



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

**Gestión del monte: servicios
ambientales y bioeconomía**

26 - 30 junio 2017 | Plasencia
Cáceres, Extremadura

7CFE01-623

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales
Plasencia. Cáceres, Extremadura. 26-30 junio 2017
ISBN 978-84-941695-2-6

© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Avances en las técnicas de atenuación de la capacidad del rebrote en *Ailanthus altissima* y *Acacia dealbata* mediante el uso de hongos saprófitos

MONTERO CALVO, A.J.¹, ABEL SCHAAD, D.², MURILLO VILANOVA M.¹, SANTIAGO BELTRÁN, R.¹

¹ Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX). Instituto del Corcho, la Madera y el Carbón Vegetal (ICMC).

² Fomento de Técnicas Extremeñas, S.L.

Resumen

La introducción de especies exóticas invasoras constituye la segunda causa de pérdida de biodiversidad a nivel mundial. Para luchar contra esta amenaza, el proyecto LIFE+INVASEP (10/NAT/ES/000582) plantea la prevención, el control y la erradicación temprana de estas especies. *Acacia dealbata* Link y *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle son dos especies arbóreas consideradas exóticas invasoras en el estado español. Los métodos mecánicos y químicos utilizados habitualmente para su erradicación son, por sus efectos colaterales, excesivamente agresivos para su eliminación. Por ello, en el ámbito del proyecto INVASEP, se ha considerado una alternativa biológica para detener su rebrote tras la corta.

La utilización de hongos saprófitos para la eliminación de tocones es una técnica que se viene usando desde los años 90. Nuestra propuesta consiste en la inoculación de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm., *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. y *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Quél. en tocones de individuos recién apeados y estudio del rebrote de ambas especies arbóreas. Por un lado, se están depurando las técnicas de cultivo de los hongos en laboratorio y su inoculación en campo y, por otro, se analizan los efectos de cada una de las especies de hongos en la capacidad de rebrote de las invasoras diana.

Palabras clave

Invasoras, erradicación, *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum*, *Trametes versicolor*

1. Introducción

Las invasiones biológicas son la segunda amenaza ambiental en importancia para la conservación de la biodiversidad y de los ecosistemas naturales, después de la destrucción y la fragmentación del hábitat (CONSTÁN NAVA *et al.*, 2008), aunque su impacto no se restringe al medio ambiente sino que también tiene fuertes repercusiones sobre la economía, la sociedad y la salud pública (ANDREU y VILÁ, 2007).

España no es ajena al problema de las invasiones biológicas, miles de especies introducidas han llegado a naturalizarse tanto en ecosistemas antropizados como naturales, manifestando algunas de ellas un crecimiento poblacional expansivo y convirtiéndose finalmente en invasoras (SANZ-ELORZA *et al.*, 2001; DANA *et al.*, 2004). Para contribuir a la lucha contra esta amenaza, surge el proyecto LIFE+INVASEP (10/NAT/ES/000582) "Lucha contra especies invasoras en las cuencas hidrográficas del Tajo y del Guadiana en la Península Ibérica", que incluye, entre las especies objetivo, *Acacia dealbata* Link. y *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. Ambas, que se cultivan con bastante frecuencia en España en jardines y como fijadoras de taludes en infraestructuras viarias, aparecen en el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras (RD 630/2013) con ámbito de aplicación en la Península Ibérica y en el Atlas de las Plantas Alóctonas Invasoras de España (SANZ-ELORZA *et al.*, 2004), estando actualmente consideradas entre las 20 especies alóctonas más dañinas en España (GEIB, 2006). Su invasión expansiva se debe principalmente a su elevada tasa de crecimiento, a la vigorosa capacidad de regeneración vegetativa de raíz y de cepa y a la elevada producción de semillas de gran longevidad (SANZ-ELORZA *et al.*, 2004; GEIB, 2006).

Tanto para *A. altissima* como para *A. dealbata* no existe ningún plan de manejo y gestión que se encuentre activo en toda España, pero si existen planes en varias de sus comunidades autónomas (ANDREU y VILÁ, 2007; BAYÓN y LLAMAS, 2011).

Dadas las características bioecológicas de ambas especies, su erradicación es muy complicada. Los **métodos mecánicos** de control tienen limitada su eficacia debido a su capacidad de rebrote y sólo son efectivos si se descuajan las plantas con toda su cepa. Esta es una labor costosa en pies adultos debido a que su potente sistema radicular exige el empleo de maquinaria y ataques puntuales a cada planta o rodal. Por eso, la eliminación de raíz de pies hembra productores de semilla se ha contemplado como una medida parcial y transitoria (SWEARINGEN & PANNILL, 2009). Cortar el árbol tampoco es efectivo, ya que tan solo tiene un efecto temporal y se estimula la aparición de nuevos brotes, por lo que solo debe usarse como un paso previo al control químico.

Para el uso de **métodos químicos** debe tenerse en cuenta la selectividad del herbicida, su actividad en el suelo y su persistencia, de cara a posteriores efectos en otras especies. Por ello su uso debe ser local, aplicándolos sobre los individuos mediante pulverización foliar, inyección en tronco o raíz o embadurnando la base del tronco o de los tocones cortados, para no provocar impactos sobre el resto de la vegetación. Resalta en la bibliografía la heterogeneidad de metodologías recogidas, concentraciones, principio activo y técnicas de aplicación. Ver, para ailanto: SE-EPPC (2002), BURCH & ZEDACKER (2003), SANZ-ELORZA *et al.* (2004), SWEARINGEN & PANNILL (2009) y para acacia: CAMPOS *et al.* (1999 y 2002), SANTOS & MONTEIRO (2007), NEVES (2015). Entre los productos químicos que pueden utilizarse con mejores resultados se encuentran el Glifosato y el Triclopir.

Las metodologías aplicadas son generalmente una conjugación de métodos mecánicos (corte raso con motosierra) y químicos (pincelado de las cepas y/o pulverización de los rebrotes), pero estas medidas son costosas y tienen poco éxito dada la necesidad de aplicar varias intervenciones y de realizar el seguimiento de la evolución del tratamiento durante varios años para evitar rebrotes y germinación de nuevas plántulas (SANZ-ELORZA *et al.*, 2004; SWEARINGEN & PANNILL, 2009).

El control biológico se presenta como una alternativa menos costosa que las anteriores, ya que teniendo en cuenta que las especies exóticas invasoras no necesitan métodos de control en su área de origen, porque las controlan sus enemigos naturales, el empleo de estos agentes biológicos podría resolver el problema. Sin embargo, la introducción de especies alóctonas para el control de invasoras puede tener consecuencias nefastas para la flora y fauna autóctona. Así, para que esta alternativa resulte sostenible, se requiere el estudio de especies autóctonas susceptibles de ser utilizadas como agentes para el control biológico. Existen estudios de este tipo en otros países para las acacias (GATHE 1971; DENILL, 1985; MORRIS 1997; FAGÚNDEZ y BARRADA, 2007; WOOD & MORRIS, 2007), y el ailanto (WRIGHT & WELLS, 1948; U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE., 1949; PIRONE, 1959; SANZ-ELORZA *et al.*, 2004; SWEARINGEN & PANNILL, 2009), pero en España, hasta el momento, no se han detectado posibles agentes biológicos para el control efectivo de estas dos invasoras. Por ello, en el proyecto LIFE+INVASEP se plantea la selección de agentes autóctonos que ofrezcan una alternativa viable para resolver el problema.

La selección de hongos de pudrición como alternativa para el control de plantas exóticas invasoras ha sido estudiada para algunas especies. Según varios autores, no todas las maderas muestran la misma resistencia a la pudrición (RAYNER, 1977; OLIVEIRA *et al.*, 1986; PAES *et al.*, 2004; FERNANDES *et al.*, 2005) y para lograr el éxito en la biodegradación de tocones y raíces deben considerarse varios aspectos como la selección de los hongos en función de su hábitat, la elección de la mejor temporada para inocular (temperatura, humedad) y confirmar que el microorganismo no es fitopatógeno (ALONSO *et al.*, 2007; ANDRADE *et al.*, 2012).

En la naturaleza muchos hongos pueden degradar la madera, pero destacan en este aspecto los *Basidiomycetes*, capaces de degradar eficientemente la lignina y en menor escala la celulosa y hemicelulosas (RAYNER & BODDY, 1988). En el libro "Los hongos en Extremadura" (ARROJO, 2006),

se citan *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Qué. y *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) Kumm. como hongos *Basidiomycetes* presentes en Extremadura que ocasionan podredumbre blanca. Estas tres especies crecen sobre maderas, o sobre sus restos, y se caracterizan por ser capaces de atacar, bajo ciertas condiciones, tejidos vivos de las plantas sobre las que se desarrollan, pero al morir éstas continúan sobre sus restos nutriéndose de los tejidos muertos, comportándose en estas circunstancias como saprofitos. Por esta razón se conocen como parásitos facultativos, que no atacan a los árboles sanos, pero sí pueden desarrollarse sobre árboles enfermos o tocones.

No existen referencias bibliográficas respecto al uso de estos tres hongos para la erradicación de *A. dealbata* y *A. altissima*, aunque sí se han estudiado sus efectos, o el de su género, sobre otras especies en distintos países. *P. ostreatus* suele encontrarse sobre la madera en descomposición de las alisedas y choperas, y además se han realizado diversos estudios de tratamiento con micelio de este hongo en tocones de haya, roble (ŁAKOMY, 2005; SZCZEPKOWSKI & PIĘTKA, 2007-2008; KARIM *et al.*, 2016) y eucalipto (ABREU *et al.*, 2007). *G. lucidum* es capaz de colonizar madera de diferentes especies arbóreas como haya, quejigo, robles y castaño (CUESTA, 2003) y se ha estudiado la asociación de varias especies de *Ganoderma* con la pudrición radical en acacias y eucaliptos (HARSH *et al.*, 1993; MONTEIRO & FREITAS, 1997; ALONSO *et al.*, 2007; BEETS *et al.*, 2008; GLEN *et al.*, 2009; PUSPITASARI *et al.*, 2012). *T. versicolor* vive sobre madera muerta de árboles caducifolios y se han realizado ensayos comparativos de pudrición producida por *T. versicolor* y otros hongos en eucalipto (ALONSO *et al.*, 2007), o en haya (BARI *et al.*, 2015 y 2016).

Dada la efectividad de estos tres hongos saprófitos para la eliminación de individuos enfermos y tocones de algunas especies arbóreas, y teniendo en cuenta que son autóctonos en Extremadura, nuestra propuesta consiste en su uso como agentes biológicos de control para *A. dealbata* y *A. altissima*. Para ello se estudia la depuración de las técnicas de cultivo de los hongos en laboratorio y su inoculación en campo, así como los efectos de cada una de las especies de hongos en la capacidad de rebrote de ambas invasoras.

2. Objetivos

El objetivo del proyecto es el de dotar a la administración de la Comunidad Autónoma de Extremadura de un instrumento eficaz, económicamente viable y respetuoso con el medio natural, para erradicar la presencia de *A. altissima* y *A. dealbata*.

Para la consecución de este objetivo general, se está poniendo a punto la producción de inóculo de los hongos seleccionados y el método de inoculación, que está siendo ensayado en dos parcelas con presencia de cada una de las especies arbóreas mencionadas.

3. Metodología

El 3 de mayo de 2016 se recogieron 18 cuerpos de fructificación de *T. versicolor* en el término municipal de Cuacos de Yuste, en la provincia de Cáceres (UTM ETRS89 Huso 30 E266473 N4443607) a 590 m de altitud y uno de *G. lucidum* en el término municipal de Jarandilla de la Vera, en la provincia de Cáceres (UTM ETRS89 Huso 30 E272276 N4440164) a 398 m de altitud. En ambos casos se recogieron en un melojar mesomediterráneo húmedo. El día 24 de junio de 2016 se recogió un carpoforo de *Ganoderma lucidum* en el término municipal de Mérida, provincia de Badajoz (UTM ETRS89 Huso 29 E 725044 N 4312206) a 206 m de altitud. Todos los carpoforos recogidos se transportaron envueltos en papel tisú, dentro de bolsas con cierre Zip y conservados en refrigerador a 4° C durante 2 días, hasta su aislamiento. La cepa de *P. ostreatus* usada en el proyecto pertenece al catálogo de cepas de CICYTEX-ICMC con el número de catálogo PO12100.

La sucesión de trabajos realizados en relación al este proyecto se esquematiza en la Figura 1.

El aislamiento del micelio se realizó siguiendo dos métodos distintos. En el caso de *Ganoderma lucidum* se obtuvieron particiones prismáticas de 1 cm de longitud y de sección aproximadamente triangular de unos 5 mm de altura del interior del sombrero. Estas secciones, sin tratamiento de

desinfección, se depositaron en un hueco practicado en la superficie del medio de cultivo, con una forma aproximada al inóculo a colocar.

En el caso de *T. versicolor*, su cuerpo de fructificación no es lo suficientemente grueso como para obtener secciones interiores. Se cortaron, del perímetro libre del carpofo, secciones cuadradas de 1 cm de lado que se sumergieron, durante dos minutos, en una solución de hipoclorito sódico al 3%, tras lo cual se les sometió a cuatro lavados sucesivos en agua destilada. Se introdujo cada sección en etanol al 70% durante 20 segundos y se les sometió a un último lavado en agua destilada. Cada una de las secciones se depositó sobre el medio de cultivo a razón de una sección en cada placa Petri.

El medio de cultivo utilizado es PDA, agar patata-dextrosa (VWR Chemicals 84651.0500), preparado siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las placas inoculadas, con los aislamientos de cada especie, cerradas y selladas con Parafilm, se mantuvieron en la oscuridad a 24°C. El crecimiento se observa bajo microscopio a las pocas horas y es visible a simple vista a partir de las 24 horas. Las placas libres de contaminación se cubren totalmente de micelio al cabo de unos 10 días.

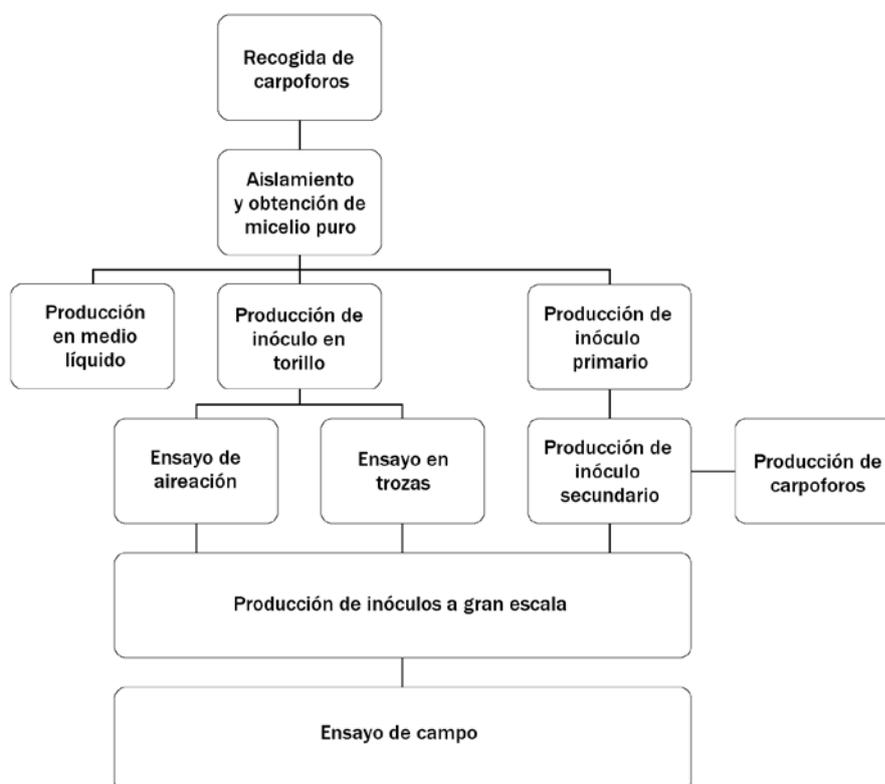


Figura 1. Esquema de trabajo

Los aislamientos recibieron los códigos de cepa, TV16005 en el caso de *T. versicolor*, GL16001 la *G. lucidum* procedente de Cuacos y GL16007 la *G. lucidum* recogida en Mérida.

La **obtención de micelio puro**, libre de contaminación, se produjo a partir del séptimo día, momento en el que hay suficiente micelio como para poder multiplicarlo. El método de obtención, utilizado también para la multiplicación del micelio purificado, consiste en obtener trozos de sección circular de 8 mm de diámetro con un sacabocados y depositarla en el centro de una placa Petri con medio de cultivo, con el micelio en contacto con el mismo. Una vez cerrado y sellado se mantiene a 24°C hasta la total cubrición de la placa, conservándose a partir de ese momento en refrigeración a 4°C hasta su utilización o nuevo repicado.

La **producción de inóculo** se ha basado en dos técnicas distintas, en función del soporte del hongo. Por un lado, se eligieron torillos o clavijas de madera, de las habitualmente utilizadas en

ebanistería y, por otro, se ha utilizado una mezcla a base de serrín de las especies arbóreas objetivo, es decir, *A. dealbata* y *A. altissima*.

Las clavijas de madera son clavijas comerciales cilíndricas, estriadas, de madera de haya, 40 mm de longitud y 8 mm de diámetro. Antes de proceder a su inoculación se mantuvieron sumergidas 48 horas en agua destilada, vertida sobre los torillos a 100°C aproximadamente. Transcurrido dicho periodo, se depositaron sobre papel de filtro para eliminar el agua superficial. Con el fin de facilitar el manejo en campo y evitar contaminación en torillos no utilizados, se guardaron en recipientes de polipropileno, autoclavables y capacidad para 20 unidades, que fueron autoclavados a 121°C durante 50 minutos. Transcurridas 48 horas se volvieron a autoclavar en las mismas condiciones y se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente.

Cada uno de estos recipientes se inoculó con cinco secciones de micelio procedente de cultivo puro sobre PDA. Las secciones se obtuvieron con un sacabocados de entre 5 y 8 mm de diámetro y se distribuyeron uniformemente por todo el volumen del recipiente, procurando que la cara de la sección con micelio entre en contacto con la madera.

Los recipientes, con su tapa superpuesta, no cerrada y sellados con Parafilm se mantuvieron a 24°C y 94% de humedad relativa hasta su utilización, un mínimo de 45 días después.

El crecimiento del micelio en el interior de los recipientes depende de la humedad en el interior de los mismos y del contenido en oxígeno, por lo que se hizo un ensayo para comprobar el comportamiento del mismo en función del sistema de cierre. Este ensayo nos serviría para seleccionar el tipo de cierre de los recipientes que contienen los torillos.

En el **ensayo de aireación** probamos cuatro sistemas de cierre: algodón hidrófilo puro (tipo arrollado de Cotonificio), filtro de 0,2 micras de polipropileno y teflón, no tejido (tipo T de Unicorn Imp. & Mfg. Corp.), septos para vial de PTFE/silicona (Agilent 8010-0418) y, por último, doble capa de Parafilm (Parafilm PM996).

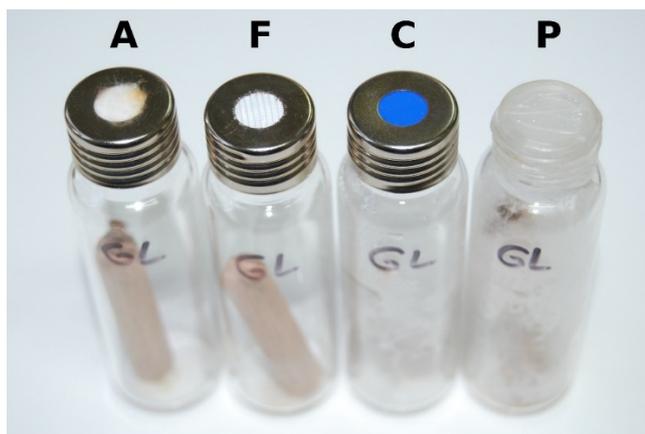


Figura 2. Sistemas de cierre. A: Algodón; F: Filtro T; C: Septo; P: Parafilm

Cada torillo se introdujo en un vial roscado de cromatografía de 20 ml (Agilent 5188-2753) y se cerró con tapa metálica perforada (Agilent 8010-0139). De esta manera se prepararon 60 unidades distribuidas tal y como figuran en la Tabla 1

Tabla 1. Codificación de tratamientos y unidades por tratamiento

	Algodón	Filtro T	Septos	Parafilm
<i>P. ostreatus</i>	POA: 5	POF: 5	POC: 5	POP: 5
<i>G. lucidum</i>	GLA: 5	GLF: 5	GLS: 5	GLP: 5
<i>T. versicolor</i>	TVA: 5	TVF: 5	TVS: 5	TVP: 5

Una vez autoclavados se inoculó cada torillo, depositando una sección circular de 8 mm de inóculo en el fondo del vial. El torillo se colocó encima del inóculo, poniéndolo en contacto con el micelio del hongo. El conjunto se conservó en cámara climática a 24°C y 95% de humedad relativa.

Se tomaron fotografías transcurridos 11, 26 y 46 días desde el momento de la inoculación. La evaluación de las diferencias entre los crecimientos asociados a cada tratamiento fue tan evidente que no fue necesario realizar ningún tipo de medición, evaluándose de forma visual. Para las tres especies el método de cierre que presentó un mayor crecimiento fue el cierre con doble capa de Parafilm.

Además de utilizar inóculo usando clavijas de madera como soporte, se produjo un medio de cultivo basado en astilla de madera. El método requiere una fase previa en la que se fabrica inóculo primario, que se usará posteriormente para infectar el inóculo secundario.

Para producir **inóculo primario** es necesario disponer de sorgo en grano, no tratado, que se mantiene sumergido en agua destilada durante, aproximadamente, 24 horas, hasta que su peso aumenta entre un 25 y un 40%. Posteriormente se autoclava a 121°C durante 60 minutos y se deja en espera durante 48 horas hasta someterlo a un nuevo autoclavado en las mismas condiciones. Finalizada la secuencia de autoclavado se infecta con micelio puro del hongo de interés. En nuestro caso nos interesó producir micelio primario en envases autoclavables de 150 ml, cada uno de los cuales recibió 6 secciones de micelio puro de 8 mm de diámetro, que se conservaron a 24°C y 94 % de humedad relativa en la oscuridad, hasta el desarrollo completo del micelio en el envase, tras lo cual se conservaron en refrigeración a 4°C.

Con el inóculo primario desarrollado se preparó una mezcla, que constituye el **inóculo secundario**, cuya composición figura en la Tabla 2. Todos los elementos, excepto el yeso se molieron previamente. Se probaron distintos contenidos en agua, pero por debajo de la cantidad reflejada en la tabla, el micelio apenas se desarrolló.

Tabla 2. Composición del inóculo secundario

Material	Cantidad
Astilla de madera	78%
Salvado puro de trigo	10%
Sorgo en grano molido	10%
Yeso alimentario	2%
Agua	100%

Se utilizó *A. dealbata* y *A. altissima* como fuente de madera para la mezcla, en previsión de utilizar cada madera para inocular a su misma especie en campo. Se prepararon envases de 150 ml con 44 g de la mezcla que, una vez cerrados se autoclavaron a 121°C y 90 minutos, repitiendo la operación a las 48 horas. Tras enfriar a temperatura ambiente se inoculó cada recipiente con 7,5 ml de micelio primario distribuyéndolo uniformemente por todo el volumen de la mezcla. Después de inoculados los recipientes se taparon superponiendo su tapa y sellándolo con Parafilm. Los envases se mantuvieron a 24°C y 94% de humedad relativa en la oscuridad hasta la total infección de la mezcla.

Tabla 3. Inóculo preparado para ensayos de campo

Especie	Pasta con astilla de		Torillos x20 ud
	Ailanto x150 ml	Acacia x150 ml	
<i>T. versicolor</i>	20	20	40
<i>G. lucidum</i>	20	20	40
<i>P. ostreatus</i>	20	20	40

Transcurridos 45 días el inóculo, en sus dos formas estaba listo para su uso, con algunas diferencias en cuanto a su desarrollo. Se quiso comprobar que, tanto *A. altissima* como *A. dealbata*, podrían servir de soporte para el desarrollo de las tres especies de hongo elegidas mediante un **ensayo con trozas** apeadas. Para ello se pusieron en saturación durante 48 horas 21 trozas de cada

especie, de 15 a 20 cm de diámetro y 15 cm de longitud. Posteriormente se introdujeron en bolsas con filtro para el cultivo de hongos y se autoclavaron 90 minutos a 121°C. Transcurridas 48 horas se volvieron a autoclavar. Con las trozas a temperatura ambiente se inoculó cada troza con 6 torillos de madera infectados con un hongo, de manera que se realizaron los tratamientos que figuran en la Tabla 4.

Tabla 4. Número de trozas por tratamiento

Especie	<i>A. altissima</i>	<i>A. dealbata</i>
<i>T. versicolor</i>	7	7
<i>G. lucidum</i>	7	7
<i>P.ostreatus</i>	7	7

Las trozas se guardaron dentro de sus bolsas en cámara de cultivo a 24°C y 94% de humedad relativa. A los 10 días el desarrollo del micelio era patente. Transcurridos 45 días desde la inoculación el micelio de las tres especies de hongos ocupaba toda la superficie exterior de las trozas, siendo *P. ostreatus* el que presentaba un menor grado de desarrollo, aunque suficiente para mantener a esta especie en los ensayos de campo.

Un mes después de su salida al exterior buena parte de las trozas tenían carpóforos de cada una de las especies con las que fueron inoculadas, con distinto grado de desarrollo, si bien fue *T. versicolor* el hongo que desarrolló cuerpos de fructificación con mayor profusión.

Tabla 5. Trozas con cuerpos de fructificación.

	<i>Ailanthus altissima</i>	<i>Acacia dealbata</i>
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1	2
<i>Ganoderma lucidum</i>	4	7
<i>Trametes versicolor</i>	7	7

Los **ensayos de campo** se desarrollaron en dos localizaciones. El Albergue Municipal de Mérida (Badajoz) que acoge alrededor de 200 ejemplares de *A. dealbata*, con edades entre 10 y 20 años. Se sitúan a una altitud aproximada de 259 m snm. La temperatura media anual es de 16,7°C y la precipitación media anual de 543 mm. Se asienta sobre suelos de tipo fluvisol, que se sitúan sobre materiales aluviales y coluviales procedentes de la sedimentación originada por el río Guadiana. La vegetación potencial correspondería a las Geomegaseries riparias mediterráneas, que contactarían hacia el interior con los encinares basófilos mesomediterráneos béticos, marianenses y araceno-pacenses (*Paeonio coriaceae-Quercetum rotundifoliae*), formaciones muy alteradas en la actualidad y sustituidas por cultivos de regadío.

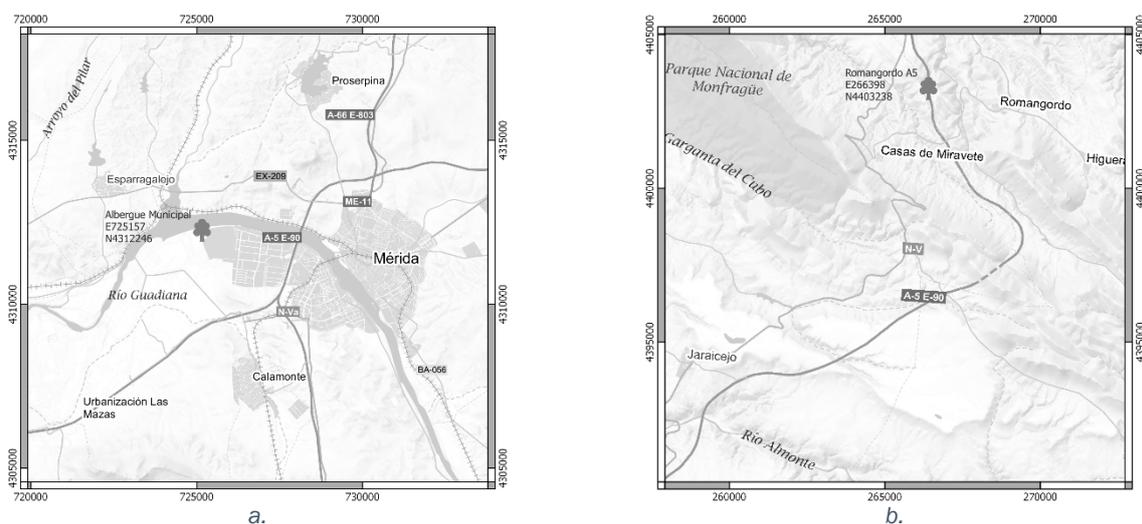


Figura 3. Localización las parcelas experimentales. a. Mérida (ETRS89 H29) b. Romangordo (ETRS89 H30)

La segunda localización es la zona de servidumbre de la Autovía A5, en el término municipal de Romangordo (Cáceres), donde habitan unos 150 ejemplares de *A. altissima* con una edad entre 15 y 20 años. Este rodal se sitúa a una altitud aproximada de 411 m snm. La temperatura media anual es de 15,7°C y la precipitación media anual de 673 mm. Se asienta sobre un suelo de tipo cambisol, que se sitúa sobre lutitas oscuras y areniscas con niveles conglomeráticos que caracterizan la formación geológica Valdecañas. La vegetación potencial corresponde a los encinares mesomediterráneos luso-extremadurenses silicícolas (*Pyro bourgaeanae-Quercetum rotundifoliae*), que, en la actualidad, se hallan relativamente degradados con una amplia presencia de matorral, en el que dominan especies tales como *Retama sphaerocarpa*, *Cytisus mutiflorus* o *Cistus albidus*, y de pastizal destinado al ganado, principalmente bovino. Destaca la presencia puntual de olivos y almendros de secano.

Antes de la inoculación se apearon los pies objeto de tratamiento. En el caso de la parcela de Romangordo los pies se cortaron a lo largo de la última semana de octubre de 2016, dejando los tocones con una altura de 75 cm. Posteriormente se rebajó la altura a 20 cm, el mismo día que se realizó el tratamiento, en la tercera semana de noviembre de 2016. En el caso de la parcela de Mérida el apeo se ejecutó el mismo día de la inoculación, a lo largo de la segunda semana de 2016.

En ambas parcelas se dispusieron 7 tratamientos aproximándolo a un diseño aleatorizado por bloques completo, con 15 bloques, en cada uno de los cuales hay una repetición por tratamiento. De este modo, se realizaron las siguientes inoculaciones en cada una de las parcelas (Tabla 6).

Tabla 6. Número de inoculaciones por tratamiento.

Hongo	Formato	
	Pasta	Torillo
<i>T. versicolor</i>	15	15
<i>G. lucidum</i>	15	15
<i>P. ostreatus</i>	15	15
Control	15	

Para la inoculación con cualquiera de los soportes, pasta y torillos, se practicaron orificios con una broca de paleta de 10 mm, distanciados entre 10 y 15 cm y a unos 10 cm del suelo, en dirección radial. La profundidad de la perforación fue de 50 mm y se inocularon a los pocos minutos de su ejecución.

La inoculación con torillos consistió en su extracción del recipiente con unas pinzas previamente desinfectadas y su introducción en el tocón. Posteriormente se tapó con arcilla de uso común.

En el caso de la pasta se utilizó un útil diseñado en el ámbito del proyecto que permitía contener una pequeña cantidad de material y empujarlo dentro del orificio practicado. Durante la realización del trabajo se cronometraron los tiempos de ejecución de la inoculación. Los resultados, para un árbol medio al que se le introducen 8 inóculos pueden verse en la Figura 4. Los tiempos de ejecución de la inoculación con los torillos son significativamente inferiores a los obtenidos con la pasta. En ambos casos se ha tenido en cuenta el tiempo que se tarda en realizar los orificios y el sellado con arcilla.

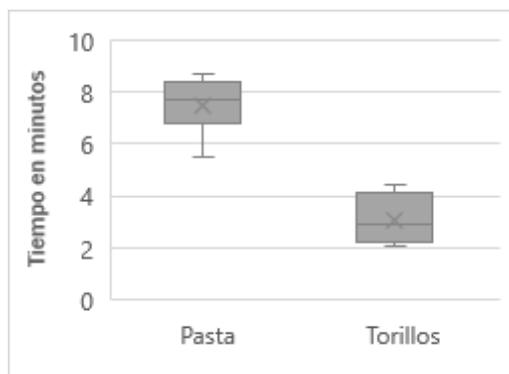


Figura 4. Tiempos de ejecución de inoculación para un árbol con 8 orificios en minutos.

Estos trabajos finalizaron el 17 de noviembre de 2016, por lo que no han arrojado resultados. Un avance de los mismos estará disponible a partir del invierno de 2017.

4. Agradecimientos

A LIFE+NAT/ES/000582 “Lucha contra especies invasoras en las cuencas hidrográficas del Tajo y Guadiana en la Península Ibérica” por la financiación de la acción A.1: Inventario de las Especies Invasoras *Acacia dealbata* y *Ailanthus altissima* y Ensayo de Medidas de Prevención y Control, bajo la cual se están realizando los trabajos contenidos en este trabajo.

5. Bibliografía

ABREU, L.D.; MARINO, R.H.; MESQUITA, J.B.; RIBEIRO, G.T.; 2007. Degradação da madeira de *Eucalyptus* sp. por basidiomicetos de podridão branca. *Arq. Inst. Biol.* 74(4):321–328.

ALONSO, S.K.; SILVA, A.G.; KASUYA, M.C.M.; BARROS, N.F.; CAVALLAZZI, J.R.P.; BETTUCCI, L.; LUPO, S.; ALFENAS, A.C.; 2007. Isolamento e seleção de fungos causadores da podridão-branca na madeira em florestas de *Eucalyptus* spp. com potencial de degradação de cepas e raízes. *Rev. Árvore* 31(1):145-155.

ANDRADE, F.A.; CALONEGO, F.W.; SEVERO, E.T.D.; FURTADO, E.L.; 2012. Selection of fungi for accelerated decay in stumps of *Eucalyptus* spp. *Bioresource Technol.* 110:456-461.

ANDREU, J.; VILÁ, M.; 2007. Análisis de la gestión de las plantas exóticas en los espacios naturales españoles. *Ecosistemas* 16:109-124.

ARROJO, E. (coord.); 2006. Los hongos en Extremadura. Junta de Extremadura, Consejería de Agricultura y Medio Ambiente, 274 p.

- BARI, E.; NAZARNEZHAD, N.; KAZEMI, S.M.; MOHEBBY, B.; SCHMIDT, O.; CLAUSEN, C.A.; 2015. Comparison between degradation capabilities of the white rot fungi *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* in beech wood. *Int. Biodeter. Biodegr.* 104:231-237.
- BARI, E.; TAGHIYARI, H.R.; NAJI, H.R.; SCHMIDT, O.; OHNO, K.M.; CLAUSEN, C.A.; BAKAR, E.S.; 2016. Assessing the destructive behaviors of two white-rot fungi on beech wood. *Int. Biodeter. Biodegr.* 114:129-140.
- BAYÓN MEDRANO, A.; LLAMAS GARCÍA, F.; 2011. *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle (Simarubaceae) como potencial invasora. *Ambiociencias Rev. de divulgación* 7:27-39.
- BEETS, P.N.; HOOD, I.A.; KIMBERLEY, M.O.; OLIVER, G.R.; PEARCE, S.H.; GARDNER, J.F.; 2008. Coarse woody debris decay rates for seven indigenous tree species in the central North Island of New Zealand. *For. Ecol. Manag.* 256:548-557.
- BURCH, P.; ZEDACKER, S.; 2003. Removing the invasive tree *Ailanthus altissima* and restoring natural cover. *J. Arboric.* 29(1):18-24.
- CAMPOS, J.; ROCHA, M.E.; TAVARES, M.; 1999. Resultado da Aplicação de Garlon e Roundup sobre as *Acacia dealbata*, *Acacia longifolia* e *Acacia melanoxylon*, nas dunas do litoral. In: Actas do 1º Encontro sobre Invasoras lenhosa I, 134-142. Gerês, Portugal.
- CAMPOS, J.; ROCHA, M.E.; TAVARES, M.; 2002. Controlo de Acácias com fitocidas nas Dunas do Litoral. *Silva Lusitana* 10(2): 201-206.
- CONSTÁN NAVA, S.; BONET JORNET, A.; SERRA LALIGA, L.; 2008. Efectos de la especie invasora *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle sobre la diversidad vegetal en bosques de ribera del LIC Serra de Mariola y Carrascal de la Font Roja. *Iberis* 6:65-75.
- CUESTA, J.; 2003. Ecología de los Hongos (1.ª parte). *Foresta* 23:22-34.
- DANA, E.D.; SOBRINO, E.; SANZ-ELORZA, M.; 2004. Plantas invasoras en España: un nuevo problema en las estrategias de conservación. En: BAÑARES, A. et al. (eds.): *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular Amenazada de España: Taxones prioritarios*. 1007-1027. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid, España.
- DENILL, G.B.; 1985. The effect of the gall wasp *Trichilogaster acaciaelongifoliae* (Hymenoptera: Pteromalidae) on reproductive potential and vegetative growth of the weed *Acacia longifolia*. *Agric. Ecosyst. Environ.* 14:53-61.
- FAGÚNDEZ, J.; BARRADA, M.; 2007. Plantas invasoras de Galicia: Biología, distribución e métodos de control. Xunta de Galicia, Dirección Xeral de Conservación, 209 p.
- FERNANDES, L.; LOGUERCIO-LEITE, C.; ESPOSITO, E.; REIS, M.M.; 2005. In vitro wood decay of *Eucalyptus grandis* by the basidiomycete fungus *Phellinus flavomarginatus*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 55:187-193.
- GATHE, J.; 1971. Host range and symptoms in western Australia of gall rust, *Uromycladium tepperianum*. *J. Roy. Soc. W. Australia* 54:114-118.
- GEIB; 2006. TOP 20: Las 20 Especies exóticas invasoras más dañinas presentes en España. GEIB, Serie Técnica 2. 116 p.

- GLEN, M.; BOUGHER, N.L.; FRANCIS, A.A.; NIGG, S.Q.; LEE, S.S.; IRIANTO, R.; BARRY, K.M.; BEADLE, C.L.; MOHAMMED, C.L.; 2009. *Ganoderma* and *Amauroderma* species associated with root-rot disease of *Acacia mangium* plantation trees in Indonesia and Malaysia. *Austral. Plant Pathol.* 38(4):345-356.
- HARSH, N. S. K.; SONI, K. K.; TIWARI, C. K.; 1993. *Ganoderma* root-rot in an *Acacia* arboretum. *Eur. J. For. Path.*, 23: 252–254.
- KARIM, M.; DARYAEI, M.G.; TORKAMAN, J.; OLADI, R.; GHANBARY, M.A.T.; BARI, E.; 2016. In vivo investigation of chemical alteration in oak wood decayed by *Pleurotus ostreatus*. *Int. Biodeter. Biodegr.* 108:127-132.
- LAKOMY, P.; 2005. Control of *Armillaria* spp. in deciduous tree stumps by *Basidiomycetes*. In: MANKA, M.; LAKOMY, P. (eds): Root and butt rots of forest trees. Proc. of the 11 th Int. Conference on Root and Butt Rots, IUFRO Working Party 7. 02.01, August 16-22, 2004, 412-419. Poznan-Bialowieza, Poland.
- MONTEIRO, M.B.B.; FREITAS, A.R.; 1997. Método de ensaio acelerado para avaliação da durabilidade natural de madeiras. *Rev. Árvore* 21(4):555–561.
- MORRIS, M.J.; 1997. Impact of the gall-forming rust fungus *Uromycladium tepperianum* on the invasive tree *Acacia saligna* in South Africa. *J. Biol. Control* 10:75-82.
- NEVES, S.; 2015 [online]. Controlo de *Acacia dealbata* na Paisagem Protegida da Serra do Açor. 1.º Encontro de Conservação da Natureza e Florestas 2015. 28p. Setúbal. <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/resource/1-encontro-cnf-2015/6-CONTROLO-ACACIA-PPSA.pdf>
- OLIVEIRA, A.M.F.; LELIS, A.T.; LEPAGE, E.S.; LOPEZ, G.A.C.; OLIVEIRA, L.C.S., CAÑEDO, M.D., MILANO, S.; 1986. Agentes destruidores da madeira. In: LEPAGE, E.S. (ed): Manual de preservação de madeiras. Second.ed. 99–256. Instituto de Pesquisas Tecnológicas. São Paulo.
- PAES, J.B.; MORAIS, V.M.; LIMA, C.R.; 2004. Resistência natural de nove madeiras do semi-árido brasileiro a fungos xilófagos em condições de laboratório. *Rev. Árvore* 28(2):275–282.
- PIRONE, P.P.; 1959. Tree maintenance, 3d ed. Oxford University Press. 436 p. New York.
- PUSPITASARI, D.; YUSKIANTI, V.; RIMBAWANTO, A.; BEADLE, C.; GLEN, M.; MOHAMMED, C.; 2012. Identification of several *Ganoderma* species causing root rot in *Acacia mangium* plantation in Indonesia. In: MOHAMMED, C.; BEADLE, C.; ROUX, J.; RAHAYU, S. (eds.): Proceeding of International Conference on The Impacts of Climate Change to Forest Pests and Diseases in The Tropics (IUFRO WP.7.02.07) 8-10 October 2012, 157-161. Yogyakarta, Indonesia.
- RAYNER, A.D.M., 1977. Fungal colonization of hardwood stumps from natural sources: II. *Basidiomycetes*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 69 (2):303–312.
- RAYNER, A.D.M.; BODDY, L.; 1988. Fungal Decomposition: Its Biology and Ecology. John Wiley & Sons, 602 p. New York.
- REAL DECRETO 630/2013, de 2 de agosto, por el que se regula el Catálogo español de especies exóticas invasoras. BOE núm. 185, de 3 de agosto de 2013, páginas 56764 a 56786 (23 p.)
- SANTOS, A.; MONTEIRO, A.; 2007. Controlo de invasoras lenhosas no Parque Ecológico do Funchal. *Silva Lusitana* 15(2): 249-255.

- SANZ-ELORZA, M.; DANA, E.D.; SOBRINO, E.; 2001. Aproximación al listado de plantas alóctonas invasoras reales y potenciales en España. *Lazaroa* 22: 121-131.
- SANZ-ELORZA, M.; DANA, E.D.; SOBRINO, E.; 2004. Atlas de las Plantas Alóctonas Invasoras en España. Dirección General para la Biodiversidad, 384 p. Madrid.
- SE-EPPC; 2002 [online]. Southeast Exotic Pest Plant Council Invasive Plant Manual. Nashville, USA. <http://www.se-eppc.org/manual/ailanthus.html> [consultado el 20/10/2016].
- SWEARINGEN, J. M.; P. D. PANNILL.; 2009 [online]. Tree of heaven *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. Plant Conservation Alliance's Alien Plant Working Group. <https://www.nps.gov/plants/alien/fact/aial1.htm> (Last updated: 07-Jul-2009) [consultado el 20/10/2016].
- SZCZEPKOWSKI, A.; PIĘTKA, J.; 2007-2008. Results of inoculation of beech (*Fagus sylvatica* L.) and oak (*Quercus* sp.) stumps with *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. *Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry* 49-50: 15-25.
- U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 1949. Trees. Yearbook of Agriculture 1949. United States. Dept. of Agriculture, U.S. Government Printer Office. 944 p. Washington, DC.
- WOOD, A.R.; MORRIS, M.J.; 2007. Impact of the gall-forming rust fungus *Uromycladium tepperianum* on the invasive tree *Acacia saligna* in South Africa: 15 years of monitoring. *Biol. Control* 41: 68-77.
- WRIGHT, E.; WELLS, H.R.; 1948. Tests on the adaptability of trees and shrubs to shelterbelt planting on certain *Phymatotrichum* root rot infested soils in Oklahoma and Texas. *J. Forest.* 46:256-262.