

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



María Martín Santafé

Juan Barriuso Vargas
Sergio Sánchez Durán





Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)



La trufa negra es la fructificación de un hongo ascomiceto hipogeo (*Tuber melanosporum*) que establece relaciones simbióticas con diferentes especies de fanerógamas, principalmente del género *Quercus*.



Se ha convertido en uno de los **principales recursos económicos** de las áreas más deprimidas de la Península Ibérica



SUPERFICIE PLANTADA



IMPACTO ECONÓMICO

En España se produce el **40%** de la trufa del mundo

En Aragón se produce el **25%** de la trufa mundial

Justificación y objetivos generales



Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)



Trufa silvestre

- Disminución de producción
- Agotamiento de trufas



Plantaciones

- Aumento en superficie
- Intensificación
- Densificación zonal

Mientras la tendencia al **monocultivo** y las **densidades de plantación** aumentan, la cantidad de **plagas** asociadas a plantaciones truferas continúa incrementándose. De hecho, insectos que convivían en equilibrio con el medio natural, se han convertido en plaga en los últimos años.



1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



Selección de aquellas con más relevancia en el sector para profundizar en su conocimiento actual

2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada



3.- Primera identificación del patógeno causante de las **malformaciones tumorales** en encinas en España



4.- Primeros avances en la biología y control del **escarabajo de la trufa** (*Leiodes cinnamomeus*)



Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- *Biología de Pulvinula convexella (syn. P. constellatio) en viveros españoles de producción de planta micorrizada*

Capítulo 3.- *Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España*

Capítulo 4.- *Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (Leiodes cinnamomeus)*



En viveros



En plantaciones



En postcosecha

Más de 50 agentes nocivos han sido descritos

Stage	Disease/Competitor	Identification	Incidence	Danger risk	Impact when the problem occurs
Nursery	<i>Microphthora albidoides</i>	Leaves covered with a white mass of mycelia and conidia. Discoloration, necrosis, uneven shoot growth	High	Low	May delay the growth of young plants and may kill seedlings
Competitor fungus	<i>Sphaerosporella brunnata</i> (anamorph <i>Dichobotrya brunnata</i>)	Presence of mycorrhizae. In severe cases, appearance of fruiting bodies	High	Medium	Rejection of the batch depending on the method used for seedling quality evaluation
	<i>Tuber albidum</i> Complex	Presence of mycorrhizae	Low	High	Rejection of the batch
	<i>Trichophaea woolfophia</i>	Presence of mycorrhizae	Low	Medium	Rejection of the batch depending on the method used for seedling quality evaluation
	<i>Tuber brunnale</i>	Presence of mycorrhizae	Low	High	Rejection of the batch
	<i>Otiorynchus sulcatus</i>	Leaves with scalloped edges eaten by adults. Presence of larvae feeding on roots	Low	High	Weakness and subsequent death of affected plants
	<i>Cevidaphes</i> sp.	Malformations in shoots and buds and disordered growth in them	Low	Low	Weakness and malformations in affected plants. Decrease of the seedling economic value due to poor appearance
	<i>Aceria ilicis</i>	Erines in leaves. The affected leaves initially turn into a yellowish colour that later evolves into dark brown	High	Low	Seedlings usually do not suffer excessively with this pest. Decrease of the seedling economic value due to poor appearance
	<i>Phyllosticta belotella</i>	Mites in the upper surface of leaves	Low	Low	Weakening of the seedling. Decrease of the seedling economic value due to poor appearance
	<i>Phyllosticta quercus</i>	Yellow and brown spotting of leaves. General browning of the foliage and premature leaf fall	Medium	Low	Normally of no importance but persistent attacks on young trees reduce plant vigour
	Aphids	Presence of aphids in shoots, frequently accompanied by sooty mould	High	Low	Weakening of the plant
	<i>Carvialis eliphas</i>	Holes in the acorns. Compact droppings inside acorns	Medium	Medium	Economic losses due to germination failure
	<i>C. glandium</i>	Holes in the acorns. Granulated droppings inside acorns	Medium	Medium	Economic losses due to germination failure
	<i>Cydus fagiglandium</i>	Extraction of part of the potting mix from the seedling containers. Absence of acorns in containers	Low	Medium	Economic losses due to germination failure
	<i>Apodemus sylvaticus</i>				
	<i>Micromys</i> sp.				
Plantation	<i>Kermes ilicis</i>	Presence of females on the twigs and branches	Medium	Medium	Weakening of the plant even death in case of persistent attacks
	<i>K. vermicis</i>	Presence on stems and branches, especially under the bark	Low	Low	Weakening of the plant
	<i>Tarsonia vitis</i>				
	<i>Coroebus florentinus</i>	Yellowish brown branches, evolving later into a reddish tone. Presence of galleries that spread around the branch	Low	Low	Imbalance between aerial and root parts due to galleries, which interrupt sap flow. Weakening of the plant. Brittle branches

Stage	Disease/Competitor	Identification	Incidence	Danger risk	Impact when the problem occurs
	<i>Coccis coccis</i>	Presence of sawdust and/or droppings. Presence of larvae and galleries under the bark	Low	Medium	Imbalance between aerial and root parts due to galleries, which interrupt sap flow. Weakening of the plant. Brittle branches
	<i>Zenopsis pyrini</i>	Presence of newly hatched larvae in young twigs, to be found later in larger branches or trunks	Low	Medium	Imbalance between aerial and root parts due to galleries, which interrupt sap flow. Weakening of the plant. Brittle branches
	<i>Elymantria dispar</i>	Insect egg depositions on vertical or overhanging surfaces, usually trunks, and never on the floor	Low	Medium	Severe defoliation. Weakening of the plant, leading sometimes to disease and/or death
	<i>Tortix viridulana</i>	Symptoms visible in the tree crowns including complete defoliation when larvae are found in large numbers	Low	Low	Weakening of the plant. Reduction of acorn production
	<i>Empressis chrysotheca</i>	Defoliation. Gregarious and highly urticating larvae, which spin a very visible web around them	Low	Low	Defoliation caused by larvae, which eat the buds and young leaves. Weakening of the plant
	<i>Lachnalia hirta</i>	Presence of larvae feeding on sprouts	Medium	Low	Weakening of the plant. Malformations
	<i>Lachnalia</i> spp.	Presence of adults in the tree crown	Low	Low	Defoliation, decreased flowering
	<i>Polysphincta setipennis</i>	They feed on parenchyma, leaving the leaf veins intact	Medium	Low	Weakening of the plant. Reduction of plant vigour
	<i>Aceria ilicis</i>	Erines in leaves. The affected leaves initially turn into a yellowish colour that later evolves into a dark brown	High	Low	Slightly deformed leaves. Gall-like thickenings and deformations in inflorescences
	Aphids	Presence of aphids in shoots, frequently accompanied by sooty mould	High	Low	Weakening of the plant
	<i>Phyllosticta quercus</i>	Yellow and brown spotting of leaves. General browning of the foliage and premature leaf fall	Medium	Low	Normally of no importance in old plantations, but persistent attacks on young trees reduce plant vigour
	Galls	Presence of galls, malformations or thickenings with different shapes	Medium	Low	Malformations and alterations in twigs, stems, leaves and catkins
	<i>Brenneria quercina</i>	Exudates on stems, branches, twigs or acorns	Low	Low	Disturbance of the vegetative growth process
	<i>Hesperia</i> sp.	Reddish-brown coloration of the plant	Low	Medium	Death of the plant
	White worms	Presence of larvae in affected plants	Low	High	Death of the plant
	<i>Melanotus</i> sp.	Reddish-brown coloration of the plant	Low	High	Death of the plant
	<i>Acanthia</i> sp.				
	<i>Sax scirpifera</i> and other mammals	Torn and chewed young plants. Soil profile disturbance	High	High	Death of roots, decreasing of truffle production
	White rot	Vigour decline, yellowing foliage, reduced leaf size and number. Mycelium in roots	Low	High	Weakening and even death of the plant
	<i>Amillaria mollis</i>				
	<i>Russulatia recurva</i>				
	<i>Tapinaria bruchii</i>	Smaller yellowing leaves. Short grouped twigs	Low	Low	Falling of the anomalous leaves
	<i>Brenneria quercina</i>	Exudates on stems, branches, twigs or acorns	Low	Low	Disturbance of the vegetative growth process

Stage	Disease/Competitor	Identification	Incidence	Danger risk	Impact when the problem occurs
	<i>Botryosphaeria stevensii</i> (anamorph <i>Diplodia mutila</i>)	Groups of chlorotic leaves on some branches	Low	Low	Death of twigs and branches
	<i>Candidatus phytoplasma</i>	Presence of tumor malformations in branches and trunk	Still unknown	Still unknown	Weakening of the plant, even death if tumors affect the trunk
	Competitors (fungal complex)				
	<i>Trichophaea woolfophia</i>	Presence of mycorrhizae	High	Low	Colonization of root tips preventing <i>Tuber melanosporum</i> presence in them
	<i>Pisolithus arhizus</i>	Presence of mycorrhizae. In some cases, appearance of fruiting bodies	Medium	Low	Colonization of root tips preventing <i>Tuber melanosporum</i> presence in them
	<i>Quercirrhiza squamosa</i>	Presence of mycorrhizae	Medium	Low	Colonization of root tips preventing <i>Tuber melanosporum</i> presence in them
	<i>Tuber brunnale</i>	Presence of mycorrhizae. In some cases, appearance of fruiting bodies	Low	High	Production of a non-desirable truffle in the plantations
Fruting bodies	<i>Leiodes cinnamomea</i>	Presence of galleries and larvae in truffles	High	High	Truffle devaluation, decrease of truffle weight, rot of fruiting bodies
	<i>Helomyza tuberivora</i>	Presence of galleries and larvae in truffles	High	High	Truffle devaluation, decrease of truffle weight, rot of fruiting bodies
	<i>Megaselia</i> sp.	Presence of galleries and larvae in truffles	Low	High	Truffle devaluation, decrease of truffle weight, rot of fruiting bodies
	<i>Drosophila funebris</i>	Presence of galleries and larvae in truffles	Low	High	Truffle devaluation, decrease of truffle weight, rot of fruiting bodies
	<i>Pleurophorus</i> sp.	Presence of insects in truffles	Low	Low	Spreading of microorganisms that cause truffle rot
	<i>Ommatolobus sabulosus</i>	Presence of insects in truffles	Low	Low	Spreading of microorganisms that cause truffle rot

Debemos ser capaces de detectar cualquier problema fitosanitario antes de que se convierta en plaga



Martín-Santafé M, Pérez-Fortea V, Zuriaga P, Barriuso J. 2014. Phytosanitary problems detected in truffle cultivation. *Forest Systems* 23(2):307-316.

Barriuso JJ, Martín-Santafé M, Sánchez S. 2011. Pests associated with truffle plantations in Spain. Oral communication. Sixth International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM6). Rabat, Marruecos.

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)
Available online at www.inia.es/forestsystems
<http://dx.doi.org/10.5424/fs/2014232-04900>

Forest Systems 2014 23(2): 307-316
ISSN: 2171-5068
eISSN: 2171-9845

Phytosanitary problems detected in truffle cultivation in Spain. A review

Maria Martín-Santafé^{1,2*}, Víctor Pérez-Fortea³, Pedro Zuriaga³
and Juan Barriuso¹

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Gobierno de Aragón. Avda. Montañana, 930. 50059 Zaragoza, Spain. ² Centro de Investigación y Experimentación en Truficultura de la Diputación de Huesca. Polígono Fabardo, s/n. 22430 Graus (Huesca), Spain. ³ Laboratorio de Sanidad Forestal. Gobierno de Aragón. Servicio Provincial de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente. C/ Agustín Planas Sancho, 10, 3°. 44400 Mora de Rubielos (Teruel), Spain

Abstract

Atm of study: In black truffle plantations, many factors are driving the emergence of new pests and diseases which in forestry areas go unnoticed. Usually, the incidence of most of them is low. Nevertheless, in specific cases, some of them are capable of causing irreversible damage that could endanger the harvest or even tree survival.

Area of study: This paper presents an in-depth study of the pests and diseases more frequently associated with truffle plantations in the region of Aragón (Spain). Damages have been arranged into the main production stages: nursery, plantations and fruiting bodies.

Material and methods: The data used in this work come from the technical enquiries from truffle growers to researchers and technical staff, as well as from field visits undertaken by those work teams.

Sampling methodology has been carried out following standard procedures. Insects were collected with the traps commonly used in entomology works.

Main result: More than 50 damages have been described in this paper. Some of them are capable of weakening the plants and other can even kill them. Mycorrhizal competitor fungi have also been considered in this paper. These organisms do not cause real phytosanitary problems, but they can lead to important economic losses.

Research highlights: Researches, truffle hunters and managers must be alert in the face of the possible occurrence of potentially dangerous organisms. The final aim: being able to take action in an efficient way in the case of a pest outbreak.

Key words: *Tuber melanosporum*; *Quercus*; parasites; pests; diseases.

Introduction

Black truffle is the fruiting body of a hypogeous ascomycete (*Tuber melanosporum* Vittad.) which establishes symbiotic relationships with different spermatophyte species, mainly of the genus *Quercus*. The main host trees for black truffle in Spain are *Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp., *Quercus faginea* Lam., *Quercus coccifera* L., *Quercus humilis* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop. and *Corylus avellana* L. (Etayo *et al.*, 1999).

Nowadays 10,000 ha are estimated to be used for truffle culture, of which approximately 6,000 ha are in

the region of Aragón (North East Spain). Annual growth is estimated at 500 ha (Reyna *et al.*, 2013). Due to the high profitability of these plantations and to the support of the public authorities, Spain is becoming a world leader in this activity. But this is not the only marketable truffle in Spain. Other truffles, as *Tuber aestivum* Vittad., or *Tuber brumale* Vittad. are also collected and traded (De Román and Boa, 2004). However, their lower cost and the lack of knowledge about their culture are directing all efforts of truffle growers and researchers towards an increase of *T. melanosporum* production.

As the trend to monoculture grows and plantation densities increase, the quantity of pests associated with

* Corresponding author: mmartinsa@aragon.es

Received: 30-08-13. Accepted: 26-02-14.

This work has 32 Supplementary Figures that do not appear in the printed article but that accompany the paper online.

Barriuso JJ, Martín-Santafé M, Sánchez S, Palazón C. 2012. Plagas y enfermedades asociadas al cultivo de la trufa. In "Truficultura. Fundamentos y Técnicas. 2ª Edición". Pp. 275-301. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, 720 pp.



PESTS ASSOCIATED WITH TRUFFLE PLANTATIONS IN SPAIN.

Barriuso, J., Martín, M., Sánchez, S.

THE 6th INTERNATIONAL WORKSHOP ON EDIBLE MYCORRHIZAL MUSHROOMS (IWEMM6), Rabat, Morocco from 06 to 10th April 2011.



Pérez-Fortea V, Martín-Santafé M (Coord.). 2018. La sanidad en truficultura. Guía de identificación de agentes nocivos en la truficultura. Ed. Gobierno de Aragón, Teruel. 156pp.



Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* en viveros españoles de producción de planta micorrizada

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)



Aunque es un hongo micorrícico se considera patógeno por el impacto económico que supone



Hongo competidor en viveros de producción de planta micorrizada.

Compite con *Tuber melanosporum* por el espacio en los ápices radiculares



Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)



Hasta ahora, nunca había sido detectada viveros españoles

- En 2014 se encuentra en un vivero de producción de planta micorrizada en Zaragoza
- En el invernadero había dos especies de trufas, *Tuber melanosporum* y *Tuber aestivum*, inoculadas en pie de *Quercus ilex* (encina) y *Quercus faginea* (quejigo).

Las plantas se produjeron en tres años consecutivos, 2013 (**3 años de edad**), 2014 (**2 años de edad**) y 2015 (**1 año de edad**).

Se realizaron dos trabajos diferentes:

- Monitorización de la contaminación
- Análisis micorrícico de las plantas

Conclusión:

Puede ser un problema en **planta joven** o con **poco porcentaje de micorrización** por *Tuber melanosporum* (cuidado con los semilleros), pero no en planta de calidad



Martín-Santafé M, Barriuso J, Benucci GMN, Donnini D, Marco P, Sánchez S. 2016. First detection of *Pulvinula constellatio* in Spanish nurseries producing truffle plants. Poster. 8th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM8). Cahors, Francia.

Sánchez S, Martín-Santafé M, Barriuso J, Benucci GMN, Garcia-Barreda S, Donnini D, De Miguel AM, Marco P. 2019. First report of *Pulvinula constellatio* in Spanish nurseries producing truffle seedlings. Journal of Plant Pathology doi:10.1007/s42161-019-00475-4

First detection of *Pulvinula constellatio* in spanish nurseries producing truffle plants

Martín-Santafé M¹, Barriuso J², Benucci GMN³, Donnini D⁴, Marco P⁵, Sánchez S⁶.

¹ Forest Resources Department, Agrifood Research and Technology Centre of Aragón (CITA), Agrifood Institute of Aragón – IIA (CITA)-Zaragoza University, Zaragoza, Spain.
² Zaragoza University, Zaragoza, Spain.
³ Department of Plant, Soil and Microbial Sciences, Michigan State University, East Lansing, United States.
⁴ Department of Applied Biology, Perugia University, Perugia, Italy.



INTRODUCTION

The appropriate development of a truffle plantation is related to the quality of the seedlings set in the field. This quality mainly depends on quantity of *Tuber* sp. ectomycorrhizae and on quantity of other ectomycorrhizae formed by competitor fungi. *Sporophorella brunnea* and *Pulvinula constellatio* can be considered as the most frequent competing species, but the latter has never been found in Spanish nurseries so far. In Spain there are dozens of nurseries specialized in *Tuber melanosporum* inoculated plants (Cacina et al. 2013), where more than 250,000 seedlings are produced each year (Sánchez et al. 2014).



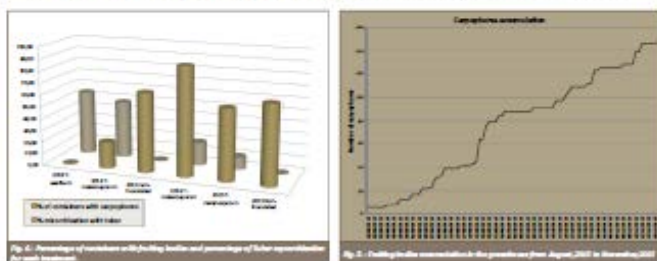
MATERIAL AND METHODS

First detection of *Pulvinula constellatio* took place in a nursery located in Zaragoza province. Two truffle species, *Tuber melanosporum* and *T. aestivum*, hosted on both *Quercus ilex* and *Q. faginea*, are produced in the nursery. Seedlings with different ages were kept at the same time, from one to three years (inoculated in 2013 to 2015, respectively). *P. constellatio* typically clustered, very small (<2mm) and orange-colored apothecia were firstly observed over the surface of some pots (Figure 1 and 2) as November 2014. Its whitish ectomycorrhizae (Figure 3 and 4) were found in both tree species, in some case sharing roots with *T. melanosporum* ectomycorrhizae. Morphological (Breitenbach and Kränzlin 1984; Amicucci et al. 2001) and species-specific PCR (Amicucci et al. 2001) identifications were carried out on both apothecia and ectomycorrhizae.

RESULTS AND DISCUSSION

From the first detection on November 2014, two outbreaks of infection were found. In February 2015 those outbreaks fructified again. From August to November 2015 contamination was widespread all over the greenhouse (Figure 5). From February 2015 to April 2015 appearance of carpophores increased again. Seedlings showing high rates of root colonization by the truffle were free from fruit bodies, whether in the case of *T. melanosporum* or *T. aestivum*, and showed significantly lower rates of *P. constellatio* mycorrhization. However, seedlings with scarce *Tuber* mycorrhization and one inoculated controls showed higher rates of fruitbodies presence and mycorrhization by *P. constellatio*. See Figure 6. *P. constellatio* displays a typical carbonolous behavior, in the same way as *S. brunnea* (Sánchez et al. 2014):

- High rates of root colonization when roots are free of ectomycorrhizal fungi.
- Fast concluding its lifecycle by fruit bodies development, thus spreading its spores rapidly to other seedlings and seed trays.



CONCLUDING REMARKS

Under these conditions, *P. constellatio* seems not to be able to displace neither *T. melanosporum* nor *T. aestivum*, but once established *Tuber* mycorrhizae have less roots available to colonize resulting on lower quality seedlings. We encourage greenhouse owners to pay attention to *P. constellatio* fruit body formation and communicate its presence in reason to evaluate its spreading through the country. Special attention should be paid to distribution of tools, equipment and greenhouse structure between producing seasons.

References: Breitenbach and Kränzlin 1984, Amicucci et al. 2001, Cacina et al. 2013, Sánchez et al. 2014, IWEMM8 2016.

First report of *Pulvinula constellatio* in Spanish nurseries producing truffle seedlings

Sergio Sánchez¹, María Martín-Santafé², Juan Barriuso³, Gian Maria Niccolò Benucci⁴, Sergi Garcia-Barreda⁵, Donizia Donnini⁶, Ana María De Miguel⁷, Pedro Marco⁸

¹Forest Resources Department, Agrifood Research and Technology Centre of Aragón, 50059, Zaragoza, Spain
²Department of Agricultural and Environmental Sciences, University of Zaragoza, 50013, Zaragoza, Spain
³Department of Plant, Soil and Microbial Sciences, Michigan State University, MI 48823, East Lansing, United States
⁴Department of Agricultural, Food and Environmental Sciences, University of Perugia, 06121, Perugia, Italy
⁵Department of Environmental Biology, University of Navarra, 31008, Pamplona, Spain

Here we report the first finding of *Pulvinula constellatio* (Berk. & Broome) Boud., in Spanish greenhouses. The nursery is located in Zaragoza province and devoted to truffle-seedling production. Two truffle species, *Tuber melanosporum* Vittad. and *T. aestivum* Vittad., hosted on both holm oak, *Quercus ilex* L. subsp. *balloia* (Desf.) Samp., and Lusitanian oak, *Q. faginea* Lam., are produced. Typically clustered, very small (<2mm) and orange-colored apothecia were first observed over the surface of some pots in November 2014. Since then, they spread all over the greenhouse. Its whitish ectomycorrhizae were observed in both tree species. Morphological (Breitenbach and Kränzlin 1984; Amicucci et al. 2001) and species-specific PCR (Amicucci et al. 2001) identifications were done on both apothecia and ectomycorrhizae. PCR amplicons were also sequenced in both strands and assembled in contigs. BLAST analysis confirmed that obtained sequences were identical to those present in GenBank for *P. constellatio* with 97-100% of query coverage and 99-100% of identity matches. Sequence contigs were submitted to Genbank under the following accession numbers: KT119608-KT119614. Some apothecia and ectomycorrhizae were also deposited in Navarra University herbarium (Pamplona, Spain) under the accession numbers: PAMP-Mycotheca 0321 and PAMP-Mycorrhiza 210, respectively. Nurseries producing mycorrhized seedlings are subjected to constant contamination with non-target mycorrhizal fungi. These fungi act as competitors rather than displacers, decreasing the quality of the final product. From this point of view they can be studied and treated as fungal pathogens and control strategies must be developed to contain them (Sánchez et al. 2014). Real damage has not yet been economically measured but other countries, mainly Italy, describe *P. constellatio* as an opportunist and very aggressive competing fungus (Amicucci et al. 2001). We encourage greenhouse owners to pay attention to these fungus and to communicate further detections so potential spreading through the country can be evaluated.

References:

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



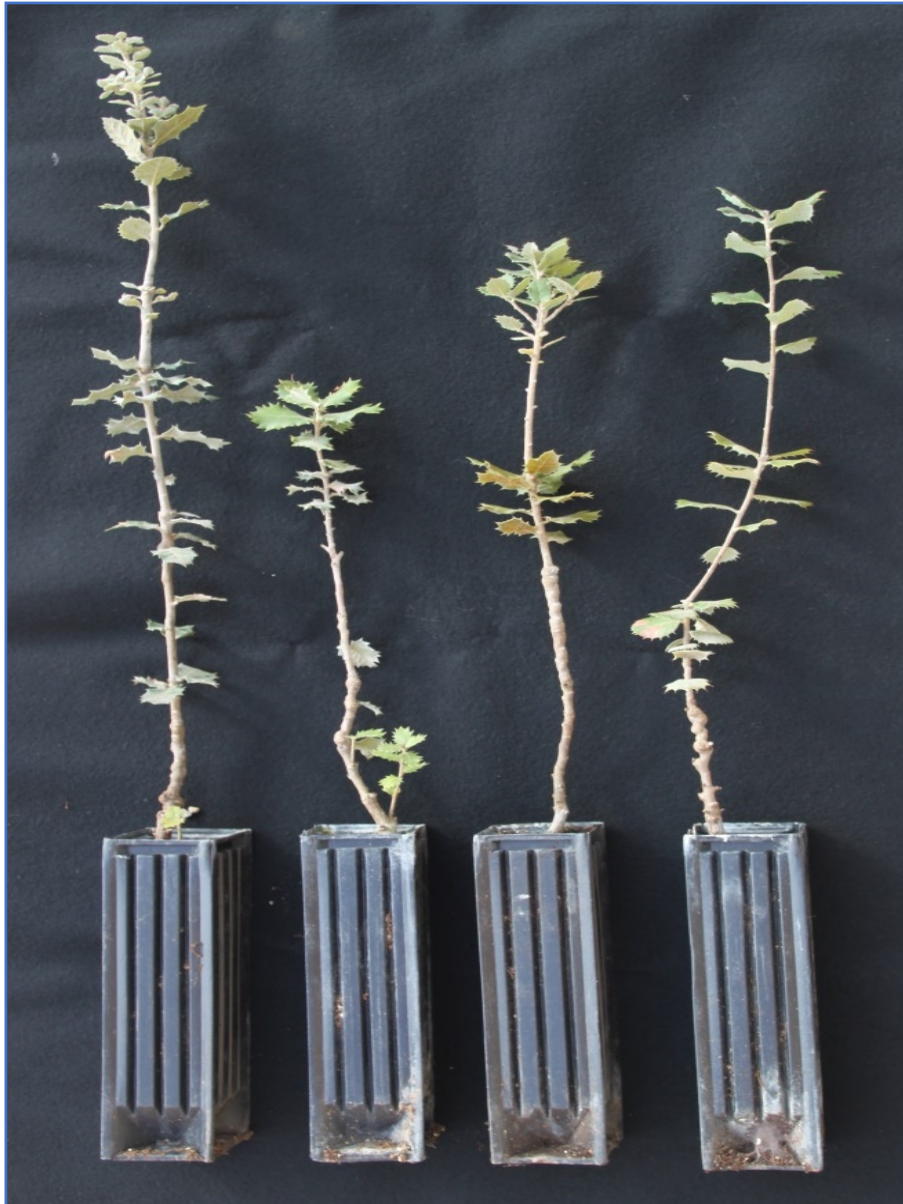
Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- *Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)*



Síntomas:

- Decaimiento generalizado
- Clorosis y defoliación
- Malformaciones en tronco y ramas
- Rebrotos

Resultados:

- PCR convencional (Primers P1/P7) → positivo
- Real Time PCR (Christensen et al., 2004) → positivo
- Nested-PCR → positivo
- Secuenciando con primers R16sf/r2n el fitoplasma corresponde al grupo 16SrX (Apple proliferation).



Martín-Santafé M, Sánchez S, Batlle A, Laviña A, Barriuso J. 2014. First identification of the pathogen causing tumor malformations of evergreen oaks in Spain. *Forest Systems* 23(2):357-363.

Martín-Santafé M, Sánchez S, Batlle A, Laviña A, Barriuso JJ. 2013. First identification of the pathogen causing tumor malformations of evergreen oaks in Spain. Oral Communication. 1st International Congress of Trufficulture. 2013. Teruel, España.

Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- *Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (Leiodes cinnamomeus)*



Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)
Available online at www.inia.es/forestsystems
doi: <http://dx.doi.org/10.5424/fs/2014232-04927>

Forest Systems 2014 23(2): 357-363
ISSN: 2171-5068
eISSN: 2171-9845

First identification of the pathogen causing tumor malformations in holm oak in Spain

Maria Martín-Santafé^{1,2*}, Sergio Sánchez¹, Asumpció Batlle³, Amparo Laviña³ and Juan Barriuso¹

¹ Departamento de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Avenida de Montañana, 930. 50059 Zaragoza, Spain. ² Centro de Investigación y Experimentación en Truficultura de la Diputación de Huesca. Polígono Fabardo s/n. 22430 Graus, Huesca, Spain. ³ Dept. Protecció Vegetal. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries. IRTA. 08348 Cabrils, Barcelona, Spain

Abstract

Aim of study: In recent years an increase in pests and diseases associated with truffle plantations has been detected in Spain. The appearance of tumor malformations in trunks and branches of *Quercus ilex* L. must be highlighted. These bumps have expanded dramatically since the increase in the number and density of truffle plantations. This pathology is not only found in plantations, but also in forests, and in trees of all ages.

Area of study: the eastern mountains and the truffle plantations of the Iberian Peninsula.

Material and methods: Positive results were obtained by using two types of PCR: Real-Time PCR and nested-PCR. They were carried out with primers that amplified 16S ribosomal gene sequences that are common to all known phytoplasmas.

Main result: The disease manifests itself as an irregular thickening in branches of any age and in the trunk that results in the woody tissue cracking open, forming wounds. The affected branches usually undergo necrosis and in case of affecting the trunk, the tree will eventually die. After an extensive literature review and several failed attempts to isolate fungal and bacterial species from these tumors and wounds, the disease-causing organism has been identified as a *Candidatus* Phytoplasma.

Research highlights: The appearance of this disease may endanger the profitability of an *a priori* profitable crop. Due to the intrinsic characteristics of the organism, and knowing that no phytosanitary treatment is able to control phytoplasmas, future works should be directed towards identifying the transmitter in order to control the disease.

Key words: *Candidatus* Phytoplasma; PCR; *Quercus ilex*; black truffle; *Tuber melanosporum*.

Introduction

The black truffle *Tuber melanosporum* Vittad. domestication and cultivation has meant in Spain an ecological profitable alternative in a low-fertility land that is suffering the effects of depopulation. Truffle culture is offering in these areas a sustainable agronomic option, not only because of its direct benefits, obtained from the sale of fruiting bodies, but also through indirect benefits (Samils *et al.*, 2008).

Truffle plantations high profitability in the region of Aragón (North East Spain), as well as the support of the Public Authorities, are leading Spain to become a worldwide reference in black truffle cultivation.

Black truffle establishes symbiotic relationships with different species of spermatophytes, mainly of the genus *Quercus*. However, the holm oak (*Quercus ilex* L.) is the most used host tree in Spanish truffle plantations. This is due to its ecological plasticity, its small size, its ease of handling, and its high yields in truffle production.

* Corresponding author: mmartinsa@aragon.es
Received: 30-08-13. Accepted: 26-02-14.

This work has four Supplementary Figures that do not appear in the article but that accompany the paper online.

Abbreviations used: PCR (polymerase chain reaction); bp (base pairs).



First identification of the pathogen causing tumor malformations of evergreen oaks in Spain

Martín, M.^{1,2*}; Sánchez, S.¹; Batlle, A.³; Laviña, A.³; Barriuso, J.¹

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón.

Address Avenida de Montañana, 930. 50059 Zaragoza (Spain).

² Centro de Investigación y Experimentación en Truficultura de la Diputación de Huesca.

Address Polígono Fabardo s/n. 22430 Graus, Huesca (Spain).

³ Dept. Protecció Vegetal. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries. IRTA.

Address 08348, Cabrils, Barcelona (Spain).

* Corresponding author: María Martín Santafé. Departamento de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Avenida de Montañana, 930. 50059 Zaragoza (Spain). E-mail: mmartinsa@aragon.es Phone: 34+976716323.

Abstract

In recent years it has been detected in Spain an increase in pests and diseases associated to truffle plantations. The appearance of tumor malformations in trunks and branches of *Quercus ilex* L. highlights. These bumps, occasionally described in the eastern mountains of the Iberian Peninsula, have expanded dramatically from the increase in the number and density of truffle plantations. This pathology is placed not only in plantations, but also in forests, and in all age trees. In fact, damages have been also detected in nurseries.

Disease manifests itself as an irregular thickening of wood from branches of any age and from main trunk until the woody tissue is opened, forming wounds. The affected branches usually undergo necrosis and in case of affect the main trunk, the affected tree dies.

After an extensive literature review and failed attempts of isolating fungal and bacterial species of these tumors and wounds, it was found that the possible disease-causing organism corresponds to a *Candidatus* Phytoplasma. Using two types of PCR: Real-Time PCR and PCR-nest, carried out with primers that amplify 16S ribosomal gene sequences, common to all known phytoplasmas, positive results have been obtained. Thus one phytoplasma could be implicated in the development of this disease. Furthermore, it has been confirmed the presence of this organism in phloem tissue from wood by DAPI stain (4', 6'-diamidino-2-phenylindole) for epifluorescence microscopy.

In order to start controlling this disease we are currently identifying the possible methods of transmission of the organism both mechanically and by means of seeds or vectors, as well as the actual distribution of the disease in the Iberian Peninsula.

KEYWORDS

Candidatus phytoplasma, real time PCR, DAPI, *Quercus ilex*, black truffle.

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

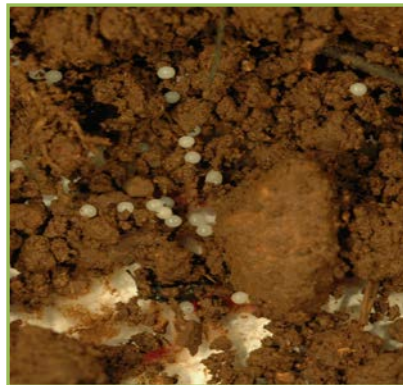
Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)



Huevo	10-15 días	Octubre- enero
Larva 1	8-9 días	
Larva 2	8-9 días	Noviembre- marzo
Larva 3	13-14 días	
Larva diapausanta o áfaga	8-9 meses	½ diciembre- ½ septiembre
Pupa	20-30 días	Septiembre-noviembre
Imago (Adulto)	35-100 días	½ septiembre-½ mayo

Conocido como el escarabajo de la trufa
Coleóptero (Fam. *Leiodidae*)



Huevos



Larva



Refugio



Adulto

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)



Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)



Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



Justificación y Objetivos Generales

Capítulo 1.- Revisión de plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas

Capítulo 2.- Biología de *Pulvinula convexella* (syn. *P. constellatio*) en viveros españoles de producción de planta micorrizada

Capítulo 3.- Primera identificación del patógeno causante de las malformaciones tumorales en encinas en España

Capítulo 4.- Primeros avances en la biología y control del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)



Resultados **prácticos y útiles** para el sector, permitiendo realizar un manejo de las plantaciones capaz de disminuir daños en carpóforos.

Colocación de las trampas en las plantaciones. El trampeo debe iniciarse antes de que comience el vuelo de los adultos, por lo que se recomienda la instalación de este método de control a principios del mes de septiembre

Ratio muy similar de capturas de machos y hembras

Eliminación de la mayor parte de cuerpos fructíferos de las plantaciones truferas (intensificar búsqueda y ampliar campaña)

Extracción del mayor número de individuos de *Leiodes* a la hora de recolectar las trufas

Los pozos disminuyen cantidad de carpóforos afectados, además de mostrar un menor número de galerías en caso de estar atacadas





MÉTODOS DE CONTROL PROPUESTOS

De los resultados obtenidos en los ensayos llevados a cabo en Teruel, el método de control más eficaz es fruto de la combinación de varias prácticas, pudiendo ofrecer unos buenos resultados a medio - largo plazo. Consiste en una combinación de:

1) Prácticas de recolección adecuadas:

- **Minimizar la cantidad de trufas sin recolectar.** Para ello es importante la frecuencia de recolección, así como el trabajo con perros bien adiestrados y un correcto orden a la hora de recolectar. Del mismo modo, adelantar la fecha de inicio y retrasar la fecha de finalización de campaña disminuye la cantidad de carpóforos que quedan sin sacar y que pudieran ser atacados por *Leiodes*.
- **Eliminación manual de adultos y larvas.** Al recolectar las trufas, es aconsejable no dejar en el pozo la tierra con larvas más adherida a la trufa. Es preferible recolectar la trufa con tierra que dejar en la parcela las larvas, adultos o huevos que pudieran estar alrededor.

2) **Colocación de atrayentes.** Según los resultados obtenidos en los últimos ensayos, la técnica de trampeo masivo con atrayente sintético puede ofrecer una reducción significativa de adultos y por tanto de los daños ocasionados en las trufas. En este campo de investigación se continúa trabajando con el objetivo de seguir mejorando la eficiencia del mismo.

En definitiva lo que se busca es, mediante la eliminación del sustento alimenticio y la captura, no dar posibilidad al escarabajo de multiplicarse en exceso en la plantación. De esta forma es posible que, tras el transcurso de varias temporadas, se puedan reducir las poblaciones.



Acción financiada al 50% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).
Acción financiada, asimismo por el Gobierno de Aragón a través del Fondo de Inversiones de Teruel (FITE 2016), con participación del Gobierno de España (Ministerio de Hacienda y Función Pública)
"Construyendo Europa desde Aragón"



EL ESCARABAJO DE LA TRUFA

Leiodes cinnamomeus
(Panzer, 1793)

Insecta. Coleoptera. Leiodidae.



QUÉ ES EL ESCARABAJO DE LA TRUFA

Es un insecto holometábolo cuyas fases comprenden la de huevo, larva, pupa y adulto.

HUEVOS

Miden entre 1.3 y 1.4 mm, son redondos y de color blanco, cubiertos por un mucilago translúcido y transparente. Las hembras los depositan en las proximidades de las trufas o sobre el peridio de éstas.



LARVAS

Son las causantes de los principales daños en las trufas. Presentan una coloración variable desde el blanco hasta el amarillento. Carecen de ojos, poseen potentes mandíbulas para introducirse en la trufa y alimentarse de ella.



ADULTOS

Cuando salen al exterior presentan actividad crepuscular. Pueden diferenciarse por sus patas traseras, donde los machos poseen un gancho en la parte posterior del fémur y presentan una tibia curvada, mientras que las de las hembras son rectas.



REFUGIO TERROSO

Las larvas pasan los meses estivales enterradas en el suelo rodeadas de una celdilla terrosa que les protege de la meteorología desfavorable y de depredadores y parásitos.

CICLO ANUAL

- Este insecto presenta un complicado ciclo biológico. Los adultos son longevos y la hembra realiza ovoposición gradual, por lo que en fechas concretas nos podemos encontrar en un cuerpo fructífero con huevos, larvas de diferentes edades y adultos.
- El vuelo de los primeros adultos se inicia a finales de septiembre-principio de octubre, en función de la climatología, y por tanto, de la maduración y formación de los aromas de *Tuber melanosporum*.
- Presencia de larvas desde primeros de octubre hasta aproximadamente marzo.
- Las larvas tras realizar todos los estadios pasan los meses en los que no hay *T. melanosporum* en una fase de diapausa áfaga, hasta que en septiembre se transforman en ninfas.

« La multiplicación de *Leiodes cinnamomeus* en el territorio se debe a la producción abundante y constante de trufas todos los años »

RELACIÓN CON LA TRUFA NEGRA

- *Leiodes* siempre ha estado presente en aquellas zonas históricamente truferas de forma natural.
- La evolución de *Leiodes* está íntimamente ligada con la trufa negra. *L. cinnamomeus* se alimenta de ella y, de esta forma, disemina las esporas, favoreciendo así la reproducción sexual del hongo.

DAÑOS

Las poblaciones de *Leiodes* se han ido incrementando temporada tras temporada. La intensificación del cultivo ha conllevado una elevada producción de trufas en nuestro territorio. Además, al no depender de las precipitaciones debido a la instalación de sistemas de riego, esta producción es más o menos constante todos los años. Por este motivo, las poblaciones de *Leiodes* no fluctúan como lo hacen en las áreas naturales.

Los daños que se producen son:

- Degradación del producto y aceleración de la pudrición
- Disminución en el peso de las trufas
- Modificación del perfil aromático de la trufa
- Rechazo del consumidor debido a la presencia de galerías y/o larvas

Por el momento no se ha detectado ningún agente de control biológico capaz de regularlo, motivo por el cual es preciso recurrir a otras formas de control capaces de reducir las poblaciones de este escarabajo y disminuir así el daño ocasionado en las trufas.



Otras actividades llevadas a cabo durante la realización de la tesis doctoral:

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



- **Coordinación de dos proyectos de investigación**
 - Avanzando en el conocimiento de la biología y el control de *Leiodes cinnamomeus*. FITE 866-A (LEIOES II)
 - Efectos de *Leiodes* sobre la producción de trufa negra de Teruel: evaluación de la incidencia y posibilidades de control. FITE (662-A)
- **Participación en tres convenios de investigación**
 - Convenio de colaboración con el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón para la ejecución del proyecto de investigación “Influencia de las propiedades físicas y de la microbiota del suelo en la fructificación de la trufa negra”.
 - Convenio de colaboración entre la Diputación Provincial de Huesca, el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón, la Comarca de la Ribagorza y el Ayuntamiento de Graus, para la puesta en marcha y funcionamiento del centro de investigación y experimentación en truficultura de la Diputación Provincial de Huesca, así como para establecer los condicionantes científicos y técnicos necesarios para la dirección científica y el asesoramiento técnico del citado centro.
 - Convenio de colaboración entre la Diputación Provincial de Zaragoza y el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, para la determinación de las superficies óptimas de producción trufera en las comarcas de la comunidad de Calatayud y de Campo de Daroca.
- **Participación en tres proyectos de investigación**
 - Diseño e implementación de sistemas multiproductivos sostenibles en Truficultura y análisis de los servicios ecosistémicos asociados (TUBERSYSTEMS)
 - Aplicación de nuevas tecnologías al desarrollo de sensores para el seguimiento no destructivo del estado hídrico de la encina (*Quercus ilex* L.) en plantaciones truferas. (RTA2015-00054-C02-01.)
 - Gestión integrada de plagas y contaminantes en truficultura intensiva. Influencia en la Poscosecha. (RTA2010-00070-C02)
- **Dirección de un curso de la Universidad de Verano de Teruel**
- **Organización de cuatro cursos de la Universidad de Verano de Teruel**
- **Participación docente en seis ediciones Postgrado en Protección Vegetal Sostenible de la Escuela Politécnica Superior de Huesca de la Universidad de Zaragoza**
- **Comité organizador de un congreso**
- **Asistencia a congresos y simposios**
 - “8th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM8)”. Cahors, Francia, 10-14 Octubre de 2016.
 - Jornada sobre “Diagnóstico y oportunidades del sector de la Micología Forestal y la Truficultura en España”. Zaragoza. 20 de Junio de 2016.
 - Terceras Jornadas sobre la investigación en Micorrizas en España. Pamplona. Mayo de 2015.

Otras actividades llevadas a cabo durante la realización de la tesis doctoral:

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



• Comunicaciones a congresos

- Parladé, X, Rincón, A, de Miguel AM, Calvet C, Camprubi A, Pera J, Martínez-Ferrer MT, Campos-Rivela JL, Martín-Santafé M, Sabaté J, Provanza A. Multiproductive truffle culture in Spain. The 'Tubersystems' project. Comunicación oral. 10th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM10). Suwa, Nagano. Octubre de 2019
- Navarro-Llopis V, López B, Vacas S, Primo J, Martín-Santafé M. El trampeo masivo como método de control de *Leiodes cinnamomeus* en el cultivo de la trufa negra *Tuber melanosporum*. Comunicación oral. XI Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Madrid. Noviembre 2019.
- Fuentes C, Martín-Santafé M, Morton A, García del Pino F. Susceptibilidad del escarabajo de la trufa, *Leiodes cinnamomea*, a los nematodos entomopatógenos. Poster. XI Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Madrid. Noviembre 2019.
- Marchena D, Sánchez S, Martín-Santafé M, García-Barreda S, Marco P, De Cal A, Larena I. 2018. "Efecto del sustrato empleado en los "nidos" de plantaciones truferas sobre las poblaciones microbianas del suelo." Comunicación oral. XIX Congreso Sociedad Española de Fitopatología. Toledo. Octubre 2018.
- Solís K, Garcés-Claver A, Sánchez-Durán S, García-Barreda S, Martín-Santafé M, Marco P, Escós M, Barriuso JJ. 2017. Especies de *Trichoderma* spp. nativas de plantaciones de trufa negra (*Tuber melanosporum* Vittad.) en Aragón. Póster. 7º Congreso Forestal Español. Plasencia, España. 26-30 Junio 2017.
- Martín-Santafé M, Barriuso J, Benucci GMN, Donnini D, Marco P, Sánchez S. 2016. First detection of *Pulvinula constellatio* in Spanish nurseries producing truffle plants. Póster. 8th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM8). Cahors, Francia. 10-17 Octubre 2016.
- Barriuso J, Serrano-Notivoli R, Martín-Santafé M, Lahoz B, García-Barreda S, Marco P, Cuadrat JM, Sánchez S. 2016. Cultivated area and cultivation potentiality of black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.) in Teruel province (east-central Spain). Póster. 8th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM8). Cahors, Francia.
- Solís ZK, Garcés A, Martín-Santafé M, Sánchez S, Barriuso JJ. 2014. *Rhizoctonia* sp. Binucleada asociada a raíces micorrizadas por *Tuber melanosporum* Vittad. Póster. XVII Congreso de la sociedad española de fitopatología. Lleida, España. 7-10 Octubre de 2014.

• Proyectos fin de carrera dirigidos.

- Romeo, R., 2014. Biología y control de la cochinilla de las encinas (*Kermes ilicis* y *Kermes vermilio*) en truficultura. Universidad de Zaragoza. Escuela Politécnica Superior de Huesca.

• Formación complementaria

- Curso de "Liderazgo e Inteligencia Emocional (3.ª edición)". MCA Business & Postgraduate School. 48 horas. Abril de 2019.
- Certificado de "Manipulador de alimentos (Alto riesgo)". Damito S.L.U. 6 horas. Septiembre de 2017.
- Curso de "Principios básicos de divulgación científica". Universidad de Cantabria. 24 horas. Septiembre - Noviembre 2016.
- Curso de "Estadística para investigadores: Todo lo que siempre quiso saber (3.ª edición)". Universidad de Salamanca. 35 horas. Abril 2015-Mayo 2015.
- Curso de "Estado fitosanitario de las dehesas y fincas de *Quercus*. Hacia el equilibrio biológico. 75 horas. Universidad de Córdoba. Instituto de estudios de postgrado y formación continua. Octubre 2012-Enero 2013.



- **Publicación de 11 artículos científicos**

- Sánchez S, Martín-Santafé M, Barriuso J, Benucci GMN, Garcia-Barreda S, Donnini D, De Miguel AM, Marco P. 2019. First report of *Pulvinula constellatio* in Spanish nurseries producing truffle seedlings. *Journal of Plant Pathology* doi:10.1007/s42161-019-00475-4
- Garcia-Barreda S, Forcadell R, Sánchez S, Martín-Santafé M, Marco P, Camarero JJ, Reyna S. 2017. Black Truffle Harvesting in Spanish Forests: Trends, Current Policies and Practices, and Implications on its Sustainability. *Environmental Management*. DOI 10.1007/s00267-017-0973-6
- Sánchez S, De Miguel AM, Sáez R, Martín-Santafé M, Águeda B, Barriuso JJ, García-Barreda S, Salvador-Alcalde D, Reyna S. 2016. La trufa de verano en España: potencialidad de cultivo y estado actual. *ITEA 112(1)* (In press)
- Serrano-Notivoli R, Martín-Santafé M, Sánchez-Durán S, Barriuso JJ. 2015. Cultivation potentiality of black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.) in Zaragoza province (Northeast Spain). *Journal of maps*. DOI: 10.1080/17445647.2015.1113392
- Serrano-Notivoli R, Incausa A, Martín-Santafé M, Sánchez S, Barriuso JJ. 2015. Modelización espacial del hábitat potencial de la trufa negra (*Tuber melanosporum* Vittad.) en la provincia de Huesca (España). *ITEA*. 111(3):227-246.
- Barriuso J, Martín-Santafé M, Solís K, Sánchez S. 2015. Las micorrizas en los sistemas agro-forestales. *Agricultura* 976:618-622.
- Martín-Santafé M, Sánchez S, Batlle A, Laviña A, Barriuso J. 2014. First identification of the pathogen causing tumor malformations of evergreen oaks in Spain. *Forest Systems* 23(2):357-363.
- Martín-Santafé M, Pérez-Fortea V, Zuriaga P, Barriuso J. 2014. Phytosanitary problems detected in truffle cultivation. *Forest Systems* 23(2):307-316.
- Sánchez S, Gómez E, Martín-Santafé M, De Miguel AM, Urban A, Barriuso JJ. 2014. Experiments on the life cycle and factors affecting reproduction of *Sphaerosporella brunnea* provide evidence for rapid asexual propagation by conidiospores and for homothallism in an ectomycorrhizal competitor of cultivated truffle species. *Fungal Ecology* 8:59-65.
- Sánchez S, Ágreda T, Águeda B, Martín-Santafé M, De Miguel AM, Barriuso JJ. 2014. Persistence and detection of black truffle ectomycorrhizas in plantations: comparison between two field detection methods. *Mycorrhiza* 24(Suppl 1):39-46.
- Andrés-Alpuente, A, Sánchez S, Martín-Santafé M, Aguirre J, Barriuso JJ. 2014. Comparative analysis of different methods for evaluating evergreen oaks mycorrhized with black truffle 24(Suppl 1):29-37.

- **Publicación de un capítulo de un libro**

- Barriuso JJ, Martín-Santafé M, Sánchez S, Palazón C. 2012. Plagas y enfermedades asociadas al cultivo de la trufa. En "Truficultura. Fundamentos y Técnicas. 2ª Edición". Pp. 275-301. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, 720 pp.

- **Publicación de un libro**

- Pérez-Fortea V, Martín-Santafé M (coord.). 2018. La sanidad en truficultura. Ed. Gobierno de Aragón. Teruel, 156pp.

Otras actividades llevadas a cabo durante la realización de la tesis doctoral:

María Martín Santafé

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



- **AÑO 2020**
 - **Martín-Santafé M.** 2020. Conferencia sobre “Control de plagas, enfermedades y otros daños en plantaciones productoras de *Tuber melanosporum*”, en el curso de *Implantación y manejo de trufa negra (Tuber melanosporum)*. Organizado por MICOLAB. 2 horas. Puzol, Valencia. Marzo de 2020.
 - **Martín-Santafé M.** 2020. Conferencia sobre “Plagas en truficultura y cómo combatirlas” dentro de la jornada de trufa negra “retos en truficultura” de las jornadas de producción vegetal aida-ITEA. 1 hora. Febrero de 2020. Graus. Huesca
 - **Martín-Santafé M.** 2020. Conferencia sobre “Comenzando una plantación trufera. Todo lo que deberías saber desde la elección del terreno a la producción de las primeras trufas” dentro del VI Curso de Truficultura Práctica. Organizado por la Universidad de verano de Teruel. 2 horas. Celebrado en Mora de Rubielos (Teruel). Febrero de 2020.
 - **Martín-Santafé M.** 2018. Impartición de 10 horas de clase prácticas “Salida de campo: Vivero. Empresa transformadora. Plantación y recolección de trufas con perros” dentro del curso “Curso de truficultura práctica”. Organizado por la Universidad de verano de Teruel. Celebrado en Mora de Rubielos (Teruel). Febrero de 2020.
 - **Martín-Santafé M.** 2020. Conferencia sobre “Estudios prácticos de sanidad en truficultura. Todo sobre *Leiodes*” dentro de las jornadas técnicas del *Encuentro 1 Trufa Gastrocultura* del ayuntamiento de Salvacañete. 1,5 horas. Cuenca. Febrero de 2020.
 - **Martín-Santafé M.** 2020. Conferencia sobre “Control de plagas, enfermedades y otros daños en plantaciones productoras de *Tuber melanosporum*”, en el curso de *Implantación y manejo de trufa negra (Tuber melanosporum)*. 2 horas. Puzol, Valencia. Febrero de 2020.
 - **Martín-Santafé M.** 2020. Conferencia sobre “Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas”, en la IV Fira de la Tòfona de Vilanova de Prades. 1 hora . Vilanova de Prades. 12 de Febrero de 2020.
- **AÑO 2018**
 - **Martín-Santafé M.** 2018. Conferencia sobre “La trufa en la cocina”, en el IES Lobetano. 3 horas. Albarracín, 15 de Marzo de 2018.
 - **Martín-Santafé M.** 2018. Conferencia sobre “Mujer, ciencia y trufa”, en el IES Lobetano. 3,5 horas. Albarracín, 8 de Marzo de 2018.
 - **Martín-Santafé M.** 2018. Conferencia sobre “El escarabajo de la trufa. Biología y posibilidades de control”, dentro del seminario científico de la 16ª Feria de la trufa de Abejar (Soria). 18 de Febrero de 2018.
 - **Martín-Santafé M.** 2018. Impartición de 11 horas de clase (teóricas y prácticas) dentro del curso “Curso de truficultura práctica”. Organizado por la Universidad de verano de Teruel. Celebrado en Mora de Rubielos (Teruel). Febrero de 2018.
- **AÑO 2017**
 - **Martín-Santafé M.** 2017. Conferencia sobre “Plagas y enfermedades en truficultura. Resultados preliminares del escarabajo de la trufa (*Leiodes cinnamomeus*)”, dentro de la Feria de la trufa de Sarrión (FITRUF). 2,5 horas. 9 de Diciembre de 2017.
 - **Martín-Santafé M.** 2017. Conferencia en el “Seminario de medio ambiente y exposición de los recursos endógenos de la provincia de Teruel”, organizado por el Centro Publico Integrado de Formación Profesional de Teruel. 1,5 horas. 21 de Noviembre de 2017.
 - **Martín-Santafé M.** 2017. Impartición de 1 hora de clase en las XII Jornadas Micológicas Formiche Alto. 1 hora. 14 de Octubre de 2017.
 - **Martín-Santafé M.** 2017. Impartición de 4 horas de dentro del taller de empleo “Montaña de Teruel: recursos forestales en la sierra de Gúdar”. AGUJAMA. 4 horas. 29 de Marzo de 2017.
 - **Martín-Santafé M.** 2017. Impartición de 4 horas de dentro de la asignatura “Manejo del ecosistema agrícola” del módulo “Gestión ecológica de plagas agrícolas” del postgrado en Protección Vegetal Sostenible de la Escuela Politécnica Superior del Campus de Huesca de la Universidad de Zaragoza. 4 horas. Febrero de 2017.
 - **Martín-Santafé M.** 2017. Impartición de 11 horas de clase (teóricas y prácticas) dentro del curso “Curso de truficultura práctica”. Organizado por la Universidad de verano de Teruel. Celebrado en Mora de Rubielos (Teruel). Febrero de 2017.
- **AÑO 2016**
 - **Martín-Santafé M.** 2016. Impartición de 4 horas de dentro de la asignatura “Manejo del ecosistema agrícola” del módulo “Gestión ecológica de plagas agrícolas” del postgrado en Protección Vegetal Sostenible de la Escuela Politécnica Superior del Campus de Huesca de la Universidad de Zaragoza. 4 horas. Febrero de 2016.
 - **Martín-Santafé M.** 2016. Impartición de 6,5 horas de clase (teóricas y prácticas) dentro del curso “Curso de truficultura práctica”. Organizado la Universidad de verano de Teruel. Celebrado en Mora de Rubielos (Teruel). Febrero de 2016.
- **AÑO 2015**
 - **Martín-Santafé M.** 2015. Cinco horas de clase en el curso “Guía micológico”. Organizado por la Comarca Gúdar-Javalambre. Celebrado en Mora de Rubielos (Teruel). Junio de 2015.
 - **Martín-Santafé M.** 2015. Conferencia “Retos de la truficultura actual” dentro de la XII Mostra de Trufa Negra. Organizado el Ayuntamiento de Catí. Celebrado Catí (Castellón). Febrero de 2015.
 - **Martín-Santafé M.** 2015. Conferencia “Biología ya ecología de la trufa” dentro del curso “Curso de truficultura práctica”. Organizado la Universidad de verano de Teruel. Celebrado en Mora de Rubielos (Teruel). Febrero de 2015.
 - **Martín-Santafé M.** 2015. Conferencia “Investigación aplicada en la truficultura” dentro del curso “Curso de truficultura práctica”. Organizado la Universidad de verano de Teruel. Celebrado en Mora de Rubielos (Teruel). Febrero de 2015.
 - **Martín-Santafé M.** 2015. Sesión práctica (4 horas) dentro del curso “Curso de truficultura práctica”. Organizado la Universidad de verano de Teruel. Celebrado en Mora de Rubielos (Teruel). Febrero de 2015.
- **AÑO 2014**
 - **Martín-Santafé M.** 2014. Impartición de 4 horas de dentro de la asignatura “Manejo del ecosistema agrícola” del módulo “Gestión ecológica de plagas agrícolas” del postgrado en Protección Vegetal Sostenible de la Escuela Politécnica Superior del Campus de Huesca de la Universidad de Zaragoza. 4 horas. Diciembre de 2014.
 - **Martín-Santafé M.** 2014. Impartición de 4 horas de dentro de la asignatura “Manejo del ecosistema agrícola” del módulo “Gestión ecológica de plagas agrícolas” del postgrado en Protección Vegetal Sostenible de la Escuela Politécnica Superior del Campus de Huesca de la Universidad de Zaragoza. 4 horas. Enero de 2014.

Plagas y enfermedades asociadas a plantaciones truferas



María Martín Santafé

Director: Juan Barriuso Vargas

Tutor: Sergio Sánchez Durán

