C. Palazón, I. Delgado, J. Barriuso, S. Sánchez, C. Asensio

OBTENCIÓN DE TRUFA NEGRA (*TUBER MELANOSPORUM* VITT.) A PARTIR DE PLANTACIÓN CULTIVADA, EN TERRENO TRADICIONAL DE REGADÍO

Separata ITEA

INFORMACIÓN TÉCNICA ECONÓMICA AGRARIA, VOL. **104** N.º 4 (472-481), 2008

Obtención de trufa negra (*Tuber melanosporum* Vitt.) a partir de plantación cultivada, en terreno tradicional de regadío

C. Palazón*, I. Delgado*, J. Barriuso**, S. Sánchez*, C. Asensio*

* Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Gobierno de Aragón. Apartado 727, 50080 Zaragoza, España
cpalazon@aragon.es
** Escuela Politécnica Superior de Huesca. Universidad de Zaragoza. Ctra. Cuarte s/n. 22071 Huesca
barriuso@unizar.es

Resumen
En este trabajo se exponen los antecedentes, características y los métodos culturales desarrollados para la instalación de una plantación de encina micorrizada con *Tuber melanosporum* Vitt., para la obtención de trufa negra, en el municipio de Zaragoza.

Aunque la truficultura es considerada como una actividad de diversificación propia de zonas desfavorecidas de montaña, debe considerarse también la posibilidad de implantarse en aquellos terrenos de regadío, de naturaleza caliza, de la misma manera que se haría con una plantación frutal.

La recolección de la primera trufa negra en la parcela experimental del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, en Zaragoza, es un logro novedoso que avala esa hipótesis y que contrasta con la ortodoxia de los actuales tratados de truficultura.

Palabras clave: Truferas cultivadas, técnicas culturales, cultivos alternativos, micorrización.

Summary
Black truffle (*Tuber melanosporum* Vitt.) obtention in a mycorrhized oak orchard of a traditional irrigated land
The background, features and farming methodology to set up a *Tuber melanosporum* Vitt. mycorrhized oak orchard in order to harvest black truffle in Zaragoza (Ebro Valley, Spain), are described in this paper.

Although truffle cropping is a common activity of diversification in mountain depressed areas the establishment on irrigated and calcareous soils could be considered in the same way as a fruit orchard.

A first black truffle was obtained in an experimental plot of Agrifood Research and Technology Centre of Aragon, located in Zaragoza. This new event in this field supports this assertion in contrast with the orthodoxy of the current trends in truffle farming.

Key words: Truffle orchard, agricultural techniques, alternative crops, mycorrhization.

Introducción y antecedentes

El desarrollo de la truficultura en España ha experimentado un impulso extraordinario en esta última década, fundamentado en la aptitud edafoclimática de muchas partes de nuestro territorio, que lo hace particularmente propicio para la instalación de plantaciones de árboles micorrizados con el objetivo de producir trufa negra (*Tuber melanosporum* Vitt.).

En los últimos 10 años se ha duplicado prácticamente la superficie dedicada a este cultivo, alcanzando las 5.000 hectáreas y creciendo anualmente a un ritmo medio de 400 hectáreas/año. Las razones de este desarrollo espectacular se basan no sólo en la aptitud de los suelos y climas antes aludida sino también en la mejora de los conocimientos y de toda la tecnología e investigación dedicada a los sistemas de producción. El dinamismo creciente del sector privado ha tenido también fuertes apoyos por las Administraciones Públicas, concretados en la apertura de líneas de ayuda, subvenciones, organización de Jornadas y eventos, que han influido de forma notable en la necesaria información técnica y económica que debe promover la decisión de la puesta en marcha de una plantación trufera.

Coincidiendo con REYNA (2007), la truficultura se puede considerar como una actividad de transición entre lo forestal y lo agrícola. De lo forestal tiene parte de las especies con las que se asocia para el cultivo (encina, roble, quejigo, etc.), la baja intensidad de las operaciones culturales pero, ante todo, los plazos largos en los que se mueve la inversión. Con la actividad agrícola coincide en multitud de técnicas culturales: preparación previa del terreno, laboreo continuo, poda, riego, etc., y muy especialmente en la utilización de terrenos dedicados tradicionalmente a cultivos clásicos, como cereal, viña o almendro, por poner un ejemplo.

La visita realizada en el año 1992, por parte de algunos de los autores, a las instalaciones francesas del Institute National de la Recherche Agronomique (INRA) de Burdeos, Clermont-Ferrand y Dijon nos permitió comprobar dos hechos importantes referentes a la truficultura. El primero de ellos la gran potencialidad y las enormes expectativas que el cultivo de la trufa podía representar en nuestro país, mientras que el segundo afectaba a la filosofía propia de nuestra actividad investigadora, investigación aplicada, para la que la truficultura había perdido el carácter de universalidad y donde había fuertes intereses económicos que impedían el transvase de conocimientos entre Institutos Públicos de Investigación, habituales en otras muchas áreas, al estar sometidos a virtuales patentes industriales. Se mostraban los fundamentos de los trabajos y el producto final o los resultados, pero nunca se desvelaba con el detalle necesario el apartado de "material y métodos".

Estos hechos motivaron que los Proyectos de Investigación que se iniciaron al abrigo de las convocatorias del Plan Sectorial del INIA fueran abordados con una gran escasez de información científica precedente, siendo necesario preparar el cobijo logístico donde se plasmaría toda la actividad técnica y científica: un invernadero para el ensayo de técnicas de micorrización y una parcela de 11.000 m^2 para el estudio y optimización de los factores biológicos y agronómicos que supuestamente afectaban al cultivo de los plantones micorrizados con trufa negra. Tanto el terreno como la climatología de su ubicación, no eran recomendables para la instalación de una plantación, rompiendo la ortodoxia de la truficultura moderna que aconsejaba suelos de estructura granulosa, con máxima aireación, textura equilibrada y buen drenaje así como climas mediterráneos templado húmedos o fríos subhúmedos. A pesar de ello se elaboró un programa de actuaciones cuyos diseños y resultados constituyen la base del presente trabajo.

Material y métodos

Se partió de una finca de 11.000 m^2 ubicada en las instalaciones del actual Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) del Gobierno de Aragón, en el Cam-

pus de Aula Dei, municipio de Zaragoza, con unas coordenadas UTM: X=682284, Y=4621599, Huso 30 y una altitud geográfica de 210 m. (figura 1)

El suelo pertenecía a un antiguo terreno de aluvión, pedregoso, con textura franco-arcillosa de tipo fino, con una alta capacidad de retención de humedad y de nutrientes.

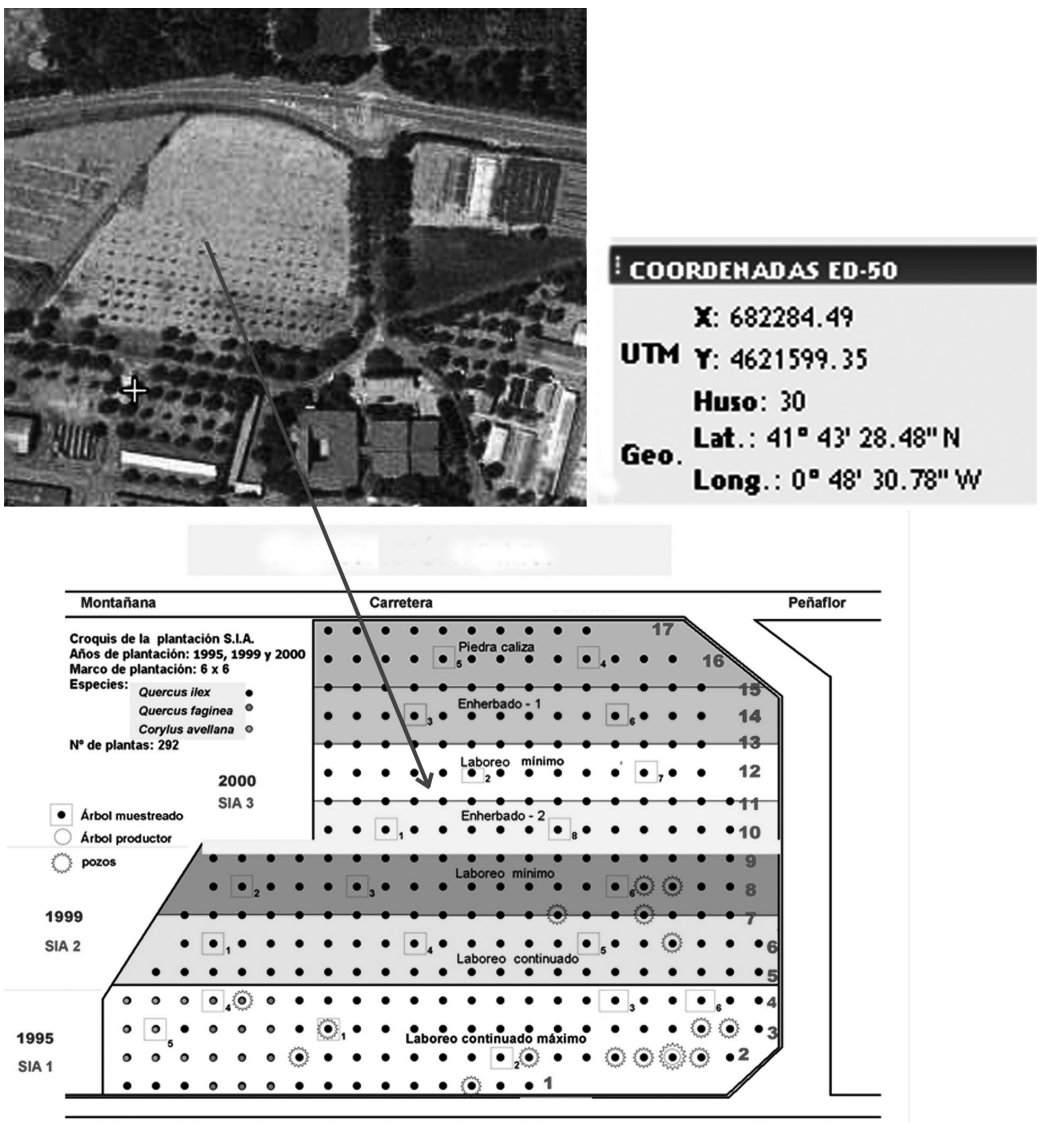


Figura 1. Localización y croquis de la parcela. Los distintos colores corresponden a los diversos tratamientos.

Figure 1. Location and sketch of the plot. The different colours represent the different treatments.

La reacción del suelo (pH) era moderadamente básica, con un contenido medio de materia orgánica y sin concentraciones altas de sales solubles. La densidad aparente del suelo en superficie alcanzaba valores cercanos a 1,6 .

Todos los parámetros referentes a los análisis del suelo están contenidos en la tabla 1.

Laboreo

Previamente a la plantación se realizó una labor de desfonde, 45-50 cm, seguida de varios pases de cultivador para eliminar las malas hierbas. El criterio seguido a lo largo de los 12 años de la plantación fue el de evitar la competencia por el agua de la flora adventicia presente en la zona de influencia o proyección de la copa de los árboles plantados, mediante pases muy superficiales de cultivador (10-15 cm). La frecuencia de estas labores varió de acuerdo con las subparcelas consideradas, eligiendo algunas con tratamientos o pases de cultivador sin ninguna restricción (labores continuas), siempre que la infestación de malas hierbas así lo exigiera, en contraposición con otras subparcelas en las que los pases de cultivador eran mínimos y siempre coincidiendo con los meses de marzo y abril, en los que el daño teórico al micelio y a las micorrizas de los árboles se considera mínimo.

Riego

Se realizó una instalación fija de riego por aspersión, para poder asegurar las necesidades hídricas en los meses secos, especialmente importantes durante los periodos estivales. En la figura 2 quedan reflejados los aportes anuales realizados y las precipitaciones totales anuales. La mayoría de estos aportes se realizaron durante los meses de julio y agosto, aunque hubo que actuar en ocasiones en algunos años con primaveras y otoños particularmente secos.

Tabla 1. Resultados del análisis de suelo de la parcela SIA 1
Table 1. Results of the soil analysis in the plot SIA 1

Parámetros	Resultado	Valores extremos admitidos
Granulometría	Franco-arcilloso	
Arena total (0,05 - 2 mm), %	27.50	1-79
Limo grueso (0,02 - 0,05 mm), %	14.04	8-79
Limo fino (0,002 - 0,02 mm), %	27.47	
Arcilla (< 0,002 mm), %	30.99	6-69
Fertilidad		
pH al agua 1:2,5	8.02	7.1-8.6
Prueba de salinidad (C.E. 1:5) dS/m a 25ºC	0.23	0.03-0.19
Materia orgánica, %	2.04	0.8-17.4
Relación C/N	8.73	4.8-26
Carbonatos totales, %	29.25	
Caliza activa, %	7.3	1.9-15.6

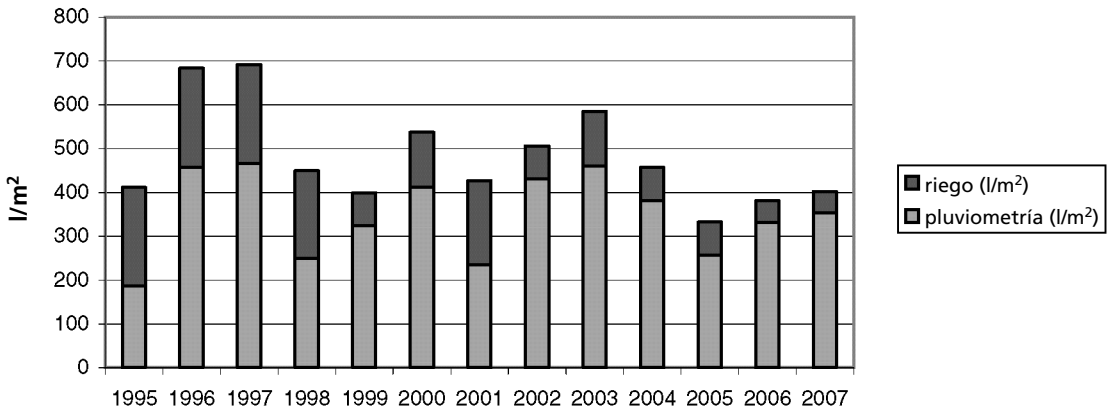


Figura 2. Precipitación total anual y aportes hídricos realizados en la parcela.
Figure 2. Total annual rainfall and water provided to the plot.

Plantación y marco

Se eligió un marco de plantación de 6 x 6 que es el más habitualmente utilizado en la truficultura, aunque hoy en día intentan ampliarse hasta 7 x 7. Estos marcos facilitan la labor entre calles y favorecen la aireación e insolación de la zona de proyección de las copas de los árboles, fundamental para el desarrollo de los carpóforos de la trufa.

La plantación se inició el 1 de marzo de 1995, con planta micorrizada de 1 savia proveniente de un vivero de Teruel (Micotec), aunque a partir de los años 1999 y 2000 ya se utilizó planta micorrizada por nuestro propio Centro de Investigación (CITA).

La apertura de los hoyos se realizó con 1 semana de anterioridad al transplante de los plantones. Éstos fueron protegidos mediante tubos de polipropileno de 60 cm con doble pared (Tubex ©) y tutor, para evitar los daños por viento, heladas y/o roedores (figura 3). Los Tubex se mantuvieron hasta el 14 de enero del año 1998.



Figura 3. Secuencia de la plantación y la aplicación del Tubex©
Figure 3. Sequence of the plantation and application of the Tubex©

Poda

La utilización y mantenimiento de los Tubex durante casi 3 años produjo una autopoda de las ramas laterales en el interior del cilindro que facilitó la formación del árbol, completándose al cabo de dicho tiempo con una poda de formación dirigida hacia la consecución de 3 ramas principales, con una estructura de cono invertido. Con el paso de los años se realizaron podas de mantenimiento durante los meses de febrero y marzo, procurando facilitar un equilibrio entre la parte aérea y radical a la vez que se eliminaban los chupones y rebrotes en la base del tronco de los árboles (figura 4).



Figura 4. Poda de formación y mantenimiento realizada en la plantación.
Figure 4. Shape and maintenance pruning made in the plantation.

Distribución del experimento

La plantación se inició en 1995 (83 plantas: 6 avellanos, 9 robles y 68 encinas), ejerciendo sobre ella un laboreo continuo, siempre que la infestación de malas hierbas así lo aconsejase, sin restricción de fechas. Esta subparcela se denominó SIA 1.

En el año 1998 se amplió la parcela con la plantación de 100 encinas, que se separaron en 2 bloques, el primero de ellos contemplaba un laboreo continuo análogo al de la subparcela anterior y en el segundo se aplicaron labores mínimas (2-3 máximo), siempre en los meses primaverales. Estos 2 bloques constituían la subparcela denominada SIA 2.

En el año 2000, se volvió a incrementar la plantación con 110 encinas separadas en 4 bloques. En el 1º de ellos se aportaron 20t de piedra caliza de 50-60 mm de granulometría, repartida en superficie, sobre la que se realizó un laboreo mínimo. En el 2º y 3º bloque se realizaron sendas siembras y empradizamiento con 2 tipos de festuca, *Festuca ovina* y *Festuca arundinacea*. El 4º bloque sólo contemplaba la variante del laboreo mínimo establecido en las subparcelas anteriores, 2 ó 3 como máximo, en los meses de abril, mayo o junio. Los 4 bloques constituyeron la subparcela SIA 3.

No se intentó hacer una valoración estadística de las parcelas y bloques sino que toda la actividad se centró en el análisis de raíces de 20 árboles escogidos al azar, en número y distribución que se resume en la tabla 2.

Tabla 2. Número de árboles muestreados en las diferentes subparcelas
Table 2. Number of sampled trees in the different sub-plots

Año y subparcela	Laboreo continuo	Laboreo mínimo	2 Enherbados	Piedra caliza
1995 – SIA 1	6	-	-	-
1999 – SIA 2	3	3	-	-
2000 – SIA 3	-	2	4	2

Análisis de raíces

La toma de muestras de raíces se realizó a partir del año 2000 hasta el 2007. Para el estudio de los factores que afectan al desarrollo de los simbiontes, solamente cabía el análisis del estatus micorrícico de las plantas en función de los tratamientos aplicados. Este análisis, siempre cualitativo, nos permitiría conocer la evolución en sentido positivo o negativo del desarrollo y proliferación de las micorrizas de *T. melanosporum* frente a otras posibles micorrizas competidoras, que podía conducir al inicio de la producción trufera o a su desaparición, simplemente cuantificando la proporción de árboles con presencia de *T. melanosporum* en los diversos tratamientos.

Para conocer el estado de la micorrización fue necesario la toma periódica de muestras estacionales, con especial atención a la primavera y el otoño, por ser estas épocas en las que el micelio se desarrolla más rápidamente y con mayor actividad. Se trataba básicamente de tomar muestras de las raíces en la zona superficial (10-20 cm de profundidad) en los límites del quemado y, en el caso de árboles jóvenes, en proximidad del cuello o en la proyección de la copa sobre el suelo (figura 5). Para ello se utilizó la metodología propuesta por Giraud (1988) descrita como "método global", porque permite obtener una idea general de la micorrización de la parcela, aplicándola a todos los árboles muestreados, cualquiera que sea su edad.



Figura 5. Toma de muestras para el análisis de las micorrizas de las plantas.
Figure 5. Samples taking for the analysis of the plants mycorrhizae.

El siguiente paso fue el de lavar "in situ" las raíces extraídas y depositarlas en frascos o bolsas convenientemente etiquetados. Para la observación macroscópica de las ectomicorrizas se siguieron las directrices marcadas por Agerer (1987-2007) teniendo en cuenta aspectos como el tipo de ramificación, longitud del sistema micorrícico, longitud de las puntas sin ramificar, diámetro de estas puntas y de los ejes, el color, si había o no rizomorfos y características de la superficie del manto de la micorriza.

Para la determinación de las especies, mediante observación microscópica, utilizamos numerosos trabajos que describen las características de las principales especies competidoras que aparecen en las truferas (Pacioni, 1990; Bencivenga *et al*., 1992; Granetti, 1995; Zambonelli *et al*., 1993; De Miguel y Sáez, 2005; González Armada *et al*., 2007) así como el ya citado de Agerer (1987-2007).

Resultados y discusión

Una de las grandes incógnitas de la truficultura moderna es la relación entre determinadas prácticas culturales y la consolidación de la simbiosis entre el hongo y el árbol a lo largo de los años, culminando con la aparición de las primeras trufas. Los conocimientos adquiridos a partir de trabajos anteriores (Palazón *et al*., 2000) nos habían permitido realizar el análisis del estatus micorrícico de las plantaciones y hacer una estimación de los niveles de la micorrización en lo que afectaba a la presencia de *T. melanosporum* y sus competidores, observando su posible variación en función de las técnicas culturales aplicadas, que suelen afectar a la frecuencia del riego y al tipo y número de labores. Este análisis es fundamental a la hora de establecer previsiones de cosecha, siendo el único valor objetivo que puede aportar información a este respecto.

La figura 6 resume el análisis de la micorrización en el total de los árboles muestreados de las diferentes subparcelas, estableciendo el porcentaje de plantas en el que *T. melanosporum* fue detectada en el análisis de todas las micorrizas presentes en su sistema radical. En él puede observarse que todas las parcelas consideradas tienen unos valores porcentuales muy altos de árboles con micorrizas de *T. melanosporum*, con alguna fluctuación en el caso de la subparcela SIA 1 y con una disminución, todavía no preocupante, en el caso de la subparcela SIA 2 que deberá ser vigilada en los análisis de 2008.

El momento más importante en la historia de una plantación trufera es aquel en el que se inicia la producción. Los plazos son dilatados, de 6 a 10 años por término medio, y van directamente relacionados con la elección del terreno y su enclave, con la climatología, con la calidad de los plantones micorrizados y finalmente con el uso de prácticas culturales adecuadas. En nuestro caso, tanto el terreno como la climatología de su ubicación, no se caracterizaban por su idoneidad dentro de la ortodoxia de la truficultura moderna, sin embargo sí que se cumplían los otros condicionantes de la ecuación de una truficultura racional y que afectan a la calidad de la planta micorrizada y a las labores adecuadas de cultivo tanto en la plantación como a lo largo de su vida.

El hecho concreto es que el 24 de enero de 2008, en la subparcela SIA 1, se "cazó" con ayuda de perro la primera trufa negra de la plantación (figura 7), justamente en la zona de mayor pedregosidad de la parcela. Se encontraba a una distancia de 80 cm del tronco del árbol y a unos 10 cm de profundidad. Tanto el aroma como la textura y color del peridio y la gleba indicaban que sus cualidades organolépticas estaban algo afectadas a causa de haber sobrepasado su periodo de madurez y frescura. Su peso en fresco fue de 7,25 g. Las características del peridio y

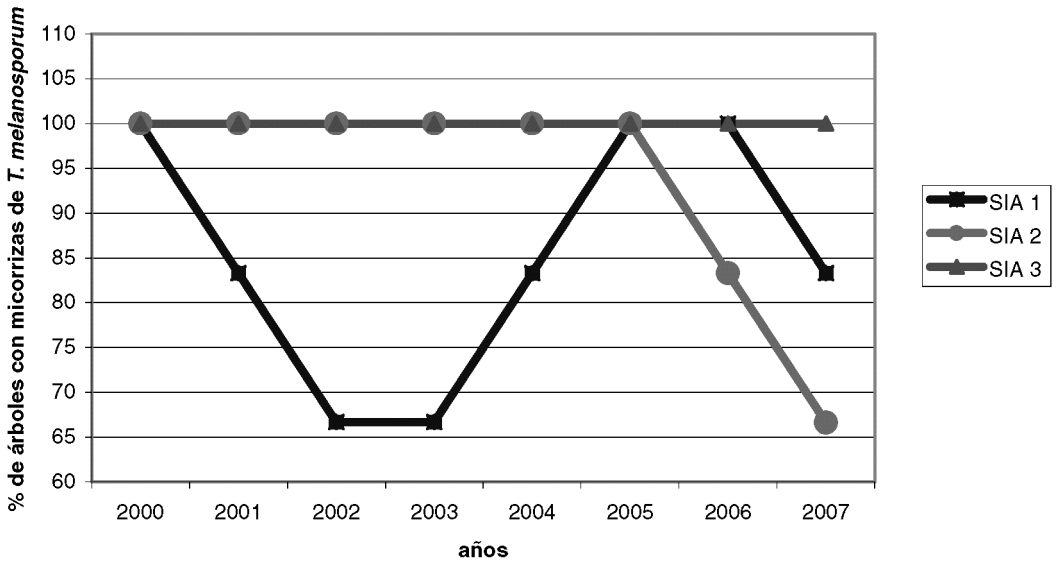


Figura 6. Evolución temporal del porcentaje de árboles con micorrizas de *T. melanosporum*.
Figure 6. Time evolution of the percentage of trees with T. melanosporum *mycorrhizae.*

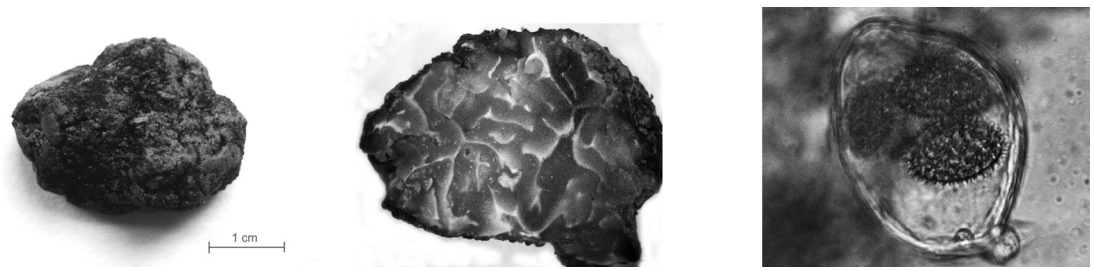


Figura 7. Carpóforo, gleba, asca y ascosporas de la trufa encontrada.
Figure 7. Sporocarp, gleba, asca and ascospores of the found truffle.

la observación microscópica de las ascas y ascosporas, permitieron determinar que se trataba de la especie *T. melanosporum*.

La obtención de esta 1ª trufa negra (*T. melanosporum*) en las parcelas experimentales del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) es para los autores un hecho sin precedentes y que rompe muchos moldes y teorías de todos los tratados en truficultura, abandonando muchos tópicos existentes. Es un logro de la Agronomía con mayúsculas. Si consideramos que el hecho se ha producido en un terreno agrícola enclavado en una zona urbana, fuera de toda norma, compacto y poco propicio, con una flora y fauna propia de un cultivo de regadío y con una climatología fuera de rango, propia de un clima continental extremado, a 210 metros de altitud, con una parada de autobús a pocos metros de los árboles, el hablar de recolectar trufa negra parece casi una frivolidad.

Otro aspecto importante de este trabajo radica en la apertura de expectativas hacia

este cultivo, poniendo en valor a la parcela del CITA, que pasa a simbolizar las grandes posibilidades de muchos terrenos y territorios de nuestro país, hasta ahora desaconsejados por las guías y tratados en truficultura.

No es una panacea. Hacen falta cuidados, dinero, bastantes análisis y mucha fe. Pero el hecho es posible. Los beneficios en la aplicación de las modernas técnicas de cultivo, que son la base de la truficultura moderna, se han puesto de manifiesto en el marco de Proyectos de Investigación desarrollados con anterioridad y se han concretado en la obtención de trufa negra, *T. melanosporum,* de la manera y formas precedentemente descritas.

El trabajo que aquí se ha presentado incide de un modo importante en las consideraciones previas y en la ortodoxia de una actividad como la truficultura, al ampliar el rango del terreno agrícola utilizable hasta las zonas de regadío tradicionales, en donde ésta nunca ha sido posible, ni siquiera una alternativa a considerar.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), cofinanciado con fondos FEDER , en el Marco del Programa Sectorial de I+D Agrario y Alimentario del MAPA, Proyecto SC00-013 así como por el Programa Nacional de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias, Proyecto RTA2006-00017.

Bibliografía

Agerer R, 1987-2007. Colour atlas of ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag.

Bencivenga M, Donnini D, Di Masimo G,1992. Analisi delle micorrize in una tartufaia coltivata di *Tuber melanosporum* undici anni dopo l'impianto. Micologia e Vegetazione Mediterranea 7 (1): 159-171.

De Miguel AM, Sáez R, 2005. Algunas micorrizas competidoras de plantaciones truferas. Publicaciones de Biología, Universidad de Navarra, Serie Botánica, 16: 1-18.

Giraud M, 1988. Prélèvement et analyse des mycorhizes. C.T.I.F.L. La Truffe. F.N.P.T. Congrès de la trufficulture, Saintes, 27-28 Novembre 1987 Ed: Charles Parra 10: 49-63.

González Armada MB, De Miguel AM, Palazón C, Cavero RY, Sánchez S, Barriuso J, 2007. Mycorrhicic and floristic diversity in truffle plantations of Spain. Actas de la 1ª Conferencia Mundial sobre Conservación y Uso Sostenible de Hongos Silvestres, Córdoba: 312.

Granetti B, 1995. Caratteristiche morfologiche, biometriche e strutturali delle micorrize di *Tuber* di interesse economico. Micol. Ital. 2: 101-117.

Pacioni G, 1990. Impatto di nuove metodologie sulla tassonomia di *Tuber*. Atti del Secondo Congresso Internazionale sul Tartufo, Spoleto: 51-52.

Palazón C, Delgado I, Barriuso J, Urdiroz A, Vilas J, 2000. Plantaciones truferas: instalación, labores culturales, seguimiento y estudio económico. Actas Jornadas de Truficultura, 51-77, Viver-El Toro (Castellón). Octubre 2000.

Reyna S, 2007. Truficultura: Fundamentos y técnicas, Editorial Mundi-Prensa, 688 pp.

Zambonelli A, Salomoni S, 1993. Caratterizzazione anatomo-morfologica delle micorrize di Tuber spp. su *Quercus pubescens* Willd. Mic. Ital. 3: 73-90.

(Aceptado para publicación el 2 de junio de 2008)