

# Mejora de la productividad y sostenibilidad de plantaciones de trufa negra mediante el manejo microbiológico de la rizosfera

## Resumen

La producción de trufa negra es un cultivo en expansión en Cataluña y posiblemente uno de los que presentan más potencial económico, especialmente en zonas agrícolas con baja productividad. En este sentido, el cultivo de la trufa negra se desarrolla a menudo en suelos pobres, con bajo rendimiento de producción y donde los árboles presentan deficiencias nutricionales y graves problemas fitosanitarios. Otro de los principales problemas a solucionar en truficultura, es la irregularidad de las cosechas, posiblemente debida a las condiciones subóptimas de producción, tanto en la fase de vivero como en la de campo. A diferencia del cultivo de árboles para biomasa o para el cultivo de frutas, en este caso trabajamos con una interacción mucho más compleja entre el árbol y la rizosfera o zona de interfase entre la raíz de la planta y el suelo. No obstante, el incremento de plantaciones monoespecíficas (generalmente encinas) puede provocar el incremento de determinadas enfermedades y plagas que disminuyen la producción de trufas. El manejo de la rizosfera puede contribuir a la mejora general del vigor de las plantas y su tolerancia a factores bióticos sin necesidad de aplicar productos fitosanitarios. En este proyecto valoramos la capacidad de diferentes sustancias orgánicas y rizobacterias, algunas aisladas de trufas silvestres descritas por Vilanova et al (2013) con la intención de mejorar las condiciones bióticas y abióticas de la rizosfera, atendiendo a la presencia y disponibilidad de nutrientes, el desarrollo de la fase vegetativa del micelio de la trufa, la vigorosidad del árbol (estado nutricional) y control de patógenos.

El seguimiento de la respuesta del hongo se realizará en colaboración con el IRTA, utilizando la tecnología y los resultados del proyecto piloto innovador, financiado por el Departamento de Agricultura de la Generalitat de Catalunya en 2013 (Num. Expediente 56700362013). Estas técnicas se basan en la PCR cuantitativa y nos permiten determinar la biomasa de micelio de una especie fúngica, en este caso *Tuber melanosporum*, en una muestra de suelo (Parladé et al. 2013). El seguimiento de la vigorosidad del árbol se realizará mediante análisis foliares de nutrientes.

Con la finalidad de correlacionar la actividad bacteriana generada en el suelo rizosférico por la introducción de cepas bacterianas y los efectos sobre la planta y el hongo, se realizarán contagios iniciales y finales de mesófilos aéreos viables mediante siembra en placa en los medios selectivos adecuados.

Vilanova X, Morcillo M. 2013. Characterisation of Pseudomonadaceae populations in *Tuber melanosporum* wild truffieries. 1st International Congress of Trufficulture. Teruel. Spain.  
Parladé, J.; De la Varga, H.; De Miguel, A.M.; Sáez, R.; Pera, J. 2013. Quantification of extraradical mycelium of *Tuber melanosporum* in soils from truffle orchards in northern Spain. *Mycorrhiza* 23: 99-106.

## Objetivos

El objetivo general del proyecto es incrementar la producción de trufa negra en plantaciones establecidas en Cataluña mediante la aplicación de cepas de rizobacterias seleccionadas y de sustancias orgánicas que actúen como activadores de la germinación de las esporas de trufa y/o potenciadoras del desarrollo del micelio.

Los objetivos parciales que se proponen son:

- Aplicar a escala comercial, en vivero y plantación, un producto fertilizante desarrollado en base a microorganismos, esporas de trufa y sustancias orgánicas activas.
- Establecer el efecto de las aplicaciones de diferentes cepas de rizobacterias y sustancias orgánicas por separado, en el desarrollo vegetativo de la trufa negra (medido mediante cuantificación miceliar en el suelo).
- Determinar el efecto de las aplicaciones de diferentes cepas de rizobacterias y sustancias orgánicas por separado en la mejora de la micorrización con trufa negra en plantas producidas en el vivero.
- Evaluar las mejoras en la producción de trufa negra en parcelas productoras tratadas (cantidad y calidad).
- Valorar la mejora del estado sanitario y nutricional de las plantas tratadas.
- Formulación de un producto comercial en función de los resultados anteriores.

## Descripción de las actividades llevadas a cabo en el proyecto

En este proyecto valoraremos la capacidad de diferentes sustancias orgánicas y rizobacterias, algunas aisladas de trufas silvestres descritas por Vilanova et al. (2013) con el fin de mejorar las condiciones bióticas y abióticas de la rizosfera, atendiendo a la presencia y disponibilidad de nutrientes, el desarrollo de la fase vegetativa del micelio de la trufa, la vigorosidad del árbol (estado nutricional) y el control de patógenos.

El seguimiento de la respuesta del hongo se realizará en colaboración con el IRTA, utilizando la tecnología y los resultados del proyecto piloto innovador financiado por el Departamento de Agricultura de la Generalitat de Cataluña en 2013 (Num. Expediente 56700362013). Estas técnicas se basan en la PCR cuantitativa y nos permiten determinar la biomasa de micelio de una especie fúngica, en este caso *Tuber melanosporum*, en una muestra de suelo (Parladé et al. 2013). El seguimiento de la vigorosidad del árbol se hará mediante análisis foliares de nutrientes.

Con el fin de correlacionar la actividad bacteriana generada al suelo rizosférico por la introducción de cepas bacterianas y los efectos sobre la planta y el hongo, se realizarán contajes iniciales y finales de mesófilos aéreos viables mediante siembra en placa en los medios selectivos adecuados.

Vilanova X, Morcillo M. 2013. Characterisation of Pseudomonadaceae populations in *Tuber melanosporum* wild truffieries. 1st International Congress of Trufficulture. Teruel. Spain.

Parladé, J. ; De la Varga, H. ; De Miguel, A.M. ; Sáez, R. ; Pera, J. 2013. Quantification of extraradical Mycelium of *Tuber melanosporum* in soils from Truffle Orchards in northern Spain. *Mycorrhiza* 23: 99-106.

Se actuará sobre la gestión de la producción de plantas en vivero y en plantación incorporando los componentes bióticos y abióticos necesarios para mejorar la productividad del hongo y la mejora del estado nutricional de la planta. Se prevé incorporar diferentes cepas de rizobacterias y sustancias orgánicas por separado y determinar su efecto en la biomasa miceliar en el suelo, la formación de ectomicorrizas y la producción de carpóforos de trufa negra.

Se prevé una mejora general del estado nutricional y micorrízico de la planta que repercutirá en una mayor producción de carpóforos de trufa negra. En la primera fase del proyecto (año 1) evaluará el efecto de los diferentes componentes por separado sobre la calidad de la planta producida en vivero y en campo. En la segunda fase (año 2) evaluará el efecto combinado de los tratamientos en la cantidad de micelio de trufa, así como la producción de carpóforos en plantaciones de campo y el estado nutricional de las plantas tratadas. En una tercera fase, se formulará y desarrollará un producto comercial en función de los resultados obtenidos.

## Resultados finales i recomendaciones prácticas

Experimentos 2016

La aplicación de los 14 tratamientos individualizados en las plantas de vivero durante el primer año de experimentación, no provocó diferencias significativas en la concentración de micelio de *Tuber melanosporum* en el sustrato de crecimiento, previamente inoculado con esporas del hongo ectomicorrízico. Ninguno de los tratamientos utilizados presentó diferencias significativas respecto al control no tratado.

En la plantación de Batea si que se detectaron efectos significativos ( $p > 0,0008$ ) de los diferentes tratamientos sobre la concentración de micelio de trufa en el suelo.

La aplicación de preparados de *Bacillus liqueniformis* (TR6), *Pseudomonas fluorescens* (TR9) y *Saccharomyces cerevisiae* (TR8) produjo un incremento significativo de la concentración de micelio de trufa en el suelo, especialmente en los dos primeros tratamientos.

Todos los compuestos orgánicos que se aplicaron (del TR10 al TR15) incrementaron la concentración de micelio de trufa en el suelo respecto al control no tratado.

En el caso de la parcela establecida en Granollers, con plantas de más de 12 años, ya entrada en producción, ninguno de los tratamientos aplicados produjo incrementos significativos de la concentración de micelio en el suelo con respecto al control no tratado.

### Experimentos año 2017

Durante el segundo año de experimentación, en el que se aplicaron combinaciones de las rizobacterias y compuestos orgánicos, se detectaron diferencias significativas, entre plantas tratadas y controles no tratados, en las concentraciones de micelio de *Tuber melanosporum*, tanto en las plantas de vivero, como en las de las plantaciones de Batea y Granollers.

En ningún caso, sin embargo, las diferencias detectadas significaban un incremento en la concentración de micelio en los suelos o sustratos. Las diferencias detectadas presentaban una disminución de la cantidad de micelio respecto a los controles, como en los tratamientos TR4, TR6, TR7, TR8, TR9, TR10 en vivero, los tratamientos TR1, TR2, TR3, TR4, TR5 y TR8 a la plantación de Batea, y los tratamientos TR1 y TR2 a la plantación de Granollers.

En las plantas de vivero, tratadas durante el segundo año de experimentación con diferentes combinaciones de rizobacterias y compuestos orgánicos, no se detectaron diferencias significativas en las cantidades de bacterias total, gram negativos y actinomicetos en el sustrato de crecimientos entre las plantas sometidas a diferentes tratamientos y las plantas control.

Si se observaron, en cambio, diferencias significativas en la concentración de hongos totales en las plantas tratadas con las combinaciones TR3, TR6, TR7 y TR9. En este casos, la concentración de propágulos fúngicos totales en el sustrato era superior al de las plantas control no tratadas.

En la parcela de Batea si se observaron diferencias significativas en las cantidades de bacterias totales y gram negativos en las plantas tratadas respecto de las control no tratadas.

Todos los tratamientos, excepto el TR4 incrementaron la concentración de bacterias totales en el suelo, y los tratamientos TR2, TR3, TR6, TR7 y TR9 mostraron también incrementos en bacterias gram negativas. No se observaron, sin embargo, incrementos significativos en las concentraciones de actinomicetos y hongos en el suelo en ninguno de los tratamientos aplicados.

En la parcela de Granollers se volvieron a observar diferencias significativas en las cantidades de bacterias totales y bacterias gram negativos en las plantas tratadas respecto de las control no tratadas. Todos los tratamientos, excepto el TR9, incrementaron la concentración de bacterias totales en el suelo, y todos los tratamientos, excepto TR8 y TR9 mostraron también incrementos en bacterias gram negativas. No se observaron, sin embargo, incrementos significativos en las concentraciones de actinomicetos.

Contrariamente a lo que se observó en Batea, las cantidades de propágulos de hongos en el suelo incrementaron también en todos los tratamientos aplicados, salvo en el TR9.

Efecto de los tratamientos aplicados en vivero y campo sobre el contenido de nutrientes en las plantas.

En las plantas de vivero se detectan más efectos de los tratamientos aplicados que en las otras dos situaciones experimentales. Se presentaban efectos significativos en la captación de nitrógeno, fósforo, potasio, hierro, boro, molibdeno o sodio, pero en tratamientos dispersos sin una clara relación entre ellos.

En la parcela de Batea los efectos fueron mínimos, y sólo se detectaba un incremento en la captación de calcio y hierro al aplicar el tratamiento TR6.

En la parcela de Granollers también se detectaron muy pocos efectos. Algunos tratamientos, no coincidentes entre sí presentaban incrementos significativos del contenido de calcio y potasio en las plantas tratadas.

## Conclusiones

---

La aplicación de los diferentes tratamientos de rizobacterias, compuestos orgánicos, y diferentes combinaciones de los mismos, en el primer y segundo año de experimentación, no presentaron efectos sobre la concentración de micelio de *Tuber melanosporum* en el sustrato de las plantas producidas en vivero. Los tratamientos utilizados, de forma aislada o combinada no tienen ningún efecto en planta joven en fase de crecimiento en el vivero. Las condiciones del vivero (sustrato, riego, fertilización) y el hecho de incorporar una alta concentración de esporas del hongo micorrízico para obtener la micorrización de las plantas están suficientemente desarrolladas, y la aplicación de estos compuestos en la fase de vivero no representa ninguna mejora detectable.

En la parcela de Granollers nos encontramos con un resultados comparables. Ninguno de los tratamientos aplicados, por separado o en combinación, ha incrementado la concentración de micelio de trufa en el suelo circundante a las plantas tratadas. En una parcela ya establecida hace años y que ya está produciendo trufa, la incorporación de tratamientos a base de rizobacterias y compuestos orgánicos tampoco presenta un efecto estimulante sobre el desarrollo del micelio del hongo. Una parcela establecida hace más de 12 años la composición fúngica de la rizosfera de las plantas está suficientemente estabilizada como para poder modificar significativamente el equilibrio establecido con aportaciones como las propuestas.

En el caso de la parcela de Batea, establecida recientemente y en la que las plantas tratadas contaban con una edad de 3 años, los efectos de la incorporación de rizobacterias como *Bacillus liqueniformis* o *Pseudomonas fluorescens*, así como la incorporación de compuestos orgánicos de diferente orígenes, si tuvo un efecto estimulante en el desarrollo del micelio de *Tuber melanosporum*. En plantas jóvenes, en fase de establecerse en su lugar de plantación definitiva, con fuerte competencia biótica y abiótica del entorno, la aplicación de estos productos si confiere un efecto positivo en el desarrollo del micelio de la trufa .

En conclusión, se recomendaría la aplicación de estos productos en plantaciones jóvenes en fase de establecimiento, y no sería necesario en la fase de producción de planta micorrizada en vivero o en plantaciones ya adultas en fase de producción.

A la vista de los resultados obtenidos, también se puede concluir que las combinaciones de rizobacterias y compuestos orgánicos no presentaban efectos sumatorio esperado en un principio. La hipótesis de que la combinación de tratamientos con efectos estimulantes sobre el desarrollo del micelio de trufa tendría un mejor comportamiento que los componentes por separado no se ha confirmado. Serían necesarios más estudios para diseñar, con más datos, estas posibles combinaciones.

Por otro lado, combinaciones de tratamientos, especialmente las que contenían compuestos orgánicos, si han tenido efecto sobre las poblaciones bacterianas de los suelos de ambas plantaciones. Y también las fúngicas en el caso de la plantación de Granollers, constituida por plantas adultas en producción. Está descrito en la literatura que estas bacterias pueden tener un efecto positivo en el desarrollo de la planta, e indirectamente en la producción de trufas. El seguimiento futuro de estas parcelas permitiría comprobarlo. A la hora que, continuar recogiendo datos de estos experimentos, en permitiría determinar si los efectos de los tratamientos persisten en el tiempo o se ha de plantear la necesidad de repetir periódicamente durante las primeras fases de establecimientos de la plantación.

En cuanto a la mejora de la captación y acumulación de nutrientes en las plantas, en todos los casos los efectos detectados eran poco consistentes y no permiten detectar un tratamiento que resulte eficiente en mejorar el contenido de nutrientes en las plantas. Ningún suficientes datos como para extraer conclusiones sólidas.

### Líder del Grupo Operativo

---

Entitat: **MICOLOGIA FORESTAL & APLICADA, SL**

E-mail de contacte:

**marcosmorcillo@micofora.com**

Tipologia d'entitat:

**Empresa forestal**

### Coordinador del Grupo Operativo

---

Entitat: **MICOLOGIA FORESTAL & APLICADA, SL**

E-mail de contacte:

**micologiaforestal@micofora.com**

Tipologia d'entitat:

**Empresa forestal**

### Otros miembros del Grupo Operativo (perceptores de ayuda)

---

### Otros miembros del Grupo Operativo

---

Entitat: **BIOERA, SL**

E-mail de contacte:

**ventas@bioera.es**

Tipologia d'entitat:

**Emp.de serveis/proveïdora de tecnologia o inputs**

Entitat: **INSTITUT DE RECERCA I TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES (IRTA)**

E-mail de contacte:

**xavier.parlade@irta.cat**

Tipologia d'entitat:

**Centre de recerca**

Entitat: **SANTIAGO ROSÀS**

E-mail de contacte:

**k\_mon@hotmail.com**

Tipologia d'entitat:

**Productor forestal**

Entitat: **TOFONEJANT, SL**

E-mail de contacte:

**pl@nning.info**

Tipologia d'entitat:

**Empresa agrària**

### Àmbito/s temàtic/s de aplicació

---

Farming / forestry competitiveness and  
Landscape / land management

### Àmbito/s territorial/es de aplicació

---

**Província/s**

Tarragona

Barcelona

**Comarca/s**

Vallès Oriental

Terra Alta

### Difusión del proyecto (publicaciones, jornadas, multimedia...)

---

### Página web del proyecto

---

### Otra información del proyecto

---

## Datos del proyecto

Fecha de inicio (mes-año): Noviembre 2015  
Fecha final (mes-año): Septiembre 2017  
Estado actual: *Ejecutado*

## Presupuesto aprobado

<b>Presupuesto total:</b>	<b>84.675,00 €</b>
<i>Financiamiento DARP</i>	<i>34.298,33 €</i>
<i>Financiamiento UE:</i>	<i>25.874,18 €</i>
<i>Financiamiento propio:</i>	<i>24.502,50 €</i>

## Proyecto financiado por

Proyecto financiado a través de la Operación 16.01.01 (Cooperación para la innovación) a través del Programa de desarrollo rural de Catalunya 2014-2020.

*Orden ARP/258/2015, de 17 de agosto, por la cual se aprueban las bases reguladoras de las ayudas a la cooperación para la innovación a través del fomento de la creación de grupos operativos de la Asociación Europea para la Innovación en materia de productividad y sostenibilidad agrícolas y la realización de proyectos piloto innovadores por parte de estos grupos y se convocan los correspondientes a 2015.*

*Id. proyecto: 71 2015*