

## INOCULACION DE CAMPOS DE AVELLANOS CON *Tuber brumale* Y *Tuber melanosporum* Vitt.

Morcillo M.\*, Sánchez M.\*, Mateu J.\*\* , Gracia E.\*\*\* , Vidal C.\*\*\*\*

\*Micología Forestal & Aplicada. Rbla. Arnau, 6 08800 Vilanova i la Geltrú. Barcelona. Spain. [micologiaforestal@micofora.com](mailto:micologiaforestal@micofora.com)

\*\*Técnico de Sanidad Vegetal DAAR Generalitat de Catalunya. ADR Muntanyes de Prades. Tarragona. Spain. [jordi.mateu@gencat.net](mailto:jordi.mateu@gencat.net)

\*\*\*Prof. Titular Micología Aplicada. Dep. Botánica. Unidad Biología Vegetal. Universidad de Barcelona. Barcelona. Spain. [egracia@ub.edu](mailto:egracia@ub.edu)

\*\*\*\*Técnica ADR Muntanyes de Prades. Tarragona. Spain. [carnevidal@advprades.e.telefonica.net](mailto:carnevidal@advprades.e.telefonica.net)

### ABSTRACT

El cultivo de la avellana tiene un elevado valor socio-económico en el NE de España, y actualmente se encuentra sumido en una profunda crisis. 15.000 Hectáreas de este cultivo se encuentran en zonas potencialmente trufas. *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale* fructifican en estos campos de forma natural. Nuestra finalidad es desarrollar técnicas de inoculación en plantaciones adultas y compatibilizar el cultivo de la avellana con la producción de trufa, intentando conseguir un valor añadido al cultivo tradicional. En este trabajo se han realizado numerosas inoculaciones en avellanos adultos con *Tuber brumale* (3230 avellanos), y *Tuber melanosporum* (1300 avellanos), en un área total de 11,3 hectáreas. Se llevaron a cabo dos inoculaciones con inóculo esporal en las parcelas de ensayo, en primavera-otoño durante el mismo año o bien en primavera-primavera con un año de diferencia. El porcentaje de árboles que presentaban micorrizas de *Tuber melanosporum* un año después de la primera inoculación oscilaban entre el 28,6% y el 45,2% de los avellanos inoculados. Los avellanos que presentaron micorrizas de *Tuber brumale* oscilaron entre el 24,1% y el 56,2% después de la primera inoculación.

### INTRODUCCION

La producción de avellana en España está sumida en una grave crisis económica, debido a los bajos precios y las importaciones provenientes principalmente de Turquía. En Cataluña (NE de España) hay unas 18.537 hectáreas de avellanos (*Coryllus avellana*) (1999 Censu<sup>1</sup>), la mayoría de ellos en zonas potencialmente trufas. *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale* fructifican en estos campos de forma natural. En 1995 iniciamos este trabajo con la finalidad de desarrollar métodos que nos permitieran inocular los campos de avellana con trufa, para dar un valor añadido a la recogida de avellana.



● Distribution of *Tuber melanosporum* in Spain

La producción y presencia de micorrizas de *Tuber* y otros hongos en este cultivo son escasas, debido probablemente a la utilización de pesticidas y fertilizantes.

A su vez el avellano es un árbol que produce gran cantidad de raíces finas, por lo que es relativamente sencillo inocularlo y muestrear las micorrizas posteriormente.

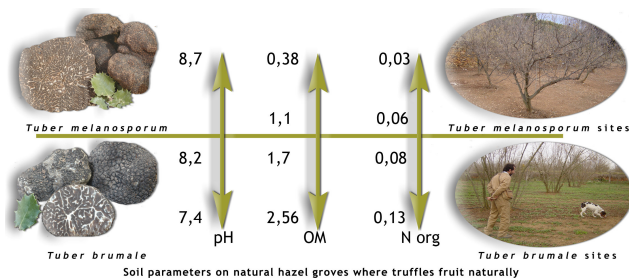
La inoculación en campo a partir de esporas o suelo procedente de trufas productivas es muy antigua, obteniéndose algunos buenos resultados 1 o 2 años después, aunque resulta complicado saber si la fructificación fue resultado del arado del suelo o de la inoculación. A partir de plantas micorrizadas trasplantadas al campo, puede producirse la infección de plantas colindantes<sup>2</sup>.

Se ha comprobado que reinocular directamente en campo plantas micorrizadas de un año con *Tuber uncinatum* hace aumentar la producción de la trufa de Borgoña. La inoculación con *Tuber uncinatum* de árboles de 14 años que inicialmente producen *Tuber brumale*, permite transformar 5 años después, a una producción de *Tuber uncinatum* en las zonas reinoculadas<sup>2,3</sup>

Reyna<sup>4</sup>, con inoculaciones esporales en encina, consiguió micorrizas de trufa en 10 de 17 muestras. Lo Blue<sup>5</sup> estudió la inoculación con fragmentos de raíz en árboles en bosque. Tanfulli et al.<sup>6</sup> inocularon *Quercus pubescens* con *Tuber melanosporum* y *Tuber aestivum* en el momento del transplante. Dos años después todo el sistema radical mostraba elevados niveles de micorrizas de las trufas inoculados, aunque con la presencia de algunos otros hongos.

## Trabajos previos en inoculación de avellanos adulto

Empezamos estudiando la ecología de la trufa en campos de avellanos donde fructifica de forma natural. *Tuber melanosporum* fructifica en avellanos a mayor altitud donde el riego no es posible. Estos árboles son más pequeños; no presentan un gran follaje y poca hierba. El suelo tiene un pH más alto y menos materia orgánica.



Las primeras pruebas de inoculación se realizaron con inóculo esporal. Nuestra finalidad fue desarrollar una técnica de aplicación agronómica, que fuera barata, sencilla y rápida. Las inoculaciones con tractor dieron los siguientes resultados.

PARCELAS DE ENSAYO					
Parcela	Nº árboles	Edad	Altitud	Orientación	Micorrización 2 años después
A	110	35	950	SW	55%
B	40	17	908	S	69 %
C	235	24	995	W	50 %

PRODUCCIÓN DE TRUFA			
Parcela	Primer año	Segundo año	Tercer año
A	400g (3 avellanos)	580g (3 avellanos)	150g (2 avellanos)
B	30 g (1 avellano)	450g (5 avellanos)	310g (6 avellanos)
C	Sin producción Nivel de micorrización 4 años después: 73%		

## MATERIAL Y METODOS

En este estudio, y a partir de los resultados anteriores, hemos inoculado 1300 avellanos con *Tuber melanosporum* y 3230 con *Tuber brumale*. Se han elegido cinco parcelas para *T. melanosporum* y 11 parcelas para *T. brumale* en las Montañas de Prades, situadas a 120 km al sudeste de Barcelona. Previamente a las inoculaciones, se extrajeron muestras de raíces del 10% de los árboles para analizar el nivel inicial micorrícico de cada especie de trufa, con el fin de evaluar el factor azar en posteriores inoculaciones. Las muestras de raíces se tomaron en Octubre-Noviembre y se conservaron en FAA hasta su análisis al microscopio.

El inóculo se preparó con trufa fresca recogida en las montañas de Prades, al final de la campaña de trufa (Febrero-Marzo). Las trufas se limpiaron y esterilizaron en superficie, se analizaron al microscopio para determinar la especie y se congelaron. Las inoculaciones se repitieron en dos ocasiones.

Las trufas se trituraron y se analizó la concentración y viabilidad esporal con un análisis en la Cámara de Neubauer. Los inóculos se prepararon en combinación con hidrogeles, factores estimulantes de la producción de raíz y activadores de germinación de esporas (proceso bajo secreto industrial)

Las inoculaciones se hicieron con un tractor, arando a una profundidad de 10-20 cm, rompiendo las raíces finas que normalmente están a unos 1,5 m del tronco. Se utilizaron dos sistemas: un bidón de 50L sobre el arado, con un grifo y dos mangueras a cada lado del apero. A medida que el tractor va arando, el inóculo cae por gravedad a una dosis de 0,5 L/árbol. La segunda máquina tenía un bidón de 600L con un compresor que permite ajustar la presión en el tanque, al mismo tiempo que la dosis de inoculación, que en este caso es de 1L/árbol. Con este sistema el tiempo de inoculación se reduce a 1h/Ha/500 árboles.

Seis meses después de cada inoculación, se analizaron las raíces de un 10% de los árboles inoculados. Las muestras se conservaron en FAA y se analizaron al microscopio en un análisis cualitativo: presencia/ausencia de la trufa inoculada, siguiendo otros trabajos publicados<sup>7,8,9,10</sup>.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Presentamos los resultados de nivel de micorrización seis meses después de la primera inoculación. La segunda inoculación se llevó a cabo en primavera del 2007 por lo que se analizarán los resultados a finales del año 2007.

En este momento no disponemos de datos que nos indiquen si es recomendable repetir las inoculaciones el próximo otoño o primavera.

Hemos comprobado que un tratamiento de desinfección previo a la inoculación disminuye el nivel de otros hongos micorrícicos aunque no parece necesario, ya que presentan el mismo nivel de infección con trufa que las parcelas donde no se aplicó ningún tratamiento.

#### Parcelas inoculadas con *Tuber brumale*

Parcela	Número avellanos	Edad	Elevación	pH
B	240	26	810	7,64
C	400	23	580	7,66
D	150	29	1005	7,76
E	150	29	995	7,49
F	400	27	90	7,15
G	225	17	700	7,51
H	450	18	890	7,43
I	175	15	595	7,18
J	275	24	750	7,78
K	400	20	620	7,78

Parcela	Tratamiento de desinfección	Nivel de micorrización antes de la inoculación (%)	Nivel de micorrización tras la primera inoculación (%)
B	SI	17,24	53,84
C	SI	12	45,6
D	NO	11,1	27,6
E	NO	0	42,3
F	NO	0	32,7
G	NO	10	50
H	NO	10	42
I	NO	17,6	24,1
J	NO	12,9	40
K	NO	13,8	56,2

#### Parcelas inoculadas con *Tuber melanosporum*

Parcela	Número Avellanos	Edad	Elevación	pH
L	50	26	810	7,64
M	150	18	890	7,43
N	550	6	700	7,87
O	75	15	595	7,18
P	455	24	750	7,78

Parcela	Tratamiento de desinfección	Nivel de micorrización antes de la inoculación (%)	Nivel de micorrización tras la primera inoculación (%)
L	SI	17,24	42,8
M	NO	10	Sin datos
N	NO	7,1	45,2
O	NO	17,6	28,6
P	NO	Sin datos	40

En estudios anteriores se obtuvieron resultados similares a los obtenidos por nuestro equipo<sup>12</sup> y Frochot et al.<sup>13</sup>.

Todas las parcelas experimentales presentan un incremento en el nivel de micorrización con trufa seis meses después a la inoculación realizada en primavera, aunque no se han producido precipitaciones en los siguientes 4 meses a la inoculación. Tradicionalmente los campos de avellanos se plantan a densidades de 5x5 m, 6x4 m o 6x6 m, muy similares a las utilizadas en plantaciones de planta trufera. Algunos de estos campos de avellanos producen trufa a pesar de los elevados niveles de abono que se aplican (N:P:K 13:13:15) a dosis de 125 Kg/Ha, nitrofosca y numerosos tratamientos fitosanitarios aplicados sobre plagas que afectan a este cultivo. La recogida de la avellana se realiza con maquinaria pesada durante Septiembre-Octubre, las hojas caen se acumulan, se trituran y se incorporan nuevamente en el suelo. Normalmente las hojas y ramas se queman y las cenizas se dejan en la parcela. Las cenizas pueden incrementar el pH y en general todos estos procesos aumentan los niveles de materia orgánica, y esto puede incentivar la fructificación de la trufa<sup>14,15</sup>. Deben realizarse más estudios para conseguir compatibilizar la producción de avellana y la fructificación de la trufa.



Hoyos donde se recolectaron trufas inoculadas

## BIBLIOGRAFIA

- <sup>1</sup> Cens Agrari. 1999. Generalitat de Catalunya
- <sup>2</sup> Chevalier, G.; Gregori, G.; Frochot, H.; Zambonelli, A. 2002. The cultivation of the burgundi truffle. In: Hall I, Wang Y, Danell E, Zambonelli A (eds) Edible mycorrhizal mushrooms and their cultivation. Proceedings of the Second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms. CD ROM Crop & Food Research. New Zealand
- <sup>3</sup> Frochot, H.; Chevalier, G.; Barbotin, P.; Beaucamp, F. 1999. Avances sur la culture de la truffe de Bourgogne (*Tuber uncinatum* Chatin). Actes du V congrès international Science et culture de la truffe. Aix en Provence. 387-392.
- <sup>4</sup> Reyna, S.; Rodriguez-Barreal, J. A.; Folch, L.; Perez-Badia, R.; Dominguez, A.; Saez-de-Omeñaca, J.A.; Zazo. 2002. Techniques for inoculating mature trees with *Tuber melanosporum* Vitt. In: Hall I, Wang Y, Danell E, Zambonelli A (eds) Edible mycorrhizal mushrooms and their cultivation. Proceedings of the Second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms. CD ROM Crop & Food Research. New Zealand.
- <sup>5</sup> Lo Bue, G.; Gregori, G.L.; Pasquini, L.; Maggiorotto, G. 1990. Síntesi micorizica in campo fra piante adulte e tartufi pregiati mediante frammenti radicali. In: Becivanga M, Granetti B (ed). Atti del Secon. Cong. Inter. Sul Tartufo. Spoleto pp:459-466.
- <sup>6</sup> Tanfulli, M.; Becivenga, M.; Di-Massimo, G.; 1997. Open field mycorrhization of *Quercus pubescens* willd. With *Tuber melanosporum* Vitt. And *Tuber aestivum* Vitt. Micologia Italiana. 26(3): 49-53.
- <sup>7</sup> Tanfulli, M.; Becivenga, M.; Di-Massimo, G.; 1997. Open field mycorrhization of *Quercus pubescens* willd. With *Tuber melanosporum* Vitt. And *Tuber aestivum* Vitt. Micologia Italiana. 26(3): 49-53.
- <sup>8</sup> Agerer, R. 1987-1998. Colour Atlas of ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- <sup>9</sup> Etayo, M.; De Miguel, A. 1998. Estudio de las ectomicorrizas de una trufiera cultivada situada en Oloriz, Navarra. Publicaciones de Biología, Universidad de Navarra. Serie Botanica 11: 55-114
- <sup>10</sup> Sáez, R.; De Miguel, A. 1995. Guía práctica de truficultura. ITG Agrícola S.A. Navarra.
- <sup>11</sup> Verlhac, A. 1990. La Truffe. Guide pratique. CTIFL.
- Morcillo M, Sanchez M y Gracia E. 2007. Open field mycorrhization of adult hazelnut groves with *Tuber brumale* and *Tuber melanosporum* Vitt. V International Workshop Edible Mycorrhizal Mushrooms. Kunming. China.
- Morcillo M, Sanchez M y Gracia E. 2005. Open field mycorrhization of adult hazelnut groves with *Tuber melanosporum* Vitt. IV International Workshop Edible Mycorrhizal Mushrooms. Murcia. España.
- Open Field mycorrhization of hazelnut groves with *Tuber melanosporum* Vitt. IWOEMM. Victoria. Canada. 2003
- Morcillo M, Moreno B, Pulido E, Sánchez M. Manual de truficultura andaluza. Ed. Gypaetus y Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. 2007 ISBN: 978-84-935194-3-8