



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID



Universidad
Rey Juan Carlos



POLITÉCNICA

UNIVERSIDAD
POLITÉCNICA
DE MADRID

ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES DE HONGOS MICORRÍDICOS EN UN HAYEDO (*FAGUS SYLVATICA*) AFECTADO POR MINERÍA METÁLICA A CIELO ABIERTO

Máster Universitario en Restauración de Ecosistemas

Presentado por:

D. Pablo Manuel Rhodes Pérez

Director:

Dr. D. David Moreno Mateos

Tutor académico:

Dr. D. Pedro Villar Salvador

En Cabanillas del Campo a 08 de julio de 2019

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1. ANTECEDENTES	8
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	9
1.3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	12
2. MATERIAL Y MÉTODOS	13
2.1. ÁREA DE ESTUDIO	13
2.1.1. LOCALIZACIÓN.....	13
2.1.2. HISTORIA	13
2.1.3. MEDIO ABIÓTICO.....	14
2.1.4. MEDIO BIÓTICO	16
2.2. ZONA DE MUESTREO.....	18
2.3. METODOLOGÍA.....	19
2.3.1. MUESTREO EN CAMPO	19
2.3.2. ANÁLISIS EN LABORATORIO	20
2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
3. RESULTADOS.....	25
4. DISCUSIÓN	32
4.1. EFECTOS DEL IMPACTO	32
4.2. POSIBLES IMPLICACIONES	36
5. CONCLUSIONES	37
6. BIBLIOGRAFÍA.....	38
ANEXO I-LOCALIZACIÓN	44
ANEXO II- RESERVA DE ARTIKUTZA.....	45
ANEXO III-HIDROLOGÍA DE ARTIKUTZA	46
ANEXO IV- ARTIKUTZA, GEOLOGÍA Y LITOLOGÍA.....	47
ANEXO V- ARTIKUTZA, FORMACIONES VEGETALES	48
ANEXO VI-MINAS DEL ESTUDIO.....	49
ANEXO VII- ARBOLES OBJETO DE ESTUDIO-ARTIKUTZA	50
ANEXO VIII-RESERVA INTEGRAL DE LIZARDOIA	51

ANEXO IX-ARBOLES OBJETO DE ESTUDIO-LIZARDOIA	52
ANEXO X- ÁRBOLES UTILIZADOS EN ESTUDIO	53
ANEXO XI-EJEMPLOS DE HONGOS MICORRÍCICOS IDENTIFICADOS	55

RESUMEN

La restauración de ecosistemas es la ciencia encaminada a asistir a que un ecosistema que ha sido dañado, degradado o destruido, recupere su funcionalidad, identificando y desbloqueando procesos ecosistémicos clave. El seguimiento de las actuaciones de restauración como del grado de recuperación del ecosistema es tan importante como la restauración en sí, debiendo realizarse en una correcta escala temporal y estudiando los procesos adecuados.

El objetivo de este proyecto es el estudio de la recuperación del hayedo de Artikutza (*Fagus sylvatica*) situado en el norte peninsular, que estuvo afectado por minería metálica hace 140 años, sin impactos conocidos desde entonces. Los indicadores de recuperación se alejaron de otros más tradicionales, como la riqueza de especies arbóreas, para basarse en las interacciones entre árboles y las comunidades de hongos ectomicorrícicos, por su importante labor dentro de los ecosistemas forestales. Se buscaba conocer el grado de afectación del impacto minero a estas comunidades y probar la necesidad de utilizar escalas de tiempo mucho más largas en el seguimiento de la restauración. Se estudiaron estas comunidades de hongos micorrícicos a nivel de árbol en tres escenarios: fuera y dentro de las minas de Artikutza y en un referente prístino. Los resultados de los análisis estadísticos arrojaron notables diferencias en la estructura y composición de las comunidades de hongos ectomicorrícicos. La agrupación de la similaridad se produjo más notablemente en los árboles no afectados por el impacto, mientras que los árboles impactados no presentan similaridad con el referente, ni entre ellos. Las diferencias de diversidad fueron por el contrario mínimas. Este proyecto ha demostrado que las interacciones entre los árboles y los hongos micorrícicos de este ecosistema, estuvieron y siguen estando afectadas por el impacto, lo que puede condicionar las funciones que éstas desarrollan dentro del mismo. Por ello se pone de relevancia el interés de incluir este enfoque de interacciones en el seguimiento de las actuaciones de restauración, de no hacerlo funciones importantes del ecosistema quedarían ocultas. También destaca la necesidad de ampliar las escalas temporales, ya que la recuperación interacciones podría requerir de tiempos muy largos.

PALABRAS CLAVE: Bosque caducifolio, ectomicorrizas, minería hierro, recuperación, interacciones ecológicas complejas, monitoreo.

ABSTRACT

The discipline of ecosystem restoration is defined as the science that aims to unblock damaged processes and help an ecosystem to recover its biodiversity and functionality. The monitoring of the ecosystems recovery after restoration action is also crucial to understand the recovery process and inform restoration. Monitoring need to be done in the right time scale or by evaluating the right parameters.

The aim of this project is to study the recovery of a beech forest (*Fagus sylvatica*) in the northern Spain (Artikutza Reserve), which was affected by open pit iron mining 140 years ago, and where no more impacts has been reported since then. The evaluation of the recovery process has moved away from traditional indicators such as species diversity, to focus on the complex interaction between trees and communities of ectomycorrhizal fungi. The objective of the project is to know the impact of the mining on the ectomycorrhizal communities and to evaluate the need of using long time-scales in the monitoring of restoration. These communities were studied in three scenarios: outside and inside mines in Artikutza and in a pristine reference forest. The results of the statistical analysis showed remarkable differences in the structure and composition of the ectomycorrhizal fungi communities associate to beech trees between formerly impacted and non-impacted trees. Similarity index showed that these communities are only a 9% similar. More similarity has been found between the communities of non-affected trees than the communities of the formerly affected trees. The species richness, however, showed no differences. The conclusions of this project are that the networks of mycorrhizal fungi were and still are affected by mining activities that ceased 140 years ago. This may threaten the functions that those communities develop in the ecosystem. For this reason, including changes in interactions over the long term this complex networks in the monitoring of ecosystem recovery is essential, otherwise could lead to an inaccurate recovery evaluation.

KEY WORDS: Beech, complex network, ectomycorrhizal fungus (ECM), iron mining, recovery evaluation.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES

En un mundo cada vez más globalizado y con un consumo de recursos que es, en su mayor parte, superior al ritmo de regeneración natural de los mismos, los impactos sobre los ecosistemas se han incrementado (Valladares et al., 2005). Esta situación se ve acrecentada en el actual escenario de cambio global, donde algunos de sus componentes, como el cambio climático o el cambio de usos del suelo, son unos de los principales factores de pérdida de biodiversidad y la destrucción de los ecosistemas. (Duarte, 2006). Estos impactos pueden llegar a degradar o impedir sus funciones esenciales hasta tal nivel que el ecosistema pierde su funcionalidad, capacidad de resistencia y resiliencia. De no corregirse estos impactos se pone en grave riesgo su persistencia. (Argas Ríos, 2011). La restauración de ecosistemas es la ciencia encaminada a asistir a que un ecosistema que ha sido dañado, degradado o destruido, recupere por sí mismo su funcionalidad, identificando y desbloqueando procesos ecosistémicos clave (SER, 2018). De esta manera se logra obtener un ecosistema funcional y autosuficiente, lo más similar posible a su referente histórico o previo a la perturbación (Rey Benayas et al., 2009).

El seguimiento y evaluación de una restauración es uno de los elementos más importantes de las actuaciones de restauración, pues permite evaluar el éxito de las actuaciones realizadas, así como la evolución en el tiempo de un ecosistema, debiendo ser su planificación pareja al establecimiento de las técnicas de restauración (Barrera-Cataño y Valdés-López, 2007). Este seguimiento permite evaluar el grado de consecución de los objetivos planteados, así como un reajuste de los objetivos planteados o de las técnicas empleadas, consiguiendo así una estrategia de restauración adaptativa y que continúe en el tiempo (Ollero Ojeda, 2010). El seguimiento de una restauración, sin embargo, se centra en la mayoría de las ocasiones en parámetros tales como la diversidad de especies o la estructura de la vegetación, el estudio de los procesos ecológicos, es por el contrario, menos abundante (Ruiz-Jaén y Aide, 2005). Las relaciones complejas, tanto a nivel de comunidades, como de ecosistemas, deben ser tenidas en cuenta en un proceso de restauración, tanto desde la planificación del mismo como en el seguimiento de la restauración (Choi et al, 2006). Por ello el estudio de otros procesos más complejos, como las interacciones entre organismos, serían un

elemento interesante a la hora de realizar el seguimiento de una restauración y permitirían evaluar la recuperación completa de un ecosistema. Por otra parte, es necesario el seguimiento del ecosistema a una escala de tiempo óptima, incluyendo una escala a corto, medio y largo plazo (Aguilar-Garavito y Ramírez, 2015). Algunos procesos necesitan de una escala de tiempo muy larga para su completa recuperación, lo que hace necesario el estudio más allá de las primeras fases de recuperación de un ecosistema (Ballantine y Schneider, 2009).

1.2. JUSTIFICACIÓN

En este estudio se han elegido las relaciones mutualistas entre árboles y las micorrizas, por las importantes funciones que estas desarrollan en los ecosistemas. Se han descrito cuatro grupos de micorrizas, clasificándose en función de su estructura y funciones dentro de un ecosistema (Heijden et al., 2015), siendo las ectomicorrizas las estudiadas en este trabajo:

- **Micorrizas arbusculares:** penetran en las células corticales de las raíces de una planta vascular, formando grandes cantidades de hifas paralelas a la endodermis dentro de la corteza de la raíz. Pertenecientes a la división de Glomeromycota, cuentan con más de 200.000 especies hospedadoras, que son en su mayoría herbáceas, helechos y árboles, cuentan con cerca de 1.600 especies.
- **Micorrizas ericoides:** cuando forman asociaciones con especies de la familia *Ericaceae*, con cerca de 3.900 especies hospedadores están compuestas fundamentalmente por Ascomicetos, con algunas especies de Basidiomicetos, con unas 150 especies totales.
- **Micorrizas de orquídeas:** si lo hacen con especies de la familia *Orquidaceae*, cuentan con unos 35.000 hospedadores, son en su totalidad Basidiomicetos, con aproximadamente 25.000 especies
- **Ectomicorrizas:** forman asociaciones con Angiospermas y la familia *Pinaceae* y con algunas hepáticas, cuenta con unos 6.000 hospedadores y unas 20.000 especies, pertenecientes tanto a Basidiomicetes como Ascomicetos.

Los hongos ectomicorrícicos viven asociados a las raíces de las plantas y árboles hospedadoras, en su superficie o alrededor de las células epidérmicas de la raíz. Estos hongos poseen hifas, que buscan aquellos nutrientes que son limitantes para las plantas

hospedadoras, como fosfatos y nitratos, estableciéndose así una relación simbiótica. (Heijden et al., 2015).

Como los niveles de nutrientes inorgánicos biodisponibles en los suelos forestales suelen ser bajos para sostener el crecimiento de las plantas, la mayoría de los árboles dependen de las simbiosis con micorrizas para su nutrición. Por ello, el establecimiento interacciones simbióticas con comunidades de micorrizas ha sido un evento fundamental en la historia evolutiva de las plantas terrestres. Los hongos micorrízicos ayudaron a dar forma a las comunidades de plantas a través de relaciones mutualistas con sistemas y raíces de enraizamiento basados en rizoides (Martin et al., 2016). Las plantas hospedadoras suministran carbono y carbohidratos a las micorrizas para permitir la movilización por parte de las ectomicorrizas de aquel recurso que es limitante para el árbol o aquel que por cuya escasez o dificultad de acceder a él está influenciando negativamente en su condición. (Read y Pérez-Moreno, 2002).

Una de las principales fuentes para la obtención de nitrógeno y fósforo son los depósitos de residuos de micro-flora del suelo que son dominantes a nivel local y de aquellas plantas que son características de ese ecosistema. Son precisamente las comunidades de hongos ectomicorrízicos las que son capaces de acceder y degradar algunas de las unidades estructurales de estos residuos. Degradando estos polímeros que contienen nutrientes dan así acceso a estos elementos, que no estarían disponibles de otra manera para su utilización por parte de las plantas. (Read y Pérez-Moreno, 2002).

Ocupan la interfaz entre la raíz, que es el principal lugar donde se da la fijación de carbono, y el suelo, donde este elemento es almacenado. Mediante la eliminación de nitrógeno y fósforo de los polímeros orgánicos, aumentan las relaciones C:N y C:P y contribuyen a la retención de carbono en el suelo. Por ello se puede afirmar que las comunidades de micorrizas tienen la capacidad de influir en las relaciones fuente-sumidero de carbono de las que dependen en última instancia los sistemas climáticos globales (Read y Pérez-Moreno, 2002). Esto demuestra la importancia de las comunidades de micorrizas en un escenario de cambio global como en el que nos encontramos.

Sin embargo, estas relaciones no solo se limitan a relaciones exclusivas entre un árbol y diferentes especies de micorrizas, si no que dan lugar a una completa y compleja red de relaciones entre micorrizas y diferentes árboles. En el caso de los bosques de eco-

regiones templadas, las raíces de los árboles están colonizadas e interconectadas por el micelio de diferentes especies de micorrizas, formando redes micorrícicas extrarradiculares que se han denominado como la “Wood Wide Web” (Martin et al., 2016). Este hecho se debe fundamentalmente a que las especies de micorrizas no son específicas de un tipo de hospedador, por lo que las especies de plantas de un ecosistema suelen estar conectadas por las redes miceliarias de las micorrizas (Heijden et al., 2015).

Esta red es un elemento clave para el funcionamiento, supervivencia, resistencia y resiliencia de las comunidades de plantas. Mediante estas redes las plantas son capaces de interactuar entre sí y compartir recursos, como el carbono (Simard et al., 1997), así como crear respuestas autoinmunes ante patógenos u hongos (Datta y Paul, 2016). De esta forma se previenen daños a elementos que formen esta red o se aumenta la capacidad de respuesta de estos frente a cualquier impacto.

Por los importantes procesos que las comunidades de hongos micorrícicos soportan dentro de un ecosistema como por su papel en su funcionalidad y supervivencia es necesario incluir a las mismas en el proceso de monitoreo de la recuperación de un ecosistema. Existen numerosos estudios que relacionan micorrizas e impactos antrópicos (Agerer, 1989; Tarvainen et al., 2002; Kernaghan et al., 2003) que demuestran que estas comunidades en ven afectadas negativamente por los mismos, con cambios en su composición, estructura y diversidad (Pilz & Perry, 1983; Smith et al., 2005; Kjølner & Clemmensen, 2008). Sin embargo, estos estudios están dirigidos en su mayor parte a impactos recientes o que aún se están produciendo (Jones et al., 2002; Hagerman et al., 1998), algunos con un rango de decenas de años (Azul et al., 2009).

En este proyecto se han estudiado las comunidades de micorrizas en el escenario de la Reserva de Artikutza, espacio protegido, que cuenta con dos escenarios: áreas de explotación minera a cielo abierto finalizadas hace 140 años y en los que no se conocen impactos significativos desde entonces (Donostia, 2018). Por todo ello el presente proyecto se orienta al estudio comparativo de las comunidades de hongos micorrícicos de estos escenarios. La similitud entre la composición, estructura y diversidad entre las comunidades estudiadas y un referente natural o no afectado por el impacto es uno de los indicadores de éxito de la restauración (SER, 2018). Con ello se pretende conocer si el impacto minero aún sigue presente en las comunidades de micorrizas, y de ser así

poner de manifiesto dos aspectos relevantes: la importancia de las micorrizas en la restauración y la necesidad de emplear escalas de tiempo muy largas en el seguimiento de una restauración.

Este proyecto Fin de Máster se engloba dentro del Proyecto “REBECOM”, a cargo del investigador Dr. David Moreno Mateos, cuyo objetivo general es identificar y probar medidas del proceso de recuperación de ecosistemas degradados por actividades antrópicas para estimar la magnitud real de la degradación, así como la identificación de posibles mecanismos limitantes en este proceso que permitan orientar acciones mejoradas de restauración y conservación.

1.3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

La finalidad de este proyecto es el estudio de las comunidades de hongos micorrícicos en un espacio que sufrió un impacto por minería a cielo abierto para evaluar la recuperación a largo plazo. Se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- Estudiar las diferencias de diversidad, densidad, abundancia y estructura de las comunidades entre un espacio no afectado por minería y otro en periodo de recuperación tras un impacto severo por minería metálica a cielo abierto hace más de 140 años.
- Evaluar cómo las posibles diferencias en las comunidades de hongos micorrícicos pueden influir al ecosistema afectado por minería
- Identificar las posibles causas que justifiquen las diferencias en las comunidades.

Las hipótesis del estudio planteadas en este estudio son:

H1: encontrar en el hayedo afectado por la explotación minera una diversidad de especies de hongos ectomicorrícicos menor que el sistema no afectado.

H2: encontrar diferencias significativas en la composición y estructura de ambas comunidades.

Los resultados de este trabajo pueden permitir establecer las comunidades de micorrizas como indicadores de la recuperación de las redes planta-suelo de un ecosistema tras una

perturbación, así como sugerir que son necesarias unas escalas de tiempo mucho más largas para la evaluar la completa recuperación de un ecosistema.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. ÁREA DE ESTUDIO

2.1.1. LOCALIZACIÓN

El área de estudio se sitúa en la “Reserva de Artikutza” (Anexo I), situado en el extremo noroccidental de la Comunidad Foral de Navarra (Anexo II). Se trata de un espacio protegido dentro de la Red Natura 2000, calificado como Zona de Especial Conservación, (ZEC ES2200010), ya que presenta algunos de los hábitats naturales, y especies de flora y fauna silvestre que son representativos de la biodiversidad de Navarra. En algunos casos, estos hábitats y especies, se encuentran amenazados en su área de distribución natural o bien su área de distribución natural es reducida y requieren instrumentos de gestión para garantizar la existencia de estos hábitats y especies naturales. (Comunidad Foral de Navarra, 2015).

Su propiedad corresponde al Ayuntamiento de San Sebastián. La finca fue adquirida por el Ayuntamiento a principios del siglo XX para asegurar el abastecimiento del agua de la ciudad, emprendiéndose desde entonces actuaciones para limitar los usos y una gestión forestal a nivel de cuenca para asegurar el abastecimiento de agua en calidad y cantidad. (Irekibai, 2018).

2.1.2. HISTORIA

Los primeros registros de Artikutza datan del siglo XIII, tomando el nombre del barrio que se encuentra en el interior de este espacio, y que se integraba dentro del término municipal de Anizlarrea, propiedad de la Colegiata de Santa María de Roncesvalles. Es bajo el dominio de la Colegiata cuando Artikutza alcanza sus mayores niveles de explotación, dedicada en su mayor parte al aprovechamiento ganadero de los pastos, extracción de leña, carboneo y minería de hierro a cielo abierto. Aún son visibles los cortes para la extracción del mineral en las laderas, los acopios de escorias y los restos de ferrerías.

Debido a conflictos de titularidad de la finca y sus derechos de explotación en 1815 se divide la finca original, Anizlarrea, en dos partes. La de mayor extensión de pasa a ser propiedad del término de Goizueta y la menor, de unas 3700 ha., propiedad exclusiva de la Colegiata y que corresponde a la actual Artikutza. Esta finca sobrevivió incluso a la desamortización de Mendizábal, no siendo expropiadas y subastadas hasta 1844, con constantes cambios de propietarios. Es en este periodo cuando se construye en el interior de la finca la línea de ferrocarril para conectar la explotación con Rentería. Artikutza tendrá como su último propietario a la “Compañía explotadora de Artikutza S.A.” que venderá la finca al Ayuntamiento de San Sebastián en enero de 1919, finalizando la explotación minera.

La compra de la finca de Artikutza por el Ayuntamiento de San Sebastián se debe fundamentalmente a la creciente demanda de agua provocada por el elevado crecimiento demográfico de la ciudad. Por ello se construyó aguas abajo de Artikutza una represa para el suministro de agua a la ciudad. Sin embargo un virulento brote de tifus en San Sebastián producido en 1902 (se usó el río como lavadero de ropas de los infectados) provocó que el ayuntamiento adquiriera la gestión completa de la finca

La prohibición de la mayoría de usos y explotaciones que pudiera causar contaminación sobre las aguas (ganadería, explotaciones forestales, carboneo, minería...) y la concentración de los habitantes exclusivamente en el barrio de Artikutza fueron la principal causa de que la finca de Artikutza no haya tenido prácticamente impactos en el último siglo. (Donostia, 2018).

2.1.3. MEDIO ABIÓTICO

2.1.3.1. OROGRAFÍA

Artikutza se sitúa en las estribaciones finales de la cadena pirenaica, con un relieve abrupto y montañoso, cercana a la línea de costa (unos ocho kilómetros), lo que da lugar a una notable diferencia de cotas altitudinales. La mayor de éstas es el monte Loitzate, con 1.046 m. de altitud y la cota más baja el río Añarbe, con 220 m. (Gobierno de Navarra, 2015). Esta diferencia de cotas se traduce en que la mayor parte de Artikutza posee fuertes pendientes, en concreto el 45% de su superficie tiene una pendiente superior al 55%.

2.1.3.2. **HIDROLOGÍA.**

Pertenciente a la vertiente cantábrica, Artikutza engloba la cuenca alta del río Añarbe, que desemboca en el río Urumea. Se puede dividir Artikutza en dos sectores, el Norte, que engloba al propio Añarbe y sus afluentes, el Enobieta, que conforma el embalse que lleva su nombre y el Erroiari. A la Sur pertenecen los ríos Urdallue y Elama, siendo este último el de mayor longitud dentro de la finca con cerca de 10 kilómetros de recorrido. Aparte de estos ríos la finca cuenta con numerosos regatos y gargantas, con un caudal variable, debido a la orografía y climatología de la finca. (Gobierno de Navarra, 2015). Se puede consultar en el Anexo III un plano con las principales masas de agua de la finca.

2.1.3.3. **CLIMATOLOGÍA**

Se ha tomado una serie climática de un periodo de 20 años (1981-2000) de la estación climatológica de Artikutza, a 313 m. Los datos obtenidos son los siguientes:

Tabla 1: *Datos Climáticos para Artikutza serie 1981-2000.* (Fuente: MeteoNavarra, 2018)

Parámetro	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Año
Precipitación media (mm)	262.8	209.3	216.9	234.6	187.9	121.8	109.8	129	150.2	213.6	272.6	246.1	2354.6
Precipitación máxima 24 horas (mm)	217	134	126.4	94.8	135.3	88	85.3	135.3	98.1	117.8	121.5	132.2	217
Días de lluvia	15.6	13.6	15.6	17.8	17.5	16	16.5	15.8	14.1	16.3	15.9	15.7	190.4
Días de nieve	1.6	2.4	1.2	0.6	0	0	0	0	0	0	0.3	1.1	7.2
Días de granizo	0.8	1.3	1.1	1.7	0.5	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.8	0.8	7.7
Temperatura media de máximas (°C)	10	11	13.8	15	18.9	21.1	23	23.2	21.1	17.3	12.8	10.2	16.5
Temperatura media (°C)	6.2	6.8	9	10.4	13.9	16.4	18.3	18.6	16.3	13.3	9.1	6.8	12.1
Temperatura media de mínimas (°C)	2.5	2.5	4.2	5.8	8.8	11.6	13.6	13.9	11.5	9.2	5.3	3.3	7.7
Días de helada	9.9	8.1	4.8	0.9	0	0	0	0	0	0.3	3	7.7	34.7
ETP: Evapotranspiración potencial, índice de Thornthwaite (mm)	16.5	18.6	33.8	44.2	72.9	91.7	107.8	101.7	74.6	51.9	27	17.8	658.4

La finca de Artikutza posee un clima muy húmedo ya que presenta lluvias durante más de la mitad de los días del año, con una total de 2354 mm de lluvia anuales (Tabla 1), siendo una de las zonas más lluviosas de la Península Ibérica. Las lluvias se reparten de forma similar a lo largo del año, no existiendo una estación seca. Si bien los meses estivales, de junio a agosto, son los que menor precipitación registran. La clasificación climática de Koppen sería un Clima tipo Cfb, “Clima marítimo de costa occidental”. (Gobierno de Navarra, 2015)

Los altos niveles de precipitaciones y los bajos niveles de evapotranspiración potencial, asociados a temperaturas suaves en verano, hacen que el suelo este saturado de agua durante todo el año, definiéndose como “Údico” (Edafologia.net, 2018) mientras que el régimen térmico puede clasificarse como Mésico (Gobierno de Navarra, 2015)

2.1.3.4. EDAFOLOGÍA Y LITOLOGÍA

Artikutza posee dos grandes regiones litológicas. La zona Norte está compuesta fundamentalmente por materiales metamórficos, granitos y leucogranitos en su mayor parte. Es aquí donde aparecen importantes filones metalíferos, fundamentalmente de hierro, que han sido explotados históricamente (Galán et al., 2014) y que han generado los impactos mineros estudiados en este trabajo. La mitad Sur, por el contrario, está compuesta en su mayor parte por mezclas de esquistos, pizarras y grauvacas alternantes del Paleozoico.

Los materiales sedimentarios aparecen al pie de las laderas, en forma de arcillas y areniscas, con cantos y bloques. En los márgenes de las zonas fluviales aparecen depósitos fluviales formados por cantos cuarcíticos, de pizarra y arenisca. (Gobierno de Navarra, 2015). La distribución de estos materiales puede consultarse en el Anexo IV.

2.1.4. MEDIO BIÓTICO

2.1.4.1. VEGETACIÓN

De las diferentes formaciones vegetales presentes en Artikutza destacan, por su extensión, las siguientes: Hayedos acidófilos cantábricos, Robledales acidófilos cantábricos y Brezales cantábricos montanos, formaciones vegetales que son a su vez “Hábitats de interés” de la Directiva Hábitats (Gobierno de Navarra, 2015). La distribución de estas formaciones puede consultarse en el Anexo V.

- a) **Hayedos acidófilos cantábricos:** Son la formación arbórea (*Fagus sylvatica*) dominante en Artikutza, ocupando más de la mitad de la superficie de la finca (superando las 1.800 ha.). Son las formaciones donde se estudiarán las relaciones planta-hongo que son el objetivo de este trabajo. Se distribuyen de manera continuada y heterogénea por toda la finca, alternándose con robledales y algunas plantaciones madereras antiguas, sobre suelos preferentemente ácidos. Por su alta competitividad y la sombra que proyectan son formaciones monoespecíficas, al no permitir el crecimiento de otras formaciones junto a

ellas. De origen natural, si bien es observable en ellas usos antrópicos pasados, como la diferencia de edades en zonas dentro y fuera de los cortes mineros y de árboles podados y trasmochados. Las hayas eran carboneadas para ser usadas como combustible de las ferrerías que fundían el material de hierro, por lo que es una masa irregular en términos silvícolas. La falta de mantenimiento de la explotación de árboles trasmochados ha generado podredumbre de troncos y caída de árboles, incrementando la presencia de materia orgánica en descomposición en los suelos, que se une a la importante capa de hojarasca de gran espesor.

- b) Robledales acidófilos cantábricos:** con una franja de altitud mayor que las hayas son la segunda formación arbórea en extensión de la finca, con algo más de 1.000 ha. Son formaciones arbóreas monoespecíficas (*Quercus robur*), si bien están acompañadas de sotobosque, la mayor parte en forma de brezales. Aparecen, en sus zonas de distribución, rodales de repoblación de especies maderables, como el roble americano.
- c) Brezales cantábricos montanos:** se sitúan en las zonas más altas de Artikutza, cumbres de los cerros que las conforman, donde no llega la vegetación arbórea debido a cortas, con unas 200 ha. de extensión.

2.1.4.2. FAUNA

Por su carácter de Reserva y los altos valores naturales que se encuentran en el interior de Artikutza, este espacio es el hábitat perfecto para muchas especies animales, muchas de ellas protegidas o amenazadas. (Gobierno de Navarra, 2015)

Entre los mamíferos destacan por su abundancia el corzo (*Capreolus capreolus*) y el jabalí (*Sus scrofa*), como endemismo el desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*) y el murciélago de herradura pequeño (*Rhinolophus hipposideros*) como especie vulnerable.

Respecto a las aves, destacan el milano real (*Milvus milvus*), el halcón peregrino (*Falco peregrinus*), el mirlo acuático (*Cinclus cinclus*) o el águila calzada (*Aquila pennata*), así como una gran diversidad de passeriformes como el picogordo (*Coccothraustes coccothraustes*) o el papamoscas cerrojillo (*Ficedula hypoleuca*) y aquellos asociados a la presencia de madera muerta como es el caso del pito negro (*Dryocopus martius*) y el pico picapinos (*Dendrocopos major*). Dentro de los reptiles y anfibios destaca el lución

(*Anguis fragilis*), culebra de esculapio (*Zamenis longissimus*), tritón palmeado (*Lissotriton helveticus*), o la rana bermeja (*Rana temporaria*). En los regatos y ríos de Artikutza es fácil encontrar poblaciones de trucha común (*Salmo trutta*).

2.2. ZONA DE MUESTREO

Dentro de la Reserva de Artikutza, se seleccionaron varias minas a cielo abierto (Anexo VI) para su estudio, con una serie de 14 árboles dentro y fuera de las mismas y en la Reserva Integral de Lizardoia (Anexo VIII) como referente natural intacto, dentro del espacio natural de la Selva de Irati.

El criterio de selección de árboles se basó en elegir aquellos que crecieran con una pendiente menor del 20%, dentro de aquellos que cumplieran este requisito se seleccionaron los de mayor diámetro y altura de los existentes. A continuación, se presenta una descripción de las características de los árboles seleccionados:

Tabla 2: Características de los árboles seleccionados para el estudio

NOMBRE	MINA	LOCALIZACIÓN	ALTURA (metros)	DIAMETRO (centímetros)	EDAD (años)
A07O	A	Fuera	41	93,6	158
A12O	A	Fuera	45	101,9	95
A13O	A	Fuera	40	99,6	107
D04I	D	Dentro	30	50,3	91
D02I	D	Dentro	26	38,5	79
D03I	D	Dentro	48	107,3	98
N02O	N	Fuera	42	84,4	76
S20I	S	Dentro	32	74,8	111
S21I	S	Dentro	30	55,1	106
S22I	S	Dentro	41	94,2	124
S23O	S	Fuera	35	89,1	113
L02	Lizardoia	Referente	44	284	242
L03	Lizardoia	Referente	42	310	244
L04	Lizardoia	Referente	48	297	207

Para este trabajo en concreto se han seleccionado un total de 11 hayas en la Reserva de Artikutza, seis dentro de las minas (tres en la “S” y tres en la mina “D”) y cinco fuera de estas (tres en la mina “A”, uno en la mina “N” y uno en la mina “S”) (Anexo VII).

Finalmente se ha elegido un referente situado fuera de la Reserva y en el cual no se conocen impactos en una escala de tiempo muy larga, para estudiar las comunidades de micorrizas en un espacio inalterado, se sitúa en la Reserva Integral de Lizardoia, dentro de los bosques de Irati, donde se han elegido tres hayas. (Anexo IX)

2.3. METODOLOGÍA

El trabajo realizado durante este proyecto se puede dividir en tres partes; la toma y preparación de muestras en la zona de estudio, proceso y análisis de estas muestras en laboratorio y tratamiento estadístico de estas muestras para validar las hipótesis planteadas.

2.3.1. MUESTREO EN CAMPO

Las muestras de micorrizas en campo se tomaron de árboles previamente definidos en el exterior y el interior minas en Artikutza, tanto dentro como fuera de las mismas. Las fotografías de los árboles del estudio se pueden consultar en el Anexo X.

Para cada se definieron cuatro puntos de muestreo separados 90° grados entre sí, en cada uno de estos puntos se tomaron muestras de raíz. Si el árbol se muestreó previamente las siguientes muestras se tomaron correlativamente a las anteriores en un ángulo de 45°. Para cada punto de muestreo se estableció un área máxima de 25*25 cm y 10 cm de profundidad excavados con pala de mano. Si no se encontraban raíces en esta área, se recogían todas las raíces de los puntos restantes. Las raíces se cortaron con tijeras para no dañar las micorrizas y se sacudían ligeramente para eliminar restos de suelo adheridos.

Para cada árbol el volumen representativo de muestras se estableció en medio litro, por lo que se rellenaba un recipiente de plástico con el material extraído hasta alcanzar dicho volumen. Se intentó conseguir que este volumen representara proporcionalmente a los cuatro puntos de muestreo. Una vez alcanzado este volumen las raíces se transferían a una bolsa de plástico y se cubrían en su totalidad con suelo superficial de la zona de muestreo para asegurar su conservación hasta su análisis en laboratorio.

Posteriormente la bolsa se precintaba y se identificaba con el número de árbol muestreado y la fecha de recolección. Antes de muestrear otro árbol, todo el material se desinfectaba convenientemente con alcohol, para evitar contaminaciones por hongos presentes en las raíces o el suelo previo.



Imagen 2. *Toma de muestras* (Foto: David Moreno)

Imagen 1. *Material de campo y muestras* (Foto: Asunción Rodríguez)

2.3.2. ANÁLISIS EN LABORATORIO

Las muestras obtenidas en el campo se guardaban hasta su análisis en nevera, a una temperatura no superior a 8°C para evitar la muerte de las micorrizas. Para evitar contaminaciones o daños a las micorrizas las muestras se analizaban en un plazo máximo de una semana desde su recolección.

2.3.2.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Antes de su preparación, se pesaba la totalidad de la muestra junto a la bolsa donde fue recogida y se anotaba para su registro el peso fresco de la muestra y la fecha de recogida. Seguidamente se separaban las raíces de la tierra y se depositaban en una bandeja con agua destilada y se sacudían ligeramente con pinzas desinfectadas para separar en la medida de lo posible los restos de tierra adheridos sin dañar a las micorrizas.

Una vez limpia la raíz de tierra se seleccionaba un total de cinco segmentos de 5 cm., intentado seleccionar visualmente la mayor diversidad de micorrizas, mediante pinzas y

tijeras previamente desinfectas. Los segmentos seleccionados se colocaban en dos placas de Petri, dos segmentos en la primera y tres en la segunda, identificándose a continuación. En cada placa se anotaba el número identificativo del árbol del que procedía la muestra, la fecha de recogida en campo, la fecha en que la muestra se pone en la placa y la identificación de los segmentos.

Para la conservación de las muestras se procedía de diferente manera en función de cuándo se iban a analizar las mismas:

- Si la muestra se analizó en las siguientes 24 h. se conservaron hasta ese momento en las placas de Petri con agua destilada.
- Si pasaron más de 24 h. los segmentos se guardaban en dos bolsas de plástico con tierra de la muestra correspondiente, etiquetadas igual que las placas de Petri.
- En ambos casos se conservaron las muestras en nevera.

Para evitar que las micorrizas se degradaran se planificaron los análisis de forma que se dejaron preparadas aquellas muestras que se fueran a analizar en un futuro inmediato. El resto se conservó en las bolsas en las que se tomaron las muestras de campo durante un máximo de una semana.

2.3.2.2. ANÁLISIS E IDENTIFICACION

Una vez preparada la muestra, se procedía a la identificación de los grupos morfológicos de micorrizas en cada segmento. Los segmentos se analizaron individualmente sobre una nueva placa de Petri con agua destilada y mediante lupa.

Una vez en la lupa la muestra se manejaba con ayuda de punzón, bisturí y tijeras y sumergida en agua destilada. Los instrumentos se desinfectaban con cada cambio de segmento y tras seleccionar una muestra para su análisis genético sumergiéndolos en una dilución al 15% de lejía y seguidamente en alcohol de 98°.

2.3.2.3. DIFERENCIACIÓN Y CLASIFICACIÓN

La diferenciación de las puntas micorrícicas observadas en las muestras se basó en la clasificación de en grupos morfológicos, según clave creada por el equipo del proyecto basada en la de Reinhard Agerer (Agerer, 1987-2002). Estos grupos morfológicos se enviaron posteriormente a laboratorio externo para la identificación de especies.

La clave utilizada contemplaba los siguientes aspectos:

- Color: se diferenció en función del color de la superficie. Distintas tonalidades de un mismo color eran consideradas como un mismo grupo morfológico si el resto de las características coincidían.
- Ramificación: se clasificaron los morfotipos en dos grandes grupos en función de su ramificación: “pinnada”, si se ramificaba a ambos lados a partir de un único eje central o “coralina” si existían múltiples ramificaciones desde la base de la micorriza. En algunos casos se apreció un único eje central o simples yemas.
- Pelos: se estudió la presencia de pelos en la superficie de la micorriza, diferenciándolos de las hifas, y se anotó su color, densidad y longitud.
- Superficie: podía ser lisa, rugosa o escamosa y si esta tenía una tonalidad mate o era brillante.
- Observaciones: aquí se reflejó todo dato que resultara relevante para la clasificación o posterior análisis genético, como la presencia de tierra pegada a la micorriza, puntas secas, peculiaridades de la ramificación, etc.
- Hifas: Se indicaba en el caso de que se observara crecimiento de hifas.
- Puntas vivas: se anotó el total de puntas o micorrizas independientes que conformaban cada grupo morfológico y estaban presentes en cada segmento, para el posterior análisis de abundancia por especies. .

Finalmente se tomaron fotografías tanto de los grupos morfológicos que se describían en cada segmento como de las partes de estos grupos morfológicos que se enviaron a secuenciación (Anexo XI).

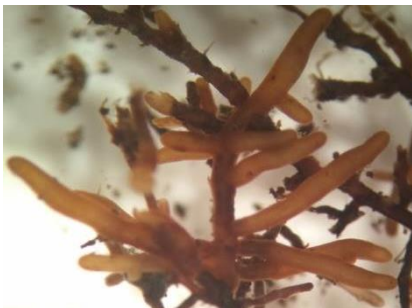


Imagen 3. *Lactarius subdulcis*.
Micorriza pinnada (Fotografía propia)



Imagen 4. *Russula melzeri*.
Micorriza coralina (Fotografía propia)

2.3.2.4. PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA SECUENCIACIÓN

Para cada uno de los diferentes grupos morfológicos presentes en el segmento se tomaba una muestra de micorriza para secuenciar su ADN mediante amplificación PCR en un laboratorio externo. El procedimiento era el siguiente:

- Se tomaba una única muestra por grupo morfológico definido.
- Previamente a la obtención de la muestra bisturí y pinzas se desinfectaban sumergiéndolas en lejía al 15% y alcohol 98°
- La punta de micorriza seleccionada se sumergía durante 15 segundos en una placa de Petri que contenía una dilución de lejía al 15% y seguidamente se aclaraba tres veces en agua destilada (el agua destilada se desechaba para cada muestra), para evitar contaminaciones o crecimientos de otros hongos sobre la muestra que pudieran dar errores en la secuenciación de PCR.
- La muestra se depositaba en un tubo Eppendorf de 0,2 ml y este se rellenaba con CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio), que evita la degradación del ADN. Estos tubos se mantenían a temperatura ambiente hasta que se mandaban a laboratorio para secuenciación.
- Los tubos se identificaban con la inicial del nombre de la persona que realizó la identificación y un número identificativo. Este número identificativo se reflejará en el estadillo o cuaderno de muestras e irá asociado al segmento, morfotipo y árbol analizado.

Se enviaban para secuenciación tantos tubos como diferentes morfotipos existieran en cada uno de los cinco segmentos que conformaban cada muestra, para cada tipo de morfotipo se enviaba un único tubo.

Una vez que se realizara la secuenciación junto a cada morfotipo analizado se anotaba la especie de hongo micorrízico resultante del análisis, con lo que se conseguía una lista de especies con su correspondiente descripción morfológica.

2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Una vez recibidos los resultados de la secuenciación se descartaron aquellos que indicaban que las muestras estuvieran contaminadas (picos dobles, ruido, más de una especie) o aquellas cuyo porcentaje de similitud con secuencias genéticas de la base de

datos “GenBank” inferior al 97%, ya que este porcentaje no aseguraba la correcta identificación de la especie.

Seguidamente se anotaron las diferentes especies identificadas en cada segmento de los cinco que componían la muestra de un árbol, así como el número de puntas encontradas. Finalmente se registraban en una tabla las diferentes especies de micorrizas encontradas por árbol y su abundancia, resultante del sumatorio de puntas de especies iguales en los diferentes segmentos del árbol.

Para este estudio se procesaron un total de 253 muestras de puntas de micorrizas, incluidas las del referente de Lizardoia. Al área de estudio de Artikutza le corresponden 206 muestras. Del total de muestras, 66 fueron descartadas por algunos de los motivos indicados anteriormente. El porcentaje de pureza de las muestras procesadas fue del 74%, que se consideró suficiente para llevar a cabo el estudio estadístico de manera significativa.

Mediante los programas “Primer7” y “Past”, se realizaron una serie de análisis estadísticos para estudiar la composición, diversidad y diferencias entre los tres escenarios, tanto a nivel de ambiente (Dentro de minas, Fuera de minas y Lizardoia), como a nivel de las comunidades que constituyen cada árbol.

Se estudió la diversidad de las comunidades mediante los índices de Margalef (Margalef, 1958); para conocer los escenarios más diversos y los índices de Simpson (Simpson, 1949) y Shannon-Weaver (Shannon y Weaver, 1949), para cuantificar además de la diversidad, la dominancia por algún tipo de especie. Se calculó el Índice de Berger-Parker (Magurran, 1988), para conocer la equitatividad de las especies que las conforman. Las especies dominantes de cada escenario se identificaron estudiando qué especies y en qué porcentaje conforman el 50% de la comunidad.

Finalmente, para conocer el grado de similitud de los tres escenarios, se realizó un “análisis de similaridad”, utilizando el método de Bray-Curtis (Bray y Curtis, 1957). Se aplicó a nivel de escenario, para ver si el impacto minero afectaba su composición de hongos micorrícicos y a nivel de árboles para conocer si las comunidades de micorrizas de los árboles que se encuentran en un mismo escenario (Dentro y fuera de las minas y en el referente de Lizardoia) son similares y si a la vez presentan diferencias con los árboles de otros escenarios. Para representar gráficamente la distribución y dispersión

de la similaridad, se realizó un “Non Metric Multidimensional Scaling”, aplicando el método de Morisita (Morisita, 1959) al mismo nivel que el apartado anterior, es decir, a nivel de ambiente y de árboles.

3. RESULTADOS

En la primera fase de análisis de los resultados obtenidos tras los análisis moleculares se estudió la composición, diversidad y abundancia de las especies que componen los tres escenarios. Primeramente, se contabilizó las diferentes especies que habitan en cada escenario (Fig.1).

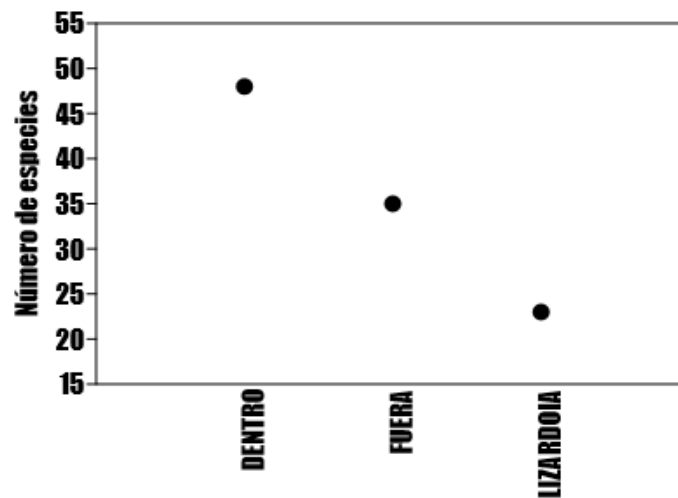


Figura 1: *Número total de especies de hongos micorrícicos por escenario*

Se observó que dentro de las minas de Artikutza se registra un mayor número de especies de hongos micorrícicos, (Fig.1) mientras que fuera de las mismas el número de especies es más reducido. El escenario con un número notablemente menor de especies hongos ectomicorrícicos es Lizardoia.

La riqueza de especies, determinada mediante el Índice de Margalef (Fig. 2), mostró el valor más alto dentro de las minas (7,29). La comunidad de micorrizas en Lizardoia no puede considerarse baja en diversidad, sin embargo, sí mostró valores más bajos que las comunidades de Artikutza.

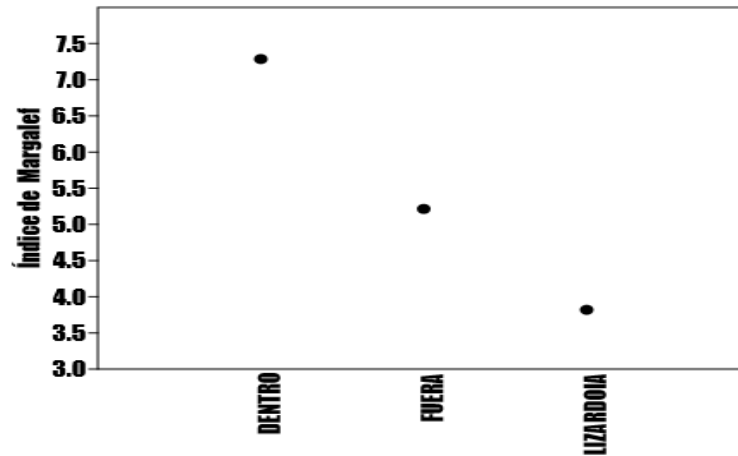


Figura 2: *Riqueza de especies- Índice de Margalef*

El Índice de Simpson mostró valores muy cercanos a 1 (Fig.3), lo que indica una gran dominancia de algún tipo de especie en los tres escenarios. De manera comparativa el escenario con una mayor dominancia sería el afectado por el impacto, mientras que los escenarios inalterados presentan valores semejantes, siendo el referente natural el menos afectado.

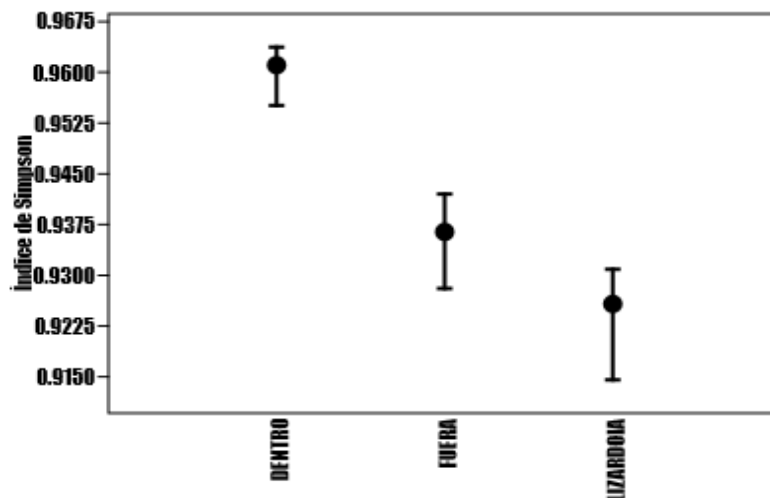


Figura 3: *Diversidad: Índice de Simpson*

Atendiendo al índice de Shannon-Weaver, la comunidad de dentro de las minas fue la más diversa de los tres escenarios (Fig. 4), si bien ambos escenarios en Artikutza, dentro y fuera, pueden considerarse como diversos, ya que poseen un valor de índice de Shannon que supera a 3 (Shannon y Weaver, 1949). La comunidad menos diversa sigue siendo el referente natural de Lizardoia.

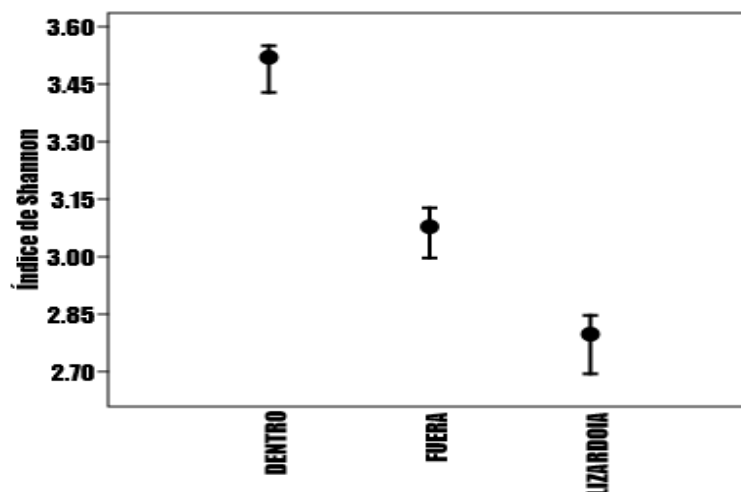


Figura 4: *Diversidad-Índice de Shannon*

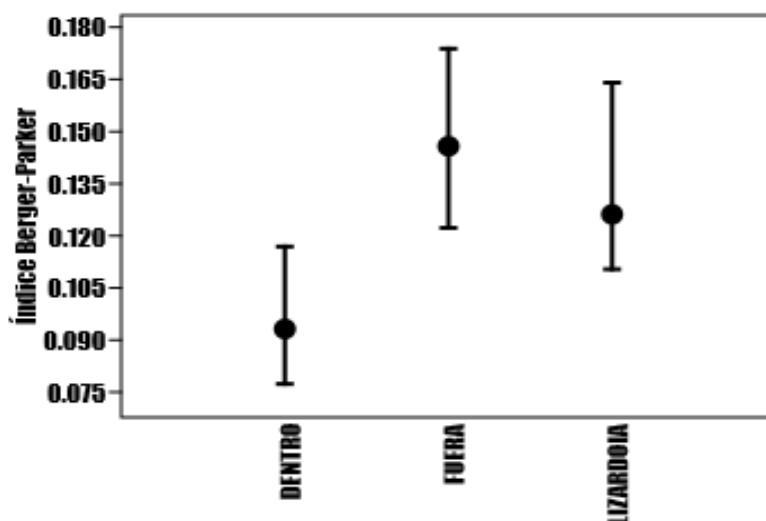


Figura 5: *Equitatividad- índice de Berger-Parker.*

Valores elevados en el índice de Berger-Parker indican mayor equitatividad de especies, por lo que la dominancia disminuirá (Magurran, 1988). Esto indica que dentro de las minas existe una mayor dominancia de una especie (Fig. 5), mientras que fuera de las mismas y en el referente natural, la distribución de la abundancia de especies es más equitativa.

De los resultados previos se concluye que dentro de las minas de Artikutza existe un mayor número de especies y una mayor diversidad. Sin embargo, los índices sugieren que esta comunidad, a pesar de contar con un mayor número de especies, su distribución no es equitativa, por lo que puede estar fundamentalmente compuesta por especies

generalistas que dominan la comunidad. Lo contrario sucede en las comunidades de los escenarios no afectados por el impacto, ya que, aunque presentan una riqueza de especies menor, la distribución de la abundancia es más equitativa, lo que puede sugerir la presencia de especies más especialistas.

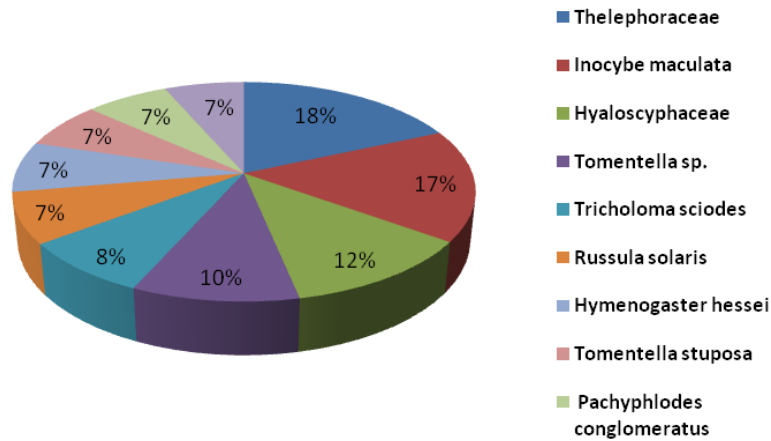


Figura 6: Especies que conforman el 50% de la comunidad de hongos micorrícicos de escenario Dentro Minas

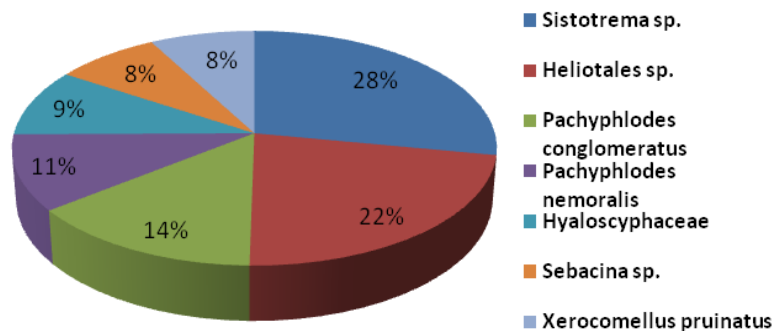


Figura 7: Especies que conforman el 50% de la comunidad de hongos micorrícicos del escenario Fuera Minas

Dentro de las minas existe una gran dominancia de la familia *Thelephoraceae* e *Hyaloscyphaceae* (Fig. 6). De manera también relevante aparece el género *Tomentella*. La especie dominante es *Inocybe maculata*.

El escenario de fuera de las minas (Fig.7) está compuesto fundamentalmente por especies del orden de los *Helotiales*. De la misma manera, el género *Sistotrema* tiene también una gran proporción dentro de las minas. La especie identificada más abundante en este escenario es *Pachyphlodes conglomeratus*.

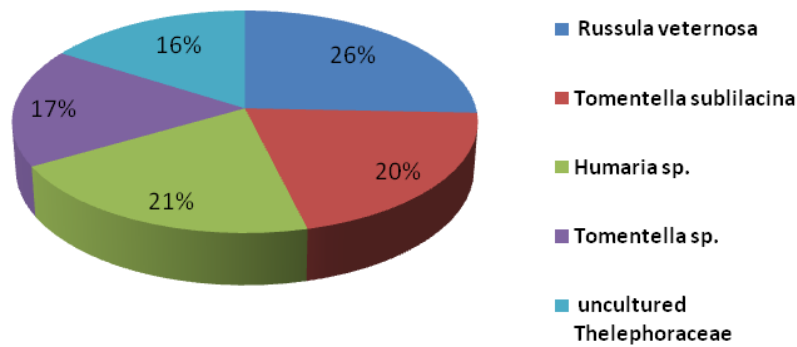


Figura 8: Especies que conforman el 50% de la comunidad de hongos micorrícicos del escenario Lizardoia

Dentro del referente natural de Lizardoia (Fig.8), se observa que el 50% de la comunidad está compuesto por cinco especies diferentes de manera bastante equitativa. *Russula veternosa*, *Tomentella subilacina* y el género *Humaria* son las más abundantes. Las últimas especies dominantes de este espacio pertenecen a la familia de las *Thelephoraceae*, no pudiendo lograrse más precisión al no estar disponibles en la base de datos por no ser conocida.

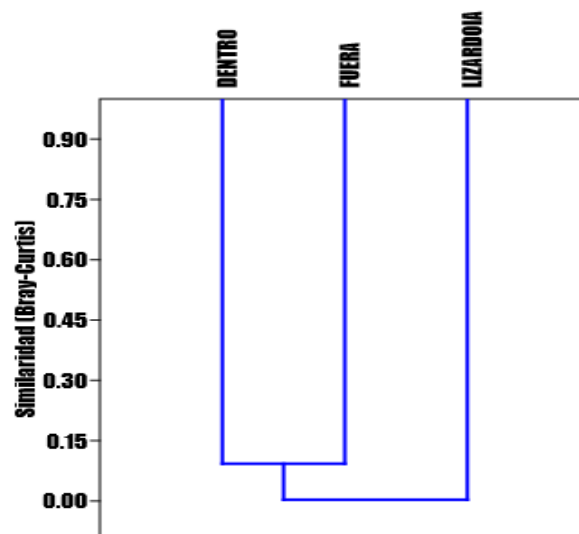


Figura 9: Similaridad de comunidades de hongos micorrícicos. Bray-Curtis.

Apenas existe similitud entre las tres comunidades (Fig. 9), las comunidades de dentro y fuera de las minas de Artikutza son solamente un 9% similares, mientras que la similitud de estas con el referente de Lizardoia es nulo.

No existe apenas semejanza entre la composición de las comunidades, destacado el caso de Lizardoia (Fig.10), más alejado de las comunidades de Artikutza.

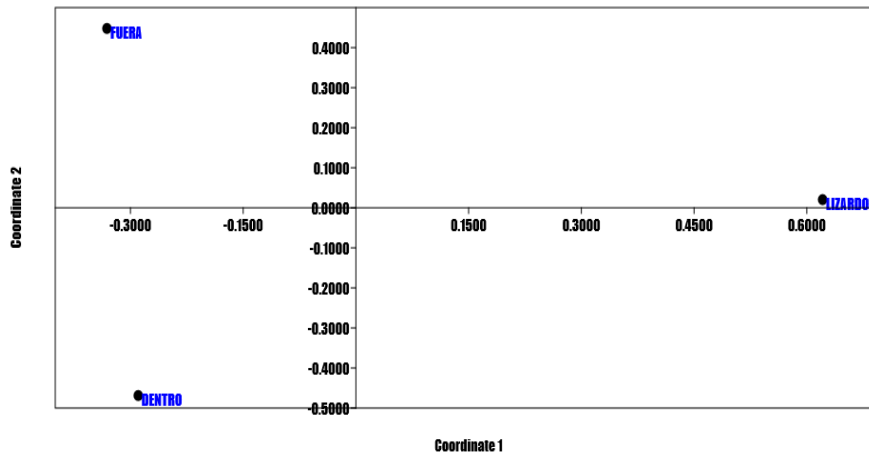


Figura 10: *Similaridad de comunidades de hongos micorrícicos por árboles. NMDS Morisita*

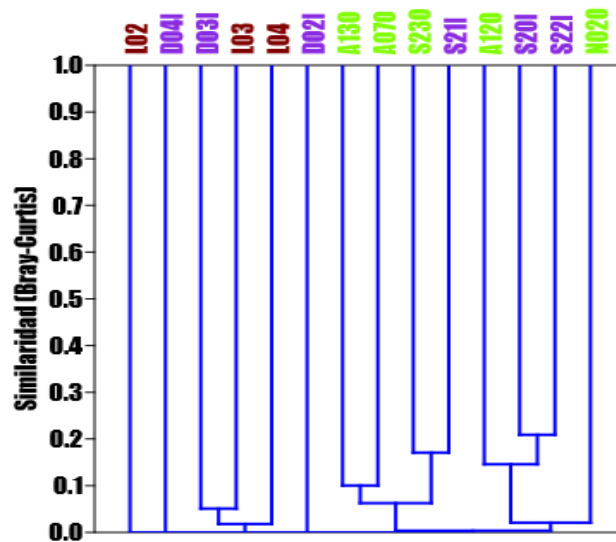


Figura 11: *Similaridad de comunidades de hongos micorrícicos por árboles. Bray-Curtis*

Existe una mayor similitud entre los árboles que están fuera de las minas (denominados con la letra O) y entre aquellos árboles que están dentro de las mismas (letra I) (Fig. 11). Algunos árboles que están fuera de las minas, sobre todo aquellos que están fuera de la mina “D”, no tienen similitud con ninguno, excepto con el referente natural, por lo que se podría hipotetizar que las zonas no alteradas difieren enormemente de las alteradas, evidenciando así que el impacto pasado alteró y sigue alterando las comunidades de micorrizas.

Finalmente, para representar gráficamente esta similitud, se aplicó un MDS según el Método de Bray-Curtis, en primer lugar para los tres escenarios y seguidamente únicamente para las comunidades de Artikutza:

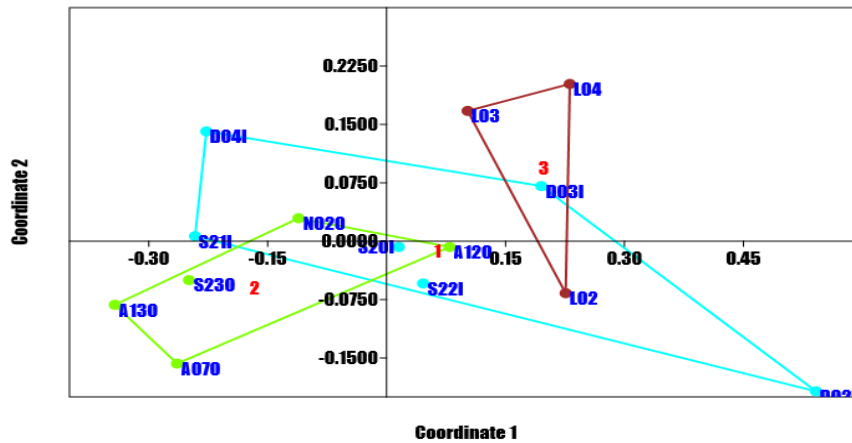


Figura 12: *Similaridad de comunidades de hongos micorrícicos por árboles. NMDS Bray-Curtis*

El referente de Lizarzoia está distribuido de manera uniforme y cercana (Fig. 12), lo que sugiere especies similares para los tres árboles. De la misma forma, los árboles que se sitúan fuera de las minas (verde) se distribuyen de manera homogénea. Por el contrario, los árboles dentro de las minas (azul) se distribuyen más heterogéneamente, dando lugar a la posibilidad de que debido al impacto y grado de recuperación sus comunidades varíen.

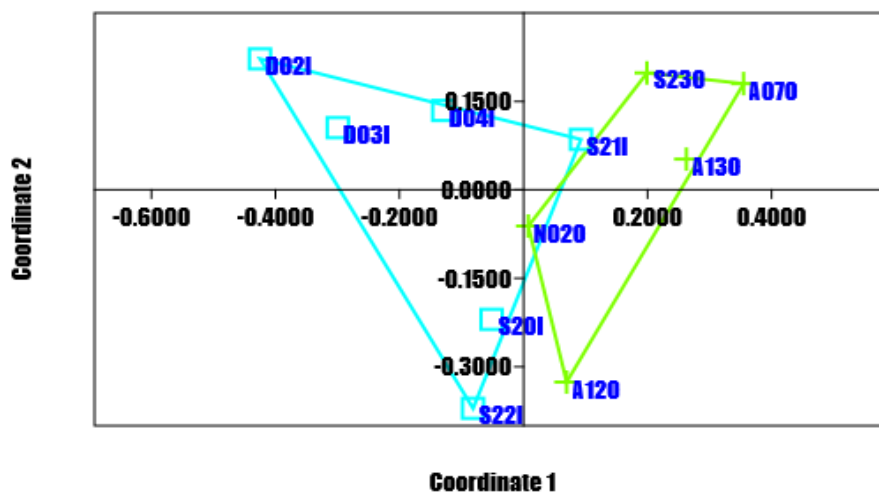


Figura 13: *Similaridad de comunidades de hongos micorrícicos por árboles en Artikutza. MDS Morisita-Horn*

El MDS únicamente con los árboles de Artikutza, indica igualmente que los árboles de fuera de las minas (aunque sean de diferentes minas), se distribuyen más agrupadamente que los de fuera (Fig.13), suponiendo que la dispersión asociada a los árboles de dentro pueda deberse al impacto.

4. DISCUSIÓN

4.1. EFECTOS DEL IMPACTO

Los tres escenarios de estudio tienen diferencias de diversidad, lo que sugiere que el impacto de la explotación ha modificado la estructura y composición de las comunidades de hongos micorrícicos. La alteración de las condiciones edáficas causado por la minería ha podido originar la presencia de ciertas especies de hongos micorrícicos que no se dieran de otra manera en el hayedo (Gherghel et al., 2014), dando así lugar a una mayor diversidad. La diferencia de edades entre árboles también es considerada como un factor a considerar en la diversidad de micorrizas (Johnson et al., 2005), si bien las edades de árboles del estudio son similares y no suponen un impacto tan significativo sobre esta.

La estructura y densidad del sistema forestal puede influir tanto en la diversidad como la productividad de las comunidades de hongos micorrícicos (Richard et al., 2004), los cambios en la disposición y abundancia de hayas en las minas, debido a la alteración del relieve, han podido contribuir a las diferencias de diversidad observadas dentro y fuera de estas.

La presencia de un impacto antrópico, como es la minería a cielo abierto, es la causa más probable de los cambios de diversidad en las comunidades, dando lugar a la presencia de especies tolerantes al impacto, es decir, más generalistas. (Tarvainen et al., 2002). A su vez, se comprobó que es el escenario de dentro de las minas donde aparece una mayor dominancia y una menor equitatividad de la abundancia de especies lo que indica que, aunque presenta un mayor número de especies, un alto porcentaje de las puntas encontradas pertenecen a un reducido grupo de especies.

El género *Thelephoraceae* es el más abundante en las zonas afectadas por minería, donde un importante porcentaje de las puntas encontradas en este escenario pertenece a este género, mientras que fuera de las mismas su presencia es bastante reducida. Este género ha demostrado ser resistente a impactos antrópicos (Hui et al., 2010), ya que aumenta su presencia en zonas donde se persisten impactos negativos, por lo que el elevado número de puntas de este género encontrado dentro de las minas podría ser un indicador de que en este escenario no se ha producido una recuperación completa.

Igualmente, dentro de las minas destaca la familia *Hyaloscyphaceae*, que se compone de más de 1000 especies fundamentalmente cosmopolitas y saprobiotas (Asturnauta, 2016). Aparece igualmente en elevada proporción el género *Tomentella*, género ectomicorrícico asociado generalmente a bosques caducifolios (Rajchenberg et al., 2016). La especie dominante en este escenario es *Inocybe maculata*, hongo con cuerpo fructífero, perteneciente a la familia de las *Cortinariaceae*, tóxica y que es frecuentemente encontrada en bosques templados caducifolios (Fichas micológicas, 2019). De manera general esta comunidad está compuesta fundamentalmente por especies micorrícicas de amplia distribución y asociadas a bosques caducifolios o bien con escaso requerimiento de hábitat, por lo que la dominancia se puede asociar a especies generalistas.

El escenario de fuera de las minas está compuesto fundamentalmente por especies del orden de los *Helotiales*, familia que comprende cerca de 4000 especies, repartidas en 10 familias a nivel global (Taxateca, 2019 y FungiKingdom, 2019), fundamentalmente saprobiotas, con algunas especies ectomicorrícicas, y cosmopolitas, por lo que un importante porcentaje de esta comunidad son especies generalistas.

El género *Sistotrema* tiene también una gran proporción fuera de las minas, si bien los análisis genéticos no han permitido identificar más allá y no permiten establecer un juicio sobre los requerimientos de la especie, de conocerse. La especie identificada más abundante es *Pachyphlodes conglomeratus*, perteneciente a la familia de las *Pezizaceae*, el cual cuenta actualmente con apenas 14 especies (Cabrero y Pérez-Pérez, 2012), se trata de un hongo con cuerpo fructífero hipogeo. De igual forma es dominante la especie *Pachyphlodes nemoralis*, otro cuerpo fructífero con forma trufada y recientemente descubierto (Healy et al., 2015)

En lo que se refiere al referente de Lizardoia, se observa que el 50% de la comunidad está compuesto por cinco especies, de manera bastante equitativa. *Russula veternosa* es la especie más dominante, posee cuerpo fructífero y es especialista de bosques templados caducifolios, en especial de hayas (Fichas micológicas, 2019). Le sigue *Tomentella subilacina*, otra especie del género *Tomentella*, ampliamente distribuido a nivel global, que aparece en bosques de coníferas y caducifolios, y con un gran número de especies ectomicorrícicas (Rajchenberg et al., 2016). Las especies del género *Humaria*, pertenecen a la familia de las *Pyronemataceae*, (Eros-Honti et al.,

2008) el cual contiene una serie de especies ectomicorrícicas asociadas a sistemas forestales caducifolios templados y húmedos (Hansen et al., 2012) por lo que podría considerarse como especialista. Las últimas especies dominantes de este espacio pertenecen a la familia de las *Thelephoraceae* si bien se trata de especies que aún no han sido identificadas al no existir en la base de datos.

Los principales impactos sobre el suelo derivados de la minería metálica pueden clasificarse en físicos, incluyendo la compactación y la pérdida de suelo, como químicos, con la oxidación de sulfuros y la posterior liberación de su carga metálica, acidificando así el sustrato (Oyarzun et al., 2011).

Estos impactos derivados de la minería, como la traslocación de horizontes, pérdida de suelo vegetal o los cambios en el pH del sustrato pueden afectar a las comunidades de hongos ectomicorrícicos, que muestren preferencia por un sustrato ácido o básico (Kjøller y Clemmensen, 2008) justificando alguna de las diferencias de especies entre los escenarios de dentro y fuera como la presencia de un mayor número de especies dentro con otros requerimientos edáficos. De la misma manera se ha indicado que el pH del suelo para el caso del haya (*Fagus sylvatica*) es uno de los principales factores condicionantes en la composición de la comunidad de ectomicorrizas. (Rosinger et al., 2018). Igualmente, alteraciones significativas del pH del suelo se han comprobado que afectan negativamente a la densidad de hongos micorrícicos (Agerer, 1989). Análisis edáficos comparativos de dentro y fuera de las minas serían recomendables.

Los análisis de similaridad de comunidades indican que el impacto ha modificado la estructura de las comunidades de hongos micorrícicos, lo que concuerda con algunos estudios realizados sobre este ámbito (Hui et al., 2010), donde se aprecian diferencias significativas en la estructura de comunidades afectadas por un impacto y aquellas que no lo están. Aunque como se ha comentado anteriormente las diferencias de diversidad son menos evidentes, la estructura y composición de estas varía enormemente encontrando solo un 9% de similaridad entre las comunidades de dentro y fuera de las minas.

Sólo cuatro especies de hongos ectomicorrícicos aparecen dentro y fuera de las minas, lo que supone solo el 4% de las especies, ninguna especie aparece en los tres escenarios.

Una de estas especies es *Cenococcum geophilum*, que se considera generalista y asociada a diferentes hospedadores, no siendo exclusiva del haya (Douhan y Rizzo, 2005). Además, se trata de una especie común de diferentes formaciones forestales a nivel europeo (Rosinger et al., 2018). Esta especie es igualmente considerada como generalista especialmente en los bosques mediterráneos por ser muy resistente a falta de precipitaciones y altas temperaturas (de Román y de Miguel, 2000). Las otras especies comunes son *Russula fellea*, de la familia de las *Russulaceae*, con cuerpo fructífero y común en robledales y hayedos europeos (Fichas Micológicas, 2019) lo que explica su presencia en todos los escenarios. Otra especie común es *Pachyphloides conglomeratus*, perteneciente al Orden de los *Pezizales* y de la que apenas existe información, salvo que tiene presencia en Europa (Beug et al., 2014). Por último, tienen presencia en todos los escenarios la familia *Hyaloscyphaceae*, que cuenta con más de 1000 especies (Asturnauta, 2019), muchas de ellas poco conocidas o de reciente descubrimiento, incluso en España (Galán y Raitviir, 1994). Se puede concluir que todas las especies coincidentes se trata de especies generalistas, cosmopolitas y con amplio rango de distribución.

Estos resultados difieren con otros estudios comparativos de comunidades de hongos ectomicorrícicos afectados por un impacto, por el bajo porcentaje de especies comunes entre las zonas afectadas y sin afectar por el impacto (de Román y de Miguel, 2000), si bien estos estudios se focalizan en impactos en una escala de tiempo e intensidad menor (ej. incendios) (Baeza-Guzmán, et al., 2010) que la minería, cuyos efectos pueden seguir siendo notables en una escala de tiempo mayor. Esto puede dar lugar a comunidades de hongos ectomicorrícicos adaptadas a estos impactos lo que pudiera explicar la baja similitud de especies.

Los resultados del NMDS (Fig. 12) indican que los árboles que no afectados por el impacto muestran una composición de especies similar, aunque no pertenezcan a la misma mina. Los árboles de dentro de las minas muestran comunidades muy diferentes, aun estando estos situados a poca distancia. Por ello se puede sugerir que el impacto afectó y afecta a las comunidades de micorrizas de los árboles de las minas tanto a nivel comparativo con los árboles de fuera, como en particular, por la amplia heterogénea distribución espacial que presentan (Fig. 13). Se puede hipotetizar que cada árbol impactado presenta un grado de impacto y recuperación diferente dando lugar a las diferencias en la estructura de sus comunidades. Mientras que los árboles fuera de las

minas presentan una evolución histórica similar y por lo tanto sus características ambientales son similares, los árboles dentro de las minas por el contrario se han visto afectados de manera particular y específica por la extracción minera, alterando sus características físicas (menos árboles y consecuentemente mayor temperatura y menor humedad), biológicos (cambios en la microflora del suelo) y químicos (fundamentalmente alteraciones del pH) lo que ha generado la presencia de especies adaptadas a estas nuevas características y que por lo tanto no estarían presentes de forma natural en Artikutza (Jones et al., 2002).

4.2. POSIBLES IMPLICACIONES

Conocido el importante papel que juegan las comunidades de hongos ectomicorrícicos en un ecosistema, se podría considera como estrategia de restauración la inoculación de estos hongos para reactivar todas aquellas funciones ecosistémicas que ejercen, si bien los resultados de este trabajo indican que la zona afectada por el impacto muestra una diversidad de especies que es incluso superior a las zonas no afectadas. La inoculación de estos hongos (Pietras et al., 2015), no se ha demostrado tan efectiva como lo es la dispersión natural, por ejemplo, a través de roedores.

Estrategias más razonables de restauración estarían encaminadas por tanto a recuperar la estructura forestal o aquellas condiciones (edáficas, acidez, etc.) que son las que condicionan en mayor medida la estructura y diversidad de las comunidades de hongos ectomicorrícicos. Por otra parte se podría sugerir plantaciones con especies de aquellas especies vegetales que posean una mayor disposición a ser hospedadoras de hongos ectomicorrícicos (Juárez et al., 2010), con el fin de que estas regeneren las redes micorrícicas y los procesos que estas soportan. Igualmente, a la hora de valorar el éxito de una restauración o el estado de un sistema forestal es importante realizarlo a todos los niveles, ya que las comunidades de hongos ectomicorrícicos son indicadoras de impactos que pueden que no se manifiesten o no sean tan fácilmente perceptibles (Rudawska et al., 2003). Este estudio revela que las comunidades de micorrizas aún se ven afectadas por los efectos de las antiguas minas de hierro.

5. CONCLUSIONES

Se ha cumplido la principal hipótesis de este estudio, demostrando que existen diferencias en la estructura de las comunidades de hongos ectomicorrícicos afectadas por el impacto. La hipótesis de que el impacto afectaría a la diversidad de micorrizas no se ha cumplido, ya que el espacio afectado por minería presenta una diversidad mayor. Se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Las consecuencias del impacto minero aún perduran, las alteraciones que estas causan sobre los requerimientos bióticos y abióticos de los hongos micorrícicos podrían explicar la presencia de especies diferentes fuera y dentro de las minas.
- Ambos escenarios poseen una elevada diversidad de especies y densidad de puntas, por lo que se sugiere que las funciones ecosistémicas asociadas a los hongos micorrícicos son similares en los dos escenarios.
- Dentro del punto anterior, sería interesante estudiar las diferencias en lo relativo a captación de nitrógeno y fósforo, entre otros parámetros, de las especies más abundantes dentro y fuera de las minas.
- Se sugiere la realización de análisis edáficos dentro y fuera de las minas para explicar las diferencias en la composición de las comunidades.
- El estudio de las comunidades de hongos micorrícicos debe ser incluido tanto en la valoración del impacto como en el seguimiento de una restauración, ya que ha demostrado verse afectado por el mismo.
- Se ha demostrado que es necesario la utilización de escalas temporales mucho más largas en el seguimiento de la recuperación de un ecosistema.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Agerer, R. 1987-2002. *Colour atlas of ectomycorrhizae*. Einhorn Verlag, Schwabisch Gmünd
- Agerer, R. 1989. Impact of artificial acid rain and liming on fruitbody production of ectomycorrhizal fungi. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 28, 1989: 3-8
- Aguilar-Garavito y Ramírez. W. (eds.) 2015. *Monitoreo a procesos de restauración ecológica, aplicado a ecosistemas terrestres*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá D.C., Colombia. 250 pp.
- Argas Ríos, O. 2011. “Restauración ecológica: biodiversidad y conservación” en *Acta Biológica Colombiana*, 16 [en línea], Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319028008017> (último acceso 17/2/2019)
- ASTURNAUTA 2019. “Familia *Hyaloscyphaceae*” en *Asturnauta* [en línea], disponible en <https://www.asturnatura.com/familia/hyaloscyphaceae.html> (último acceso 05/02/2019)
- Azul, A.M., Sousa, J.P., Agerer, R., Martín, M.P. y Freitas, H. 2009. Land use practices and ectomycorrhizal fungal communities from oak woodlands dominated by *Quercus suber* L. considering drought scenarios. *Mycorrhiza*. 20 (2), August 2009:73-8
- Baeza-Guzmán, Y., Medel-Ortíz, R. y Garibay-Orijel, R. 2016. Caracterización morfológica y genética de los hongos ectomicorrícicos asociados a bosques de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88, 2017: 41-48
- Ballantine, K. y Schneider, R. 2009. Fifty-five years of soil development in restored freshwater depressional wetlands. *Ecological applications*. 19(6), September 2009: 1467-1480
- Barrera-Cataño, J.I. y Valdés-López, C. 2007. Herramientas para abordar la restauración ecológica de áreas perturbadas en Colombia. *Universitas Scientarium*, 12.:11-24
- Beug, M.V., Bessette, A.E. y Bessette, A.R. 2014. *Ascomycete Fungi of North America: A Mushroom Reference Guide*. First edition. University of Texas.

- Bray, J.R. y Curtis, J.T. 1957. An ordination of upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, 27: 325-349
- Cabrero, J. y Pérez-Pérez, J. 2012. *Pachyphloeus oleiferus* (Ascomycota, Pezizaceae) sp. nov., un nuevo hongo hipogeo localizado en Zamora (España). *Boletín micológico de FAMCAL*, 7: 105-118
- Choi et al, 2006. Theories for ecological restoration in changing environment: toward “futuristic” restoration. *Ecoscience*. 15 (1), 2008: 53-64
- Comunidad Foral de Navarra 2015. DECRETO FORAL 264/2015, de 2 de diciembre, por el que se designa el Lugar de Importancia Comunitaria denominado “Artikutza” como Zona Especial de Conservación y se aprueba su Plan de Gestión. *Boletín Oficial de la Comunidad Foral de Navarra*, nº4, 8 de enero de 2016
- Datta, R. y Paul, S. 2016. Wood Wide Web. *Science reporter*, April 2016: 42-43
- De Román, M. y De Miguel, A.M., 2000. “Identificación y descripción de las ectomicorrizas de *Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp. en una zona quemada y una zona sin alterar del carrascal de Nazar (Navarra)”. *Publicaciones de Biología, Universidad de Navarra, Serie Botánica*, 13, 2000:1-42
- DONOSTIA, 2018. “Artikutza-Historia” en *Medio Ambiente: Artikutza*, Ayuntamiento de San Sebastián, [en línea]. Disponible en <https://www.donostia.eus/ataria/web/ingurumena/natura-biodibertsitatea/artikutza/historia> (último acceso 14/11/2018)
- Doughan, G.W. y Rizzo, D.M., 2005. Phylogenetic divergence in a local population of the ectomycorrhizal fungus *Cenococcum geophilum*. *New Phytologist*, 166, 2005: 263-271
- Duarte, C. M. (Coord.) 2006. *Cambio Global. Impacto de la Actividad Humana sobre el Sistema Tierra*, Colección divulgación, 3. 167 p.
- EDAFOLOGIA.NET 2018. “Regímenes de Humedad y Temperatura” en *Edafología UGR*, Universidad de Granada, [en línea], disponible en http://www.edafologia.net/programas_suelos/practclas/taxoil/comun/f11111rht.htm (último acceso 14/11/2018)
- Erős-Honti, Kovacs, G.M., Szedlay, G. y Jakus, E. 2008. Morphological and molecular characterization of *Humaria* and *Genea Ectomycorrhizae* from Hungarian deciduous forests. *Mycorrhiza*, 18, 3, March 2008: 133-143

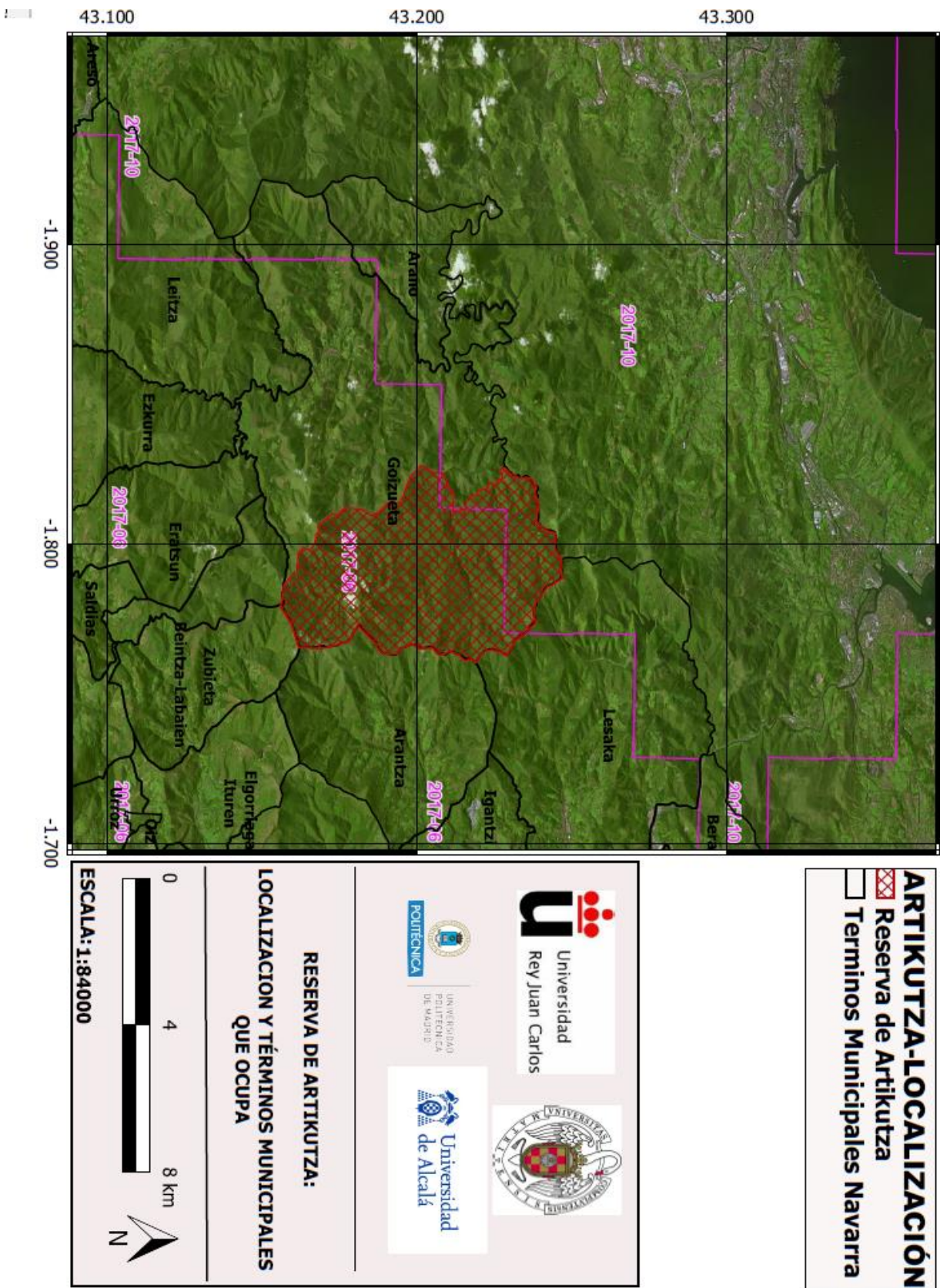
- FICHAS MICOLÓGICAS (2019), “Inocybe maculata” en *Fichas Micológicas* [en línea], disponible en <http://www.fichasmicologicas.com/?micos=1&alf=I&art=64> (último acceso 05/02/2019)
- FICHAS MICOLÓGICAS (2019), “Russula fellea” en *Fichas Micológicas* [en línea], disponible en <http://www.fichasmicologicas.com/?micos=1&alf=R&art=687> (último acceso 13/03/2019)
- FICHAS MICOLÓGICAS (2019), “Russula veternosa” en *Fichas Micológicas* [en línea], disponible en <http://www.fichasmicologicas.com/?micos=1&alf=R&art=1005> (último acceso 05/02/2019)
- FUNGI KINGDOM 2019. “Heliales order” en *Pyoner Valley Mycological Association* [en línea], disponible en <http://www.fungikingdom.net/fungi-photos/ascomycota-division/heliales-order/index.html> (último acceso 05/02/2019)
- Galán C. y Nieto, M. 2014. Minas y cuevas de Elama (Artikutza): hidrogeología, fauna y evolución, *Laboratorio de Bioespeleología*, Sociedad de Ciencias Aranzandi.
- Galán, R. y Raitviir, A. 1994. Some new or interesting species of the Hyaloscyphaceae from Spain. *Nova Hedwigia, Stuttgart* , 58 (3-4): 453-473
- Giovannetti, M. et al. 2006. At the Root of the Wood Wide Web. *Plant Signaling & Behavior*, 1:1, January-February 2006:1-5
- Gobierno de Navarra 2015. *Bases técnicas para el plan de gestión de la Zona Especial de Conservación (ZEC) “Artikutza” (ES2200010)*. Gestión de Navarra S.A.
- Hagerman, S.M., Jones, M.D., Bradfield, G.E., Gillespie, M. y Durrall, M.D. 1998. Effects of clear-cut logging on the diversity and persistence of ectomycorrhizae at a subalpine forest. *Can. J. For. Res.* 29. 2009:124-134
- Hansen, K., Perry, B.A., Draginis, A.W. y Pfister, D.H. 2013. A phylogeny of the highly diverse cup-fungus family Pyronemataceae (Pezizomycetes, Ascomycota) clarifies relationships and evolution of selected life history traits. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67, 2, may 2013: 311-335

- Healy et al. 2015. Fun with the discomycetes: revisiting collections of Korf's anamorphic Pezizales and Thaxter's New England truffles leads to a connection between forms and the description of two new truffle species: *Pachyphlodes pfisteri* and *P. nemoralis*. *Ascomycete.org*, 7 (6), November 2015: 357-366
- Heijden, M.G.A., Martin, F.M., Selosse, M.A. y Sanders, I.R. 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205, 2015: 1406–1423
- IREKIBAI 2018 “ES2200010 Artikutza” en *Irekibai: Espacios Red Natura 2000* [en línea], LIFE “Irekibai”, Navarra, disponible en <https://www.irekibai.eu/es2200010-artikutza/> (último acceso 14/11/2018)
- Jones, M.D., Durall, D.M. y Cairney, D.W.G. 2002. Ectomycorrhizal fungal communities in young forest stands regenerating after clearcut logging. *New Phytologist*, 157, 2003:399-422
- Juárez, L.V., Vela, G., Cruz, E., Chimal, A., Acevedo, O.A., y Rivera, F. 2010. Características de sustratos e identificación de plantas micorrizadas establecidas en presas de jales del distrito minero de Pachuca. *Sociedades rurales, producción y Medio Ambiente*, 11 (22), 2011: 97-112
- Kernaghan, G., Widden, P., Bergeron, Y., Légaré, S. y Paré, D. 2003. Biotic and abiotic factors affecting ectomycorrhizal diversity in boreal mixed-woods. *Oikos*, 112 (3), September 2003: 497-504
- Kjølner, R y Clemmensen, K.E. 2008. *The impact of liming on ectomycorrhizal fungal communities in coniferous forests in Southern Sweden*. Scoggsstyrelsen, febrero 2008
- Kuhar, F., Barroetaveña, F. y Rajchenberg, F. 2016. New species of *Tomentella* (Thelephorales) from the Patagonian Andes forests en *Mycologia*, 2016, 108 (4):780-790
- Magurran, A.E. 1988. *Ecological Diversity and Its Measurement*. Edición de Springer Netherlands.
- Margalef, R. 1958. La teoría de la información en ecología. *General Systematics*, 3: 36-71
- Martin, F., Kohler, A., Murat, C., Venault-Fourrey, C. y Hibbett, D.S. 2016. Unearthing the roots of ectomycorrhizal symbioses. *Nature reviews/Microbiology*, 149, 2016: 1-14

- METEONAVARRA 2018. Valores climatológicos normales de Artikutza en *Meteorología y climatología de Navarra*, [en línea], disponible en http://meteo.navarra.es/climatologia/fichasclimaticas_estacion.cfm?IDestacion=74 (último acceso 14/11/2018)
- Morisita, M. 1959. Measuring of the dispersión and analysis of distribution patterns. *Memoires of the Faculty of Sciene, Kyushu University, Series E, Biology*,2: 215-235
- Ø Kjølner, R. y Clemmensen, K. 2008. The impact of liming on ectomycorrhizal fungal communities in coniferous forest in Southern Sweden. *Skogsstyrelsen*, febrero 2008:1-46
- Ollero Ojeda, A. 2010. Sobre el objeto y la viabilidad de la restauración ambiental. *Geographicalia*. 59-60, 2011: 267-279
- Oyarzun, R., Higuera, P. y Lillo, J. 2011. *Minería Ambiental, una introducción a los Impactos y su Remediación*, Ediciones GEMM-Aula2puntonet
- Pietras M., Rudawska, M., Leski, T. y Karlinsky, L. 2015. Diversity of ectomycorrhizal fungus assemblages on nursery grown European beech seedlings. *Annals of Forest Sciencie, Springer Verlag/ EDP Sciences* , 70(2), 2013:115-121
- Pilz, D.P., y Perry, D.A. 1983. Impact of clearcutting and slash burning on ectomycorrhizal associations of Douglas-fir seedlings. *Can.J. For. Res.* 14, 1984: 94-100
- Rajchenberg, M. et al., 2016. New species of Tomentella (Thelephorales) from the Patagonian Andes forests. *Mycologia*, abril 2016.
- Read, D.J. y Pérez-Moreno, J. 2002. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? *New Phytologist*, 157, 2003: 575-492
- Rey Benayas, J.M., Newton, A.C., Diaz, A. y Bullock, J.M. 2009. Enhancement of Biodiversity and Ecosystem Services by Ecological Restoration: A Meta-Analysis. *Science*, 317, 2009: 1121-1124
- Richard, F., Moreau, P.A., Selosse, M.A. y Gardes, M. 2004. Diversity and fruiting patterns of ectomycorrhizal and saprobic fungi in an old-growth Mediterranean forest dominated by *Quercus ilex L.* *Can. J. Bot.*, 82, 2004: 1711-1729

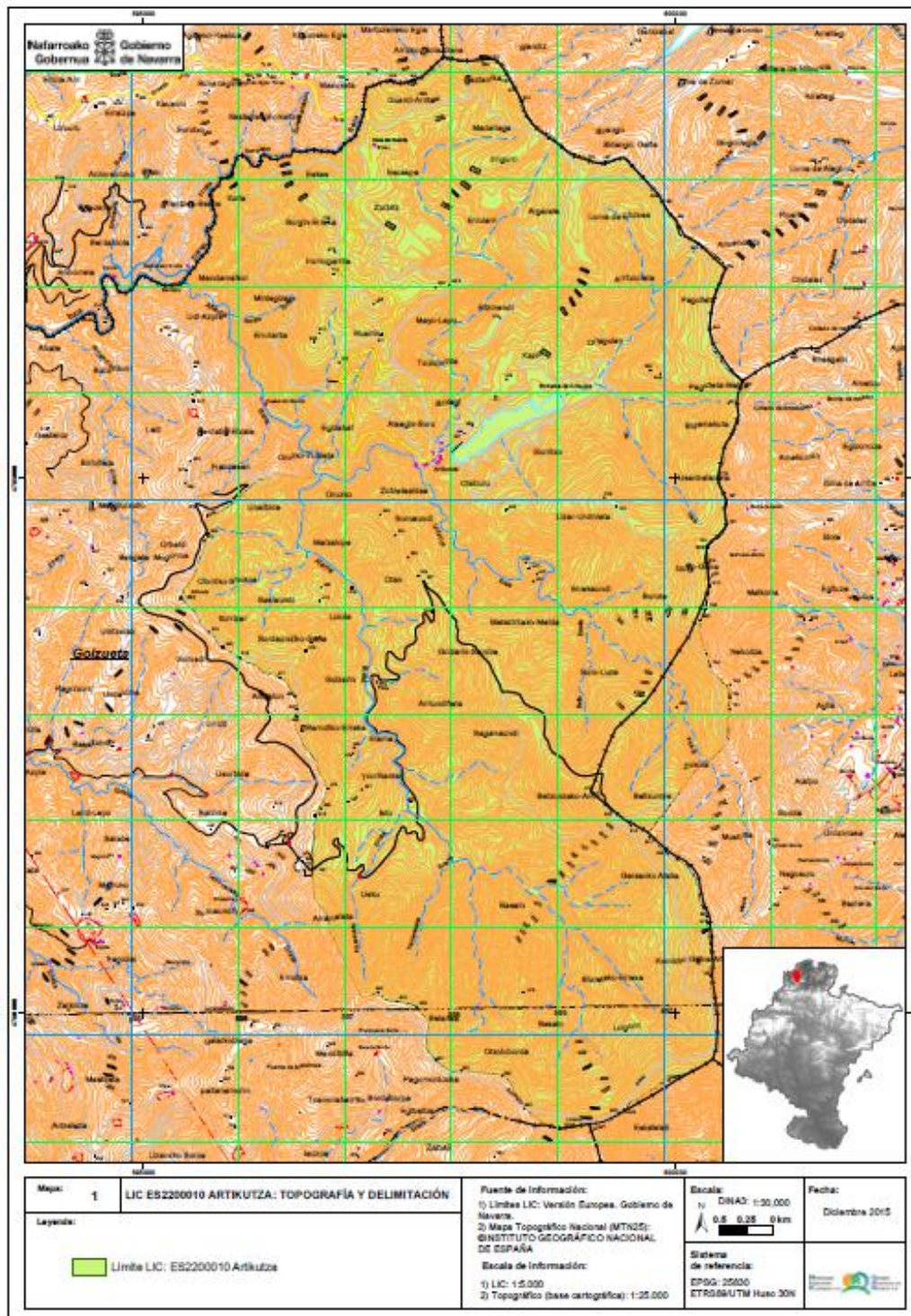
- Rosinger, C., Sandén, H., Matthews, B., Mayer, M. y Godbold, D.L. 2018. Patterns in Ectomycorrhizal Diversity, Community Composition, and Exploration Types in European Beech, Pine, and Spruce Forests. *Forest*, 9, 445, 2018: 1-16
- Rudawska, M., Kieliszewka-Rokicka, C. y Leski, T. 2003. “Mycorrhizal community structure of Scots pine trees influenced by emissions from aluminum smelter” en Karnosky, D.F. et al., (ed.), *Air Pollution, Global Change and Forests in the New Millennium*, Elsevier Ltd.
- Ruiz-Jaén, M.C. y Aide, T.M. 2005. Restoration Success: How Is It Being Measured? *Restoration Ecology*, 13(3), September 2005: 567-577
- SER (Society for Ecological Restoration), 2018. “Ecological Restoration” en *Society for Ecological Restoration* [en línea], disponible en <https://www.ser.org/default.aspx> (último acceso 12/07/2018)
- Shannon, C.E. y Weaver, W. (1949), The mathematical theory of communication. *The University of Illinois Press*: 117
- Simard, S. et al, Perry, D.A., Jones, M.D., Mylord, D.D., Durrall, D.M. y Molina, R. 1997. Net transfer of C between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature*, 388, 7 de agosto de 1997: 579-582
- Simpson, E.H. 1949. Measurement of Diversity. *Nature*, 163: 688-688
- Smith, J.E., McCay, D., Brenner, G., McIver, J. y Spatafora, J.W. 2005. Early impacts of forest restoration treatments on the ectomycorrhizal fungal community and fine root biomass in a mixed conifer forest. *Journal of applied ecology*. 42, 2005:526-535
- Tarvainen, O., Markkola, A.M. y Strömmer, M. 2002. Diversity of macrofungi and plants in Scots pine forests along an urban pollution gradient. *Basic and applied ecology*, 4, 2003:547-566
- TAXATECA 2019. “Orden Heliotales” en *Taxateca* [en línea], disponible en <https://www.taxateca.com/ordenheliotales.html> (último acceso 05/02/2019)
- Valladares, F., Peñuelas, J. y Luis de Calabuig, E. de. 2005. “Impactos sobre los ecosistemas terrestres” en Ministerio de Medio Ambiente (ed.), *Evaluación preliminar de los impactos en España por efecto del cambio climático Proyecto ECCE - Informe Final*. España: 65-112

ANEXO I-LOCALIZACIÓN



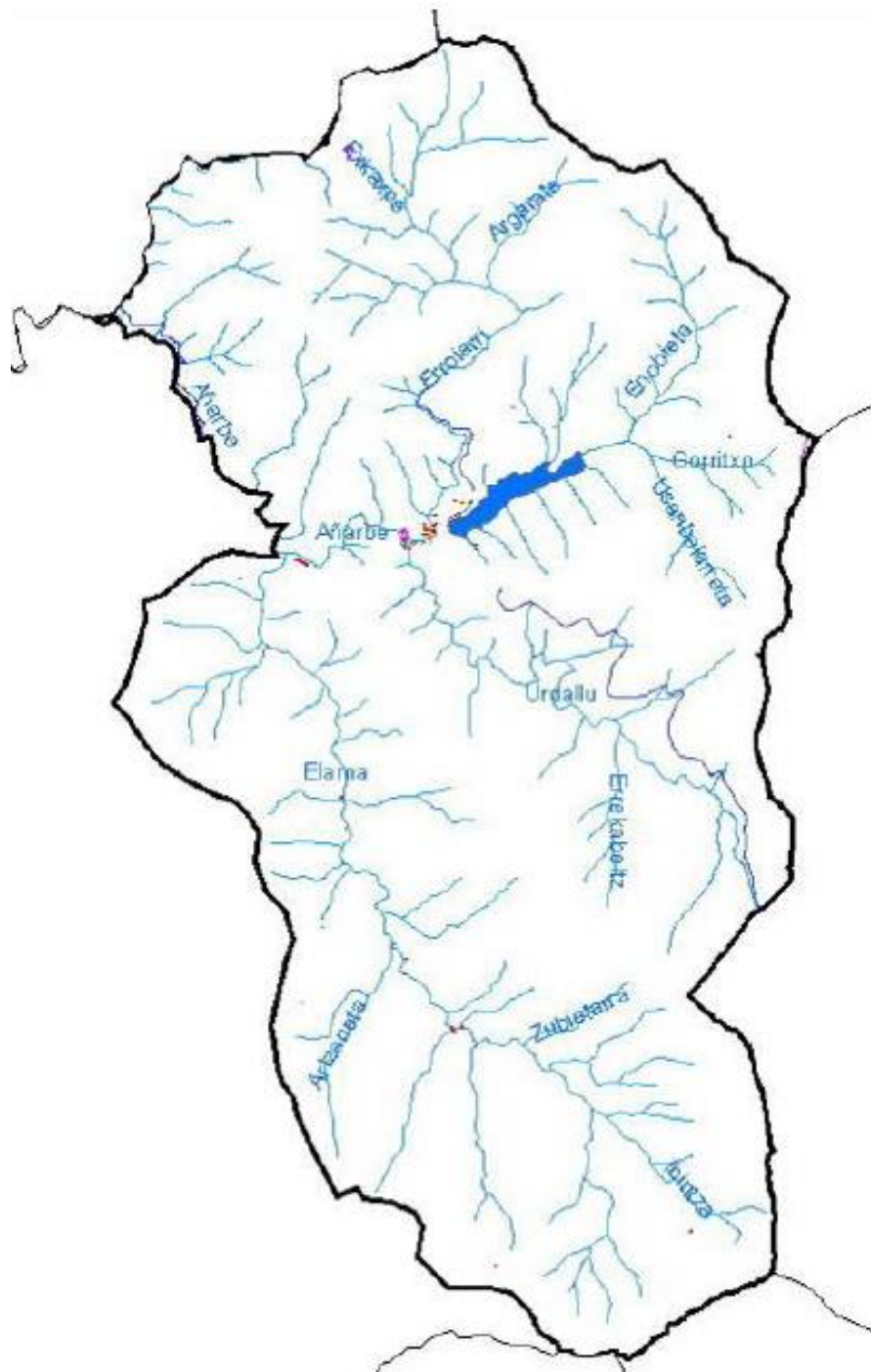
Mapa 1. Localización de la zona de estudio, la Reserva de Artikutza

ANEXO II- RESERVA DE ARTIKUTZA



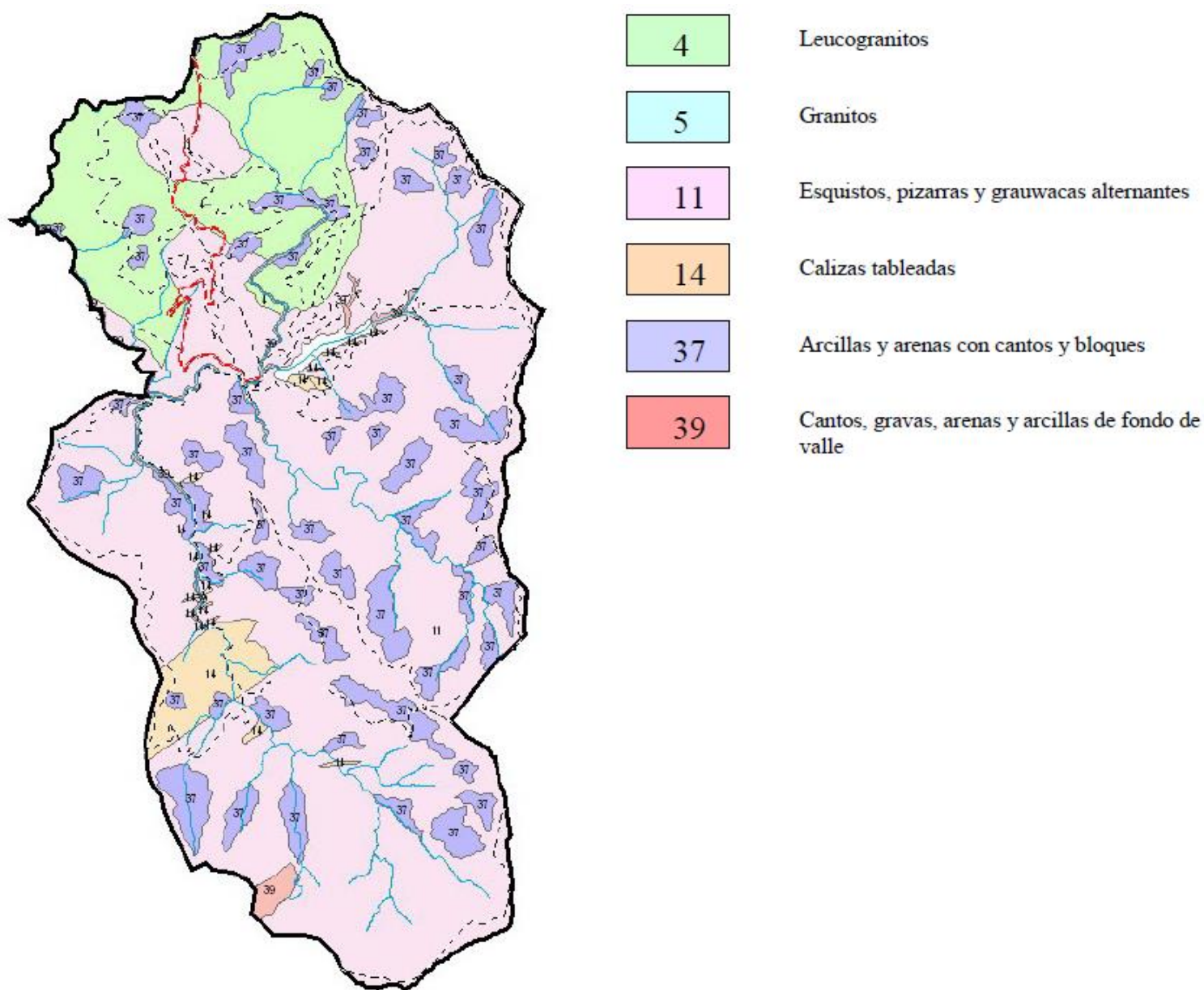
Mapa 2. Mapa de la Reserva de Artikutza (Gobierno de Navarra, 2015)

ANEXO III-HIDROLOGÍA DE ARTIKUTZA



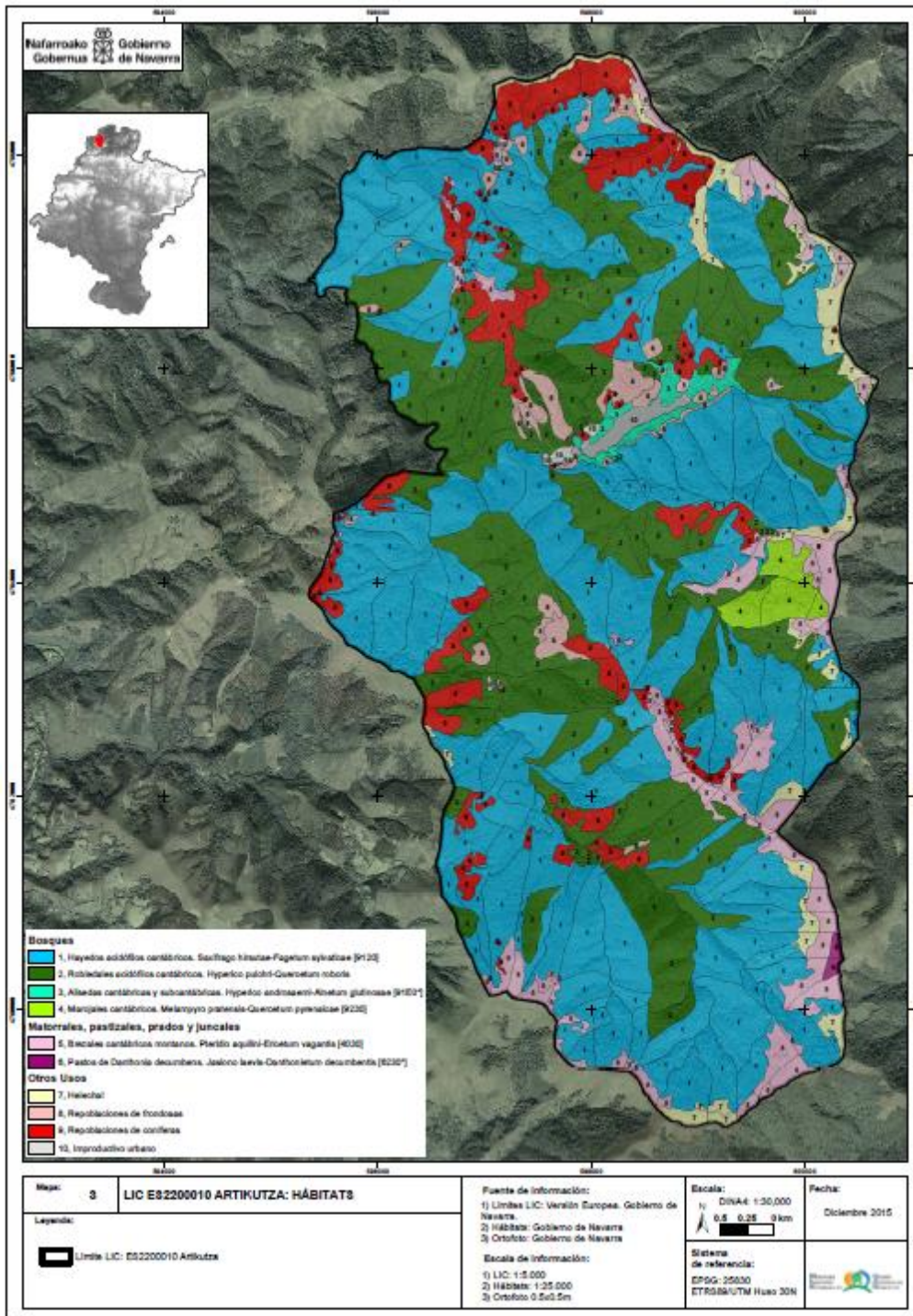
Mapa 3. Masas de agua en la Reserva de Artikutza (Gobierno de Navarra, 2015)

ANEXO IV- ARTIKUTZA, GEOLOGÍA Y LITOLOGÍA



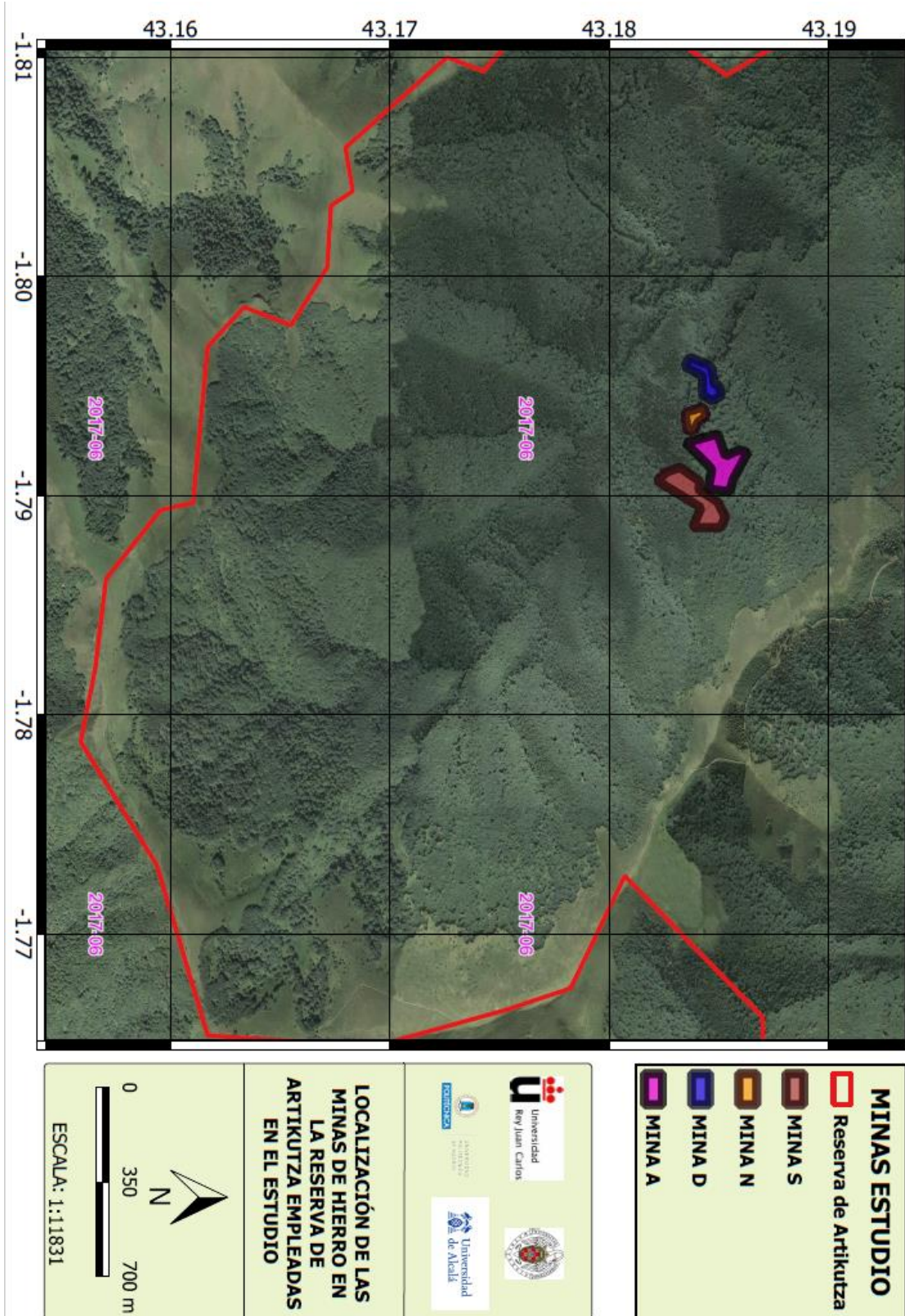
Mapa 4. Unidades geológicas y litológicas en la Reserva de Artikutza (Gobierno de Navarra, 2015)

ANEXO V- ARTIKUTZA, FORMACIONES VEGETALES



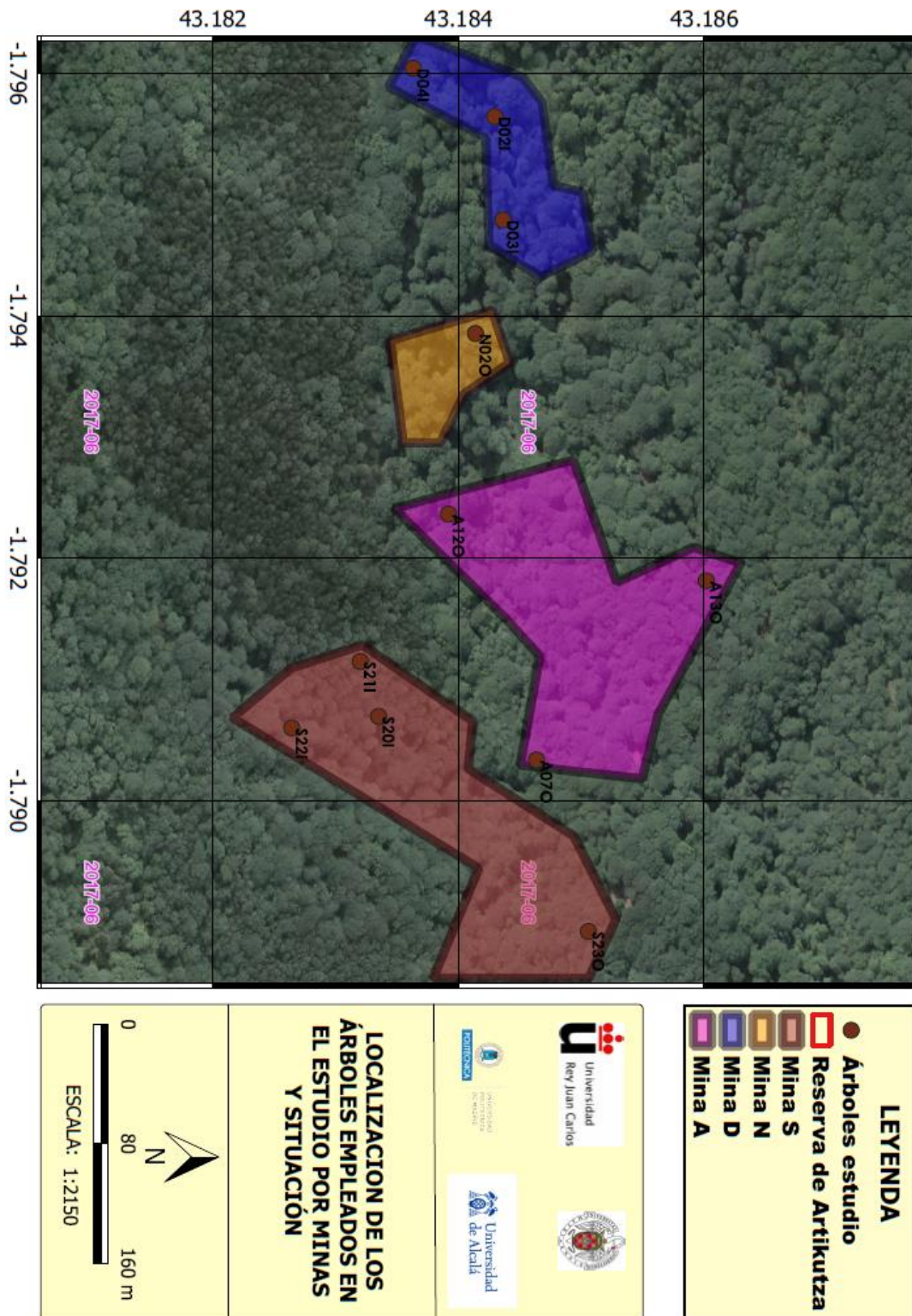
Mapa 5. Formaciones vegetales en la Reserva de Artikutza (Gobierno de Navarra, 2015)

ANEXO VI-MINAS DEL ESTUDIO



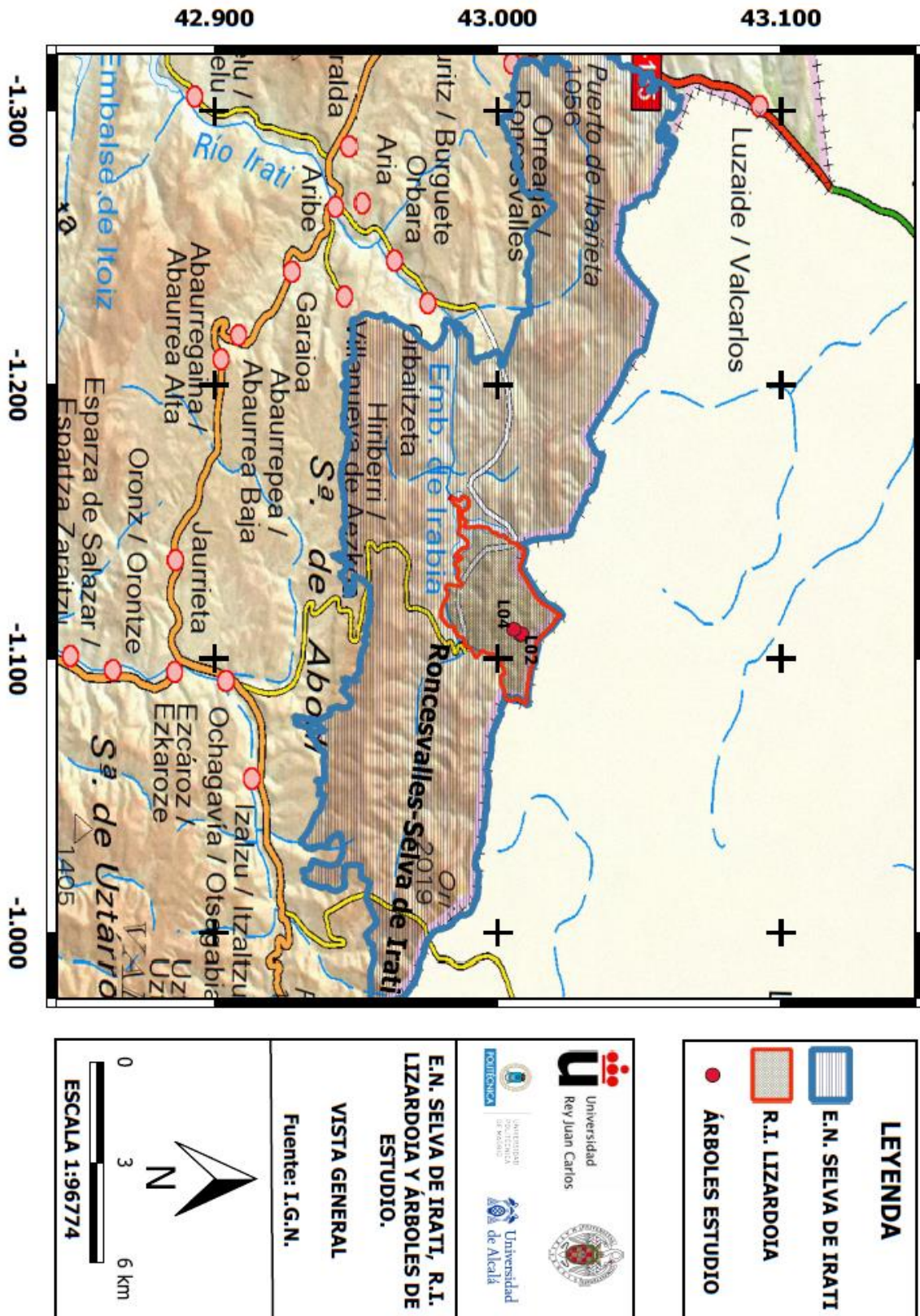
Mapa 6. Localización de minas estudiadas en la Reserva de Artikutza (Elaboración propia)

ANEXO VII- ARBOLES OBJETO DE ESTUDIO-ARTIKUTZA



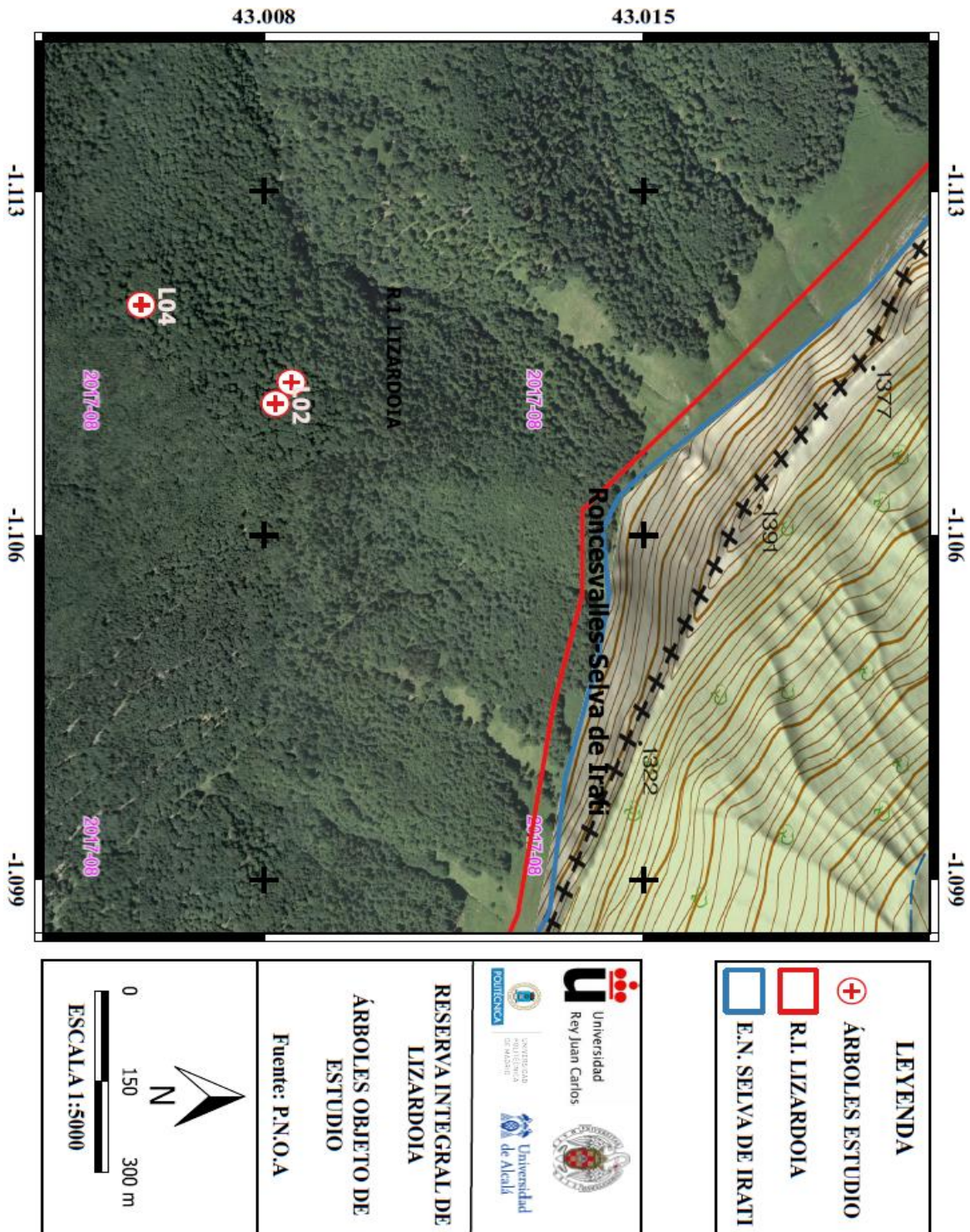
Mapa 7. Localización de los árboles objeto de estudio (Elaboración propia)

ANEXO VIII-RESERVA INTEGRAL DE LIZARDOIA



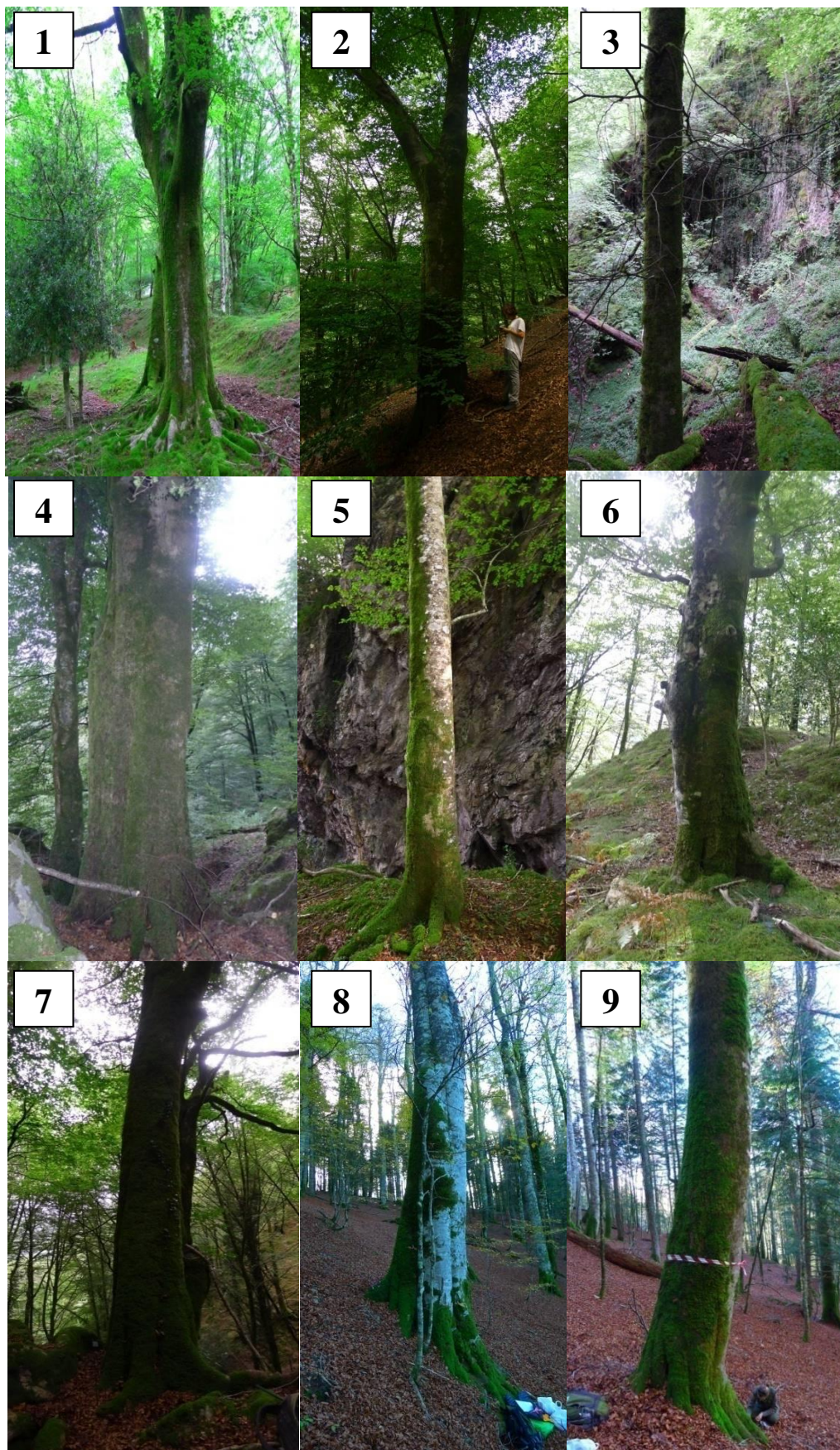
Mapa 8. Localización de la Reserva Integral de Lizardoia (Elaboración propia)

ANEXO IX-ARBOLES OBJETO DE ESTUDIO-LIZARDOIA



Mapa 9. Árboles objeto de estudio en la Reserva Integral de Lizardoia. (Elaboración propia)

ANEXO X- ÁRBOLES UTILIZADOS EN ESTUDIO

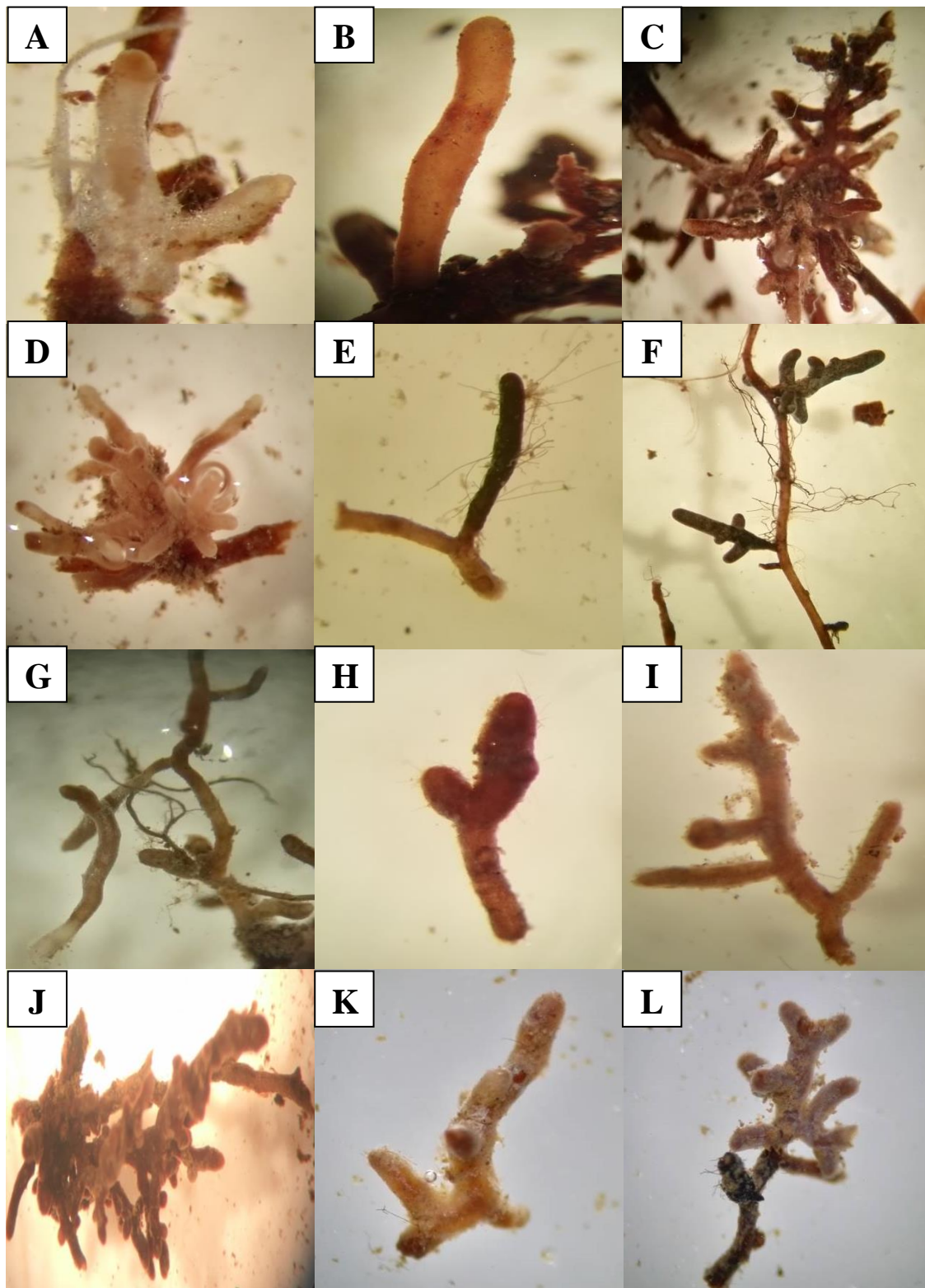


10



Imágenes de árboles utilizados en proyecto: 1: A07O, 2: A13O, 3: D02I, 4: D04I, 5: S20I, 6: S22I, 7: L02, 8: L03, 9: L04 (Fotografías: Asunción Rodríguez, June Hidalgo y David Moreno)

ANEXO XI-EJEMPLOS DE HONGOS MICORRÍCICOS IDENTIFICADOS



Fotografías A-L. Ejemplos de hongos ectomicorrícicos identificados (Fotografías propias). A: *Entoloma bryorum*. B: *Lactarius subdulcis*. C: *Pachyphlodes melanoxanthus*. D: *Russula melzaeri*. E: *Cenococcum geophilum*. F: *Tomentella punicea*. G: *Laccaria laccata*. H: *Laccaria macrocystidia*. I: *Inocybe cookei*. J: *Meliniomyces bicolor*. K: *Pachyphlodes nemoralis*. L: *Russula rosea* (FOTOGRAFÍAS PROPIAS)