetate (pNPP), butyrate (pNPP), propyl pNPP, acetate (pNPP), butyrate (pNPP), propyl pNPP.

This esterase presented its maximum activity at pH 7.4 and at 60°C. The values obtained for K_m at pH 7.4 were 0.3 mM for p-nitrophenyl butyrate and 0.6 mM for p-nitrophenyl acetate. *T. clavari* esterase was inhibited by phenylboric acid, indicating that serine residues were involved in the enzyme activity.

This activity was localized only in the hyphae and was absent from the peridium and gleba (Figure 2).



Figure 2. Localization of esterase activity in sections of *Terfezia clavari* ascocarps. The activity was localized in hyphae and was absent from the peridium and gleba. The sections were incubated for 40 min with 1 mM pNPP 1 mM in 50 mM sodium phosphate buffer pH 7.4. The controls were incubated for 5 min with phenylboric acid (left) and then with 1 mM pNPP 1 mM in 50 mM sodium phosphate buffer pH 7.4 (right).

References

1. Pérez-García M, Martín A, Kaila-González R, Novales M, Ballejo-Campos F. (2004) Characterization of an esterase from ascocarps of *Terfezia clavari*. *Environ Biol Fungi* 47: 1-8.
2. Ballejo-Campos F, Martín A, Kaila-González R, Novales M, Pérez-García M. (2004) Characterization of an esterase from ascocarps of *Terfezia clavari*. *Environ Biol Fungi* 47: 1-8.

CHARACTERIZATION OF PHOSPHATASE ACTIVITY IN TERFEZIA CLAVERYI CHATIN ASCOCARPS

Navarro, A.¹; Pérez-Gilabert, M.²; Morte, A.¹ & Honrubia, M.¹

¹Department of Plant Biology and ²Department of Biochemistry and Molecular Biology-A, Faculty of Biology, University of Murcia, Campus of Espinardo (Murcia), 30100.



Introduction

Terfezia claveryi Chatin is an edible Ascomycetes mycorrhizal ascomycete called desert truffle, to natural mycorrhizae. It establishes mycorrhizal symbiosis with several species of genus *Halimolobos* (Cano et al., 1997; Morte & Honrubia, 1992, 1994, 1995, 1997; Morte et al., 1998).

Phosphatases are a wide group of enzymes which catalyze the hydrolysis of different phosphate esters. They differ in their pH optimum, substrate specificity, reaction mechanism, the phosphoryl group phosphate modification, making it accessible to the plant (Marley & Smith, 1993). In some cases, this process may be responsible of the differences in growth between mycorrhizal and non-mycorrhizal plants (Morte & Honrubia, 2002). To date, data on phosphatase activity in ectomycorrhizal fungi are very limited.

This is the first report on the phosphatase activity from *T. claveryi* ascomycetes.



Materials and Methods

T. claveryi ascomycetes were collected in Zarzadilla de Tabares (Lorca, Murcia) and were stored at -20°C. Alkaline Phosphatase (ALP) activity was measured spectrophotometrically at 410nm and using p-nitrophenyl phosphate (p-NPP) as substrate.

Ascomycetes pieces were homogenized in 50mM Tris-HCl buffer, pH 7.0 in a mixer. The homogenate was centrifuged. All operations were carried out at 4°C. The supernatant was supplemented with PEG in the same buffer. The solution was centrifugated. This treatment was repeated with superatant but, in this case, the pellet was resuspended in the same buffer.

The supernatant solution was dialyzed with the DCA method (Smith et al., 1980). Total protein content was determined with the BCA method (Smith et al., 1980). Phosphate compounds concentration was determined with the method described by Szejnmann and Brice (1980).

Assays of activity were (10 µl) incubated for 60 min with 226 µg/ml BCIP and 236 µg/ml NBT in 50mM Tris-HCl buffer, pH 8.5 supplemented with 100 mM MgCl₂ and 100 mM NaCl. Control solutions were incubated with 500 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0 and EDTA treatment was performed with 100 mM Tris-HCl, 100 mM Tris-HCl buffer, pH 8.5 supplemented with 100 mM MgCl₂ and 100 mM NaCl.

Results

Partial Purification

ALP activity was partially purified using glass partitioning with PEG. With this method, a separate reduction in the total and phosphate compounds content of the extract was obtained. ALP activity was purified 4.72-fold with a recovery of 67%. The specific activity of ALP was 6.30 U.E./mg of protein.

Treatment	UE/ml	Protein (mg/ml)	Specific Act. (UE/mg)	Volumes (ml)	Yield (%)	Purification	TKG (mg/ml)	p-phosphate (mg/ml)
Homogenate	9.144	2.22	0.065	7	100%	1	106.44	47.57
First phase partitioning	0.111	1.83	0.061	3	88%	0.93	76.86	43.77
Second phase partitioning	0.769	0.26	0.307	7	67%	4.72	2.24	0.87

Table 1. Summary of partial purification of ALP activity of *Terfezia claveryi* ascomycetes, measured with p-NPP as substrate.



Histochemical localization

ALP activity was localized mostly in the parietal and in the glial, but not in the hyphae. This shows ALP specific because when EDTA (a ALP inhibitor) was added to the reaction, had the same behavior as the control. Moreover, with EDTA, activity was also observed inside the spores.



Figure 1. Temperature dependence. The reaction medium composed of 100 mM Tris-HCl buffer, pH 8.5.

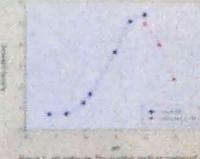


Figure 2. pH dependence. The reaction medium composed of 100 mM Tris-HCl buffer, pH 8.5, 100 mM MgCl₂, 100 mM NaCl and 100 mM Tris-HCl buffer, pH 8.5.



Figure 3. Inhibition by EDTA. The reaction medium composed of 100 mM Tris-HCl buffer, pH 8.5, 100 mM MgCl₂, 100 mM NaCl and 100 mM Tris-HCl buffer, pH 8.5.



Figure 4. Inhibition by metal ions. The reaction medium composed of 100 mM Tris-HCl buffer, pH 8.5, 100 mM MgCl₂, 100 mM NaCl and 100 mM Tris-HCl buffer, pH 8.5.

Kinetic Characterization

Alkaline phosphatase (ALP) has been detected using p-NPP. The K_m and V_{max} values were extrapolated from Lineweaver-Burk plots. For p-NPP, the K_m and V_{max} were 7.83 mM and 5.72 U/mg, respectively, with 50 µl of extract.

The temperature optimum of ALP was found at 45°C (Figure 1).

The maximum activity was found at value of pH 8.5 (Figure 2).

EDTA was a potent inhibitor and its effect depended on the incubation time and the concentration (Figure 3). This inhibition was reversed when a metal ion was added (Figure 4).

Conclusions

This is the first report where the phosphatase activity, from *T. claveryi* ascomycetes, had been detected and localized.

A rapid and easy protocol of partial purification of ALP activity of ascomycetes with PEG was developed. EDTA has an inhibitory effect on the ALP activity of *T. claveryi* ascomycetes.

References

Cano, J., Honrubia, M. & Morte, A. (1997). *Terfezia claveryi* Chatin, un nuevo trufa de desierto. *Revista de Micología Médica y Biología*, 10, 1-4.

Morte, A., Honrubia, M., Pérez-Gilabert, M., Navarro, A., & Szejnmann, A. (1998). *Terfezia claveryi* Chatin, un nuevo trufa de desierto. *Revista de Micología Médica y Biología*, 11, 1-4.

Acknowledgements

This work was supported by the Spanish Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) and the University of Murcia (URM).

FOTO 16



COMPARATIVE ESSAY OF MYCORRHIZATION WITH DIFFERENT DOSES OF INOCULUM FROM DIFFERENT YEARS. PRECOCITY OF SYMBIOSIS ESTABLISHMENT.

PALAZÓN Carlos (1); BARRIUSO Juan (2); DELGADO Ignacio (1)

(1) Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Gobierno de Aragón, Apartado 727. 50080 Zaragoza. E-mail: cpalazon@aragon.es
 (2) Escuela Politécnica Superior. Universidad de Zaragoza. Ctra. Cuarte s/n. 22071 Huesca. E-mail: barriuso@unizar.es



Though the techniques of vegetal species mycorrhization by *Tuber melanosporum* Vitt. are known in a general way, there are not many works making reference to specific details of the applied methodology, such as the inoculum dose applied. The great variability of the prices of black truffle according to the year, and the need to use its carpophores for the preparation of the mycorrhizal inocula, were the reasons for approaching an experiment to check the efficiency of the different inoculum doses, from different years, looking for a larger economical saving by using the remaining inocula from previous years. Therefore, the aim of this essay was to study the influence of the inoculum dose and the year of its preparation on the percentages of evergreen oat mycorrhization as well as on the precocity of *Quercus ilex* L. - *T. melanosporum* Vitt. symbiosis establishment.

MATERIAL AND METHODS

Vegetal material: Six true leaves evergreen oats obtained from acorns of the thousand-year-old evergreen oat at Lecina (Huesca) by sowing on vermiculite nr 3 beds.
 Sowing date: 3 February 2004.

Fungal material: All the truffle in this study comes from the Graus area (Huesca). Carpophores were dried at ambient temperature and ground in a burr-type mill till obtaining grain truffle powder.
 The available inoculum powder was from the years 2002, 2003 and 2004.

The doses applied were one, two and three grams per plant. The weight considered always corresponded to fresh truffle before being dehydrated.

The inoculum method was sprinkling dried truffle powder, with talcum as marker, and inoculating the corresponding doses along the plants naked roots just previous to be transplanted to the container (fig.1). Inoculation was made 18 May 2004 (by the above mentioned method).

One month after inoculation, fortnightly recordings were practiced on precocity of symbiosis establishment and in order to check its possible relationship with the doses and the age of the inoculum.

First recording: 19 July 2004.

Trail protocol: Three inoculum ages (2002, 2003 and 2004) x three doses (1, 2 and 3 grams/plant) x ten repetitions per age and dose = 90 plants.

Five non-mycorrhized, control plants were also used. Thus summing up a total of 95 plants.

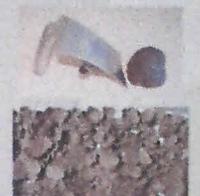


Figure 1. Inoculum preparation

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the obtained results, though the recordings on precocity (of destructive nature), together with the mortality originated from the process, have caused an irregular number of repetitions in the last recording.

Table 1. Mycorrhization percentages with different doses and years, 11 months after inoculation

ORIGIN	DOSE	AVERAGE (%) <i>T. melanosporum</i>	ANNUAL AVERAGE
Spain 2004	1g	32	33.7
	2g	41	
	3g	39	
Olea 2005	1g	12	15.5
	2g	8	
	3g	15	
Graus 2002	1g	23	31.2
	2g	29	
	3g	42	
CONTROL	0g	0	0

* Figure 3

According to the results, the inoculum source influences significantly mycorrhization. In this case, the inoculum from 2003 shows poorer mycorrhization results than those from 2002 and 2004.

The inoculum dose affects mycorrhization only in the case of old inocula, where higher doses (three grams) are required to reach 42 per cent mycorrhization.

In the other cases, no significant variation has been produced when tripling the dose.

The precocity of symbiosis establishment is independent from the dose and the inoculum age. The first mycorrhiza was obtained 75 days after inoculation (fig. 2), with the oldest inoculum and the lowest dose.

The preservation of *T. melanosporum* dried inocula powder can be interesting in very productive years in order to be used later on in those years with drastic drops of production, when prices can be multiplied by ten, without any decrease of the inoculum mycorrhizal potential.



Figure 2. Mycorrhizas obtained 75 days after inoculation with the oldest inoculum and the lowest dose.



Figure 3. Mycorrhizas obtained 103 days after inoculation with the youngest inoculum and 2 g dose.

REFERENCES

CARTE G., PALAZÓN C., DELGADO, BARRIUSO J., 1999. Influencia del método de inoculación, del lugar de recolección y de la precocidad de inicio de la fructificación de *Tuber melanosporum* Vitt. y en la supervivencia de las plantas. Actas V Simposio Nacional Congress Science and Collection of Truffle, 8-2/04/99, Alcañiz (España) (in Spanish)

ACKNOWLEDGEMENTS: This work has been supported by the industry research in Agriculture and Food (I+D) FLEDA funds, within the Rules of the Research System I+D+I, Project SO6-04.



FOTO 17

Ctifl



EFFECTS OF THE INITIAL LEVEL OF MYCORRHIZATION ON THE EVOLUTION OF YOUNG PLANTS INOCULATED WITH *T. MELANOSPORUM*

D. BOURRIERES Ctifl / station de Creysse 46600 MARTEL
 H. COVES Chambre d'agriculture de Corrèze - ABIDA 19100 BRIVE
 R. TIXIER Ctifl / Université de Reims S1687 REIMS Cedex 2
 JM. RICARD Ctifl Balandran 30127 BELLEGARDE ricard@ctifl.fr



An experimental plot to monitor the evolution of the quality of mycorrhizal plants was designed in 2002 by the Ctifl, in collaboration with the Creysse experimental station, the agriculture chamber of Corrèze and the Martel truffle association.

Aims

- To study the effect of the initial level of mycorrhization of young oaks inoculated with *T. melanosporum* on the development of mycelium after planting.
- To determine the selection criteria used by the Ctifl to control the quality of mycorrhized plants in the nursery.

Materials and methods

Experimental site

- Plot 'Causse de Martel' (Lot- Aquitaine region- 300m altitude, mean annual rainfall 900mm, mean annual temperature 12°C, annual insolation 2000h/year)
- Soil and sub-soil: hard cracked limestone (Jurassic period) with red clay pockets, stony shallow surface (5 to 15 cm). Silt loamy-sandy-clayey texture with a C/N ratio of 8.9 and 5.1% organic matter.
- Plant material: one-year-old oaks inoculated with *T. melanosporum*



Methods

- The young plants were graded into 6 categories depending on the quantity and the homogeneity of the mycorrhization. The trial studied 6 treatments with between 4 to 7 repetitions for each one. Every unit contained 24 trees (plant density 2x2m) totaling 820 trees (Figure 1)
- The trees were gently pulled up with a backhoe to avoid root damage
- Measurements: hair root density from grade 1 to 3, mycorrhization level from M0 to M5, presence of contaminant ectomycorrhizae (*T. aestivum*, *Coenococcium graniforme*, *Sclerotium sp.*), growth of the trees (trunk diameter and size)

Data analysis

- For statistical interpretation, the results on the mycorrhizal level were divided into 3 categories: low (M0+M1)= classe 1, moderate (M2+M3) = classe 2 and high (M4+M5)= classe 3. The measurements of tree height and diameter were also divided into tree groups with an equal number of trees in each group
- The factorial correspondence analysis, and the Kolmogorov-Smirnov tests was applied to a database of 232 trees to study the correlation between the qualitative variables. A cartographic analysis was used to try to find a geographical effect according to the Hilal and Debors (1995) method.
- The results shown here are based on the measurements obtained in 2005

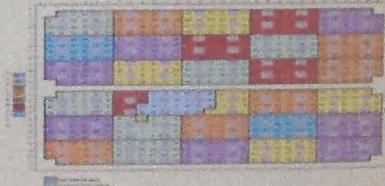


Figure 1 The experimental plot
 M0: no mycorrhization (inoculated plants)
 M1: low mycorrhization (70 to 40)
 M2: homogeneous moderate mycorrhization (40 to 100)
 M3: moderate mycorrhization near the collar
 M4: homogeneous high mycorrhization (= 100)
 M5: high mycorrhization near the collar

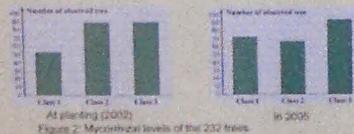


Figure 2: Mycorrhizal levels of the 232 trees

Results

- The level of mycorrhization of the 4 year-old trees depends on the initial level of mycorrhization of the plants after leaving the nursery (Figure 3). The highest category of mycorrhization (class 3) correlated with the best initial mycorrhized trees (class 3) and inversely
- The high-mycorrhized oaks showed the best growth in diameter and the highest hair root density (Figure 4).
- A good level of mycorrhization did not protect the trees from development of natural ectomycorrhizal mushrooms which affect all the trees whatever the final level of mycorrhization, particularly *Coenococcium graniforme* (Table 1)
- At this moment in time statistical analysis has not revealed a spatial effect on the evolution of tree mycorrhization.

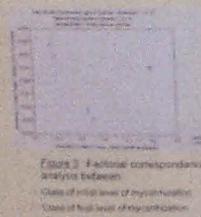


Figure 3: Factorial correspondence analysis between class of initial level of mycorrhization and class of final level of mycorrhization



Figure 4: Factorial correspondence analysis between class of low level of mycorrhization and class of tree size diameter

Conclusion

- These results showed the correlation between the initial level of mycorrhization of young oak trees and the early development of *T. melanosporum* mycorrhizae four years after planting, even though the influence on the fructification of the mushroom could not be measured.
- This work underlines the importance of the quality of mycorrhized plants and will be useful to give precise details about the selection criteria used for nursery control.

Table 1: Ectomycorrhizal contaminants

Contaminant	Frequency
<i>T. aestivum</i>	100%
<i>Coenococcium graniforme</i>	100%
<i>Sclerotium sp.</i>	100%

OPTIMIZATION OF FACTORS FOR THE PRODUCTION OF *PINUS HALEPENSIS* MYCORRHIZED WITH *LACTARIUS DELICIOSUS* UNDER NURSERY CONDITIONS

Carrillo, C.¹, Díaz, G.², Torres, P.², & Honorata, M.¹
¹ Depto. Biología Vegetal (Botánica), Fac. Biología, Universidad de Murcia (Spain)
² Depto. Biología Aplicada, Div. Botánica, Universidad Miguel Hernández de Elche (Spain)



INTRODUCTION

The production of quality plants inoculated with edible fungi is an important aspect of the sustainable forestry management, since the production of fruit bodies may be an economical resource, specially in Mediterranean areas.

The edible ectomycorrhizal fungus *Lactarius deliciosus* is very appreciated and widely collected in many areas in Spain, mainly under pines. *Pinus halepensis* is a mycorrhizal species (Honorata, 2000) well adapted to semiarid conditions and therefore is widely produced in nurseries for reforestation. Mycorrhiza formation between *L. deliciosus* and *P. halepensis* has been previously described from "in vitro" and nursery synthesis (Torres & Honorata, 1994; Carrillo, 2000) or field samples (García, 1995).

Many factors may affect the success of ectomycorrhizal inoculation in forest nurseries. Previous assays on mycorrhizal inoculation under nursery conditions with *L. deliciosus* has been reported with *P. pinaster* (Rincon et al., 1999), *P. pinaster*, *P. sylvestris* (Parfisi et al., 2004; Guem-Laguette et al., 2000). However, there is no much information concerning *P. halepensis* (Carrillo, 2000; González-Ochoa et al., 2003).



Mycorrhiza between *L. deliciosus* (LDFS) and *P. halepensis*.

OBJECTIVE
 The optimization of methods for improving the success of controlled mycorrhization with the edible *Lactarius deliciosus* in nursery.

MATERIALS AND METHODS

Production and improvement of mycelial inoculum



Fructifera of *L. deliciosus* (LDFS) collected in Murcia (Spain) from a population associated to *P. halepensis* in Valencia (Spain 1995).



Mycelium extracted in agarose blocks (2.4 Carus et al., 1985) method.

Mycelium cultured in liquid medium in bioreactor. Culture conditions: 22°C, 150 rpm, 50 µm, 40% CO₂ in open circuit at 200 L.

Inoculation at nursery

Plant culture conditions:
 • Substratum: peat:vermiculite 50:50 (v/v)
 • Fertilized: 30 mg N/plant
 • No pesticide treatment
 • Inoculation on 2-4 month-old seedlings

FACTORS

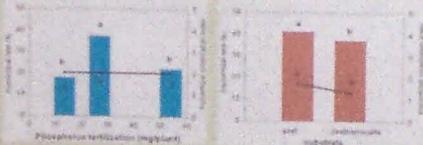
- type/dose of inoculum
- substrate
- N fertilization dose
- P fertilization dose

DETERMINATIONS

- mycorrhiza
 - mycorrhizal rate (percentage of seedlings mycorrhized with *L. deliciosus*)
 - mycorrhizal colonization index (0-5 non-destructive subjective index)
- plant quality
 - height, base diameter, shoot and root biomass
 - nutrient content

RESULTS

Mycorrhizal rate (bars) and mycorrhizal colonization index (lines) with the different factors assayed in nursery conditions.



Nutrient content of *P. halepensis* at different N fertilization treatments.

Concentration (mg/kg)	N	P	K	Ca	Mg
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012

Morphometric parameters of *P. halepensis* at different N fertilization treatments.

Concentration (mg/kg)	N	P	K	Ca	Mg
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012

Nutrient content of *P. halepensis* at different P fertilization treatments.

Concentration (mg/kg)	N	P	K	Ca	Mg
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012

Morphometric parameters of *P. halepensis* at different P fertilization treatments.

Concentration (mg/kg)	N	P	K	Ca	Mg
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012
Control	12.85	0.074	0.021	0.073	0.012

- Mycelial slurry produced in bioreactor was the most effective inoculum at a dose of 10 mL per plant
- The use of both peat or peat/vermiculite substrata were compatible with mycorrhiza formation
- High levels of N supply resulted in a significant suppression of mycorrhizal colonization
- A dose of 30 mg N/plant throughout the growing season is considered adequate for *P. halepensis* controlled mycorrhization without detriment of growth parameters
- The large number of mycorrhized seedlings was obtained at the recommended dose of P for *P. halepensis* (27 mg/plant)

REFERENCES

Carrillo, C., Díaz, G., Torres, P., & Honorata, M. (2000). Ectomycorrhizal inoculation of *Pinus halepensis* with *Lactarius deliciosus* in nursery conditions. *Forest Ecology and Management*, 128, 1-10.

García, J. (1995). Ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus halepensis* in a semiarid area of southeastern Spain. *Plant and Soil*, 171, 1-10.

Guem-Laguette, S., Buisson, J., & Buisson, J. (2000). Ectomycorrhizal inoculation of *Pinus pinaster* with *Lactarius deliciosus* in a nursery. *Forest Ecology and Management*, 128, 1-10.

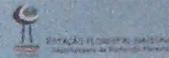
Honorata, M. (2000). Ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus halepensis* in a semiarid area of southeastern Spain. *Plant and Soil*, 171, 1-10.

Rincon, J., Carrillo, C., & Honorata, M. (1999). Ectomycorrhizal inoculation of *Pinus pinaster* with *Lactarius deliciosus* in a nursery. *Forest Ecology and Management*, 128, 1-10.

Parfisi, V., Carrillo, C., & Honorata, M. (2004). Ectomycorrhizal inoculation of *Pinus pinaster* and *Pinus sylvestris* with *Lactarius deliciosus* in a nursery. *Forest Ecology and Management*, 128, 1-10.

Torres, P., & Honorata, M. (1994). Ectomycorrhizal inoculation of *Pinus halepensis* with *Lactarius deliciosus* in a nursery. *Forest Ecology and Management*, 128, 1-10.

B6



Contribution to Understand *Xolantha guttata* Mycorrhizal Association with *Tuberaceae* Species in Midland of Portugal

Machado, H.(1); Ferreira, M.(1) and Ramos, A.C.(2)

INIAE (1) Estação Florestal Nacional, Departamento de Protecção Florestal
 (2) Instituto Agronómico Nacional, Departamento de Tecnologia dos Produtos Agrários
 Quinta do Marquês 2740-370 Odivelas, Tel. (+351) 214463710, fax. (+351) 214463702, e-mail: helena.machado@iniae.pt

ABSTRACT:

In Portugal, desert truffles include fungus within genera such as *Sophrosia* Tull., *Pachyphloeus* Tull., *Tuber* Michx., *Chroosporium* Vél. and *Terrisia* Tull. (Azevedo, 1992), which is known to live nearby shrubs such as *Cistus*. Few studies have been done in Portugal on this subject and the references are confused. Thereby, this study contributes to identify the species occurring in selected areas in midland of Portugal.

During this work, mycorrhizal association with an annual shrub *Xolantha guttata* (L.) Raf. (syn. *Tubularia guttata* (L.) Four.) was studied in three different areas with well known productive and non productive spots, in order to understand the characteristics which determine the best natural production areas and to create basis for further establishment of new areas. Macroscopic and microscopic characterization of *Xolantha guttata* roots showed mycorrhizal association in both good productive and non productive spots, however different types of mycorrhiza were observed. Fertility, pH and active calcium from soil samples were analyzed to understand the correlation between different morphological types of mycorrhiza observed in natural field condition.

To prove the ability to establish mycorrhizal association with *Terrisia* spp., new experimental plots were created in non productive areas, using *Xolantha guttata* seeds spread with dried *Terrisia* sp., inoculants and non inoculated seeds as a control area.

In this work we studied the mycorrhizal association between *X. guttata* and desert truffle species in selected areas in midland of Portugal:

1. Identification of *Xolantha guttata* mycorrhiza from wild areas;
2. Characterization of *Xolantha guttata* mycorrhiza from wild areas;
3. Experimental plots in non productive areas.

1. Identification of desert truffles species in selected areas in midland of Portugal

In Portugal, studies regarding desert truffles are scarce and additional difficulties on picking up general knowledge on this subject. The problem, although some studies (Oliveira, 1996; Azevedo, 1992; Azevedo, 1993) referred the existence of *Tuberaceae* subgenera such as *Oboloporus* *hemisphaerica* Tull., *Pachyphloeus* *conglomeratus* Tull., *Terrisia* *arvensis* Tull., *Terrisia* *arvensis* Tull., *Chroosporium* *micranthum* Vél., *Chroosporium* *micranthum* Vél., as well as *Tuber* *magistratum* Pico, *Tuber* *arvensis* Michx. and *Tuber* *arvensis* Michx. were considered to include definitely the majority of species of genera *Sophrosia*, *Tuber* or *Terrisia*.



Figure 3: *Tuber arvensis*

In Castelo Branco (Castelo, figure 1 – black spots), several desert truffles were collected and morphologically characterized, although we are now using molecular methods to confirm the species. The primers ITS1 and ITS4 (White et al., 1993) were used to amplify the DNA region, the ITS1 and 5.8S regions including the 5.8S of the ribosomal RNA operon. Amplification was successful (Figure 2) and sequencing confirmed specimens as *Terrisia arvensis* (figure 3).



Figure 2: PCR product



Figure 1: Castelo Branco District

2. Characterization of *Xolantha guttata* mycorrhiza from wild areas

To identify the presence of mycorrhizal association in *Xolantha guttata*, several natural native plants were collected in different areas (Figure 1 – orange spots). In collaboration with a local Mycological Association (AMM), two natural productive desert truffle areas were chosen, in Ladoeiro and Anero, and two natural non productive areas, in Corral veiga and Aguiar in Anero. *X. guttata* roots were observed under binocular microscope (Figure 4, a, b), confirming the presence of ectomycorrhizal association within every plant from each area. In productive areas the majority of plants presented typical ectomycorrhizal (Figure 4, c, d), although some ectomycorrhiza without sheath were observed. On the contrary, all roots obtained from non productive areas, showed ectomycorrhiza without sheath. Soil samples analyses, showed no correlation between the anatomical differences of mycorrhiza and the fertility parameters, pH or active calcium.



Figure 4: *Xolantha guttata* ectomycorrhiza in natural productive areas

3. Experimental plots in non productive areas

In order to evaluate the possibility to create new productive areas, experimental plots were set in Aguiar de Fregues nursery (Figure 1 – blue spots). Two different areas were sowed with *Xolantha guttata* seeds, both inoculated plot – control areas and in a mixture with dried *Terrisia* sp. inoculant (inoculated plot). Six months after germination plant roots were prepared to confirm mycorrhizal development. In both areas ectomycorrhiza were detected.

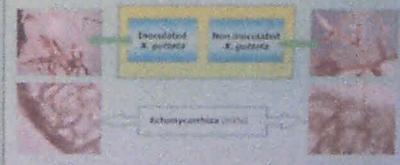


Figure 5: *Xolantha guttata* experimental plots

Conclusion

Observations of *X. guttata* roots from natural and experimental areas were not conclusive since ectomycorrhiza association was always present. Edaphoclimatic characteristics regarding each different studied areas, don't seem to have any influence on desert truffle productivity, although the best productive areas have higher water availability. Further studies should lead to a better understanding of mycorrhizal association in the studied areas. Therefore, we intend to proceed with characterization and identification of the mycorrhizal fungi diversity of *X. guttata* using anatomical description and molecular methods.

Bibliography

- Azevedo, A., Pais, B., 1992. *Manuais de identificação de fungos*. Centro de Estudos de Fungos, 15: 15-30.
 Azevedo, A., 1993. *Manuais de identificação de fungos*. Centro de Estudos de Fungos, 15: 31-40.
 Azevedo, A., Pais, B., 1992. *Manuais de identificação de fungos*. Centro de Estudos de Fungos, 15: 15-30.
 Azevedo, A., Pais, B., 1992. *Manuais de identificação de fungos*. Centro de Estudos de Fungos, 15: 31-40.
 Azevedo, A., Pais, B., 1992. *Manuais de identificação de fungos*. Centro de Estudos de Fungos, 15: 15-30.
 Azevedo, A., Pais, B., 1992. *Manuais de identificação de fungos*. Centro de Estudos de Fungos, 15: 31-40.

Acknowledgements

The first author is from AMM members with crucial during the picking process of *Terrisia arvensis* and *Tuber arvensis* in the field. We are grateful to the local agricultural field technicians, Maria Sílvia de Oliveira through molecular methods performed and identification of *Terrisia arvensis*. This work was supported by AMM 2.1 project 940 "Establishment of mycorrhizal and inoculated new areas in desert truffle areas".



SOME DATA TO THE KNOWLEDGE OF CHINESE TRUFFLE'S (*TUBER INDICUM*) TAXONOMY AND HABITAT PREFERENCE IN YUNNAN PROVINCE

Andrea Gógán¹, István Bagi², Szabolcs Rudnóy² Dóra Szegő² Zoltán Bratek²

(1) Szent István University, Department of Horticultural Technology, H-2103 Godólló, Péter Károly utca 1.

(2) Eötvös University, Department of Plant Physiology and Molecular Plant Biology, H-1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C

Key words: *Tuber indicum*, *Tuber himalayense*, ITS region.

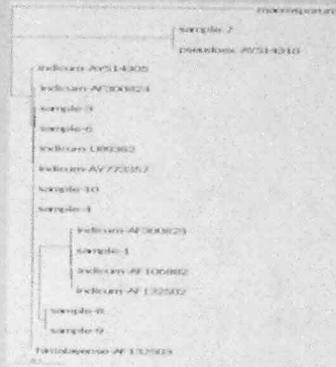


Tuber spp. from China have an increasing importance in the truffle-market of the world since the early 1990s. Several new species have been described among these black Chinese truffles, but their identification and distinguishing from each other and from *Tuber melanosporum* is complicated. Besides molecular taxonomical methods investigation on habitat characteristics (soil, vegetation) may also provide a possibility to separate different species more effectively. Unfortunately the literature on the ecological demand of Chinese truffles seems to be very poor.

The objective of our study was to identify Chinese truffles found in Yunnan Province based on morphological and molecular methods and to characterize their habitats. Some ascocarps of Chinese truffles from the Hungarian market were also analyzed.



ITS analysis



Comparing our ITS sequences to the results of Zhang et al. (2005) and Mabru et al. (2001) we can conclude that truffle sample7 was confirmed to be *T. pseudobaccatum*, sample1 belongs to the *T. himalayense* group while sample3, 6, 10 and 4 proved to be in the *T. indicum* group. Sample 8 and 9 originating from Kunming district have a controversial situation as low level of correspondence was found with GerBank sequences.

Materials and Methods

Truffle materials and soil samples were collected from habitats of two districts (Dongchuan, Kunming) in 2003. After the morphological characterisation analysis of the ITS sequences of the nuclear ribosomal DNA was carried out. Detailed analyses of soil samples were taken. Main woody and herbaceous species were also listed.

SAMPLES (soil and habitat analysis)	Location	ITS sample
SOIL1	Dongchuan	SAMPLE8
SOIL2	Kunming	SAMPLE3
SOIL3	Kunming	SAMPLE6
SOIL4	Kunming	SAMPLE7
SOIL5	Dongchuan	SAMPLE9
SOIL6	Kunming	-
SOIL7	Kunming	SAMPLE4
	imported1	SAMPLE1
	imported10	SAMPLE10

Table 1. Soil and ascocarp samples

Habitat characterization

Habitats of collections originated from Gongchuan District can be characterized as a *Ficus amandii* Franch. woodland like those three of Kunming, but two habitats proved to be mixed forests (*Keteleeria evelyniana* Mast., *Cycloba lanopsis glaucoidea* Schottky, *Alnus nepalensis* D. Don., etc.).

Literature

Zhang et al. (2005): A phylogenetic study of commercial Chinese truffles and their allies: Taxonomic implications

Mabru et al. (2001): Rapid molecular typing method for the reliable detection of Asiatic black truffle (*Tuber indicum*) in commercialized products: fruiting bodies and mycorrhizal seedlings

Results

Soil

Truffle soils can be characterized as acidic to subneutral (pH 5,2-6,5) with the absence of CaCO₃, except samples from Dongchuan district (SOIL1 and SOIL5) where higher, neutral pH (6,5-6,9) and some CaCO₃ (3,6-4,6%) were detected. High humus content and variable macronutrient levels were measured.

SAMPLE	pH(KCl)	SPA	EC	CaCO ₃ (%)	HUMUS (%)	NO ₃ ,NO ₂ ,N (ppm)	P ₂ O ₅ (ppm)	K ₂ O (ppm)	Ca (ppm)	Mg (ppm)
SOIL1	6,84	60	0,04	3,6	5,28	90,7	121,0	138,0	13000,0	832,0
SOIL2	5,63	79	<0,02	0,0	5,64	1,4	55,2	460,0	2620,0	643,0
SOIL3	5,76	45	<0,02	0,0	4,85	0,5	32,2	250,0	1810,0	396,0
SOIL4	6,40	58	0,07	0,0	5,31	1,3	71,1	523,0	2240,0	353,0
SOIL5	6,94	54	<0,02	4,6	5,33	6,9	75,5	67,3	16600,0	685,0
SOIL6	6,05	67	<0,02	0,9	5,60	1,2	47,2	328,0	5060,0	400,0
SOIL7	5,16	77	<0,02	0,0	6,55	0,8	56,4	396,0	15000,0	631,0

Table 2. Chinese *Tuber indicum* soils

Acknowledgements

The authors wish to express their gratitude to MAG Foundation, Beres Foundation and MECENATURA program for providing financial support to the research and the participation in the conference.



ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF WILD EDIBLE MUSHROOMS: INDIVIDUAL CAP AND STIPE ACTIVITY

Rafael Ferreira, Paula Raposo, Miguel Vitor-Boua and Lilian Barros

CIMO - Centro Superior Agrário Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Sta. Apolónia, Apartado 1170, 5301 855 Bragança, Portugal. rafael@ipb.pt



The search for new products with antioxidative properties is a very active domain of research. The antioxidative and free radical scavenging properties of phenolic compounds in mushroom methanolic extracts have been reported, suggesting possible protective roles of these compounds due to their ability to capture metals, inhibit lipoperoxidase and scavenge free radicals. The Northwest of Portugal, due to their climatic conditions and flora diversity, is one of the European regions with higher wild edible mushrooms diversity, some of them with great gastronomic relevance.

Herein, we report the evaluation of antioxidative properties of two wild edible mushroom species from the northwest of Portugal: *Lactarius stipitatus* (L.) Gray and *Tricholoma putrescentium* (Fr.) Quel. Methanolic extracts from the whole mushroom, the cap and the stipe separately were screened for their reducing power and free-radical scavenging capacity by chemical assays. The total phenolic content was determined in order to assess the effect of the antioxidant activity.

• Samples of *L. stipitatus* and *T. putrescentium* were collected under forest trees (*Quercus pedunculata*) (figure 1), in Bragança (Northwest of Portugal), in 2004. After collection and taxonomic identification, the mushrooms were stored at 32°C for 70h before analysis.



Figure 1. - General view of forest (Quercus pedunculata) where the species collected were *Lactarius stipitatus* and *Tricholoma putrescentium*.

• All the analyses were performed using either the:



• Mushroom samples were extracted by stirring with methanol at 20 °C at 180 rpm for 2 x 240 and 30min, the combined methanolic extracts were evaporated at 40 °C in vacuum, redissolved in methanol at a concentration of 50 mg/ml and stored at 4 °C for further use.

• Total phenolic content was determined using Folin and Ciocalteu's phenol reagent. The reducing power was evaluated measuring absorbance at 700 nm after mixing the extracts with ferric oxydant, while antioxidant activity (free radical scavenging power) was measured using DPPH (1,1-diphenylpicrylhydrazyl) radical assay. Absorbance readings were taken at absorbance at 517 nm due to the DPPH radical reduction, measuring the individual activity of the cap and stipe in a single test.

Table 1. Chemical free radical scavenging activity of methanolic extracts from two wild edible mushroom species.

Continued (ppm)

<i>L. stipitatus</i> (cap)	<i>L. stipitatus</i> (stipe)	<i>L. stipitatus</i> (whole)	<i>T. putrescentium</i> (cap)	<i>T. putrescentium</i> (stipe)	<i>T. putrescentium</i> (whole)
17.25 ± 0.08	10.06 ± 0.52	9.57 ± 0.24	10.80 ± 0.47	8.57 ± 0.31	3.81 ± 0.15

IC₅₀ values are expressed in ppm. Error bars represent SD.



Figure 2. Scavenging effect of DPPH radical by methanolic extracts from cap and stipe of *Lactarius stipitatus* and *Tricholoma putrescentium*.

Table 2. DPPH scavenging activity of methanolic extracts of mushroom cap and stipe and whole mushroom.

Sample	Reducing power (IC ₅₀) ^a	IC ₅₀ ^b
<i>Lactarius stipitatus</i>	3.42	8.52
<i>Lactarius stipitatus</i> (cap)	3.58	25.93
<i>Lactarius stipitatus</i> (stipe)	6.88	12.51
<i>Tricholoma putrescentium</i>	5.52	37.02
<i>Tricholoma putrescentium</i> (cap)	2.89	41.75
<i>Tricholoma putrescentium</i> (stipe)	4.32	174

^aReducing power (IC₅₀) expressed in ppm of methanolic extract.
^bIC₅₀ values are expressed in ppm (50 µg/ml) of methanolic extract.

Lactarius stipitatus (stipe) required 200% additional mushroom than *Tricholoma putrescentium* (stipe) to reach the same IC₅₀ values, which is an equivalent of the higher content of phenolic found in the first species. The same result was reached at 80% values for DPPH scavenging effect (IC₅₀ against 10⁻⁴ decrease in absorbance) required for *T. putrescentium*. The use of the whole mushroom is recommended and once again the methanolic cap extracts do better than the stipe (antioxidative for *T. putrescentium* the DPPH scavenging activity, antioxidant activity when the stipe was used). The IC₅₀ values obtained for reducing power were better than its half.

© 2006 SIV (Sistema Integrado de Valorização) e CIMO (Centro Superior Agrário Instituto Politécnico de Bragança). Todos os direitos reservados. Este trabalho é licenciado sob a Licença de Atribuição de Creative Commons.



Piedmont white truffle (*Tuber magnatum* Pico) mycorrhization : new basis

Chevalier Gérard¹, Guillaumin Jean-Jacques¹, Oudin Annick² & Dupré Chantal¹

1. UMR INRA/UBP Amélioration et Santé des Plantes, 234 av. du Brézet, 63100 Clermont-Ferrand, France
2. Robin Pépinières, BP 12, 05500 Saint Laurent du Cros, France

HISTORY

25 years ago
The plants produced according to the classical methods (spore inoculation) and presumed mycorrhized with *T. magnatum* were in fact mycorrhized with other truffle species

1994
The use of isozymes allowed to identify the mycorrhizae and mycelia of *T. magnatum* (Bullini et al)

2001
Genomic markers (ITS) finally allowed us to confirm the biochemical ones and to identify undoubtedly the mycorrhizae of *T. magnatum*

WHY

Why this difference between the natural truffles and the inoculated truffle species ?

T. magnatum fruitbodies carry, on their surface or inside the gleba, propagules of foreign fungi (mycorrhizal, including several truffles, or not).



Ascospores of *T. magnatum* present a weak germinative ability and are disadvantaged with regard to the internal contaminants of the fruitbody



These reasons explain why controlled mycorrhization with *T. magnatum* is difficult to obtain



Fungi are transported by many soil animals into the trufflebody



Many colonising fungi grow in the trufflebody area

The saprotres that are present in the fruitbodies of *T. magnatum* are exclusively Ascomycetes essentially of the order of Hypoxylales (Trichothecium, Clavulicium) and at a lesser degree of Eurotiales (Trichothecium, Phialophora, Phoma, etc.), Gasterales (Myoglyphales) and Zygomycetes. The trufflebody also contain frequently the inoculated mycorrhizal Ascomycetes (Pezizomycetes) recently found inside roots of the *Gephiolanthus stanselmeieri* orchid by Jousé et al.

CONCLUSION

The obvious fact that *T. magnatum* fruitbodies do carry propagules from other mycorrhizal fungi must be taken into consideration when the inoculum is prepared in order to produce reliable mycorrhizal seedlings.

References :

- * Bullini L., Biondi E., Chevalier G., Dupré C., Ferrara A.M., Palenzona M., Salicandro P. & Urlandi S., 1994 - Use of genetic markers in the study of mycorrhizae and mycelia of the genus *Tuber*. Abstracts of the International Symposium of Biotechnology of ectomycorrhizae : molecular approaches, Urbino (Italy), November 9th-11th, 1994 : 81.
- * Palenzona M. & Fontana A.N., 1979 - Synthèse des mycorrhizes de *T. magnatum* et de *T. aestivum* sur *Pinus peuceuncus* Willd. *Mushroom Science X (Part I)* : 1007 - 1012.

"TRUFFLES CULTIVATION AND OTHER EDIBLE MUSHROOM FROM TERUEL (SPAIN)"

Main Author: Mariano Casas Gimeno

Contribution Authors: Mercedes Ferrer Gasulla and Samuel Chopo Prieto

Address: Cultivos Forestales y Micológicos, Finca "La Tabla", s/n c.p.44709 Torre de las Arcas (TERUEL) SPAIN

info@cultivosforestales.com



The cultivation of white truffles in the eastern region of the Iberian Peninsula (Spain) is a very recent development. In the last decade, the area has been growing with the aim of producing high-quality truffles in the region.

Truffles are fungi that grow underground in the roots of certain trees. They are highly valued for their unique flavor and texture. The cultivation of truffles is a complex process that requires a lot of knowledge and experience. The authors of this article describe the different stages of truffle cultivation, from the selection of the site to the harvesting of the truffles.

The products of the cultivation of these mushrooms are highly valued and can be used in a variety of dishes. The authors provide a list of recipes that use truffles, along with information on how to store and use them.

The authors of this article are experts in the field of truffle cultivation and have a wealth of experience in this area. They provide a detailed and informative guide to the cultivation of truffles, which is a valuable resource for anyone interested in this unique and delicious food.



CULTIVOS FORESTALES Y MICOLÓGICOS

The authors of this article are experts in the field of truffle cultivation and have a wealth of experience in this area. They provide a detailed and informative guide to the cultivation of truffles, which is a valuable resource for anyone interested in this unique and delicious food.

The authors of this article are experts in the field of truffle cultivation and have a wealth of experience in this area. They provide a detailed and informative guide to the cultivation of truffles, which is a valuable resource for anyone interested in this unique and delicious food.

The authors of this article are experts in the field of truffle cultivation and have a wealth of experience in this area. They provide a detailed and informative guide to the cultivation of truffles, which is a valuable resource for anyone interested in this unique and delicious food.



COMPARISON OF TRUFFLE AROMA FROM DIFFERENT CULTURES OF *TUBER MELANOSPORUM*



P. Díaz¹, L.G. García-Montero², E. Ibáñez³, F. J. Señoráns⁴, G. Reglero⁴

¹Universidad Católica de Avila, ²Departamento de Ingeniería Forestal, E.T.S.I. Montes, Universidad Politécnica de Madrid, ³Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC), ⁴Área de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid Autónoma



Key words: aroma, HS-SPME, solid phase microextraction, truffle, *Tuber melanosporum*, *Quercus*, truffle culture

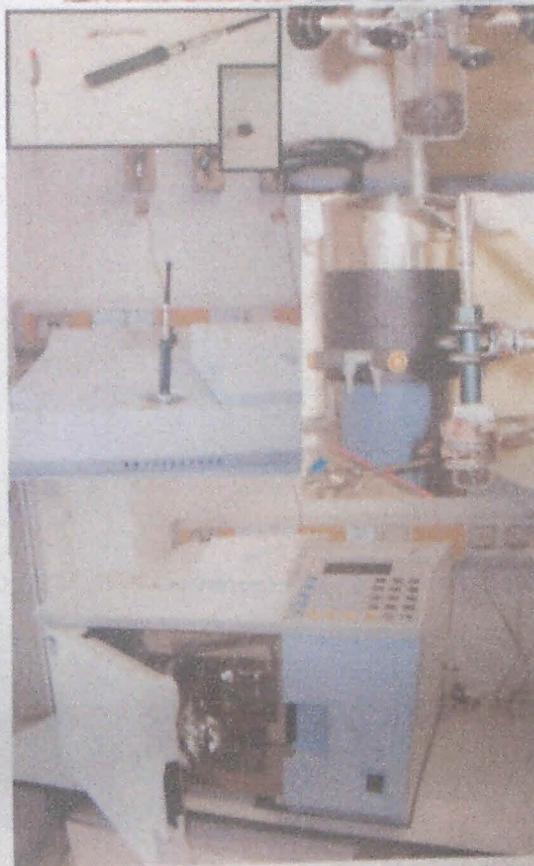
Introduction and Objectives

Tuber melanosporum Vittad. and other truffles belonging to the genus *Tuber* F.H. Wigg are subterranean fungi highly appreciated for its unique and characteristic aroma. Their culinary and commercial value is mainly due to their organoleptic properties, such as aroma, whose quality clearly provides the economic value of such edible fungi. To objectively describe the aroma of the truffles, headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) combined to Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) has been used. Previously, the optimal conditions to maximize the volatile compounds extraction have been obtained by Díaz *et al.* (2003, 2004, 2005). The aim of the present work has been to use this objective method of analysis by means of headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) combined to GC and GC-MS, to study the influence of the different cultures on the aroma of *Tuber melanosporum*.



Materials and Methods

Truffle samples have been harvested from two cultures of Campillo de Paravientos (Cuenca) (*Quercus ilex* and *Q. cerris*). Then they were cut and analysed in fresh to avoid the changes of their organoleptic properties. HS-SPME has been used to extract the volatile compounds of truffle aroma. A fiber of medium polarity (so called for flavors) was used to avoid discrimination towards very non-polar and polar volatile compounds. Then, the extracted compounds have been analysed by GC with flame ionization detector and by GC-MS.



Results and Conclusions

The obtained chromatograms of the truffle samples from the two different cultures have been compared and the compounds have been determined. A comparison among truffles from different *Quercus* species has been established in terms of qualitative and quantitative differences on volatile composition.



INFLUENCE OF A LOW AND ECONOMICAL BLACK TRUFFLE MYCORRHIZATION ON *QUERCUS ILEX* SUBSP. *BALLOTA* GROWTH



L. G. García-Montero¹, J.L. Manjón², G. Di Massimo³ & J. García-Cariete⁴

¹Dpto. Ing. Forestal, ETSI Montes, Universidad Politécnica Madrid; ²Departamento de Silvicultura, Universidad Politécnica Madrid; ³Dpto. Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad Alcalá; ⁴Dpto. Biología Vegetal, Universidad Perugia; ⁵Dpto. Ing. Química, Universidad Rey Juan Carlos

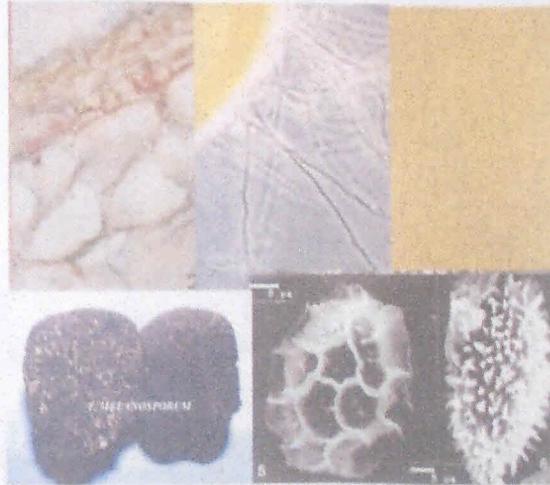


Key words: fungal silviculture, *Quercus ilex*, mycorrhiza, truffle, *Tuber melanosporum*

Introduction and Objectives

Although soil is one of the most studied factors in the biology of the black truffles, however there are very few *Quercus* spp. information about the mushrooms associated that increase their vigor in Mediterranean areas. Owing to this fact the production of mycorrhized plants has been raised in recent years in Spain. The goal of the present study has been to analyse the influence of low *Tuber melanosporum* mycorrhization on *Quercus ilex* subsp. *ballota* growth, to produce extensive and economical reforestation with the black truffle.

Figures



Materials and methods

A method of low intensity mycorrhization of *Tuber melanosporum* on 60 *Quercus ilex* subsp. *ballota* has been applied according to Manjón et al. (1991-1994) and Bencivenga (1982). These plants and 24 control plants without mycorrhization were kept for 15 months under controlled environmental conditions in University of Alcalá. *Tuber melanosporum* mycorrhizae were analysed according to Bencivenga et al. (1987). 18 biometric measures of *Quercus ilex* have been carried out according to Rey Benayas (1995-1998).

Table 5. Regression Analysis. Dependent: (SUF, FOLIARI) Independent: (SORI % TUBERI) (n = 48)

Parameter	Estimate	Standard error	T statistic	P Value
Intercept	64.1983	1.1103	57.763	<0.001
Slope	3.733	1.4398	2.5933	0.0116

Correlation coefficient = 0.7171; R squared = 51.71%; F statistic = 67.67; D.F. = 13, 34

Statistical correlations between the % of *Tuber melanosporum* and *Quercus* growth

Parameter (n)	Root weight	Biomass	Non photosynthetic biomass
N. Total	67.11%	6.72%	6.72%
Control	62.31%	6.96%	6.96%

Table 6. Analysis of Variance ANOVA (n = 48)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Ratio	P Value
Model	74.111	1	74.111	3.28	0.0764
Residual	1571.3	46	34.158		
Total	1645.4	47			

Results of low intensity mycorrhization on 60 Q. ilex

Mycorrhization mean	14%
Std. Dev.	5
Minimum	1%
Maximum	15%

Regression Analysis. Dependent: (SORI % TUBERI) Independent: (log SUE BAL) (n = 48)

Parameter	Estimate	Standard error	T statistic	P Value
Intercept	4.8674	0.48356	10.085	<0.001
Slope	3.3866	0.096997	34.714	<0.001

Analysis of Variance ANOVA (n = 68)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Ratio	P Value
Model	6.1199	1	6.1199	2.68	0.107
Residual	38.078	66	0.57694		
Total	44.197	67			

Results and Conclusions

Low correlations were found between the percentage of *Tuber melanosporum* mycorrhization and root weight, total biomass and non photosynthetic biomass. These results show that *Quercus ilex* subsp. *ballota* production used in reforestation with a low and economical mycorrhization of *Tuber melanosporum* does not increase the forest quality of this oak.

STATISTICAL ANALYSIS OF *SPHAEROSPORELLA BRUNNEA* IMPACT ON *TUBER MELANOSPORUM* CULTURES

L.G. Garcia-Montero¹, G. Di Massimo², J.L. Manjón³ & P. Diaz¹

¹Dpto. Ing. Forestal, E.TSI Montes, Universidad Politécnica Madrid; ²Univ. Perugia; ³Dpto. Biología Vegetal, Universidad de Alcalá



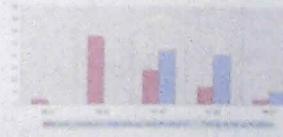
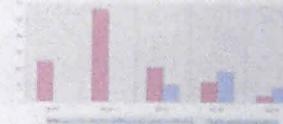
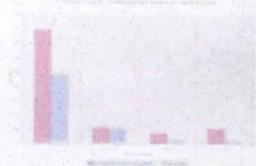
Key words: cultivation technology, *Sphaerospora*, Pezizales, mycorrhiza, *Tuber*

Introduction and Objectives

A casual finding of *Sphaerospora brunnea* in some greenhouses from Spain has been studied. *S. brunnea* is a ectomycorrhizal discomycete (olideaceae, pezizales) which has produced some problems in Italian and French truffle culture. This fungus has contaminated many nurseries and competes with *Tuber* spp. under certain conditions (Chevalier & Dupré, 1990; Meotto *et al.*, 1992; Domini & Bencivenga, 1994; Bencivenga *et al.*, 1995; Domini & Bencivenga, 1995). García-Montero & Manjón (2001) propose that *Sphaerospora brunnea* is not a dangerous contaminant in *Tuber melanosporum* nurseries. The goal of this study is to confirm this hypothesis with statistical analysis.

Materials and methods

In University of Alcalá there was an accidental contamination with *Sphaerospora brunnea* affecting 580 small plants from 9 species that had been slightly mycorrhized with *Tuber melanosporum* (for using in extensive forest reforestations). The evolution of *Sphaerospora brunnea* as a contaminant mycorrhizae has been studied for 3 years under controlled environmental conditions in these nurseries. These mycorrhizae have been analysed according to Bencivenga *et al.* (1987). The statistical treatment was performed with the Statistica Program v. 6 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK 1999).



30 Querces with Tuber roots of *S. brunnea*

Host plant	% <i>S. brunnea</i>	% <i>T. melanosporum</i>	% Other fungi	% Other spp.
Quercus	10	0	0	0
Quercus	0	0	0	0
Quercus	0	0	0	0
Quercus	0	0	0	0
Other species	0	0	0	0

100 Quercus with Tuber roots of *S. brunnea*

Host plant	% <i>S. brunnea</i>	% <i>T. melanosporum</i>	% Other fungi	% Other spp.
Quercus	0	0	0	0
Quercus	0	0	0	0
Quercus	0	0	0	0
Quercus	0	0	0	0
Other species	0	0	0	0

Spearman Rank Order Correlations	Mycorrhizae interaction	R	t(N-2)	p-value
30 Quercus con <i>S. brunnea</i>	<i>S. brunnea</i> & <i>T. melanosporum</i>	0.157174	1.10408	0.374064
50 Quercus con <i>S. brunnea</i>	<i>S. brunnea</i> & other fungi	-0.300910	-2.18608	0.034718
50 Quercus con <i>S. brunnea</i>	<i>T. melanosporum</i> & other fungi	-0.600667	-4.76577	<0.0001
100 Quercus spp.	<i>T. melanosporum</i> & other fungi	-0.547937	-4.45454	<0.0001

Results and Conclusions

The 580 small contaminated plants show a low percentage of mycorrhizae of *Sphaerospora brunnea* (mean: 11%, std. dev.: 10). The chi-square indicates that this fungus is associated in a selective way with the different host plants ($p=0.0001$) and it has been proven that *Quercus* spp. are more vulnerable. Spearman test also shows that the mycorrhization of *Tuber melanosporum* has not been significantly affected by *Sphaerospora brunnea*. However, this statistical test indicates that other contaminant ectomycorrhizal fungi have significantly damaged to *Tuber melanosporum* mycorrhizae. These results show that the commercial nurseries devoted to the truffle culture are not threatened with *Sphaerospora brunnea*.

INFLUENCE OF ACTIVE CARBONATE OF THE SOIL ON THE PRESENCE OF BLACK TRUFFLE SPECIES: *TUBER MELANOSPORUM*, *T. AESTIVUM* AND *T. MESENERICUM*



L.G. Garcia-Montero¹, M.A. Casermeiro², S. Murter³, I. Hernandez⁴, J. Hernandez⁵
¹Departamento Forestal ETSI Montes, Universidad Politécnica Madrid, José Gutiérrez Abascal, 2, 28040 Madrid, España
²Departamento de Edafología, Universidad Complutense, U.D. Estación ETSI Montes, Universidad Politécnica Madrid



Key words: ecology, soil, active carbonate, truffle, *Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum*, *Tuber mesentericum*

Introduction and Objectives

Although soil is one of the most studied factors in the biology of the black truffles, however there are very few soil analyses that examine the habitat selection of these mushrooms. The aim of this study is to analyse the components and properties of the surface horizon of 12 soils and establish their relationship with habitat's selection of *Tuber melanosporum*, *T. aestivum* and *T. mesentericum*.

Study Area and Figures

The study area is situated in Natural Park of Nbr Two (Quadrante and Cuenca). This area is a mountainous region at an altitude of more than 1000 m in a Sub-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid, shadow climate. Average annual precipitation is 800 mm, with the yearly average temperatures 10°C and very cold winters. Its vegetation consists of forests of *Quercus Ilex* Linn., *Carpinus betulus* L., *Castanea sativa* Linn., *Prunus* sp.

Materials and Methods

Twelve soils were selected according to truffle species: 8 samples were taken in burrs of *Tuber melanosporum*, 3 samples in burrs of *T. aestivum* and 3 samples in burrs of *T. mesentericum*. Two soil samples were taken in these burrs according to RAO (1990). The following properties were analysed: pH, total organic carbon, anion-cation carbonate equivalent, gravimetric analysis, cation exchangeable capacity, total sum of the bases, and the base saturation percentage, following the methods of the ISRIC (1988); the textures were classified according to the ISSS; the total nitrogen was analysed with the variant of the Bial and Crozier method (1965); the carbonate extraction with ammonium oxalate was determined according to AFNOR (1962). The determination of the cation exchange of Ca^{2+} and Mg^{2+} was done by Atomic Absorption Spectroscopy (Philips UP2100), and K^{+} and Na^{+} with a flame photometer (Sherwood 470). The statistical treatment was performed with the Statistica Program v. 6 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, 1994).



Soil	Species	pH	TOC (%)	CEC (meq/100g)	Base Sat (%)	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	Total N (%)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	K (mg/kg)	Na (mg/kg)
1	<i>T. melanosporum</i>	7.5	12.5	15.2	65.3	35	45	20	0.15	120	80	150	10
2	<i>T. melanosporum</i>	7.8	11.8	14.8	68.1	32	48	20	0.14	110	75	140	12
3	<i>T. melanosporum</i>	7.6	13.2	16.1	62.5	38	42	20	0.16	130	85	160	11
4	<i>T. melanosporum</i>	7.4	12.1	15.5	66.8	34	46	20	0.15	115	78	150	10
5	<i>T. melanosporum</i>	7.7	11.5	14.9	67.2	33	47	20	0.14	112	76	145	11
6	<i>T. melanosporum</i>	7.9	12.8	15.8	64.5	36	44	20	0.15	125	82	155	10
7	<i>T. melanosporum</i>	7.5	13.5	16.5	61.8	37	43	20	0.16	135	88	165	11
8	<i>T. melanosporum</i>	7.6	12.3	15.3	65.9	35	45	20	0.15	122	80	152	10
9	<i>T. aestivum</i>	7.3	10.5	13.5	70.2	30	50	20	0.13	105	70	135	10
10	<i>T. aestivum</i>	7.4	11.2	14.2	68.5	31	49	20	0.14	112	75	142	11
11	<i>T. aestivum</i>	7.2	9.8	12.8	71.5	29	51	20	0.12	100	68	130	9
12	<i>T. mesentericum</i>	7.1	9.2	12.2	72.8	28	52	20	0.11	95	65	125	8

Results and Conclusions

Principal Component Analysis has shown that the presence of *Tuber melanosporum* versus *T. aestivum* and *T. mesentericum* is less influenced by their collective soils parameters. Nevertheless an Analysis of Variance (ANOVA) and a Logistic Regression indicate that the content of carbonate extractable in ammonium oxalate (active carbonate) is the variable that accounts for the habitat selection of *T. melanosporum*. Also, this type of carbonate is associated with other factors that affect the successful growth of *T. melanosporum*. The results obtained for active carbonate could have applications in truffle culture.

MEAN PRECIPITATION INFLUENCE ON THE NATURAL PRODUCTION OF *TUBER MELANOSPORUM* IN CENTRAL SPAIN



L.G. Garcia-Montero¹, A. Moreno², E. Ayuga³, C. Pascual⁴, M.A. Grande⁵, G. Di Massimo⁶, E. Trucho¹
¹Dpto. Ing. Forestal, ETSI Montes, Universidad Politécnica Madrid; ²Estación Meteorológica del INM n°3003, Peralejos de las Truchas (Guadalajara); ³U.D. Estadística, ETSI Montes, Universidad Politécnica Madrid; ⁴Dpto. Ingeniería Ambiental, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid; ⁵Biología Vegetal, Universidad Peruga

Key words: ecology, *Tuber melanosporum*, truffle, production, precipitation, Spain

Introduction and Objectives

Climate and precipitation influence on *Tuber melanosporum* production is still not well known. A preliminary study of pluviometric data and truffle producing capacity of *T. melanosporum* was done in Peralejos de las Truchas (García-Montero et al., 2002) for the 60's, maximum annual production of *Tuber melanosporum* was calculated up to 700 Kg for the 6.900 ha of Peralejos de las Truchas County surface area. However in the 90's, maximum annual production was estimated between 400 and 500 Kg. Therefore, the maximum annual yield has been reduced up to 35%. These reduction can be partially explained by a decrease in mean annual precipitation of 30% for the same period, despite summer mean precipitation increased in 28%. Precipitation in winter, spring and autumn decreased in 60%, 19% and 10% respectively. On the other hand, the effect of monthly mean precipitation on *T. melanosporum* production was analyzed. This monthly production was estimated based in the weekly harvest of two harvesters during 10 years.



Study area and figures

The study area is situated in Natural Park of Alto Tajo (Guadalajara and Cuenca). This area is a mountainous region at an altitude of more than 1000 m in a Supra-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid, shadow climate. Average annual precipitation is 800 mm, with low yearly average temperatures (10°C) and very cold winters. Its vegetation consists of forests of *Quercus faginea* Lam. (*Cephalanthus longifolius-Querceto fagineae* S.).

Results and Conclusions

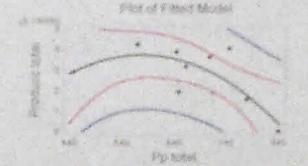
The table shows Pearson product moment correlations between each pair of variables. These correlations are significant for levels 1 and 1% and indicate the strength of the linear relationship between the variables. The values in parentheses in the number of pairs of data.

	Product media	Product total
Pp junio	0,2221	0,2176
Pp jul	0,2002	0,2141
Pp agosto	0,2001	0,2421
Pp sept	0,2172	0,2429
Pp oct	0,2707	0,2492
Pp nov	0,2422	0,2422
Pp diciembre	0,2171	0,2421
Pp enero	0,2171	0,2421
Pp febrero	0,2171	0,2421
Pp marzo	0,2171	0,2421
Pp abril	0,2171	0,2421
Pp mayo	0,2171	0,2421
Pp total	0,2171	0,2421

The output shows the results of fitting a multiple linear regression model to describe the relationship between Product total and Pp total. The equation of the fitted model is:

$$\text{Product total} = 12464.6 + 52.816 \cdot \text{Pp total} - 8.4880 \cdot \text{Pp total}^2$$

R squared = 0,4348 percent

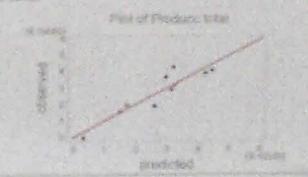


The model shows the results of fitting a multiple linear regression model to describe the relationship between Product total and Pp total. The equation of the fitted model is:

$$\text{Product total} = 24133.7 + 1772.55 \cdot \text{Pp agosto} - 813.92 \cdot \text{Pp marzo} + 261.77 \cdot \text{Pp mayo} - 261.89 \cdot \text{Pp junio} - 261.89 \cdot \text{Pp julio}$$

Since the F statistic for the total regression model is 20.266, it is statistically significant indicating that the variables at the 95% confidence level. The R squared statistic indicates that the model is able to explain 85.437% of the variability in Product total.

The observed mean Product total values plus the observed values minus the predicted values for the dependent variable. The plot includes a line with slope equal to 1. If all the predictions are perfect all the points should lie on the line.



Materials and methods

Maximum annual *Tuber melanosporum* production was estimated in Peralejos de las Truchas County between 1960 and 1990. Mean annual precipitation differences were also analyzed for the same period. Pluviometric data were collected from 4 meteorological stations. Besides, a weekly record of the grams of *T. melanosporum* collected by two harvesters during 10 years in natural habitats of Peralejos de las Truchas was done. Monthly mean precipitation and *T. melanosporum* production were compared for these 10 years. Statistical analyses were performed with the Statistica Program v. 6 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK 1999).



OPTIMIZATION OF THE MYCORRHIZATION PROCESS OF PINUS HALEPENSIS IN CONTROLLED CONDITIONS

El Mostafa Ouaraqi^{1, 2}, Laaiza Ben khafed¹, Zineb Diani¹, Asunción Morés³, María-Honorata³, Abdellah Ouhabi¹ and Cherkaoui EL-Moudfar²

(1) Lab. Physiologie végétale, Faculté des Sciences Semlali, Département de Biologie, B.P. 2500, 40000 Marrakech, Maroc;

(2) Lab. Biotechnologie et Phytopathologie moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques de Saïdia, Département de Biologie,

B.P. 618, 40000 Marrakech, Maroc; (3) Lab. Mycologie, Département de Biologie-Végétale, Campus d'Espardo, 30100 Murcia, Spain

INTRODUCTION

The *Pinus halepensis* Mill. constitute a very important Moroccan forested essences. Several biotic and abiotic factors reduce considerably the potential of production in forested mountains. Nevertheless, the extreme pedoclimatic particularly severe which exist in this Mediterranean region require the use of forested seedlings of excellent quality, capable of ensuring the success of reforestation, by the improvement of the rate of their rearing and the stimulation of their growth. The development of new processes of production of forested seedlings, constituted these last decades a remarkable progress in production of the qualitative seedlings. In addition to their nutritional role, ectomycorrhizal mushrooms confer to their hosts plants a protection toward pathogenic microbials and tolerance of their drought. Among the factors which intervene in the success of the controlled mycorrhization, the choice of forested site, the inoculum condition, the procedure of inoculation and the effect of the survival of the mycelia and their capacity to infect receptive roots.

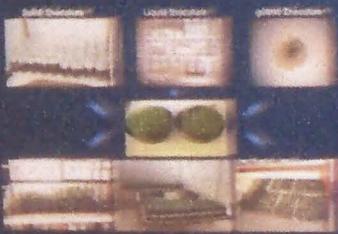
Our work integrated in this general setting and has for objectives, the optimization of the culture techniques, the multiplication, the production of inoculum and the controlled mycorrhization, as the evaluation of the effect of ectomycorrhizal mushrooms (species *Clavaria coralloides*, *Clavaria Adonis*, *Abolobus megalosporus*, *Tricholoma faveolatum* and two isolates of *Sclerotinia morphospecies* the isolat 3530 and the isolat 3532) on the growth and the development of *Pinus halepensis*.

MATERIAL & METHODS

The seedlings of pine, object of our study, are produced by germination of seeds (obtained from the regional center of forest research, Marrakech).

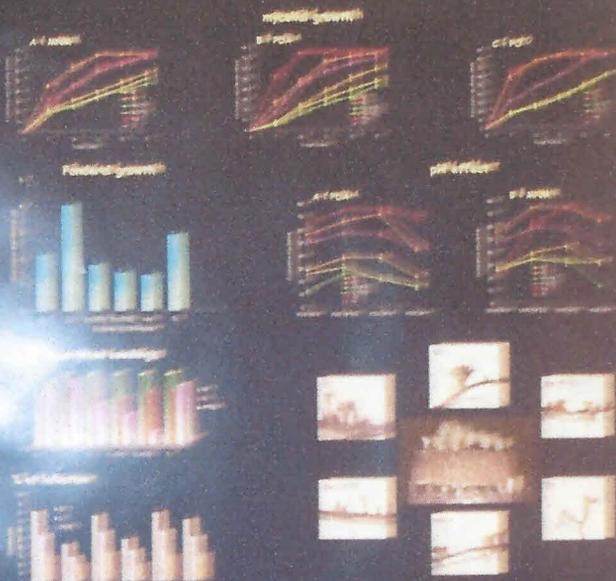
The ectomycorrhizal mushrooms used notably *Clavaria coralloides* (F.F.) DC. Karster, *Clavaria Adonis* (Des.) Wietz, *Abolobus megalosporus* (Pers.) Oudem., *Tricholoma faveolatum* (Sacc.) Fr., *Sclerotinia* and two strains of *Sclerotinia morphospecies* (3530 and 3532) & 3533) isolated in the forest 3530 and the strain 3532, are collected through prospecting in the pine forests of the Haouz region, Morocco. The culture and evaluation of the mycorrhizal mushrooms growth were realized in GCMN and PG media at 25°C.

Techniques of inoculation



The control of the growth and the mycorrhization of seedlings of the various treatments was made after 9 months of culture. For the selection of the technique of inoculation the most adapted to our conditions of work and the evaluation of the mycorrhizal effect in the growth and the nutrient nutrition of seedlings pine.

RESULTS & DISCUSSION



Mycorrhizal Effect on the growth and nutrient composition of *Pinus halepensis*

	Control	glc	glc	3530	3532	3533	3534	3535
HR (g/g)	1.000	1.07	1.04	1.06	1.05	1.03	1.02	1.01
FR (g/g)	1.000	1.05	1.02	1.04	1.03	1.01	1.00	0.99
HR (g/g)	1.000	1.08	1.05	1.07	1.06	1.04	1.03	1.02
FR (g/g)	1.000	1.06	1.03	1.05	1.04	1.02	1.01	1.00
HR (g/g)	1.000	1.09	1.06	1.08	1.07	1.05	1.04	1.03
FR (g/g)	1.000	1.07	1.04	1.06	1.05	1.03	1.02	1.01

CONCLUSION

- All used symbiotic species showed the capacity to develop on MMN, PG and PG media.
- The optimum of the mycelial growth is observed for a pH 5.5-6.0.
- The mycorrhizal success of pine seedlings depend:
 - Infectious potential of mycorrhizal strains toward hosts;
 - The aptitudes of culture condition of the strains;
 - Quality of effective inoculation of inocula;
- The use of total inoculum allow to obtain a very high degree of mycorrhizal (90-95%) mycorrhizal seedlings;
- The synthetic species *Clavaria coralloides*, *Abolobus megalosporus* and the strain 3530 of *Sclerotinia morphospecies* showed a positive correlation between the intensity of infection and the stimulation of the growth and the nutrient nutrition.

CURRENT STATE AND PERSPECTIVES OF TRUFFLE CULTIVATION IN CHILE

Elaborado por: **AgroBlotruif** | **AgroBlotruif** | **AgroBlotruif**
 Elaborado por: **AgroBlotruif** | **AgroBlotruif** | **AgroBlotruif**
 Elaborado por: **AgroBlotruif** | **AgroBlotruif** | **AgroBlotruif**

INTRODUCTION

The establishment of truffle cultivation in Chile began in the year 2002, through an agreement between the Chilean University of the Bío-Bío and the University of Turin, through the support of the Chilean Ministry of Agriculture.

As a first step, the initial objective was to establish a pilot project in the Bío-Bío region, with the aim of generating a model for the rest of the country. This project was implemented by the University of Turin, through the support of the Chilean Ministry of Agriculture, through the support of the Chilean University of the Bío-Bío.

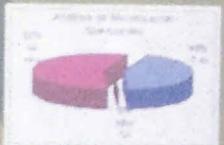
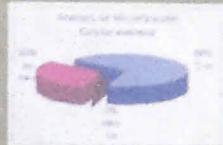
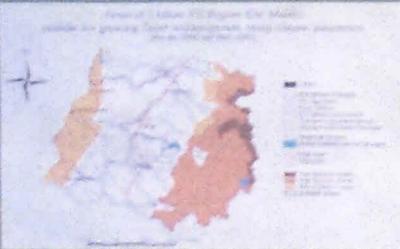
Today, the Chilean truffle sector has managed to reach a level of development that allows it to produce and export truffles, with a production of approximately 100 kg per year.



PRODUCTION

Truffle production in Chile is carried out in a controlled environment, using a specific substrate and a carefully selected truffle tree. The truffle trees are planted in rows, and the substrate is applied around the base of the tree. The truffle trees are harvested after 18-24 months of cultivation.

Truffle production in Chile is carried out in a controlled environment, using a specific substrate and a carefully selected truffle tree. The truffle trees are planted in rows, and the substrate is applied around the base of the tree. The truffle trees are harvested after 18-24 months of cultivation.



ÁREAS DISPONIBLES PARA TRUFFLES
 El territorio chileno ofrece grandes oportunidades para el cultivo de trufas, especialmente en la zona central y sur. Las condiciones climáticas y del suelo en estas zonas son ideales para el desarrollo de los hongos trufales.

El territorio chileno ofrece grandes oportunidades para el cultivo de trufas, especialmente en la zona central y sur. Las condiciones climáticas y del suelo en estas zonas son ideales para el desarrollo de los hongos trufales.



CONSEJOS PARA EL CULTIVO DE TRUFFLES
 Para obtener una buena cosecha de trufas, es importante seguir algunas recomendaciones clave, como la selección de la variedad de árbol adecuada y el uso de un sustrato de alta calidad.

Para obtener una buena cosecha de trufas, es importante seguir algunas recomendaciones clave, como la selección de la variedad de árbol adecuada y el uso de un sustrato de alta calidad.

TRUFFLES EN LA OFERTA DE TRUFFLES
 El mercado de trufas en Chile está experimentando un crecimiento constante, impulsado por la creciente demanda de este producto gourmet.



CONSEJOS PARA EL CULTIVO DE TRUFFLES
 Para obtener una buena cosecha de trufas, es importante seguir algunas recomendaciones clave, como la selección de la variedad de árbol adecuada y el uso de un sustrato de alta calidad.

El mercado de trufas en Chile está experimentando un crecimiento constante, impulsado por la creciente demanda de este producto gourmet.



El mercado de trufas en Chile está experimentando un crecimiento constante, impulsado por la creciente demanda de este producto gourmet.

AgroBlotruif
 www.agroblotruif.cl



Valdemeca (Cuenca, Spain): an experience in local regulation of mycological resources



José Pascual Romagosa*, Domingo Barrio-Silvestre**, Anaïs de los Angeles*** y Alicia Valdes-Franco****

*Universidad de Castilla-La Mancha, josepascual@uclm.es
**Instituto de Estudios Agrarios
***Instituto de Estudios Agrarios
****Instituto de Estudios Agrarios



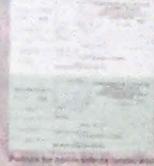
Valdemeca (Cuenca, Spain)

ABSTRACT

Mycological resources offer a possibility for rural development in underprivileged areas. Valdemeca is a pioneer in the regulation of these natural resources. Since 1987, the town has a municipal initiative that ensures a permit for active hunting to gather mushrooms. The negative consequences of forest fires and the forest clearing, disturbing the ground, getting the environment... was the main reason for the town authorities creating this initiative with the support of local ecologists. In the forest of Valdemeca there is an abundance of edible mushrooms. Additionally, the most gathered species is *Lactarius stipitatus*, because there is more demand for this species among buyers from the markets of Valencia.

INTRODUCTION

Valdemeca is a small town in the province of Cuenca (21.4 km²), located 170 km from the city of Madrid. It is a typical agricultural town. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987.



	Individual permits	Other
Season period	1st of October to 31st of October	1st of October to 31st of October
One day only permit	1st of October to 31st of October	1st of October to 31st of October
Permit price	10€	10€



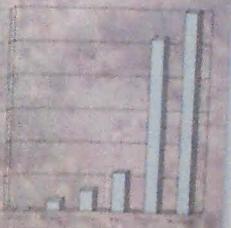
In Valdemeca, the mushroom gathering is a traditional activity. The town authorities have been promoting this activity since 1987. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987.

- Lactarius stipitatus*
- Cantharellus cibarius*
- Clavaria pistillata*
- Hydnum repandum*
- Boletus edulis*
- Boletus aestivalis*
- Boletus reticulatus*
- Boletus pinnatus*
- Boletus aestivalis*
- Boletus pinnatus*
- Boletus aestivalis*
- Boletus pinnatus*



FORESTRY RESOURCES

Forestry resources in the town of Valdemeca. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987.



CONCLUSIONS

The town authorities have been promoting this activity since 1987. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987.



PROPOSALS

The town authorities have been promoting this activity since 1987. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987.



Valdemeca (Cuenca, Spain) is a small town with a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987. The town has a rich tradition of mushroom gathering. The town authorities have been promoting this activity since 1987.



Edible Ectomycorrhizal Mushrooms from Birch and Douglas-Fir Clear-Cut Plantations and Mature Forests in the Southern Interior of British Columbia, Canada

S. Gamiet¹, D.M. Durall², S.W. Simard³, L. Kudrna³ and S.M. Sakakibara²

Introduction

Edible ectomycorrhizal mushrooms are a valuable source of food and medicine. They are also important components of forest ecosystems, playing a role in nutrient cycling and soil formation. This study aims to identify and characterize edible ectomycorrhizal mushrooms in clear-cut plantations and mature forests in the Southern Interior of British Columbia, Canada.

Study Site Locations



Objectives

The objectives of this study were to identify and characterize edible ectomycorrhizal mushrooms in clear-cut plantations and mature forests in the Southern Interior of British Columbia, Canada.

Methods

The study was conducted in two clear-cut plantations and two mature forests. Mushrooms were collected from 100 plots in each site. The species richness and abundance of mushrooms were determined. The study also included a comparison of precipitation between May and October.

Stand and Site Characteristics

Site	Stand Age	Site	Stand Age	Site	Stand Age
1	10	2	10	3	100
4	10	5	100	6	100
7	100	8	100	9	100
10	100	11	100	12	100
13	100	14	100	15	100
16	100	17	100	18	100
19	100	20	100	21	100
22	100	23	100	24	100
25	100	26	100	27	100
28	100	29	100	30	100
31	100	32	100	33	100
34	100	35	100	36	100
37	100	38	100	39	100
40	100	41	100	42	100
43	100	44	100	45	100
46	100	47	100	48	100
49	100	50	100	51	100
52	100	53	100	54	100
55	100	56	100	57	100
58	100	59	100	60	100
61	100	62	100	63	100
64	100	65	100	66	100
67	100	68	100	69	100
70	100	71	100	72	100
73	100	74	100	75	100
76	100	77	100	78	100
79	100	80	100	81	100
82	100	83	100	84	100
85	100	86	100	87	100
88	100	89	100	90	100
91	100	92	100	93	100
94	100	95	100	96	100
97	100	98	100	99	100
100	100	101	100	102	100

Results

- A total of 100 plots were sampled in each site.
- The species richness and abundance of mushrooms were determined.
- The study also included a comparison of precipitation between May and October.

Abundance of Edible Ectomycorrhizal Mushrooms on Sites

Species	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
1	10	20	30	40
2	15	25	35	45
3	20	30	40	50
4	25	35	45	55
5	30	40	50	60
6	35	45	55	65
7	40	50	60	70
8	45	55	65	75
9	50	60	70	80
10	55	65	75	85
11	60	70	80	90
12	65	75	85	95
13	70	80	90	100
14	75	85	95	105
15	80	90	100	110
16	85	95	105	115
17	90	100	110	120
18	95	105	115	125
19	100	110	120	130
20	105	115	125	135
21	110	120	130	140
22	115	125	135	145
23	120	130	140	150
24	125	135	145	155
25	130	140	150	160
26	135	145	155	165
27	140	150	160	170
28	145	155	165	175
29	150	160	170	180
30	155	165	175	185
31	160	170	180	190
32	165	175	185	195
33	170	180	190	200
34	175	185	195	205
35	180	190	200	210
36	185	195	205	215
37	190	200	210	220
38	195	205	215	225
39	200	210	220	230
40	205	215	225	235
41	210	220	230	240
42	215	225	235	245
43	220	230	240	250
44	225	235	245	255
45	230	240	250	260
46	235	245	255	265
47	240	250	260	270
48	245	255	265	275
49	250	260	270	280
50	255	265	275	285
51	260	270	280	290
52	265	275	285	295
53	270	280	290	300
54	275	285	295	305
55	280	290	300	310
56	285	295	305	315
57	290	300	310	320
58	295	305	315	325
59	300	310	320	330
60	305	315	325	335
61	310	320	330	340
62	315	325	335	345
63	320	330	340	350
64	325	335	345	355
65	330	340	350	360
66	335	345	355	365
67	340	350	360	370
68	345	355	365	375
69	350	360	370	380
70	355	365	375	385
71	360	370	380	390
72	365	375	385	395
73	370	380	390	400
74	375	385	395	405
75	380	390	400	410
76	385	395	405	415
77	390	400	410	420
78	395	405	415	425
79	400	410	420	430
80	405	415	425	435
81	410	420	430	440
82	415	425	435	445
83	420	430	440	450
84	425	435	445	455
85	430	440	450	460
86	435	445	455	465
87	440	450	460	470
88	445	455	465	475
89	450	460	470	480
90	455	465	475	485
91	460	470	480	490
92	465	475	485	495
93	470	480	490	500
94	475	485	495	505
95	480	490	500	510
96	485	495	505	515
97	490	500	510	520
98	495	505	515	525
99	500	510	520	530
100	505	515	525	535

Cantharellus cibarius, a Douglas-Fir associate found in Conifer and Mixed Mature Forests



Arctia cantharellus, a western hemlock associate, found in Conifer Forests



Species Richness of Mushrooms Found in Stand Age and Tree Species Composition Treatments

Stand Age	Tree Species Composition	Species Richness
10	1	10
10	2	20
10	3	30
10	4	40
10	5	50
100	1	100
100	2	200
100	3	300
100	4	400
100	5	500

Comparison of Precipitation (Measured Between May and October) between of Edible Mushrooms



Conclusions

The study found that edible ectomycorrhizal mushrooms are abundant in clear-cut plantations and mature forests in the Southern Interior of British Columbia, Canada. The species richness and abundance of mushrooms were determined. The study also included a comparison of precipitation between May and October.

Acknowledgments

The authors thank the following individuals for their assistance in this study: [Names of individuals]

Species Richness of Six Whole Fungal Communities: Edible and Non-Edible Fungi

Site	Edible	Non-Edible	Edible + Non-Edible
10	10	20	30
100	100	200	300
1000	1000	2000	3000
10000	10000	20000	30000

STUDY OF THE MACROFUNGI COMMUNITY ASSOCIATED WITH PINUS (*PINUS PINASTER*), CHESTNUT (*CASTANEA SATIVA*) AND OAK (*QUERCUS PYRENAICA*), IN THE NORTHEAST OF PORTUGAL



Baptista P., Rodrigues PC, Sousa MJ, Rodrigues AP, Borges A, Martins A
 Escola Superior Agrária de Bragança, Quinta de Sta. Apolónia, Apt. 1 172, 5301-855 Bragança, Portugal.
 Parque Natural de Montesinho, Rua Cônego Albano Falcão, Lote 5, Apt. 90, 5301-901 Bragança, Portugal.
 ARBOREA, Edifício da Casa do Povo - Largo do Toural, 5320-311 Vinhais, Portugal.



INTRODUCTION

The work here presented concerns the preliminary results of the Project AGRO 689 "Agronomic, economic and environmental interest of macrofungi associated with pinus (*Pinus pinaster*), chestnut (*Castanea sativa*) and oak (*Quercus pyrenaica*), in the Northeast of Portugal: Production of mycorrhizal pinus, chestnut and oak plants".

The biodiversity of macrofungi associated with each habitat was evaluated taking into account the ratios between mycorrhizal and nonmycorrhizal and edible and non edible species during 2004 fall and 2005 Spring.

MATERIAL AND METHODS

3 plots of 100m² each of *Quercus pyrenaica*, *Castanea sativa* and *Pinus pinaster* habitats were studied during 2004 fall and 2005 Spring. All mushrooms were collected, identified and quantified weekly.



RESULTS

During the two seasons of collection (Autumn 2004 and Spring 2005), oak habitat showed the highest number of species while pine habitat was the poorest in terms of number of species (Fig. 1).

Figure 1 - Number of species of each trophic level

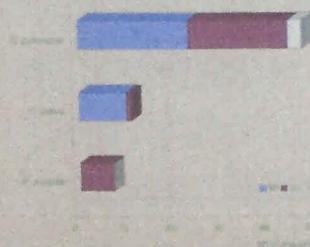
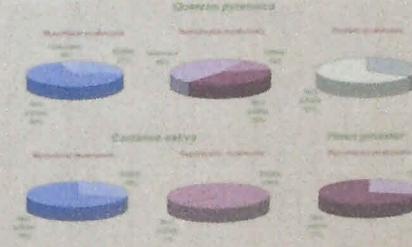


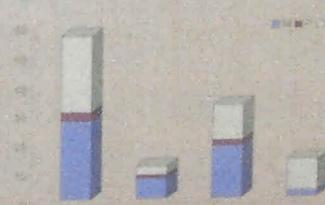
Figure 2 - Mycorrhizability for the different trophic levels in each habitat



Q. pyrenaica habitat exhibited macrofungi belonging to the three trophic levels, being mycorrhizal and saprotrophic present in equivalent ratio (Fig. 1). *C. sativa* habitat had just mycorrhizal and saprotrophic mushrooms most of which are mycorrhizal (Fig. 1). Macrofungi from pine habitat were all saprotrophic (Fig. 1).

The total number of species collected in the three habitats under study was 56. Most of the species collected were non-edible and mycorrhizal (Figs. 2 and 3). Edible species were also mainly mycorrhizal (Fig. 3). In general, during 2004 fall and 2005 Spring there was a higher number of non-edible mushrooms (Figs. 2 and 3).

Figure 3 - Total number of species collected in the three habitats



CONCLUSIONS

Comparing the three habitats studied *Q. pyrenaica* exhibited the higher biodiversity of mushrooms while *P. pinaster* had the lower number of species. *C. sativa* was the habitat with the higher ratio of mycorrhizal species while *Q. pyrenaica* had the same number of mycorrhizal and saprotrophic species.

The climate conditions during the last fall and Spring was the most probable cause for the low number of species collected. Rainfall lower than usual and very dry conditions during the last 8 months were responsible for a very low biodiversity compared with previous results obtained for *C. sativa* and *Q. pyrenaica* habitats. The collection season in progress (2005 fall) still show the effect of the extended climatic conditions occurring the last two years.

SOIL IMPACT IN *CISTUS LAURIFOLIUS* L. POPULATIONS WITH LOW PRODUCTION OF *TUBER MELANOSPORUM*



L.G. García-Montero¹, D. Moreno¹, M.A. Casermeiro², J.L. Manjón³

¹Dpto. Ing. Forestal, ETSI Montes, Universidad Politécnica Madrid ²Dpto. Edafología, Universidad Complutense. ³Dpto. Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de Alcalá



Key words: ecology, soil, *Cistus laurifolius*, truffle, *Tuber melanosporum*

Introduction and Objectives

There have been many studies of *Cistus salvifolius* L., *C. incanus* L. subsp. *incanus*, *C. laurifolius* L., *C. albidus* L., *C. crispus* L. and *C. monspeliensis* L. being mycorrhized with *Tuber melanosporum* (Chevalier et al., 1975; Fontana & Giovannetti, 1978-79; Giovannetti & Fontana, 1981; 1982; Manjón et al., 1994; García-Montero & Manjón, 2001). There are also studies of the mycorrhiza ultrastructure of *T. melanosporum* in *Cistus incanus* and their relation with bacteria (Fusconi, 1983; Bejerano et al., 2001). However, there are limited studies involving truffle ascocarps production with *Cistus* spp. The objective of this study has been to analyse the soil conditions and natural production of *Tuber melanosporum* associated with *Cistus laurifolius* in a central region of the Iberian Peninsula (Alto Tajo Basin).

Study area and Figures

The study area is situated in Natural Park of Alto Tajo (Guadalajara and Cuenca). This area is a mountainous region at an altitude of more than 1000 m in a Supra-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid, shadow climate. Average annual precipitation is 800 mm, with low yearly average temperatures (10°C) and very cold winters. Its vegetation consists of forests of *Quercus faginea* Lam. (*Cephalantho longifoliae-Querceto fagineae* S.).



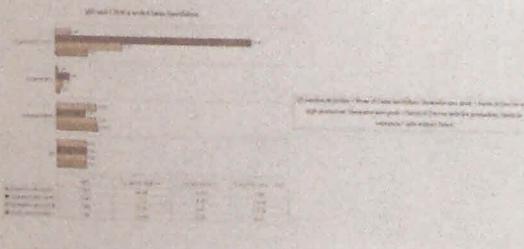
Materials and methods

Twenty-six burns of *Tuber melanosporum* with *Cistus laurifolius* and *Quercus faginea* have been monitored during 3 years in Peralejos de las Truchas (Guadalajara, Spain). Vegetation consists of forests of *Quercus faginea* with 3 ha of brushland of *Cistus laurifolius* (*Genisto scorpii - Cistetum laurifolii*). Soil sampling was done according to FAO (1990). The following properties were analysed: pH and calcium carbonate equivalent following the methods of the ISRIC (1995); the carbonate extractable with ammonium oxalate (active carbonate) has been measured according to AFNOR (1982). The statistical treatment was performed with the Statistica Program v. 6 (StatSoft, Inc. Tulsa, OK 1999).



MEASURED DATA	VALUE (mean)	N	Unit (kg)
CAUSTICITY	76.886	26	281.30
CaCO ₃ EQUIV.	37.422	26	219.97
ACTIVE CARBONATE	22.626	26	34.70
Sum	136.934	48	536.00

MEASURED DATA	VALUE	N	Unit (kg)
CAUSTICITY	76.886	26	417.08
CaCO ₃ EQUIV.	37.422	26	212.22
ACTIVE CARBONATE	22.626	26	132.64
Sum	136.934	48	762.00



Results and Conclusions

The statistical results have shown a low production of *Tuber melanosporum* with *Cistus laurifolius* (annual maximum production mean: 216 g/burn). These shrubs develop small burns and their soils have 80 to 90% less of active carbonate than other burns from other host plants in this region. The statistical treatment shows that these low levels of active carbonate allow the *Cistus* to grow but damage *Tuber melanosporum* production. These 26 burns show much *Cistus* death and in old burns with minimum production, a new colonization of young *Cistus* it has been observed. These results indicate that *C. laurifolius* have difficulty producing *Tuber melanosporum* and they seem to be vulnerable to *T. melanosporum* action.

INFLUENCE OF ACTIVE CARBONATE AND SOIL FEATURES ON *TUBER MELANOSPORUM* PRODUCTIVITY



L.G. García-Montero¹, M.A. Casermeiro², D. Moreno¹, I. Hernando² & J. Hernando²

¹Dpto. Ing. Forestal ETSI Montes, Universidad Politécnica Madrid, ²Dpto. Edafología, Universidad Complutense



Key words: ecology, soil, active carbonate, truffle, production, *Tuber melanosporum*

Introduction and Objectives

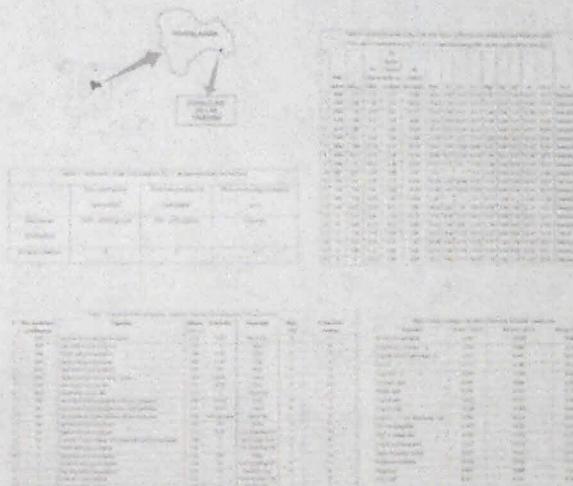
Soil is one of the most studied factors in the biology of the *Tuber melanosporum*. This truffle is strictly calcicolous and grows in the surface horizons of moist, carbonated soils with C/N relationships close to 10 (biological active humus), in which the soil texture is balanced and tends to be simple and well-constructed. Souzart (2001) indicates that the soil parameters that *T. melanosporum* tolerates are highly variable. However there are very few soil studies related to truffle production. The aim of this study is to analyse the components and properties of surface horizons of 20 soils and to establish their relationships with *T. melanosporum* productivity.

Study area and Figures

The study area is situated in Natural Park of Alto Tajo (Guadalajara and Cuenca). This area is a mountainous region at an altitude of more than 1000 m in a Supra-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid shadow climate. Average annual precipitation is 800 mm, with low yearly average temperatures (10°C) and very cold winters. Its vegetation consists of forests of *Quercus faginea* Lam. (*Cephalantho longifoliae-Querceto fagineae* S.).

Materials and methods

Thirteen sub catchments were defined. Twenty soils were selected according to their production of carpophores of *Tuber melanosporum*. 8 samples were taken in high productivity burns, 6 samples in low productivity burns, and 6 were reference samples without production. In each soil, the first 30 cm of the profile were studied and the sampling was done according to FAO (1990). The following properties were analyzed: pH, total organic carbon, calcium carbonate equivalent, granulometric analysis, cationic exchangeable capacity, total sum of the bases and the base saturation percentage following the methods of ISRIC (1995); the textures were classified according to ISSS; the total nitrogen was analysed with a variant of the Bouat and Crouzet method (1965); the carbonate extractable with ammonium oxalate was determined according to AFNOR (1982). The determination of cation exchange of Ca²⁺ and Mg²⁺ was done by AAS (Philips UP9100x) and K⁺ and Na⁺ with a flame photometer (Sherwood 410).



Results and Conclusions

Principal Components Analysis has shown that the productivity of *Tuber melanosporum* is influenced by the overall action of carbonate extractable in ammonium oxalate, stoniness, organic carbon, clay content and interchangeable cations present in the soil surface horizons. Nevertheless, their collective influence is low because PC2 only explains 27% of variance of the production of *T. melanosporum*. With respect to the study of the carbonates, a simple, positive and very significant correlation was found between the concentration of extractable carbonate (active carbonate) in the surface horizons and the production of *T. melanosporum*, explaining 42% of variance. Active carbonate is a finely divided fraction of the calcareous rock (smaller than 50 µm in size), susceptible to rapid mobilization and very chemically active. The results obtained for active carbonate could have applications in truffle culture.

SOIL FEATURES AND CLIMATE CONDITIONS IN A TUBER DRYOPHILUM HABITAT IN CENTRAL SPAIN (ALTO TAJO BASIN)

L.G. García-Montero¹, M.A. Casermeiro², A. Moreno¹, P. Díaz¹, D. Moreno¹ & J.L. Manjón³

¹Dpto. Ing. Forestal, E.T.S.I. Montes, Universidad Politécnica Madrid, ²Departamento de Edafología, Universidad Complutense Madrid, ³Estación Meteorológica del INM nº 3003 (Perales de las Truchas), ⁴Dpto. Biología Vegetal, Universidad de Alcalá

Key words: *Tuber dryophilum*, ecology, taxonomy, soil, climate, Spain

Introduction and Objectives

Tuber dryophilum is a white truffle whose ecology and distribution is still not well known. Montecchi & Lazzari (eds.) (1993) observed that this species is located in Europe in high altitude regions. This truffle dwells in the ground, at notable depth. *T. dryophilum* was cited once in Spain, but there are doubts regarding its identification because it was not a ripe specimen (D. Calonge, pers. com., 2004). The goal of this study was to confirm *T. dryophilum*'s presence in Spain and to analyze the soils and the climate that make up suitable habitat for this truffle in central Spain (Alto Tajo Basin).

Study Area and Figures

The study area is situated in Natural Park of Alto Tajo. This area is a mountainous region at an altitude of more than 1000 m in a Supra-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid, shadow climate.



Fig. 1. Location of the study area in the Alto Tajo Basin. The study area is situated in the Natural Park of Alto Tajo, a mountainous region at an altitude of more than 1000 m in a Supra-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid, shadow climate. The study area is located in the Alto Tajo Basin, a mountainous region at an altitude of more than 1000 m in a Supra-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid, shadow climate. The study area is located in the Alto Tajo Basin, a mountainous region at an altitude of more than 1000 m in a Supra-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid, shadow climate.

Materials and methods

One *Tuber dryophilum* habitat was located close to the village of Bereta (Gueñca, Spain). One soil sample was taken in this point according to FAO (1990). The following properties were analyzed: pH, total organic carbon, calcium carbonate equivalent, granulometric analysis, cationic exchangeable capacity, total sum of the bases and the base saturation percentage, following the methods of the ISRIC (1965). The textures were classified according to the U.S.S., the total nitrogen was analyzed with the variant of the Boulet and Cruzet method (1965), the carbonate extractable with ammonium oxalate was determined according to AFNOR (1952). The determination of cation exchange of Ca²⁺ and Mg²⁺ was done by Atomic Absorption Spectroscopy (Philips UP7100x), and K⁺ and Na⁺ with a flame photometer (Sherwood 410). Fluviometric data were collected from 4 meteorological stations.



Results and Conclusions

Tuber dryophilum's presence was confirmed in Central Spain (Alto Tajo Basin). Their habitat is a high altitude area (1215 m) and *T. dryophilum* dwells at notable depth in the ground (150 cm). This region is situated in a mountainous area at an altitude of more than 1000 m in a Supra-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid, shadow climate. Average annual precipitation is 800 mm, with low average yearly temperatures (10°C) and very cold winters. Vegetation consists of forests of *Quercus ilex* (Cephaenantho longiloba-*Querceto ilex* S.) with brushland of *Cistus laurifolius* (*Cistus scabell* - *Cistus laurifolius*). This truffle is strictly calcicolous and grows in the deep horizons of carbonated soils with C/N relationships close to 10 (biological active humus), in which the soil texture is balanced and tends to be simple and well-constructed.



POTENTIAL PRODUCTION AREAS OF TUBER NIGRUM IN ALBACETE AND CUENCA PROVINCES (SPAIN)

(María Hernández*, Alejandro Fernández, Daniel Moya**, Jorge de las Heras**)

*Dpto. Biología Vegetal, Facultad de Biología,
Campus de Espinardo, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España. E-mail: Honrubia@um.es
**Departamento de Producción Vegetal, ETSIA Universidad de Castilla La Mancha,
Campus de Albacete, 02071 Albacete, España. E-mail: Daniel.Moya@uclm.es



INTRODUCTION

The edible micorrizal potential is unknown in the Castilla-La Mancha Region, in spite of its economic importance. This study evaluates the potential production of the black truffle (*Tuber nigrum* Bull.) in the provinces of Albacete and Cuenca. A potential production map (scale 1:400 000) has been developed to achieve this purpose and 3 levels of potential presence have been included according to the possibilities for presence. In order to obtain this map, cartographic and climatic bases as well as field explorations have been used.

OBJECTIVE

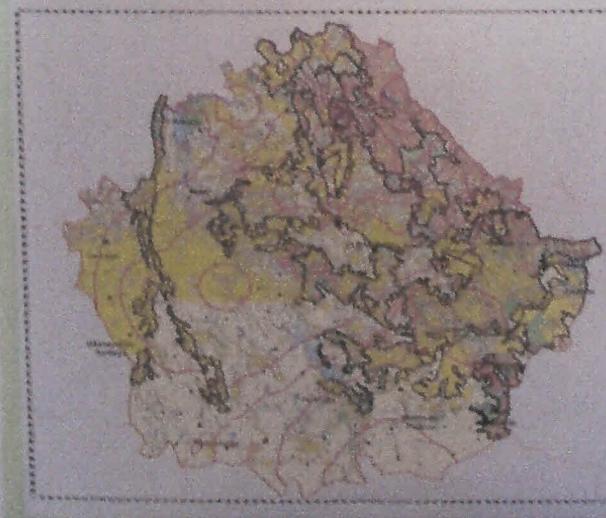
The principal objective was to obtain maps of black truffle production in order to facilitate harvesting and to determine future plantation areas (contributing plants) in Albacete and Cuenca provinces. Application in other areas will be possible with this study.



LEGEND

- TYPE I
- TYPE II
- TYPE III
- WATER
- ROADS
- URBAN AREAS
- QUERCUS
- QUERCUS ILEX
- WATER COURSE
- WATER
- WATER COURSE

SCALE 1:400,000
ALBACETE PROVINCE
U.T.M. PROJECTION
INTERNATIONAL ELLIPSOID
ELEVATION DATA FROM IGN ANEXO
ELEVATION DATA FROM IGN ANEXO



LEGEND

- TYPE I
- TYPE II
- TYPE III
- WATER
- ROADS
- URBAN AREAS
- QUERCUS
- QUERCUS ILEX
- WATER COURSE
- WATER
- WATER COURSE

SCALE 1:400,000
CUENCA PROVINCE
U.T.M. PROJECTION
INTERNATIONAL ELLIPSOID
ELEVATION DATA FROM IGN ANEXO
ELEVATION DATA FROM IGN ANEXO

MATERIALS and METHODOLOGY

- Digital Database materials and software support:
- ARCVIEW v. 3.2
 - ARCVIEW v. 8.2
 - National forest map (Spain, scale: 1:50,000)
 - National Cartographic Base, BCN 100 and BCN 200 (Spain, scale: 1:1000000 and scale: 1:2000000)
 - CORINE LAND COVER 90
 - Rainfall Data (ISOYETS)
 - Altitude Data (LEVEL CURVES)
 - National Geologic Map (Spain, scale: 1:500000)

The following databases have been used to create the Potential Production Map. Taxa containing the following oak species (as dominant component or vegetation):

- Quercus ilex* ssp. *Ballota*
 - Q. Coccifera*
 - Q. Faginea*
- Taxa containing the forest, according the following taxonomy as dominant and cover as monospecific:
- Pinus halepensis*
 - P. Nigra*
 - P. Pinaster*
 - P. Pinex*
 - P. Sylvesteris*
- Riparian forest in which *Corylus avellana* has been included. Nonirrigating forest of *Quercus ilex* ssp. *Ballota* in riparian forest.

POTENTIALITY VALUES

- TYPE I**
Confined presence. Because of historic harvesting in the semi-arid area.
- TYPE II**
The truffle presence probability is more than 50%. These areas have to be investigated carefully. Annual rainfall of more than 450 mm, Altitude above 700 m, but below 1100 m, presence of Quercus.
- TYPE III**
The truffle presence probability is more than 30%. These areas have to be investigated carefully. Annual rainfall between 300 mm and 450 mm, over 400 m in altitude in Iberian. Altitude below 700 m, presence of Quercus.

SOIL FEATURES AND TUBER MELANOSPORUM PRODUCTION IN TILIA PLATYPHYLLOS POPULATIONS IN CENTRAL SPAIN (ALTO TAJO BASIN)

L.G. Garcia-Montero¹, D. Moreno¹, M.A. Casermeiro², C. Pascual³, G. Di Massimo³, S. Martín, J.L. Manjón⁴

¹Dpto. Ing. Forestal, ETSI Montes, Universidad Politécnica Madrid ²Dpto. Edafología, Universidad Complutense ³Dpto. Di Biología Vegetale, Università Perugia, ⁴Dpto. Biología Vegetal, Universidad de Alcalá



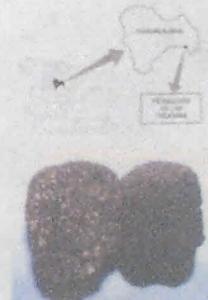
Key words: ecology, *Tuber melanosporum*, soil, truffle production, *Tilia*, Spain

Introduction and Objectives

Tilia spp. have been mycorrhizized with several truffles: *Tuber magnatum* with *Tilia cordata* (Tocci et al. 1985; Tocci & Lopiparo, 1990), *T. platyphyllos* (Granetti et al., 1995) and *T. spp.* (Giovannetti, 1990; Bencivenga et al., 1995; Gregori & Ciappi, 1990), *Tuber melanosporum* with *Tilia cordata* (Chevalier et al., 1973; Tocci & Lop. 1990) and *T. spp.* (Bencivenga et al., 1995), *Tuber borchi* with *Tilia platyphyllos* (Granetti, 1995); Granetti et al., 1995; Giomaro et al., 1999); *Tuber uncinatum* with *Tilia cordata* (Chevalier et al., 1973), and *Tuber brumale* with *Tilia* spp. (Fontana & Centrella, 1967). However, there are limited studies involving truffle production with *Tilia* spp. The goal of this study has been to analyse the soils and natural production of *Tuber melanosporum* associated with *Tilia platyphyllos* in central Spain.

Study area and figures

The study area is situated in Natural Park of Alto Tajo (Guadalajara and Cuenca). This area is a mountainous region at an altitude of more than 1000 m in a Supra-Mediterranean bio-climatic belt with a sub-humid, shadow climate. Average annual precipitation is 800 mm, with low yearly average temperatures (10°C) and very cold winters. Its vegetation consists of forests of *Quercus faginea* Lam. (*Cephalanthera longifoliae-Querceto fagineae* S.) with river forests with *Tilia platyphyllos* (*Astrantio-Coryieto avellanae* S.).



Sample	pH	Total organic carbon	Calcium carbonate equivalent	Cationic exchangeable capacity	Total sum of the bases	Base saturation percentage
1	7.2	18	1.5	12	12	100
2	7.0	15	1.2	10	10	100
3	7.1	16	1.4	11	11	100
4	7.3	19	1.6	13	13	100

<i>Tilia platyphyllos</i>	Maximum size of burn	Minimum size of burn	Maximum production of truffles	Minimum production of truffles
100%	4 m	1 m	200 g/ha	70 g/ha

Results and Conclusions

Since 1970s many authors fails to supply data about truffle's production associated with *Tilia*. For this reason we have carried out a study on the production of *Tuber melanosporum* in association with *Tilia platyphyllos* in central Spain. For that purpose we demonstrated that on 94 burns in river forests, the studied *Tuber melanosporum* had always appeared unequivocally associated with the root base of *Corylus avellana* and *Quercus faginea*. We carried out a test Chi squared to determine if the presence of symbiotic plants varied among 94 examined burns. This test confirmed the existence of significant differences (Chi squared=139.26; df=1; p < 0.0001) among the presence of *Quercus/Corylus* trees matched against "*Tilia platyphyllos*". Lastly, we conducted interviews with 14 truffle-gatherers in the Natural Park of Alto Tajo, who denied ever seeing a single truffle on a burn associated exclusively with *Tilia platyphyllos* alone. Therefore, we conclude that these trees do not produce carpophores of *Tuber melanosporum* in Alto Tajo Basin. On the other hand, soil analyses indicate that soil properties of *Tilia platyphyllos* burns are similar to other host plants burns of this region. Consequently, the commercial exploitation of *Tilia platyphyllos* seedlings mycorrhizized with *Tuber melanosporum* does not seem advisable.

Materials and methods

Nine burns were selected close to the village of Perales de las Truchas (Guadalajara, Spain). Four soil samples were taken in these river forests according to FAO (1990) (2 samples from *Tuber melanosporum* burns). The following properties were analysed: pH, total organic carbon, calcium carbonate equivalent, granulometric analysis, cationic exchangeable capacity, total sum of the bases and the base saturation percentage, following the methods of the ISRIC (1995); the textures were classified according to the U.S.S.S.; the total nitrogen was analysed with the variant of the Bouat and Crouzet method (1965); the carbonate extractable with ammonium oxalate was determined according to AFNOR (1982). The determination of the cationexchange of Ca²⁺ and Mg²⁺ was done by Atomic Absorption Spectroscopy (Philips UP9100x), and K⁺ and Na⁺ with a flame photometer (Sherwood 410). The statistical treatment was performed with the Statistica Program v. 6 (StatSoft, Inc. Tulsa, OK 1999).

TRUFFLE CULTIVATION IN MOROCCO : THE FIRST RESULTS

CHEVALIER Gérard ¹, OURZIK Abdel ², KHABAR Lahsen ³ & LAQBAQBI Abdelaziz ⁴

¹ UMRI 8084 LBP Amélioration et Santé des Plantes, 234 avenue de Brezou, 83100 Clamart-France (France)
² Chambre d'Agriculture de la Vallée, Agence 2133, BP 20011 86150 Migraines France (France)
³ Université Mohammed V, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Laboratoire de Biologie - Mycologie, avenue des Beldjoudj, BP 2014 Rabat (Maroc)
⁴ 6 rue Courcelle, 20000 Casablanca (Maroc)

INTRODUCTION

Morocco counts less than ten species of "Terfezes" (*Terfezia* and *Tirmaia* genera) and five truffle species (*Tuber* genus). The terfezes are collected in general under semi-arid or arid climate in sandy-silty light soils. On the other hand three truffle species (*Tuber rufum* Pico, *T. excavatum* Vitt. and *T. uncinatum* Chatin) were collected fortuitously by Malençon in 1960 in the Middle Atlas between 1600 and 2000 meters of altitude, under sub-humid and humid climate and in calcareous soils. In addition to the chain of the Middle Atlas, several other zones of Morocco, named the chain of the High Atlas in the center of Morocco, the Rif mountains in the North, and the chain of the horsts and the Debkous massif in the East, are potentially truffle bearing zones because of their climate (humid and sub-humid) and the nature of their soils (generally calcareous). The presence of truffles (*Tuber* genus) is likely in these zones.

The aim of this work is to present the first results of the first plantation in Morocco of evergreen oaks and hazel trees mycorrhized by Périgord truffle (*Tuber melanosporum*).

MATERIAL AND METHODS



One thousand evergreen oaks and twenty hazel trees produced by the Agritruffle company (Saint-Maxard 33490, France) were planted in December 1998. Three hundred seedlings which had frozen were replaced in December 2000. Maintenance was carried out by manual hoeing around the seedlings in period of dryness, the seedlings were irrigated. A control of the mycorrhization was carried out in April 2005. Samples of the soils of the square and neighbouring areas were taken for physico-chemical analyses at the laboratory. The climatic data were provided by local meteorological stations.



The plantation is located on the plateau of Debkou, 1700 meters of altitude. The massif of Debkou, in the East of Morocco, is at the South-Western border of the chain of the horsts, mountains covering 100 kms long and 20-30 kms large, limited to North by the Djedja-Taourirt corridor, by the plain of Tafraout in the West, by the vast land of the high plateaux in the South and by the Moroccan-Algerian border in the East. This chain which forms a series of continuous heights from the plain of Guelouf at the West - South-West to the Algerian territory, shows a morphology of plains often cultivated and of reliefs more marked, wooded or completely bare, constituting plateaux widely subjected to erosion by the winds and the torrential rains.



Site	20.000 ha (total)	Silty clayey texture
Soil	40.5	
Depth	20.0	
Organic matter	24.5 (average)	
Humidity	20%	
pH	7.5	
Calcium (total)	41.7 (average)	
Calcium (available)	2.0	
Calcium (exchangeable)	16.0 (average)	
Calcium (exchangeable)	1.0	
Calcium (exchangeable)	0.5	
Calcium (exchangeable)	0.2	
Calcium (exchangeable)	0.1	
Calcium (exchangeable)	0.05	

Silty calcareous soil. Soil irrigated in August with water (10000 l/ha). Soil quality (available calcium) is not very good, with a high level of organic matter.

The soils of the plantation are on Jurassic rock (limestone). The Jurassic constitutes most of the Mesozoic cover of the zone and includes almost all the carbonated formations. The layers of Lias and Aalésien-Bajocien represented by dolomite limestone and the carbonated formations are present mainly in the plateaux of Boukhrouf, Bouzarwah, Tamest, Goulet, of Eastern Zekkara and in the steep slopes along the oued Za valley.

The zone of Debkou is a part of the mountainous stations characterized by a rather irregular moisture (over sub-humid climate, upper semi-arid) and by a rather short period of dryness. An accumulated dryness in July and August (see ombrothermic diagram) is unfavourable to truffle. Irrigation in summer proves to be essential.

The vegetation of the Debkou plateau is mainly made of a green oak (oak generally presented as pedunculata, it extends on its Northern slope. From 1500 m, particularly in the Debkou heights, the evergreen oak joins *Euphorium spinosum* corresponding to the only thorny xerophyte in Eastern Morocco. This xerophilous develops in the hot humid South.



RESULTS

The plant growth has been medium (average height of the evergreen oaks : 140 cm ; average height of the hazels : 70 cm). The first burnt areas (diseases) were observed in 2003. Some mycorrhization checkings were done in April 2005 and showed a high mycorrhization level with *T. melanosporum* in its pure state for every checked plant. These results are very encouraging and allow to expect an imminent first production (winter 2005/2006 ?).

C14

The morphological and molecular identification of the main truffle species in China

Yao Fangjie¹, Wang Xiao-ei¹, Liu Shuyan², Li YU^{3*}

¹ Faculty of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin Province 130118, P. R. China;

² Faculty of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin Province 130118, P. R. China;

³ Institute of Mycology, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin Province 130118, P. R. China).

Truffle is one of the most precious mycorrhizal edible mushrooms in the world. An amount of truffles (Fig1) were exported to Europe annually in the main product regions of China, such as Yunnan and Sichuan(Fig2). But few researches on the taxonomy and phylogeny are done in China, especially classical techniques of identifying the ascocarps or mycorrhizas of truffles do not allow certain species to be distinguished. Based on both the morphological and molecular characteristics, the 13 strains were divided into 6 groups. Among of them, one species, *T. pseudoborchii*, may be new species. And *T. aestivum* and *T. uncinatum* may be same species.

KEY WORD: truffle, morphology, molecular biology identification, PCR, ITS sequence

1. Materials and Methods

1.1 Materials used in this study were collected in Yunnan and Sichuan where the truffles were exported to Europe. We coded them as B-2-2, B-K-1, B-K-2, C-2-1, E-2-1, B-1-1. A typical strain of *T. melanosporum* was chosen as control and named as H-1-1.

1.2 Traditional morphological identification and modern molecular biology technique were combined to identify the truffles.



Fig 1. Truffles produced in China



Fig 2. Yunnan-product regions of truffles in China

2. Results

2.1 Based on the traditional morphological characters, the 13 strains were divided into 6 groups, *T. indicum*, *T. sinense*, *T. aestivum*, *T. pseudoexcatum*, *T. melanosporum* and a possible new species (*T. pseudoborchii*). The outside character of the new species is similar to that of *T. borchii*, but its ascospore is similar to *T. oligospermum*, so it is not sure which species it belongs to.

2.2 The dendrogram(Fig3) based on the sequences of ITS rDNA showed that the truffles were classified into 6 groups too, they were *T. indicum*, *T. sinense*, *T. aestivum*, *T. melanosporum*, *T. pseudoexcatum* and one possible new species.

This result is same to the results based on traditional morphological research.

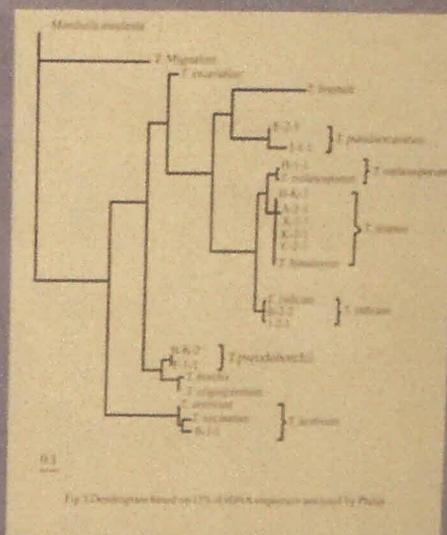


Fig 3. Dendrogram based on ITS rDNA sequences analyzed by PAUP

3. Discussion

3.1 The typical *T. melanosporum*, according to the molecular biology, the rDNA ITS sequence obtained from this experiment match the sequence (genbank number AF106878) downloaded from genbank to the degree of 99% above. This proved that it is credible to analyze the sequence of rDNA ITS by molecular biology.

3.2 Not only by morphological identification but by molecular biology technique, the possible new species is not inclusive any truffle species, we named it as *T. pseudoborchii*.

3.3 The relationship between *T. aestivum* and *T. uncinatum* is still controversy, based on the dendrogram, we considered they are the same species.

3.4 The black truffles - *T. melanosporum*, *T. indicum* and *T. sinense* were gathered into one group, this demonstrates that their genetic distance is very close, the result is consistent with Roux C.

