

## ASSAIG SOBRE LA TÒFONA NEGRA (*TUBER MELANOSPORUM*) I EL SEU CULTIU

MIQUEL FORTUNY

c/ Passarell, 6. 08180 Moià (Barcelona). E-mail: mftuber@hotmail.com

**RESUM:** Assaig sobre la tòfona negra i el seu cultiu. L' autor explica la importància d'alguns paràmetres que considera fonamentals pel cultiu de la tòfona negra, els que condicionen la seva eficàcia biològica i, per tant, en limiten la fructificació. Es proposa algun índex de mesura de la eficàcia biològica (fitness) i es discuteix alguna hipòtesi sobre la biologia d'aquest fong.

**Paraules clau:** fitness, plasticitat fenotípica, constriccions, tòfona negra, tubercultura, nínxol ecològic.

**RESUMEN:** Ensayo sobre la trufa negra y su cultivo. El autor explica la importancia de algunos parámetros que considera fundamentales para el cultivo de la trufa negra, aquellos que condicionan su eficacia biológica y por lo tanto la fructificación. Propone algún índice para medir la fitness y se discute alguna hipótesis de la biología de este hongo.

**Palabras clave:** fitness, plasticidad fenotípica, constricciones, trufa negra, truficultura, nicho ecológico.

**SUMMARY:** Essay about the black truffle and its cultivation. The author explains the importance of some parameters that he thinks are key for black truffle cultivation. These determine its fitness, as well as the ascocarp development. The author makes a proposal on the fitness index, and discusses some hypothesis about truffle biology.

**Key words:** fitness, phenotypic plasticity, constraints, black truffle, truffle culture, ecological niche.

### INTRODUCCIÓ

L'aptitud d'una zona per a la producció de tòfones ve determinada per les seves condicions geogràfiques, climàtiques, geològiques, edàfiques i biòtiques. El canvi climàtic modificarà sens dubte la superfície apta per al cultiu (COLINAS *et al.*, 2007). Aquestes condicions delimiten constriccions en l'espai en el qual la tòfona negra és capaç de viure, créixer i reproduir-se. Configuren doncs, la seva àrea de distribució i, essencialment, especifiquen el seu nínxol ecològic, definit com un hiper-volum n-dimensional, dintre del que la tòfona pot mantenir poblacions viables. La producció de tòfones assoliria un òptim per un conjunt concret de factors que puntualitzen el nínxol. Serien els valors de màxima eficàcia biològica o fitness, entesa com una mesura de la capacitat de producció d'espores. S'aporten algunes idees sobre la importància d'alguns dels factors, així com també, sobre la transcendència que pot tenir la fase vegetativa del fong, gràcies a la seva plasticitat fenotípica, entesa com la capacitat per canviar la morfologia i taxa d'activitat davant a inputs ambientals, durant el comportament de la tòfona com a organisme saprotròfic.

L'existència de fenotips haplonts alternatius: hifes, ascòspores, xarxes de miceli, estromes i la seva dinàmica i proporcions pot condicionar l'extensió del cremat (àrea on l'herba creix molt poc o malament, i que revela la presència de la tòfona negra) de les tofoneres i també el desenvolupament dels ascomes. L'autor ofereix la seva visió del procés no determinista de la formació de tofoneres naturals, i en la utilitat del cultiu de la tòfona, que es pot canalitzar mitjançant plantacions d'arbres micoritzats i tècniques agronòmiques, com a recurs per reconduir la gran davallada de la producció d'aquest fong per sobreexplotació i males pràctiques de recol·lecció.

## INDEX DE FITNESS

Degut a la forma geomètrica de les tòfones podríem valorar la seves fitness, a partir de l'equació al·lomètrica següent:

$$F = 4/3 \times p \times \text{radi}^3$$

volum d'una esfera com mesura del nombre d'espores.

O bé d'una el·lipsoide:

$$F = 4/3 \times p \times a \times b \times c$$

La següent relació i per tofoner donaria una idea del nombre d'espores per pes de tòfones (quocient sense unitats):

$$F (\text{per tofoner}) = V (\text{mitjà}) / \text{Quilos totals}$$

En els basidiomicets agaricals una mida de fitness seria  $F = p \times r^2$ . L'àrea d'un cercle seria una mesura de la superfície del himeni. Per tant, la relació de fitnees entre una tòfona idealment esfèrica i un bolet agarical vindria donada per la següent proporció:

$$F (\text{tòfona}) / F (\text{xampinyó}) = 4/3 \times r$$

Per tant, si el radi és el mateix, la tòfona produiria  $4/3 \times r$  més espores que un basidiomicet agarical. Evidentment les fitness nos son comparables per molts i diferents motius, però sí que és rellevant en el sentit de com la forma i la talla poden determinar el funcionament i l'eficàcia biològica dels fongs. Un cop s'esgoten les possibilitats d'incrementar la fitness per increment de la superfície gràcies al repliegament de l'himeni, tan sols es pot augmentar la fitness incrementant el volum (un altre dimensió).

## LES TÒFONES I ELS SEUS HOSTES

La tòfona negra d'hivern forma part d'un sistema simbiòtic, en el qual el macrosimbiont, a les nostres contrades, sol ser l'alzina el roure, el garric o l'avellaner, encara que pot establir simbiosi amb diverses espècies de coníferes i estepes. Els fongs simbiòtics conreen els organismes que capturen (DAWKINS, 2004). Com bé diu el mateix Dawkins la metàfora és apropiada tant en els cas on l'associació simbiòtica és cooperativa, com en aquells on el fong és més explotador. En la tòfona negra la manifestació del cremat és degut a substàncies produïdes per la tòfona per millorar la interacció amb el seu hoste, el bescanvi de recursos, per evitar o reduir la competència de propàguls de fongs competidors però, fonamentalment, per maximitzar la seva pròpia fitness, obtenir nitrogen i carbohidrats a partir de les plantes no hostes que són danyades i eliminades abans d'iniciar la fase saprofítica.

## FACTORS QUE CONFIGUREN EL NÍNIXOL ECOLÒGIC

Els dos factors determinants dels de fongs ectomicorízics que hi ha en una parcel·la són, en primer lloc la comunitat de plantes hostes i, en segon lloc els factors edàfics (DAHLBERG, 2001). Des del punt de vista ecològic podríem assenyalar els següents grups de factors:

- 1- Condicions tèrmiques
- 2- Condicions hídriques
- 3- Factors químics diversos
- 4- Factors mecànics
- 5- Factors biòtics

Per una revisió exhaustiva dels valors dels diferents paràmetres considerats més importants per el cultiu de les tòfones, vegeu COLINAS *et al.* (2007).

## CONDICIONS TÈRMiques

La temperatura, sens dubte, és un factor crític. Segons algun autor, la temperatura és un dels components més determinants del nínxol ecològic (HUDSON, 1986). L'amplitud de les temperatures compatibles amb la vida és estret. Des de pocs graus sota zero i fins uns 50°C, com a màxim. La tòfona no és cap excepció. Tant la tòfona com el seu arbre hoste són organismes poiquiloterms i la temperatura ambiental és la que ens dona un punt de referència sobre l'estat tèrmic general d'ambdós organismes (WALTER, 1976). A temperatures per sota de zero graus, l'aigua, el component majoritari de les tòfones, es congela i no es pot donar ni creixement ni maduració. El transport de nutrients en fase líquida típic de les hifes i micelis es col·lapsa i es poden produir danys irreversibles a les hifes. No hi ha doncs activitat vegetativa. La tòfona és un fong hipogeu i aquesta condició el fa més tolerant a les baixes temperatures, sempre que no siguin extremes i no s'allarguin excessivament en la durada. En canvi les temperatures elevades provoquen la desnaturalització de les proteïnes. També en aquest cas la condició de fong hipogeu la fa més soferta. La tòfona es un fong mesotèrmic o mesòfil amb un òptim de creixement als voltants dels 20°C.

## CONDICIONS HÍDRiques

Tant el protoplasma de les tòfones (hifes, micelis, ascoma), com el de l'arbre hoste només son fisiològicament actius quan estan hidratats. La presència d'aigua és doncs necessària al llarg de tot el cicle vital dels dos simbionts. En general, els fongs són més tolerants que altres organismes a la falta d'aigua i una de les funcions de les micorizes és subministrar aquest recurs a l'arbre (DEACON, 2006). A la bibliografia en relació amb les necessitats d'aigua per al cultiu de la tòfona negra, es donen les dades de precipitació insistint en la importància dels ruixats del mes d'agost. Pel que fa als arbres hostes i, en particular a les alzines son xeròfits esclerofil·les, i que son típics de regions amb un eixut estival prolongat. L'esclerofil·lia es considera una adaptació a regions àrides. En conseqüència alguns autors també es refereixen a la tòfona com a fong xeròfil i adaptat a condicions de sequera. Jo prefereixo el terme de xerotolerant com una forma de reflectir el fet de que la tòfona també és simbiot d'arbres no xeròfils. En aquest sentit, es podria considerar la tòfona com un geòfit fúngic. Ja MALENÇON (1938) va descriure les possibles transformacions morfològiques a partir de Pezizals que conduïen a les Tuberals bàsicament a partir de un replègament de l'himeni i l'adopció d'un hàbitat subterrani. La formació de replecs de l'himeni ha permès incrementar la superfície i augmentar la capacitat de producció d'espores. Finalment la tòfona ha esdevingut esfèrica, esferoïdal o irregularment globulosa. El caràcter hipogeu seria posterior. També el període relativament llarg de maduració i la elaboració d'aromes volàtils per afavorir la dispersió zoocora. Un hàbitat hipogeu pot en efecte protegir l'esperocarp de canvis ambientals, però, es donarà una millora en l'èxit reproductiu si els mecanismes efectius de dispersió de les espores també evolucionen. Les preuades xapes (tòfones que és formen molt en superfície i es detecten visualment) dels tofonaires furtius (Fig. 1), assenyalen la condició hipogea com una adaptació en el sentit de Gould (GOULD & VRBA, 1982; GOULD, 2004). La novetat evolutiva es va donar com a conseqüència d'un canvi en el patró de desenvolupament d'un fong epigeu (THIERS, 1984). Aquest fet va suposar una alteració gradual i recurrent en l'organització del fenotip sens pèrdua d'adaptació i amb increment de la fitness. En el curs de l'evolució el replègament de l'himeni, l'esfericitat de les tòfones i la producció d'aromes volàtils van permetre el conformar noves adaptacions; la de fong hipogeu i la xerotolerancia.

És més, hi ha autors, com SALLEO & LO GULLO (1990), que consideren que la condició de xeròfit esclerofil·le, en el cas dels arbres hostes, no té un significat ecològic d'estalvi d'aigua, sinó

que l'esclerofil·lia mediterrània procedeix d'estructures anatòmiques que es van desenvolupar en espècies adaptades a ambients més humits i posteriorment, van colonitzar ambients més secs, això concorda amb idees expressades per fitogeògrafs (TERRADAS, 2001). Les tòfones ja devien acompanyar aquestes espècies, i van colonitzar els nous ambients conjuntament.

## FACTORS QUÍMICS DIVERSOS I FACTORS MECÀNICS

Aquests factors venen majoritàriament condicionats pel sòl, i poden representar una limitació pel cultiu de tòfones. Per això és aconsellable iniciar una plantació d'arbres micorizats fent abans una anàlisi del sòl. Tot i així, el terreny destinat a fer una plantació pot ser força heterogeni respecte a molts factors. La falta de producció d'alguns arbres en plantacions pot ser deguda al fenomen de la no uniformitat. Petites variacions en el nínxol poden determinar les condicions necessàries per fructificar. Un aspecte a tenir en compte al fer un seguiment d'una plantació amb tècniques morfològiques i amb sondes d' ADN (PCR), és el fet de que els micelis són molt plàstics. La plasticitat fenotípica entesa com la variabilitat en l'expressió genotípica en resposta a senyals ambientals (BURNETT, 2003) o a la diversitat manifesta del sòl, pot modificar el creixement i l'adaptació en diferents punts d'un mateix miceli i, en conseqüència, l'extensió del miceli en el sòl no ser uniforme (PARLADÉ *et al.*, 2007) i el mostreig per extreure ADN pot resultar complicat. Les estructures reproductores (ascocarp) són molt menys plàstiques (BURNETT, 2003). L'ascoma augmenta per allà on pot fer-ho, amb lo qual la presència de DNA de tòfona en mostres de sòl no implica necessàriament posterior obtenció d'ascomes. En aquest sentit, alts continguts d'argila o de pedres poden suposar constriccions per la collita de tòfones (el desenvolupament del ascoma o no es possible o bé queda truncat) i no ser-ho pel manteniment de les micorizes de la tofona. Els millors sòls serien els francs d'estructura grumollosa. Aquest tipus de conformació es podria considerar com un límit inferior d'un sòl pertorbat mecànicament, remogut. Petites alteracions del sòl poden estimular la fructificació d'algunes espècies de Tuberals, possiblement pel fet que milloren la disponibilitat d'oxigen (LAWRYNOWICZ, 2001), ho perquè oposen menys resistència a una estructura fructífera en fase de creixement. El fet és especialment notable en *Tuber aestivum* (observació personal), en tofoneres silvestres de tòfona negra curiosament remoguts (Josep Maria Palomar tofonaire, comunicació personal) i per *Tuber puberulum* (LAWRYNOWICZ, 2001).

Un paràmetre fonamental en el cultiu de tòfones és la relació C/N. Hi ha un canvi en la composició en les espècies en les comunitats fúngiques des dels fongs saprotrofs a fongs micorízics seguint la dinàmica del carboni i del nitrogen, fruit de la descomposició de la matèria orgànica. Quan dominen els saprotrofs, els ràtios C/N decreixen en el temps, possiblement degut al consum del carboni que és utilitzat per la respiració dels saprotrofs i a la retenció de nitrogen en forma de biomassa fúngica. Amb la presència de fongs micorízics, el ràtios C/N s'incrementa en virtut de la mobilització i translocació del nitrogen orgànic cap a les arrels dels arbres simbiotes. Les fonts de carboni utilitzades provindrien dels fotosintetitzats subministrats per l'arbre hoste. Valors de C/N al voltant de 10, serien els més adequats per les plantacions d'arbres micorizats amb tòfona negra (FORTUNY & ESTRADA, 1986). L'índex C/N seria una mesura de fins a quin punt el carboni i el nitrogen estan espacialment desacoblats. Una possible raó de l'al·lelopàtia de les tòfones podria ser l'intent de recuperar el nitrogen i el carboni emmagatzemat a les plantes no hostes necessari per la formació del ascoma. A diferència del miceli, que pot explorar i captar el nitrogen irregularment distribuït, ja que té assegurat el subministrament de sucres per l'arbre, l'ascoma, proveït sols d'unes petites extensions hifals, ha de ser capaç de proveir-se dels dos recursos dins l'entorn immediat. El miceli de les tòfones, al eliminar les plantes no hostes, esmeni el nínxol, no altruísticament pel seu hoste, sinó en benefici propi. En aquest sentit es pot pensar amb el que Dawkins anomena el 'fenotip ampliat' (DAWKINS, 1999), fent referència a tot allò on poden influir els gens per millorar l'eficàcia reproductora del seu portador. Podria tractar-se d'un procés de construcció de nínxol (HUTCHINSON, 1965; ODLING-SMEE *et al.*, 2003).

Els fongs estan adaptats per maximitzar la seva pròpia fitness, i han de regular el seu ràtio intern C/N, el qual té efectes morfogenètics importants, tant en els basidiomicets com en els ascomicets (WATKINSON, 1999). El procés de desenvolupament de la tòfona negra, un cop iniciat, serà doncs absolutament dependent de factors i senyals externes, i es molt factible que el miceli detecti un llindar de C/N, o de N, que sigui un altre component desencadenant de la fase saprofítica.

## FACTORS BIÓTICS I CICLE BIOLÒGIC

Les tòfones participen en un continu procés de coevolució, en el qual intervenen per una part la interacció hoste-tòfona (mutualisme simbiòtic), una fase de vida lliure (fase sapròtrofa) i dos processos de mutualisme no simbiòtic lligats als vectors de dispersió tant d'espores com de llavors: rosegadors, altres mamífers, diversos invertebrats, dispersant espores i ocells com el gaig, el tudó i alguns mamífers disseminant les llavors dels arbres hostes. Aquests organismes aporten funcions i serveis als ecosistemes tofoners i representen part de la biodiversitat estructural necessària pel seu funcionament. Avui en dia és força preocupant el factor humà, que intervé en la dinàmica de les tòfones, fent una clara sobreexplotació del recurs. Les demandes del mercat i els guanys a curt termini determinen la pressió sobre tòfones i tofoneres. Les espores no retornen als ecosistemes tofoners explotats. El banc de propàguls de fongs micorízics dels territoris tofoners queda empobrit en espores de tòfones. En conseqüència, es produeix un clar fenomen de dilució. La davallada en la formació de noves tofoneres és preocupant. També ho és la producció de les tofoneres actuals. Una dada: en 20 anys, el nombre de tofoneres al Lluçanès, Osona i Berguedà s'han reduït en un 80%.

El cicle biològic de la tòfona comença amb la descomposició de l'ascoma i alliberament d'espores. Alternativament o simultàniament les espores són dispersades per diversos ens, que es mengen l'ascoma, i les dipositen després amb els excrements. En condicions adequades i en presència d'un hoste adient, les espores germinen i colonitzen les arrels. Hi ha colonitzacions secundàries, per creixement i formació de glomèruls, es formen xarxes tridimensionals que poden ser contínuament remodelades en resposta a senyals ambientals, interacció amb altres fongs i invertebrats micòfags. Es donen cicles anuals de destrucció i reconstrucció de les xarxes, es poden formar estromes. Progressivament, hi ha increment de biomassa fúngica, amb producció de metabòlits secundaris al-lelopàtics, que afecten a les plantes no hostes que acaben essent eliminades.

La descomposició d'aquests vegetals modifica progressivament el nínxol, amb aportacions de nutrients, però especialment compostos de carboni i nitrogen, que afavoreixen una existència de tipus saprotrofic. Finalment hi ha encreuament de tal·lus compatibles (RICCIONI *et al.*, 2008) i posterior fructificació. Els cicles biològics no són senzillament cicles reproductius, ni són fotografies, són processos dinàmics, en els quals hi ha una dimensió temporal important. No es tracta de cicles tancats. Les meïospores produïdes són els ponts que connecten les diferents generacions. La sobreexplotació de les tofoneres estronquen la continuïtat entre generacions i això fa que els efectius de tòfona negra s'acostin al llindar del col·lapse.

## PLASTICITAT EN EL DESENVOLUPAMENT DE LA TÒFONA NEGRA. MODULARITAT. FENOTIPS ALTERNATIUS.

La simbiosi és pot definir com la convivència íntima de dos o més organismes de diferents espècies, anomenats simbionts. Les tòfones formen un tipus especial de simbiosi mutualista anomenada ectomicoriza. Lynn Margulis fa referència a la simbiosi hereditària en la qual els organismes que hi participen estan obligats a mantenir-se junts durant tot el seu cicle biològic, i utilitza el terme de simbiogènesi aplicat al mecanisme evolutiu que explicaria l'aparició de noves espècies, nous teixits i nous òrgans quan la simbiosi esdevé permanent (MARGULIS, 2003 i 2006). L'aparició de la cèl·lula eucariota, segons Margulis, seria un cas de simbiogènesi. El mecanisme de la simbiogènesi implica doncs un procés d'integració de mòduls funcionals. El concepte de modularitat, però, és deu a Needham (NEEDHAM, 1933) i serveix per descriure la

semiindependència i dissociabilitat de processos fisiològics, metabòlics, de diferenciació i de creixement. Els mòduls són subunitats del fenotip determinats per interruptors o punts de decisió que organitzen el desenvolupament (WEST-EBERHARD, 1989 i 1996). Aquest punts de decisió ('switch points') determinen l'habilitat per produir diferents fenotips independents, que són sotmesos a desiguals pressions de selecció. La modularitat contribueix doncs a la plasticitat fenotípica perquè un gran nombre de mòduls poden respondre individualment davant de l'heterogeneïtat ambiental. La versatilitat eco-nutricional d'alguns fongs en seria una conseqüència. Per exemple, els fongs hemibiotròfics del gènere *Taphrina* creixen entre les cèl·lules de fulles de plantes com a paràsits, un cop la fulla està necrosada viuen com necròfags i, finalment es tornen saprotroífics (COOKE & WHIPPS, 1980). Per *Tuber melanosporum* s'ha suggerit un comportament paràsit de plantes herbàcies (PLATTNER *et al.*, 1995). L'autor també ho ha observat (Fig. 2, desembre 2008): no és forma cap cremat i sols es desenvolupa un ascocarp.

Els fongs són organismes modulars, de creixement repetitiu. En cada miceli individual s'hi poden trobar regions en diferents estadis de desenvolupament (ANDREWS, 1995). La morfogènesi també presenta característiques modulars, ja que diferents processos, anomenats subrutines, es poden reconèixer (al menys, formació del primordi, desenvolupament i maduració) (MOORE, 1998). Les morfologies de bolets teratològics en cultius de basidiomicets saprotroífics comestibles són el resultat del truncament d'algunes de les subrutines, degudes bàsicament a perturbacions ambientals. El primordi de la tòfona té l'aspecte d'una petita cúpula i és un mínuscul apoteci. És el començament de la fase saprotroífica i no hi ha cap xarxa de miceli que connecti tòfona negra i planta hoste (RICARD, 2003). Segons Ricard el desenvolupament i maduració de la tòfona negra és autònom. Aquest fet és rellevant i contrasta amb els basidiomicets saprotroífics i fongs simbiòtics, on el miceli vegetatiu continua creixent per donar suport al desenvolupament de l'escorocarp. En una tofonera els fenotips alternatius serien: ascòspores, hifes, xarxes de miceli, micorizes, glomèruls i estromes. Els ascomicets es caracteritzen per tenir un cicle biològic haplo-diploide on la fase haploide predomina tant en temps com a l'espai. La diploïdia resta confinada al zigot, i és seguida per una meiosi. Els fenotips alternatius serien diferents opcions (fenotips haplonts) de la fase haploide. En general els fenotips alternatius representen diferents opcions, donada una determinada conformació ambiental, que són funcionalment independents un dels altres; és troben en el mateix estadi del cicle biològic i no són simultàniament expressats per un mateix individu. (WEST-EBERHARD, 1986). A cada tofonera coexistirien els fenotips alternatius en distintes proporcions. Probablement part de la variància fenotípica sigui deguda a variància genètica (FALCONER, 1980).

Els fenotips alternatius poden explicar perquè la quantitat de micorizes no té que estar relacionada necessàriament amb l'obtenció de tòfones. L'absència de correspondència entre la producció de tòfones i l'abundància de micorizes ha estat apuntada (BACIARELLI-FALLINI *et al.*, 2006). Els fenotips alternatius són opcions funcionalment vàlides, en un context determinat del nínxol, per assolir la fase reproductora. El que sí que cal és que hi hagi tal·lus compatibles (RICCIONE *et al.*, 2008). En fase simbiòtica la tòfona ha d'ésser capaç de dur a terme un retorn de serveis al seu hoste, com a moneda de canvi, pels recursos de carbó que n'obté. Les simbiosis micoríziques són, des de el punt de vista evolutiu, inestables, i les relacions filogenètiques entre alguns sapròfits i simbiòtics així ho demostren (HIBBETT *et al.*, 2000). Les implicacions semblen evidents: la tòfona ha de ser capaç d'explorar i capturar recursos discontinuament dispersats, tant en l'espai com en el temps. Els micelis són sistemes versàtils de tubs connectats que poden explorar ambients heterogenis, en els quals l'energia es molt variable (RAYNER *et al.*, 1999). Les xarxes són modulades i estructurades contínuament en resposta a l'heterogeneïtat del sòl, la dispersió dels recursos i degut a diferents senyals ambientals, tan biòtiques com abiòtiques. Aixó te lloc gràcies al que denominem plasticitat fenotípica, entesa com la variabilitat en l'expressió genotípica en resposta a diferents senyals ambientals (STEARNS, 1989; BURNETT, 2003). La modularitat incrementa la plasticitat fenotípica (RAY, 1990). Gràcies a la plasticitat, els micelis poden disposar d'un ventall de configuracions de xarxes específiques adaptades a diferents necessitats de

exploració del substrat, eficiència en el transport i capacitat de reacció quan són danyades (BEBBER *et al.*, 2006). En les tòfones, els micelis són responsables dels efectes al·lelopàtics sobre les plantes no hostes (formació del cremat) com a conseqüència de la recuperació del carboni deli nitrògen emmagatzemat en aquestes plantes. És un procés de construcció de nínxol (HUTCHINSON, 1965; ODLING- SMEE *et al.*, 2003) necessari per al creixement saprofític de l'ascocarp.

És interessant especular amb la possibilitat de que, en el cremat, la presència de miceli en el sòl pugui ser molt variable i no es pugui correlacionar amb producció de tòfones. SUZ *et al.* (2008), han trobat menys quantitat de miceli en sòl sota arbres molt productius respecte a arbres sense producció d'ascomes. Aquesta plasticitat també explicaria les relacions contradictòries que troben diferents autors, respecte la extensió del cremat y la producció de tòfones (GARCÍA-MONTERO *et al.*, 2007; SUZ *et al.*, 2008). És possible que es donin compromisos diversos (Trade-offs) desencadenats per l'encreuament de tal·lus compatibles. Els fitness Trade-offs sovint involucren processos antagonistes, com ara competició per recursos, interferència temporal d'activitats i respostes oposades a senyals reguladores. En són exemples: alta activitat i elevat metabolisme/petita talla (talps i musaranyes); baixa activitat/ reduït metabolisme (en alguns remugants); els guanys per fotosíntesi / pèrdues per transpiració (plantes), dimorfisme entre gàmetes, contribució a l'ascoma: miceli matern / miceli patern (tòfona negra). En qualsevol cas els resultats anteriors es poden interpretar com una conseqüència de l'organització modular del desenvolupament. L'ontogènia de la tòfona no és una successió temporal lineal de successos, sinó un procés ramificat amb mòduls relacionats entre ells però al mateix temps independents. Cada fenotip alternatiu té uns determinants genètics, de desenvolupament i d'interacció amb els altres fenotips. La plasticitat i modularitat poden explicar canvis heterocrònics sense l'alteració de l'ontogènia, com per exemple, el perquè unes tofoneres les podem qualificar de primerenques en la producció i maduració dels ascomes i altres tofoneres són comparativament molt tardanes. La quantificació del miceli en el sòl i també l'extensió del cremat pot ser molt fluctuants, en funció de la dinàmica dels fenotips alternatius.

## TOFONERES ESPONTÀNIES I CULTIU

A les nostres contrades les tofoneres poden aparèixer espontàniament, en les successions secundàries que parteixen de camps de conreu abandonats, en els que hi han propàguls de tòfones i els arbres o plantes hostes compatibles i estableixen simbiosis mutualistes. La sobreexplotació de les tofoneres produeix una dilució d'espores de tòfones en els bancs de propàguls de fongs micorízics. Segons RICARD (2003) a les zones calcàries els tofoners naturals es formen en un estat precís de l'evolució del medi, reflectint una fase d'equilibri del ecosistema. Igual que CLEMENTS (1916), Ricard entén la successió i la formació de les tofoneres espontànies com un procés determinista i considera que la comunitat en successió va creant les seves pròpies condicions, en las quals les etapes finals solament depenen del clima general de la regió i de la seva geologia. El resultat és predictable, i es poden reconèixer una sèrie d'estadis diferenciats entre ells, un dels quals seria l'aparició d'un ecosistema tofoner. El problema és que no coneixem totes les condicions i la realitat és que hi poden haver altres alternatives. No sempre surten tofoners en terrenys calcaris, i la nova ecologia accepta l'heterogeneïtat com un aspecte transcendental per explicar la diversitat dels ecosistemes. Els processos ecològics no són solament ni sempre ho són deterministes (TERRADAS, 2001). Canvi, novetat i no reversibilitat són les forces conductores de qualsevol ecosistema forestal (MASER *et al.*, 2008). La disponibilitat de propàguls determina quines espècies de fongs podran establir micorizes, i les activitats humanes generen noves pressions selectives en els ecosistemes; es creen nous filtres ambientals i també biòtics, que alteren les comunitats de fongs micorízics (DIGHTON & JANSEN, 1991; GEHRING & WHITHAM, 2002). Ara bé en el conreu de tòfones, el que s'intenta és conduir uns arbres micorízats per tòfona negra en una matriu de sòl correcte en els seus paràmetres fisicoquímics i, optimitzada a través de

tècniques agronòmiques. En aquest cas partim d'unes condicions de conreu adequades i la trajectòria ja està més canalitzada. També podem reconduir algunes desviacions. Sens dubte, però, el cultiu de tòfones és una alternativa per revertir la dinàmica regressiva en la que està immersa la tòfona negra.

## CONCLUSIONS

La sobreexplotació de les tofoneres es preocupant. L'home intervé en la seva dinàmica fent un extracció massiva d'ascocarps que pot portar aviat la tòfona negra al llinar del col·lapse. La davallada en el nombre de tofoneres silvestres en zones tradicionalment productores així ho demostra. El cultiu de la tòfona negra sembla doncs una bona alternativa per capgirar la situació. El conreu no es fàcil, ja que no coneixem tots els factors que permeten assegurar l'obtenció d'ascomes. Però sí que a través de plançons micorizats, anàlisis del sòl, sondes moleculars, el podem canalitzar. La plasticitat fenotípica dels micelis és fonamental pel manteniment i continuïtat de les tofoneres perquè permet superar possibles heterogeneïtats del sòl. És ben conegut que els organismes que són plàstics es poden adaptar millor als canvis ambientals (WEST-EBERHARD, 1986). La dinàmica de les tofoneres podria estar determinada per l'existència de fenotips alternatius i per la plasticitat dels micelis. Aquests fenotips haplonts (ascòspores, hifes, micelis, glomèruls i estromes) constitueixen l'organització prèvia de cada tofoner que pot ser modificada i modulada per senyals ambientals i altres perturbacions, que condicionen el desenvolupament de l'ascoma. Un paràmetre del nínxol ecològic de la tòfona negra i fonamental pel seu cultiu és la relació C/N com mesura del desacoblament espacial del carboni i nitrogen, dos elements fonamentals i amb efectes morfogenètics. Una possible raó de l'al·lelopàtia de les tòfones seria el seu intent de recuperar el nitrogen i el carboni de les plantes no hostes necessaris per la formació i posterior creixement de l'ascoma en les condicions que permetin un màxim increment de la seva eficàcia biològica, entesa com a mesura de la capacitat de producció de meïospores.

## AGRAÏMENTS

Vull agrair al professor Josep Girbal i en Xavier Parladè els seus comentaris i suggeriments durant la preparació de manuscrit.

## BIBLIOGRAFIA

- ANDREWS, J.H. (1995). Fungi and the evolution of growth form. *Canadian Journal of Botany*, 73, S1206-S1212.
- BACIARELLI- FALLINI, L.; RUBINI, C.; PAOLOCCI, F., (2006). Morphological & molecular analyses of ectomycorrhizal diversity in a man made Tuber melanosporum plantation: description of novel truffle-like morphotypes. *Mycorrhiza* 16: 475-484.
- BEBBER, D.P., TLALKA, M., HYNES, J., DARRAH, P.R., ASHFORD, A., WATKINSON, S.C., BODDY, L., FRICKER, M.D. (2006). *Imaging complex nutrient dynamics in mycelial networks*. In: Fungi and the Environment (G.M. Gadd, S.C. Watkinson and P. Dyer, eds, pp 1-21. Cambridge University Press, Cambridge.
- BURNETT, J., (2003). *Fungal Populations and Species*. Oxford University Press. 348 pp.
- COLINAS, C., CAPDEVILA, J.M., OLIACH, D., FISCHER, C.R., BONET, J.A., (2007). *Mapa d'aptitud per al cultiu de la tòfona negra a Catalunya*. Ed. Centre Tecnològic Forestal de Catalunya, Solsona, 134pp.
- COOKE, R.C., WHIPPS, J.M. (1980). The evolution of modes of nutrition in fungi parasitic on terrestrial plants. *Biological Reviews* 55: 341-362.
- DAHLBERG, A., (2001). Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist*, 180: 555-562.
- DAWKINS, R., (1999). *The extended Phenotype. The long reach of the gene*. Oxford University Press. Oxford, U.K.
- DAWKINS, R., (2004). *El cuento del antepasado*. Antoni Bosch, editor, S.A.: 879 pp.
- DEACON, J.W., (2006). *Fungal Biology*. Blackwell Publishing, 371pp.
- DIGHTON, J., JANSEN, A.E. (1991). Atmospheric pollutants and ectomycorrhizae: more questions than answers? *Environ. Pollut.* 73: 179-204.





*Tuber melanosporum*. Tòfona negra formada superficialment (xapes).



*Tuber melanosporum*. Ascoma madur entre plantes herbàcies.

- FALCONER, D.S., (1980). *Introducción a la Genética Cuantitativa*. Compañía Editorial Continental, S.A. Calz. De Tlalpan Núm. 4620, México 22, D.F. 430pp.
- FORTUNY, M., ESTRADA, J.M., (1986). *La truficultura. Guía práctica para la plantación y el cultivo de la trufa*. Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona.
- GARCÍA-MONTERO, L.G., MANJÓN, J.L., PASCUAL, C. GARCÍA-ABRIL, A., (2007). Ecological patterns of *Tuber melanosporum* and different *Quercus* Mediterranean forest: quantitative production of truffles, burn size and soil studies. *Forest Ecol Manag.* 242: 288-296.
- GEHRING CA, WHITHAM TG. (2002). *Mycorrhizae-herbivore interactions: population and community consequences*. In: Mycorrhizal Ecology. Van der Heijden MGA, Sanders IR, Eds. Berlin, Springer- VerlaG, PP 295-320.
- GOULD, S.J., (2004). *La estructura de la teoría de la evolución*. Metatemas, 82. Tusquets editores. 1426 pp.
- GOULD, S.J., VRBA, E.S. (1982). Exaptation-a missing term in the science of form. *Paleobiology* 8: 4-15.
- HIBBETT, DS., GILBERT, LB., DONOGHUE, M.J., (2000). Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature* 407: 506-508.
- HUDSON HARRY J. (1986). *Fungal biology*. Edward Arnold (Publishers) Ltd. 298 pp.
- HUTCHINSON, G.E., (1965). *The ecological theatre and the evolutionary play*. New Haven, CT: Yale University Press.
- LAWRYNOWICZ, M., (2001). *Threats to hypogeous fungi*. In: *Fungal Conservation Issues and Solutions*. (D. Moore, Marijke M. Nauta, Shelley E. Evans and M. Rotheroe, eds.), pp. 95-104. Cambridge University Press, Cambridge.
- MALENÇON, M.G., (1938). Les truffes Europeennes. *Revue de Mycologie*. Tome III (N.S.). Mémoire hors-série N° 1.
- MARGULIS, L., SAGAN, D., (2003). *Captando genomas. Una teoría sobre el origen de las especies*. Kairós, Barcelona.
- MARGULIS, L., DOLAN, M., (2006). *Els inicis de la vida. Evolució a la Terra Precambriana*. Col·lecció sense fronteres, 24. Publicacions Universitat de València. Edicions Bromera, Alzira.
- MASER, CH., CLARIDGE, A.W., TRAPPE, J.M. (2008). *Trees, Truffles, and Beast. How Forest Function*. Rutgers University Press. New Brunswick, New Jersey, and London. pp 280.
- MOORE, D. (1988). *Fungal Morphogenesis*. Cambridge University Press, New York.
- NEEDHAM, J. (1933). On the dissociability of the fundamental processes in ontogenesis. *Biological Reviews* 8: 180-223.
- ODLING-SMEE, F.J., LALAND, K.N., FELDMAN, M.W. (2003). *Niche Construction: The Neglected Process in Evolution*. Princeton University Press, Princeton NJ.
- PARLADÉ, J., HORTAL, S., PERA, J., GALIPIENSO, L. (2007). Quantitative detection of *Lactarius deliciosus* extraradical soil mycelium by real-time PCR and its application in the study of fungal persistence and interspecific competition. *Journal of Biotechnology* 128: 14-23.
- PLATTNER, I., HALL, I.R., (1995). Parasitism of non-host plants by the mycorrhizal fungus *Tuber melanosporum*. *Mycol. Res.* 99, 1367-1370.
- RAY, T.S., (1990). Metamorphosis in the Araceae. *American Journal of Botany*. 74: 16-26.
- RAYNER, A.D.M., WATKINS, Z.R., BEECHING, J.R., (1999). *Self-integration- an emerging concept from the fungal mycelium*. In: *The Fungal Colony* (N.A.R. Gow, G.D. Robson and G.M. Gadd, eds), pp 1-24. Cambridge University Press, Cambridge.
- RICARD, J.M., (2003). *La truffe. Guide technique de trufficulture*. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, Paris, Francia. 267 pp.
- RICCIONI, CL., BELFIORI, B., RUBINI, A., PASSERI, V., ARCIONI, S., PAOLOCCI, F., (2008). *Tuber melanosporum* outcrosses: analysis of the genetic diversity within and among its natural populations under this new scenario. *New Phytologist*, 180, 466-478.
- STEARNS, S.C., (1989). The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *BioScience* 39: 436-445.
- SUZ, L.M., MARTIN, M.P., OLIACH, D., FISCHER, C.R., COLINAS, C., (2008). Mycelial abundance and other factors related to truffle productivity in *Tuber melanosporum*- *Quercus ilex* orchards. *FEMS Microbiol Letter* (2008), 1-7.
- TERRADAS, J., (2001). *Ecología de la vegetación*. Ediciones Omega, S.A. 703 pp.
- THIERS, H.D., (1984). The sectoid syndrome. *Mycologia* 76, 1-8.
- WALTER, H., (1976). *Vegetació i climes del món*. Departament de Botànica. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona.
- WATKINSON, S., (1999). *Metabolism and hyphal differentiation in large basidiomycete colonies*. In: *The Fungal Colony* (N.A.R. Gow, G.D. Robson and G.M. Gadd, eds.), pp. 126-156. Cambridge University Press, Cambridge.
- WEST- EBERHARD, M.J., (1996). *Wasp societies as microcosms for the study of development and evolution*. *Natural History and Evolution of Paper-Wasps*, S. Turillazzi and M.J. West-Eberhard (eds). Oxford University Press, London.
- WEST-EBERHARD, M.J., (1989). Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 249-278.
- WEST-EBERHARD, M.J., (1986). Alternative adaptations, speciation, and phylogeny (A Review). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 83, N° 5, 1388-1392.