



INFORME FINAL TÉCNICO Y DE DIFUSIÓN

**PROYECTO: Trufas made in chile: Posicionamiento de la
truficultura chilena como actor relevante en los principales
mercados internacionales.**

CODIGO: PYT-2012-0036

Talca, 25 de septiembre del 2015

CONTENIDO

	Pág.
I. ANTECEDENTES GENERALES.....	3
II. RESUMEN EJECUTIVO.....	4
III. INFORME TECNICO.....	5
1. OBJETIVO DEL PROYECTO.....	5
2. METODOLOGIA DEL PROYECTO.....	8
3. ACTIVIDADES DEL PROYECTO.....	25
4. RESULTADOS DEL PROYECTO.....	29
5. FICHAS TECNICAS Y ANALISIS ECONOMICO.....	52
6. IMPACTOS Y LOGROS DEL PROYECTO.....	57
7. PROBLEMAS ENFRENTADOS DURANTE EL PROYECTO.....	60
8. OTROS ASPECTOS DE INTERES.....	61
9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	62
IV. INFORME DE DIFUSION.....	63
V. ANEXOS.....	73
VI. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.....	110



I. ANTECEDENTES GENERALES

- **Código:** PYT-2012-0036
- **Nombre del Proyecto:** Trufas made in Chile: Posicionamiento de la truficultura chilena como actor relevante en los principales mercados internacionales.
- **Región o Regiones de Ejecución:** Del Maule, Del Bio-Bio, De la Araucanía y De los Ríos.
- **Agente Ejecutor:** Agrobiotruf Sociedad anónima
- **Agente(s) Asociado(s):** **Agrícola y Forestal la bellota Ltda.** (este agente fue excluido del proyecto por la muerte de su propietario Sr. Julián Schneider Durandin, **Rodrigo Andrés callejas Letelier, Agrícola Santa Elena de chequen, Agrícola y ganadera S y R Ltda., Awake chile sociedad anónima y Javier Norberto Rozas Vera.**
- **Coordinador del Proyecto:** Rafael Leonardo Henríquez Chamorro
- **Costo Total** (*Programado y Real*):

Costo total programado :
Costo total real :
- **Aporte del FIA** (en pesos; porcentaje del costo total) (*Programado y Real*)

Aporte fia programado :
Aporte fia real :
- **Período de Ejecución:** 36 meses.

Fecha inicio: 01/08/2012. Fecha termino: 31/07/2015

II. RESUMEN EJECUTIVO

El proyecto Trufas made in Chile: posicionamiento de la truficultura chilena como actor relevante en los principales mercados internacionales, se realizó durante un periodo de tres años, (periodo 2012-2015) donde se desarrollaron todos los objetivos y actividades propuestos en las diferentes etapas de gestión.

Dentro de los principales logros obtenidos, se estableció una mesa de trabajo compuesta por los principales actores que participan de forma directa en este rubro: SAG, Agrobiotrufr s.a, ATCHILE y Universidad católica del Maule, definiendo los principales problemas y oportunidades para el género Tuber a nivel nacional, desarrollando estrategias que permitan posicionar la truficultura a nivel nacional como un cultivo agroforestal y fomentando la redacción de resoluciones que resguarden la inocuidad de nuestro producto, posicionando a Chile como un país exportador de trufa fresca certificada de alta calidad.

En conjunto con la Universidad católica del Maule se establecieron los marcadores moleculares específicos para diferentes tipos de Tuber y hongos competidores existentes en truferas nacionales, permitiendo identificar las especies en estudio, obtenidas en truferas nacionales.

Además se desarrolló un protocolo de certificación de la trufa negra del Périgord recolectada en Chile, certificando las primeras trufas nacionales para su exportación. Como parte fundamental en el reconocimiento de nuestras trufas certificadas, se realizaron muestras gastronómicas a nivel nacional y envíos de muestras a nivel internacional para recopilar opiniones de personas especializadas.

En este proyecto se desarrollaron métodos estandarizados de manejos agronómicos de producción, a través de diferentes ensayos en campo, permitiendo validar la entrada en producción de nuevas truferas y mejorar la actividad micorrícica, estimulando el aumento en la producción de truferas productivas.

Como uno de los principales resultados de este proyecto fue establecer la primera asociación de truficultores de Chile, organizando a los productores para generar los canales de comercialización entre los socios y agentes compradores de trufas, desarrollando una serie de paquetes tecnológicos, que permitió establecer vínculos entre sus pares nacionales e internacionales. Además se realizaron capacitaciones teórico-práctico a los asociados, permitiendo a los asociados una constante capacitación y renovación de nuevo conocimiento referente a la innovación y tecnología aplicada en la truficultura a nivel mundial.

III. INFORME TÉCNICO (TEXTO PRINCIPAL)

1. Objetivos del Proyecto: Descripción del cumplimiento de los objetivos general y específicos planteados en la propuesta de proyecto, en función de los resultados e impactos obtenidos. En lo posible, realizar una cuantificación relativa del cumplimiento de los objetivos.

Objetivo General:

Desarrollar las estrategias agrocomerciales que permitan posicionar a Chile en los mercados internacionales como un país exportador de trufa negra certificada.

El proyecto a través de la realización y cumplimiento de los objetivos específicos, permitió desarrollar varias estrategias agrocomerciales, destacando entre ellas, la participación activa de varios actores del rubro, principalmente del SAG como agente regulador de las exportaciones e importaciones de trufa fresca, la certificación de la trufa cosechada en Chile y la formación de una asociación de truficultores nacionales, permitiendo posicionar a Chile en el mercado internacional como un país productor y exportador de trufas frescas de alta calidad gastronómica, generando un pequeño polo productivo al sur del mundo.

Objetivos específicos:

Redactar las bases técnicas obtenidas en la mesa de trabajo, constituida por los principales actores del rubro, que permita establecer un marco regulatorio para la exportación e importación de trufas en fresco.

Para la ejecución del primer objetivo, se estableció una mesa de trabajo compuesta por los principales actores que participan de forma directa en este rubro: SAG, Agrobiotruf s.a, ATCHILE y Universidad Católica del Maule, departamento de ciencias, definiendo los principales problemas y oportunidades para el género *Tuber* a nivel nacional, desarrollando estrategias que permitan posicionar la truficultura a nivel nacional como un cultivo agroforestal y fomentando la redacción de resoluciones que resguarden la inocuidad de nuestro producto, posicionando a Chile como un país exportador de trufa.

Como parte de estas gestiones se estableció la primera resolución exenta 7424/2013 que establece requisitos fitosanitarios para el ingreso de hongos para propagación y consumo procedentes de cualquier origen, permitiendo el ingreso a Chile como producto en fresco las siguientes especies: *Tuber magnatum*, *Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum* y *Tuber Borchii*.

Validar la trufa chilena, como un producto de exportación certificado de alta calidad gastronómica en los mercados internacionales.

Para la ejecución del segundo objetivo, se establecieron los marcadores moleculares específicos para diferentes tipos de Tuber y hongos competidores en conjunto con el departamento de biotecnología de la Universidad católica del Maule, realizando ajustes y pruebas con patrones genéticos específicos para cada especie, utilizando patrones preexistentes y muestras obtenidas en campo. Además se desarrolló un protocolo de certificación de la trufa negra del pèrigord recolectada en Chile, certificando las primeras trufas nacionales para su exportación.

Además cabe señalar que se definieron estándares de calidad de las trufas cosechadas en base a forma, aroma y degustación, permitiendo tipificar nuestra trufa en base a estándares utilizados a nivel internacional, realizándose muestras gastronómicas a nivel nacional y envíos de muestras a nivel internacional para recopilar opiniones de personas especializadas.

Validar manejos agronómicos que permitan la entrada y el aumento en producción de truferas productivas y no productivas

Para la ejecución del tercer objetivo, se desarrollaron métodos estandarizados de manejos agronómicos de producción, a través de diferentes ensayos en campo, permitiendo la entrada en producción de nuevas truferas y mejorando la actividad micorrízica, estimulando la producción de truferas productivas.

Cabe señalar que parte de este objetivo era la producción de estacas de la especie *Quercus Ilex* para la obtención de un jardín clonal provenientes de árboles productores, , debido a que esta especie presentó una escasa capacidad de enraizamiento, inclusive en forma in vitro, esta situación generó, no poder dar cumplimiento de forma parcial a este objetivo.

Establecer la asociación de truficultores de Chile, que permita organizar y canalizar la producción nacional de trufa negra.

Para la ejecución del cuarto objetivo se redactaron los estatutos legales que permitió establecer la primera asociación de truficultores de Chile, organizando a los productores para generar los canales de comercialización entre los socios y agentes compradores de trufas provenientes de plantaciones nacionales.

Además se registró la marca comercial de la asociación y se desarrolló una serie de paquetes tecnológicos como página web, correo electrónico, etc. que permitió establecer vínculos técnicos y comerciales entre sus pares nacionales e internacionales.



Capacitar a los productores de la asociación de truficultores en los nuevos métodos de manejo agronómico de truferas.

Para la ejecución del quinto objetivo, se realizaron capacitaciones teóricas y días de campo, demostrando in situ una serie de manejos agronómicos y mejoras en procesos técnicos, permitiendo a los asociados una constante capacitación y renovación de nuevo conocimiento referente a la innovación y tecnología aplicada en la truficultura a nivel mundial.

2. Metodología del Proyecto:

- Descripción de la metodología efectivamente utilizada (*aunque sea igual a la indicada en la propuesta de proyecto original*).

Objetivo N° 1 Redactar las bases técnicas obtenidas por la mesa de trabajo que permita establecer un marco de regulación para la exportación e importación de trufas en fresco.

1.1.- Recopilación bibliográfica: metodologías de exportación e importación de productos en Chile.

Se realizó una revisión bibliográfica que permitió recopilar información referente a las exportaciones e importaciones de productos no tradicionales como: setas y hongos. Asimismo se realizó una recopilación de las normas y restricciones de exportación que presentan las empresas nacionales de hongos; exigencias, formas de embalaje, redes y cadenas de distribución, etc. A nivel internacional se estudiaron los métodos y regulaciones de exportación e importación de países del hemisferio sur.

1.2.- Establecimiento de una mesa de trabajo con los principales actores del rubro.

Se estableció una mesa de trabajo, compuesta por distintos agentes del rubro de la truficultura, representados por la empresa Agrobiotruf S.A, la asociación de truficultores de Chile (compuesta por 29 socios) el departamento de biotecnología de la Universidad católica del Maule, el asesor jurídico especialista en temas normativos y el SAG regional, en conjunto se establecieron las fortalezas, debilidades, amenazas y restricciones que tiene las exportaciones e importaciones del genero Tuber, esto permitió desarrollar un documento base con los principales riesgos y beneficios para la industria, generando lazos técnico-profesionales con personal del SAG, coordinando capacitaciones y charlas técnicas a funcionarios a lo largo de Chile.

Como parte de estas gestiones se estableció la primera resolución exenta 7424/2013 Que establece requisitos fitosanitarios para el ingreso de hongos para propagación y consumo procedentes de cualquier origen, permitiendo el ingreso a Chile como producto en fresco las siguientes especies: Tuber magnatum, Tuber melanosporum, Tuber aestivum y Tuber Borchii.

1.3.- Redactar las bases técnicas obtenidas por la mesa de trabajo que permita establecer un marco de regulación para la exportación e importación del genero Tuber.

Se desarrollaron las bases técnicas en conjunto con los principales actores del rubro que permitieron entregar un documento técnico a SAG, quien desarrollara en conjunto con la empresa Agrobiotruf una serie de capacitaciones y análisis de nuevas regulaciones que resguarde el cultivo de la trufa.

Objetivo N° 2. Validación de la trufa como un producto de exportación de alta calidad gastronómica en los mercados internacionales.

2.1.- Certificación de trufas cosechadas en Chile

2.1.1.- Establecer los marcadores moleculares específicos para trufas no comerciales y hongos competidores

Se realizó una identificación y análisis morfológico de las distintas especies de *Tuber*: *melanosporum*, *aestivum*, *uncinatum*, *borchii*, *brumale* e *indicum*. Y otros hongos micorrizicos competidores: *Hebeloma*, *Scleroderma*, *Paxillus*, *Sphaerospora*, *Laccaria*, *Melanogaster*, etc. Para esto se realizó un muestreo de diferentes plantaciones truferas para su identificación en base a taxonomía descrita para estos géneros. Además de España, nos llegaron muestras y descripción taxonómica de varias especies de *Tuber*, destacando: *brumale* e *indicum*. Estas muestras se llevaron al laboratorio de biotecnología de la universidad católica del Maule quienes desarrollaron los partidores moleculares para las diferentes especies. Para determinar los patrones genéticos de la trufa negra del perigord, se enviaron muestras de inóculo español e italiano, definiendo los partidores 5'ITSML y 3'ITSLNG para esta especie. Estos partidores se aplicaron a las muestras recolectadas en Chile.

2.1.2.- Protocolo de certificación de la trufa negra (*Tuber melanosporum*) para trufas cosechadas en Chile y certificación de lotes.

Una vez definido los marcadores específicos para cada especie, se desarrolló en conjunto con la universidad católica del Maule un protocolo de certificación de lotes para trufa negra del perigord cosechadas en Chile:

Primero se tomaron las trufas correspondientes a la cosecha anual de cada productor (2013-2014-2015) las cuales tuvieron un control de calidad visual y organoléptica. Luego se llevaron al laboratorio de la empresa Agrobiotruf S.A, donde se realizó un control morfológico en la lupa y microscopio: color y tipo de Peridio, esporas, ascas, distribución y grosor de la gleba, etc.

Luego del análisis preliminar, se extrajeron muestras representativas a los lotes correspondiendo al primer año el 10%, luego el 15% y el tercer año el 20% de muestras por lote de cada propietario. Estas fueron enviadas al laboratorio de biotecnología de la universidad católica del Maule, quienes procedieron a realizar los controles con marcadores moleculares ya definidos anteriormente, resultando que el 99.99% de las trufas analizadas correspondían a *Tuber melanosporum*. Para cada uno de los propietarios se extendió un certificado de calidad entregado por la Universidad católica del Maule.



2.2.- Estándares de calidad de las trufas cosechadas en base a forma, aroma y degustación

Una vez cosechadas las trufas de cada temporada, se realizaba una calificación según su forma, tamaño, peso y aroma, basado en modelos australianos, definiendo el siguiente marco clasificatorio:

Trufa calidad alta: corresponden a trufas de forma redondeada, de un tamaño pequeño, con un peso promedio entre 30 a 45 gramos, un aroma intenso. Alcanzando en promedio en las temporadas del orden del 35 a 40 % de las trufas.

Trufa calidad media: corresponden a trufas de forma medianamente redondeada, con algunas deformaciones leves, con un peso de 10 a 20 gramos y de 50 gr o más, aroma con otras tonalidades (ácidas, etanol, dulces). Alcanzando en promedio en las temporadas del orden del 45 a 50 % de las trufas.

Trufas calidad baja: corresponden a trufas de forma irregular, con daños, escaso aroma, algo de inmadurez. Alcanzando en promedio entre el 10 y 15% de las trufas cosechadas.

Los estándares de calidad se realizaron en base a la producción de 7 propietarios distribuidos en Chile.

2.2.1.- Calidad organoléptica de las trufas cosechadas en Chile

Referente a la calidad organoléptica, solo se ha podido recabar información de forma oral, debido a que principalmente las trufas chilenas están aún en una etapa de penetración de los mercados, enviando pruebas para su degustación. A nivel nacional no se ha podido obtener algún tipo de documentación por parte de los hoteles que compran trufas como son el Hyatt, ref carton, el radisson, y restaurantes como el opera y Emilia Romagna, debido a lo exclusivo de sus productos.

En general según la opinión de diferentes chef nacionales como internacionales, comentan de lo intenso del sabor de las trufas nacionales, considerando las trufas de la zona centro más intensas en aroma que las trufas del sur.

2.2.2.- Estrategia de comercialización

Actualmente se envió el primer embarque de trufa fresca y productos a Estados Unidos a través de la empresa comercializadora Farmer. Cabe señalar que los productores asociados a ATCHILE, están en conversaciones con PROCHILE para poder canalizar las exportaciones de forma formal el próximo año. Durante el periodo del proyecto se enviaron muestras de trufa fresca a 12 entes gastronómicos entre chef, restaurantes y hoteles, incluyendo muestras a los siguientes países: Alemania, suiza, Brasil, Perú y Estados Unidos.

Objetivo N° 3. Validar manejos agronómicos que permitan la entrada y el aumento en producción de truferas productivas y no productivas.

3.1.- Manejos agronómicos de producción a largo plazo

3.1.1.- Registro e identificación de árboles productores:

Se realizó un registro informativo de los arboles productivos y no productivos de las truferas que al término de este proyecto se encontraban en producción, estos árboles se marcaron con una placa identificativa donde se señala la especie y la posición. Esto permitió establecer un registro productivo de las truferas nacionales.

3.1.2.- Selección de árboles productores para establecimiento de un jardín clonal:

Una vez seleccionados los arboles productores de las principales truferas productivas, se extrajeron los brotes basales por árbol y fueron llevados en una nevera eléctrica a 2° grados hasta el invernadero. Los brotes basales fueron lavados en una solución de cloro de piscina al 50% como primera desinfección, luego se cortaron estacas de 10 cm y se bañaron con una mezcla de fungicidas benomilo (0.6 gr/litro agua) más captan (5gr/litro agua). Las hojas de las estacas se cortaron en bisel, dejando como máximo 4 pares de hojas. Luego las estacas se ordenan y se identifican su parte basal para ser inundadas en ácido indolbutírico (1.000 ppm) y se entierran en una mezcla de perlita en cama caliente. La cama caliente estaba a una temperatura entre 22 a 24 ° C, con un programador de humidificación.

Luego de 4 meses, se realizó una selección de estacas, separando aquellas que presentaban hojas vivas, analizando su parte radicular donde no se pudo obtener enraizamiento, solo la formación de callo.

Esto generó la incertidumbre de este método para reproducir árboles selectos de la especie *Quercus Ilex*, por esta razón en conjunto con la Universidad Católica Del Maule, departamento de Biotecnología, se realizaron pruebas en laboratorio de brotes jóvenes de *Quercus Ilex* "In Vitro" para determinar la capacidad de enraizamiento de la especie. Luego de 6 meses las muestras obtenidas "In Vitro" no pudieron obtener raicillas, lo que determinó la escasa capacidad de enraizamiento de la especie, no lográndose el establecimiento del jardín clonal.

Por esta razón, se realizó una recolección de las semillas de árboles productores, que permita obtener árboles con una "tendencia" a producir las características del progenitor (cabe señalar que estas características son menores que si fuese de estacas, debido a la homogeneidad de las semillas) estas plantas estarán inoculadas en septiembre del 2015.

3.1.3.- Importación de especies de alto rendimiento para mejora productiva

Se realizó la recolección de semillas de varias especies de alto rendimiento, en producciones truferas en España, Francia, Italia y Australia, destacando: *Quercus Cerris*, *Quercus Suber*, *Quercus Nigra* y *Populus alba*, estas especies presentan características fenotípicas interesantes para su establecimiento en Chile.

Las semillas fueron sembradas en un sustrato inerte (Perlita) en cajas plásticas, las cuales fueron identificadas por especie, desarrollándose en el invernadero bajo condiciones controladas, luego de 5 meses, las plantas fueron seleccionadas e inoculadas en Noviembre del 2013, al cabo de 4 meses, fueron analizadas en microscopio para determinar el nivel de micorrización.

Luego de seleccionadas las plantas se instalaron en la trufera ubicada en Duao, ubicándose entre árboles no productivos de Avellano europeo (*Corylus avellana*) permitiendo de esta forma una renovación miceliar, permitiendo que las especies colindantes fomenten su propia producción al tercer o cuarto año.

El efecto solo pudo comprobarse al año siguiente de la instalación de las especies a través de el aumento en el grado de micorrización del micelio, lamentablemente, el propietario vendió el predio, con lo cual los árboles fueron arrancados durante el año 2015, no pudiéndose determinar el efecto en la producción.

3.2.- Manejos agronómicos de producción a corto plazo

3.2.1.- Re- inoculación para incremento productivo en árboles productores

Este ensayo se realizó en tres truferas productivas, ubicadas en la séptima región y octava región. Para esto se utilizaron unidades experimentales de 18 árboles cada una (árboles productivos). Cabe señalar que se realizó el ensayo en estas truferas ya que fueron las que presentan la mayor cantidad de árboles productores.

Las labores realizadas a los árboles consistieron en mullir el suelo para descompactar los primeros 15 cm, incluyendo una poda de raíces perimetral, fuera del radio de acción radicular más cercana al árbol. Luego se realizó una mezcla de vermiculita, turba, tierra del sector, cal y caldo esporal de trufa cosechada de otros árboles productores. Luego se aplica una capa de 2 cm de conchuela molida para evitar compactaciones.

Al año siguiente, se realizó el seguimiento para determinar los efectos de los manejos agronómicos de re-inoculación en truferas poco productivas a través de un muestreo de raíces.

Para la toma de muestra se realizó la siguiente metodología: El método de muestreo consistió en 18 árboles seleccionados inicialmente (presentaban baja productividad), se consideró la toma de muestras principalmente de la especie Encina (*Quercus ilex*). A cada árbol se le extrajo una muestra de raicillas, usando herramientas propias del proceso y enseguida se guardaron en agua dentro de frascos rotulados.

Posteriormente en el laboratorio se cuantificó y analizó el nivel de micorrización de *Tuber melanosporum*. Para ello, la muestra de raíz se lleva a la lupa binocular, mediante herramientas de análisis morfológicos se va observando y fraccionando la muestra para luego cuantificar la cantidad de raicillas con *T. melanosporum*. Mediante el uso de microscopio óptico (40X y 100 X) se confirman y analizan los caracteres morfológicos de las micorrizas en estudio, las cuales son registradas. Cabe señalar que las micorrizas son comparadas con el registro previo a la aplicación de los manejos agronómicos, teniendo un aumento promedio del 15 a 20 %, estos árboles al año siguiente no aumentaron su producción. Debe realizarse un seguimiento futuro de estos árboles para determinar el incremento productivo futuro.

3.2.2.- Re- inoculación para estimular la producción en árboles no productivos

Este ensayo se realizó en tres truferas productivas, ubicadas en la séptima región y octava región, de forma conjunta con la re-inoculación de árboles con poca productividad, Para esto se utilizaron unidades experimentales de 18 árboles cada una (árboles no productivos). Cabe señalar que se realizó el ensayo en estas truferas ya que fueron las que presentan la mayor cantidad de árboles productores y no productores.

Las labores realizadas a los árboles consistieron en mullir el suelo para descompactar los primeros 15 cm, incluyendo una poda de raíces perimetral, fuera del radio de acción radicular más cercana al árbol. Luego se realizó una mezcla de vermiculita, turba, tierra del sector, cal (mayor cantidad que el ensayo anterior) y caldo esporal de trufa cosechada de otros árboles productores. Luego se aplica una capa de 2 cm de conchuela molida para evitar compactaciones.

Al año siguiente, se realizó el seguimiento para determinar los efectos de los manejos agronómicos de re-inoculación en truferas poco productivas a través de un muestreo de raíces. Para la toma de muestra se realizó la siguiente metodología: El método de muestreo consistió en 18 árboles seleccionados inicialmente (no presentaban productividad), se consideró la toma de muestras principalmente de la especie Encina (*Quercus ilex*). A cada árbol se le extrajo una muestra de raicillas, usando herramientas propias del proceso y enseguida se guardaron en agua dentro de frascos rotulados.

Posteriormente en el laboratorio se cuantificó y analizó el nivel de micorrización de *Tuber melanosporum*. Para ello, la muestra de raíz se lleva a la lupa binocular, mediante herramientas de análisis morfológicos se va observando y fraccionando la muestra para luego cuantificar la cantidad de raicillas con *T. melanosporum*. Mediante el uso de microscopio óptico (40X y 100 X) se confirman y analizan los caracteres morfológicos de las micorrizas en estudio, las cuales son registradas. Cabe señalar que las micorrizas son comparadas con el registro previo a la aplicación de los manejos agronómicos, teniendo un aumento promedio del 8 %, Ninguno de estos árboles al año siguiente entraron en producción. Debe realizarse un seguimiento futuro de estos árboles para determinar si estos árboles entran en producción a los años siguientes.

3.2.3.- Aplicación de mulching calizo

Esta actividad se realizó en dos truferas productivas, ubicadas en la séptima región. Los módulos de ensayo fueron de 12 árboles cada uno, con tres repeticiones. Los mulching analizados fueron:

- Paja de poroto
- Compost de bosta de caballo
- Conchuela fosilizada
- Testigo

El manejo realizado previa aplicación en los módulos experimentales fueron:

- Eliminación total de malezas alrededor del árbol (1mt de radio)
- Mullido del suelo para descompactar los primeros 10 cm superficiales

Para determinar la temperatura radicular en la zona se insertó un T-sensor, el cual registra la temperatura diaria de cada mulching, esta se procesó, confeccionando un gráfico mensual, permitiendo analizar el comportamiento de cada mulching. Para determinar el efecto en periodos fundamentales en la fructificación y producción de trufas se seleccionaron los meses de Diciembre-enero-febrero y Junio-Julio-Agosto.

El comportamiento de la temperatura en los 3 tipos de mulching fue igual para las dos truferas, no existiendo diferencias significativas.

Para el periodo estival comprendido desde diciembre hasta febrero, se puede inferir lo siguiente: El mulching con paja de poroto mantiene una temperatura promedio entre los 20 y 24 °C, de forma constante, no teniendo pick de temperatura como el testigo que alcanzó los 29 a 30°C. El mulching con compost de caballo y conchuela, a pesar que mantienen temperaturas bajo el testigo, mantienen pick de temperaturas durante el día

Para el periodo invernal comprendido desde Junio hasta agosto, se puede inferir lo siguiente: El Mulching con paja de poroto mantiene una temperatura promedio entre los 7 y 10 °C, con poca variabilidad, no teniendo pick de frios como el testigo que alcanzó los 3 y 4 °C. El mulching de compost de caballo y conchuela, a pesar que mantienen temperaturas un poco más cálidas, mantienen pick de temperaturas durante el día.

Por esta razón el mulching de paja de poroto cumple el objetivo en periodo estival de evitar pick de temperaturas que puedan afectar las micorrizas y la formación de primordios, además mantiene una zona con humedad durante el verano, todas estas condiciones acotadas a la zona de secano interior donde se realizó el experimento.

3.2.4.- Incremento en la producción de trufa negra del perigord en base a manejos agronómicos de alta producción

Se realizaron diferentes manejos a 3 truferas productivas, ubicadas en la región del Maule, Bio-Bio y la Araucanía. En cada trufera se realizaron las siguientes actividades.

La trufera del Maule, por ser una zona muy calurosa, se aplicó mulching de paja para disminuir la temperatura entre primavera-verano, evitando la deshidratación de los primordios, se realizaron riegos más intensos, pero más prolongados en el tiempo y se procedió a realizar podas de forma de cono, para acrecentar la sombra en el sector de mayor concentración de micelio. Se incorporó al suelo una mezcla de sustrato enriquecido con macronutrientes y micronutrientes para mejorar la fertilidad del suelo.

La trufera del Bio-Bio, por ser una zona medianamente calurosa, se aplicó mulching de paja y se aumentó el riego (de 3 al mes a 4 por mes), debido a que es un suelo franco-arenoso, con muy poca retención de agua, se realizó una poda en altura para evitar el crecimiento excesivo y se procedió a mullir el suelo para descompactar la capa superior. Se incorporó al suelo una mezcla de sustrato enriquecido con macronutrientes y micronutrientes para mejorar la fertilidad del suelo.

La trufera de la Araucanía, por ser una zona con bajas temperaturas, se procedió a incorporar malla antimaleza de color negro en la hilera de plantación, aumentando la temperatura del suelo en el periodo de formación de primordios (alcanzando una temperatura del orden de 1 a 1.5 grados más), además favoreció para evitar la compactación laminar producto del efecto de las lluvias, se redujo a dos riegos al mes en pleno verano y se realizaron podas de forma de cono invertido para incentivar la temperatura en la base de los árboles. Los resultados se registraron a los dos años de haber realizado los manejos agronómicos.

4.- Asociación de truferos de Chile

4.1.- Catastro de propietarios truferos

Se realizó un catastro de todos los propietarios truferos de Chile que desearan participar de esta asociación, generando un registro que permitió cuantificar el potencial de cada uno de ellos como productor y exportador. Para esto se analizó sus contactos de ventas, infraestructura, existencia de canales de comercialización, manejo de plataformas comerciales, etc.



4.2.- Constitución de la asociación de truferos de Chile (ATCHILE)

Una vez identificadas las personas o empresas en el catastro inicial, se procedió a constituir la asociación truficultores de Chile, la cual se realizó el 12 de abril del 2013, formada inicialmente con 16 participantes, de los cuales 7 son personas naturales y 9 son personas jurídicas. La asociación de truficultores de Chile se instauró bajo los siguientes objetivos:

- a) representar a los asociados ante autoridades y organismos públicos y/o privados, instituciones de toda índole, personas naturales y/o jurídicas, y en general, en todas aquellas actividades tanto nacionales como extranjeras en las cuales la asociación lo estime pertinente.
- b) buscar canales de comercialización, en el más amplio sentido de la palabra, y actuar como facilitador entre los socios y agentes compradores, en la comercialización de Trufas provenientes de sus plantaciones
- c) promover y fomentar el consumo y comercialización de la Trufa chilena
- d) fomentar y/o desarrollar actividades de capacitación y el encuentro con personas naturales y/o jurídicas, profesionales, productores, asociaciones u otros organismos del rubro a nivel nacional e internacional
- e) establecer vínculos con proveedores de materiales e insumos, laboratorio de suelos, centros técnicos, profesionales y empresas afines.
- f) generar una plataforma de intercambio de experiencias entre los socios
- g) desarrollar proyectos de investigación y desarrollo (I + D)
- h) establecer, actualizar y formalizar los estándares de calidad para la trufa producida en Chile, que aseguren un prestigio y posicionamiento a nivel internacional
- i) gestionar ante las autoridades correspondientes todas aquellas medidas de protección fitosanitarias y certificaciones de calidad, que permitan la inocuidad de las trufas producidas en Chile.

En la actualidad la asociación de truficultores de Chile (ATCHILE) cuenta con 30 asociados, representados por personas jurídicas y naturales. El presidente de la asociación es el Sr. Javier Rozas Vera.



4.3.- Registro de marca comercial de la asociación certificada para exportación

La asociación de truficultores de Chile, incorporo la marca ATCHILE como icono representativo de la asociación de truficultores de Chile, creando para esto un logo institucional. Además incorporo el dominio www.Atchile.cl en los registro de NIC Chile.

4.4.- Desarrollo de paquete tecnológico para establecer plataforma comercial

La asociación de truficultores de Chile, desarrolló la plataforma comercial (página web, twitter, correo electrónico, cuenta corriente, etc.) de ATCHILE para permitir a los asociados acceder a información técnica referente a valores de mercados internacionales de trufas, contactos de ventas, volúmenes de exportación, etc. Permitiendo establecer vínculos técnico y comerciales a través de la asociación con sus pares chilenos como truferos internacionales. www.atchile.cl atchile A.G Facebook

Dentro de los beneficios de los integrantes de la asociación truferos de Chile (ATCHILE) se cuenta:

- Convenios con la Universidad Católica del Maule (certificación de trufas nacionales), Universidad de Talca (Análisis de suelo), Universidad de Concepción (Análisis de micorrizas).
- Capacitación y asesoría técnica por parte de la empresa Agrobiotruf S.A. Apoyo en las labores de cosecha con perros adiestrados.
- Acceso a información sobre mercados nacionales e internacionales.

5.- Capacitar a los productores de la asociación de truficultores

La empresa Agrobiotruf S.A., realizó charlas teóricas y de campo para capacitar a los productores en la aplicación y desarrollo de manejos agronómicos desarrollados durante este proyecto, junto a los módulos experimentales para demostrar in situ como se debe realizar las labores y actividades de campo, así también se realizó un intercambio de experiencias entre productores.

5.1.- Asesoría y capacitación técnica a productores:

La empresa Agrobiotruf S.A., realizó asesorías y capacitaciones técnicas a los integrantes de ATCHILE, entregando una serie de herramientas prácticas que potencie la truficultura nacional.

- Principales problemas metodológicos enfrentados.

Dentro de los principales problemas metodológicos enfrentados en este proyecto, para el primer objetivo fue incorporar el término “normativa” dentro del documento técnico entregado a SAG, los cuales nos señalaron que solo se pueden incorporar “resoluciones”.

Para el segundo objetivo, el principal problema metodológico fue el incorporar una serie de trufas competidoras para su internación al país, lo cual no se permite por SAG, la introducción de nuevos hongos del genero Tuber que no estén señalados en las resoluciones de internación. Además en la estrategia de comercialización, no visualizamos que los propietarios establecieron contactos directamente y el envío de productos no fue de forma convencional a través de aduana, sino a través de envío de paquetes a través de correos de Chile o Chileexpress.

En el tercer objetivo, no se evaluó con anterioridad al proyecto, la baja capacidad de enraizamiento de las estacas de Quercus ilex, además la recopilación de información técnica referente a producción, depende en su totalidad del propietario, siendo recurrente la información incompleta o la falta de información en algunos periodos. En la actividad de la aplicación del mulching se agregó la incorporación de tres tipos de mulching, el calizo, los desechos de animales y la paja de poroto, estas dos últimas no incorporadas en la metodología inicial.

- Adaptaciones o modificaciones introducidas durante la ejecución del proyecto, y razones que explican las discrepancias con la metodología originalmente propuesta.

Las principales adaptaciones o modificaciones introducidas durante la ejecución de este proyecto son:

En el primer objetivo se pretendía redactar una normativa que regulara la exportación e importación de trufas para Chile, se nos informó a través del director del SAG regional, que no se puede redactar normativas, solo un documento técnico que entregue la información necesaria para evaluar la redacción de resoluciones parciales, las cuales son redactadas previa aprobación por parte del gobierno central.

En el tercer objetivo se pretendía establecer un jardín clonal a través de estacas de árboles productivos seleccionados en cada trufera, Luego de 4 meses, se realizó una selección de estacas donde no se pudo obtener enraizamiento, solo la formación de callo.

Esto genero intentar a través de otro método la reproducción de árboles selectos de la especie Quercus Ilex, por esta razón en conjunto con la Universidad Católica Del Maule, departamento de Biotecnología, se realizaron pruebas en laboratorio de brotes jóvenes de Quercus Ilex “In Vitro” para determinar la capacidad de enraizamiento de la especie. Luego de 6 meses las muestras obtenidas “In Vitro” no pudieron obtener raicillas, lo que determino la escasa capacidad de enraizamiento de la especie, no lográndose el establecimiento del jardín clonal.

Por esta razón, se realizó una recolección de las semillas de árboles productores, que permita obtener arboles con una “tendencia” a producir las características del progenitor (cabe señalar que estas características son menores que si fuese de estacas, debido a la homogeneidad de las semillas) estas plantas estarán inoculadas en septiembre del 2015.

Dentro del segundo objetivo se pretendía la traída de una serie de especies del genero Tuber sin valor comercial, lo cual no pudo realizarse, debido a la prohibición por parte del SAG de la traída de especies que no están catalogadas en Chile para su internación. Por esta razón se consiguieron las principales características morfológicas y sus respectivos marcadores moleculares para las principales trufas contaminantes.

Dentro del tercer objetivo, se pretendía introducir una serie de especies de alto rendimiento como Quercus faginea y Quercus pubescens, debido a que en Chile no existen registros de estas especies, el trámite de internación de semillas es muy complejo, debido a que se debe primero realizar un estudio de impacto y saneamiento de estas especies y posteriormente las plántulas deben permanecer en cuarentena por 4 años. Por esta razón se modificó en probar otras especies de alto rendimiento y que existieran en Chile: Como son los Populus, Quercus suber, etc.



- Descripción detallada de los protocolos y métodos utilizados, de manera que sea fácil su comprensión y Replicabilidad (se pueden incluir como anexos).



Protocolo de certificación e identificación de *Tuber melanosporum* (Trufa negra).

Extracción de ADN.

Este método consiste en la extracción de ADN mediante lisis celular mecánica con el equipo precellys 24 (Bertin, France) el cual utiliza esferas de cerámica que desintegran el material biológico y la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular con la utilización de un reactivo denominado Buffer A creado por Edwards et al. en 1990 y modificado por Cordero et al. en el 2011. Éste último utiliza separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solvente y reductora orgánica.

La concentración de ADN total de las muestras extraídas se mide directamente en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Nanodrop 2000, MA, USA) a 260 nm.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Se utiliza la técnica reacción en cadena de la polimerasa multiplex mediante el uso de partidores específicos para amplificar las regiones ITS de las diferentes especies de *Tuber* sp. (Tabla 1).

Visualización de amplificación.

El ADN total y las amplificaciones se visualizan mediante electroforesis en gel de agarosa (2% p/v). La corrida electroforética se desarrolló a 100 Volts en Buffer TAE 1X como buffer de corrida.

Tabla 1. Partidores específicos para detección de diferentes especies de Tuber.

Partidor	Detección	Autor
ITSML-LNG	Tuber melanosporum	Paolocci et al. 1999
ITSML-ITSB	Tuber brumale	Paolocci et al. 1999
ITSML-CHCH	Tuber Indicum	Paolocci et al. 1999
Tuv1sekvF-Tu2sekvR	Tuber aestivum	Gryndler et al. 2011

Referencias.

Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494.

Edward, K., C. Johnston, and C. Thompson. 1991. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. Nucleic Acids Research 19: 1349.

Gryndler, M., H. Hršelová, L. Soukupová, E. Streiblová, S. Valda, J. Borovička, H. Gryndlerová, J. Gažo, and M. Miko. 2011. Detection of summer truffle (*Tuber aestivum* Vittad.) in ectomycorrhizae and in soil using specific primers. FEMS Microbiology Letters 318: 84-91.

Paolocci F., Rubini A., Granetti B., Arcioni S. 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of *Tuber* spp. ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology 28:

INFORME TIPO DE CERTIFICACION DE TRUFAS COSECHADAS EN CHILE

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor:

Fecha:

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnología Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron X muestras de cuerpo fructífero para ser analizadas, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos. En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con 1 marcador molecular específico para *T. melanosporum* que es capaz de descartar con un 99.99 % de efectividad.

Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 2-11: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestras amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* produciendo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia.

Reacción 12: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 13: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum*. Confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

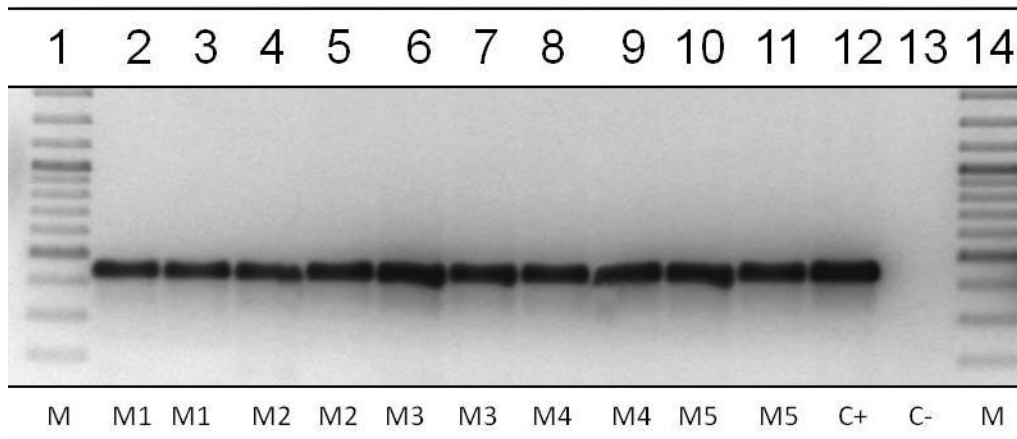


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-11. Cuerpos fructíferos denominados M1-M5 y sus repeticiones biológicas; 12. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 13. Control negativo con H₂O destilada; 14. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT.
- Juillet, 1988- n.º10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research.

3. Actividades del proyecto

- Carta Gantt o cuadro de actividades comparativos entre la programación planteada en la propuesta original y la real.

Nº OE	Nº RE	Actividades	Programado		Real	
			Inicio	Término	Inicio	Término
1	1.1	Recopilación bibliográfica sobre exportación e importación de setas	Agosto 2012	Octubre 2012	Septiembre 2012	Noviembre 2012
1	1.2	Establecimiento de una mesa de trabajo con los principales actores del rubro	Octubre 2012	Junio 2013	Octubre 2013	Mayo 2014
1	1.3	Redactar las bases técnicas obtenidas en la mesa de trabajo	Abril 2013	Junio 2013	Junio 2014	Junio 2015
2	2.1.1	Establecer marcadores para especies del genero Tuber sin valor comercial	Octubre 2012	Marzo 2013	Noviembre 2012	Marzo 2013
2	2.1.1	Resultados de los marcadores Tuber sin valor comercial	Junio 2013	Septiembre 2013	Mayo 2013	Agosto 2013
2	2.1	Protocolo de certificación genética	Julio 2013	Diciembre 2013	Agosto 2013	Octubre 2013
2	2.1	Certificación genética producción nacional	Octubre 2013 Julio 2014 Agosto 2015	Enero 2014 Octubre 2014 Septiembre 2015	Septiembre 2013 Julio 2014 Agosto 2015	Noviembre 2013 Noviembre 2014 Julio 2015

Nº OE	Nº RE	Actividades	Programado		Real	
			Inicio	Término	Inicio	Término
2	2.2	Validación y muestras de calidad organoléptica de trufas chilenas a restaurantes y hoteles a nivel nacional e internacional	Agosto 2012 Julio 2013 Julio 2014	Diciembre2012 Diciembre2013 Diciembre2014	Agosto2012 Julio 2013 Julio 2014	Diciembre2012 Octubre2013 Noviembre2014
3	3.1.1	Registro e identificación de árboles productores en plantaciones nacionales	Agosto 2012	Diciembre2012	Septiembre2012	Diciembre 2012
3	3.1.2	Selección de árboles productores para establecimiento de un jardín clonal	Agosto 2012	Diciembre2012	Noviembre2012	Diciembre2012
3	3.1.3	Importación de especies de hospederos de alto rendimiento	Octubre2012	Diciembre2012	-	-
3	3.2.1	Aplicación de técnicas de re-inoculación para incremento productivo en arboles productores	Agosto2012	Diciembre2012	Agosto 2013	Septiembre 2014
3	3.2.2	Aplicación de técnicas de re-inoculación para incremento productivo en arboles no productores	Agosto2012	Diciembre2012	Agosto 2013	Septiembre2014
3	3.2.3	Aplicación de mulching y manejo intensivo radicular	Agosto 2012	Diciembre2012	Septiembre2012	Septiembre2013
4	4.1	Catastro de propietarios truferos para conformar asociación	Octubre2012	Diciembre2012	Octubre2012	Noviembre2012
4	4.2	Constitución de la asociación y registro de marca comercial	Julio 2013	Septiembre2013	Diciembre 2012	Abril 2013
3	3.1	Establecimiento jardín clonal y producción de estacas arboles productivos	Abril 2013	Septiembre2013	-	-
4	4.4	Desarrollo de un paquete tecnológico para establecer una plataforma de venta	Enero 2013	Junio 2013	Agosto 2013	Noviembre2013

Nº OE	Nº RE	Actividades	Programado		Real	
			Inicio	Término	Inicio	Término
3	3.1	Establecimiento en terreno de especies de alto rendimiento	Julio 2013	Septiembre2013	Abril 2014	Junio 2014
3	3.2	Seguimiento re-inoculación arboles productores y no productores	Mayo 2013	Septiembre2013	Noviembre2013	Noviembre2014
3	3.2	Seguimiento en la aplicación de mulching y manejo intensivo radicular	Mayo 2013	Septiembre2013	Noviembre2013	Mayo 2014
3	3.2	Seguimiento plantas clonadas	Abril 2014	Marzo 2015	-	-
3	3.1	Seguimiento de especies de alto rendimiento	Abril 2014	Marzo 2015	Junio 2014	Mayo 2015
5	5.1	Asesoría y capacitación tecnológica para los asociados	Enero 2014 Abril 2015	Marzo 2014 Julio 2015	Julio 2013 Abril 2014	Agosto 2013 Mayo 2014

- Razones que explican las discrepancias entre las actividades programadas y las efectivamente realizadas.

Las principales razones de las discrepancias entre las actividades programadas y las efectivamente realizadas se basaron en los siguientes aspectos generales:

Para la actividad establecimiento de una mesa de trabajo y la redacción de un documento técnico, las discrepancias se debieron a las dificultades para coordinar y establecer reuniones entre distintas organizaciones, debido a las diferentes actividades que realizan cada organización, dificultando coincidir en los plazos estipulados para las reuniones.

Para la actividad de aplicación de técnicas de re-inoculación de árboles productivos y no productivos y el ensayo de la aplicación de mulching, las discrepancias entre los tiempos se debió principalmente que las truferas no contábamos con la cantidad de inóculo suficiente para incorporar a los ensayos, para lo cual tuvimos que esperar la producción de año siguiente. Referente al ensayo del mulching, se provocaron atrasos en conseguir y desinfectar los productos a aplicar como mulching.

Para la actividad del establecimiento en terreno de especies de alto rendimiento, la discrepancia se debió a que no fue autorizado por el SAG, la introducción de semillas de especies que no existan en Chile, la alternativa era mantener un invernadero en cuarentena por 4 años, lo cual no cumplía con los tiempos del proyecto, por esta razón se procedió a cambiar las especies, lo que atrasó el tiempo comprometido de la actividad.

4. Resultados del Proyecto:

- Descripción detallada de los principales resultados del proyecto, incluyendo su análisis y discusión utilizando gráficos, tablas, esquemas, figuras u otros, que permitan poder visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones relevantes del desarrollo del proyecto.

Redactar las bases técnicas obtenidas en la mesa de trabajo que permitan regular la exportación e importación del genero Tuber.

Luego de conformada la mesa de trabajo por parte de SAG, el departamento de biotecnología de la Universidad Católica del Maule, la asociación truficultores de Chile ATCHILE y la empresa Agrobiotruf S.A, se intercambiaron ideas para definir una pauta de trabajo que permitió desarrollar una serie de actividades de transferencia técnica, definiendo los criterios a evaluar en el marco regulatorio de la exportación e importación de trufa negra del perigord en fresco.

Dentro de las actividades de la pauta de trabajo destacan:

- Capacitación a organismos públicos (SAG) en la identificación del genero Tuber
- Establecer lazos cooperativos entre la universidad católica y los asociados de ATCHILE en la certificación de trufas nacionales.
- Desarrollar un plan de estrategia para supervisar viveros truferos en conjunto con SAG, que permita introducir inóculo certificado.
- Desarrollar un folleto técnico: principales riesgos para la industria de la truficultura

Como parte de estas gestiones se estableció la primera **resolución exenta 7424/2013** Que establece requisitos fitosanitarios para el ingreso de hongos para propagación y consumo procedentes de cualquier origen. Solo se autoriza el ingreso en fresco de las siguientes especies: *Tuber magnatum*, *Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum* y *Tuber borchii*.



Foto 1. Participantes de la Mesa de trabajo

RESOLUCIÓN EXENTANº:7424/2013

ESTABLECE REQUISITOS
FITOSANITARIOS PARA EL INGRESO DE
HONGOS PARA PROPAGACIÓN Y
CONSUMO, PROCEDENTES DE
CUALQUIER ORIGEN.

Santiago, 28/ 11/ 2013

VISTOS:

Lo dispuesto en la Ley Nº 18.755, Orgánica del Servicio Agrícola y Ganadero; el Decreto Ley Nº 3.557 de 1980, sobre Protección Agrícola; el Decreto Nº 156 de 1998, del Ministerio de Agricultura que habilita puerto: para la importación de vegetales, animales, productos y subproductos e insumos agrícolas y pecuarios, a territorio nacional; las Resoluciones Nº 3.080 de 2003; 3.815 de 2003; 133 de 2005; 3.589 de 2012 y sus modificaciones, todas del Servicio Agrícola y Ganadero.

CONSIDERANDO:

1. Que el Servicio Agrícola y Ganadero es la autoridad nacional encargada de la protección fitosanitaria del país.
2. Que, el Servicio Agrícola y Ganadero ha recibido solicitudes de usuarios interesados para importar al país, hongos para propagación y consumo de diferentes especies, productos sin requisito: fitosanitarios para su importación.
3. Que, el Servicio Agrícola y Ganadero está facultado para establecer los requisitos fitosanitarios para la importación al país de artículos reglamentados a fin de prevenir la introducción y dispersión de plagas reglamentadas.
4. Que, se ha desarrollado el Análisis de Riesgo de Plagas para Plagas Cuarentenarias de diferente: especies de hongos para propagación y consumo, lo que ha permitido establecer los requisitos de importación.

RESUELVO:

1. Autorízase la importación al país de las siguientes especies de hongos para consumo o propagación procedentes de cualquier origen, cumpliendo las condiciones que más adelante se detallan:

Especie
◦ <i>Agaricus bisporus</i> (Sin: <i>Agaricus brunnescens</i>)
◦ <i>Lentinus edodes</i>
◦ <i>Morchella conica</i>
◦ <i>Pholiota nameko</i>
◦ <i>Pleurotus boudan</i>
◦ <i>Pleurotus eryngii</i>
◦ <i>Pleurotus ostreatus</i>
◦ <i>Pleurotus versipellis</i>

27/2/2014

ceropapel.sag.gob.cl/documentos/documento.php?idDocumento=18398544

◦ <i>Stropharia rugoso-annulata</i>
◦ <i>Tricholoma magnivelare</i>
◦ <i>Tricholoma matsutake</i>
◦ <i>Tuber aestivum</i>
◦ <i>Tuber magnatum</i>
◦ <i>Tuber melanosporum</i>
◦ <i>Tuber uncinatum</i>

- Los envíos de hongos como material para propagación podrán ingresar al país como esporas o micelio en agar, agar-papa o agua esterilizada, como también en los siguientes sustratos:
 - *Aserrín*
 - Mazorcas molidas de *Zea mays*
 - Granos de *Pennisetum* spp., *Triticum* spp., *Secale cereale*, *Panicum mileaceum*, *Nothofagus* spp.
- Para su ingreso al país el envío deberá estar amparado por un Certificado Fitosanitario Oficial emitido por la autoridad fitosanitaria del país de origen, en original, sin declaraciones adicionales y que acredite que el envío corresponde a la especie del hongo autorizado.
- En aquellos casos de envíos en sustrato granos, el grano deberá ser sometido a un tratamiento de desvitalización por calor, el cual deberá estar señalado en la sección correspondiente del Certificado Fitosanitario.
- Los envíos de hongos frescos destinados a propagación y consumo, deberán venir libres de suelo y restos vegetales.
- El envío deberá venir en envases y material de acomodación de primer uso, no permitiéndose el reenvase.
- Los envíos serán inspeccionados a su arribo al país por profesionales del Servicio Agrícola y Ganadero destacados en el puerto de ingreso, quienes verificarán el cumplimiento de los requisitos y condiciones fitosanitarias, y con la documentación adjunta, resolverán la pertinencia de su internación u otra medida que corresponda.

ANOTESE, COMUNIQUESE Y PUBLIQUESE

ANÍBAL ARIZTÍA REYES
DIRECTOR NACIONAL SERVICIO AGRÍCOLA Y
GANADERO

OHC/PWA/AMR/JVLAR/CCS/SCD/ASL

Distribución:

- Eduardo Cristian Monreal Brauning - Director Regional Dirección Regional - Or.III
- Diego Lastarria Errazuriz - Director Regional Dirección Regional - Or.IV
- Leonidas Ernesto Valdivieso Sotomayor - Director Regional Dirección Regional - Or.VIII
- Alfredo Arnulfo Fröhlich Albrecht - Director Región de Los Lagos - Servicio Agrícola y Ganadero - Or.X
- Henríquez Raglianti Ramon Ignacio - Director Región Aysén Servicio Agrícola y Ganadero - Or.XI

<http://ceropapel.sag.gob.cl/documentos/documento.php?idDocumento=18398544>

2/3

Documento técnico

Principales riesgos para la industria de la trufa negra en Chile.

Los elevados precios que alcanza la trufa negra en los mejores mercados del mundo ha sido la causa del aumento de “fraudes” por personas inescrupulosas, que ven en esta acción una lucrativa negociación, este “fraude”, se realiza principalmente por la incorporación de trufas sin valor comercial a lotes de trufas productivas, debido a su gran parecido visual y la inexperiencia de muchos compradores, que son tentados por valores de precios menores que el mercado.

Las principales especie de trufa sin valor comercial utilizada es la trufa china (*Tuber Indicum*) y *Tuber pseudohimalayense* las que representan un riesgo para la industria tanto a nivel de ingreso a nuestro país como cuerpo fructífero (trufa fresca) como inoculo no certificado para la producción de plantas en viveros nacionales.

Las diferencias con la trufa negra (*Tuber melanosporum*) no siempre son apreciables a simple vista, por esta razón es que se debe tener una experiencia del personal que analiza las muestras, las que son estudiadas al microscopio. La principal diferencia de la trufa negra del perigord (*Tuber melanosporum*) con las trufas no comerciales es su aroma intenso, aromático y agradable, las trufas no comerciales carecen de aroma, por esta razón se mezclan con la trufa negra para aumentar la cantidad al momento de la venta, aromatizando de forma homogénea la muestra.

Este riesgo actual, no está ajeno a nuestra industria nacional, por esta razón es de suma importancia que los organismos fiscalizadores nacionales (SAG) definan un protocolo de acción, que permita poder identificar esta trufa e impedir el ingreso a Chile. Actualmente nuestro país presenta una ventaja comparativa con truferas Europeas, debido a la carencia de trufas contaminantes, que son endémicas de esas zonas, disminuyendo las producciones anuales, por esta razón se han comenzado a realizar las gestiones entre los principales actores del rubro para defender la industria nacional.

FICHA TECNICA

Trufa negra (*Tuber brumale* Vitt.)

1.- Descripción:

Trufa globosa, algo irregular de tamaño variable comprendido entre 2 y 6 cm de diámetro. Peridio negro, rugoso con verrugas, de ápice excavado, de 1 a 3 mm de altura. La gleba es de color marrón oscuro a violáceo-negro. Las venas no son tan abundantes como en el caso de *t. aestivum*, tiene color blanco con márgenes traslúcidos. Olor más intenso y persistente que *t. aestivum*. Esporas elípticas de color marrón claro, algo traslucido, están rodeadas de pequeñas espinas de 4-5 u de longitud. Las ascas son elípticas-globosas, poseen a veces un corto pedículo.

Las micorrizas son de forma clavada, simples o ramificadas de forma monopodial, pinnada o piramidal, de color ámbar oscuro con menos pigmentación en la parte distal, el manto con aspecto de puzzle pseudoparenquimático, el elemento característico de esta especie es la presencia de espínulas de color amarillento que le da una forma característica de “erizo”.

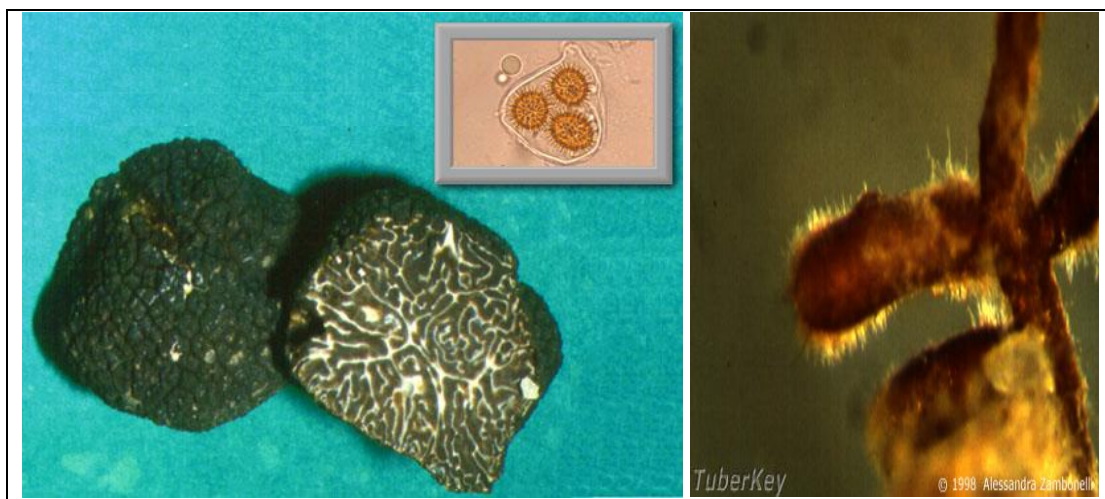


Figura 1.- Aspecto de la micorriza, esporas y carpóforos de *T. brumale* Vitt.

FICHA TECNICA

Trufa China (*Tuber Indicum*)

1.- Descripción:

Trufa de color oscura, presenta verrugas piramidales en su peridio, además sus venas son muy parecidas a *Tuber melanosporum*, en términos generales presenta un olor menos intenso, menos aromático y su interior es más densa y compacta, las esporas son más oscuras con espinas gruesas que se unen en cortas crestas. Las micorrizas presentan un micelio ausente o poco frecuente de hifas, la anatomía de las hifas que emanan: pinzas ausente, el color que emana de hifas hialinas, de color blanquecino punta, u ocre, amarillo, color marrón con presencia de cistidios de color amarillo claro; ramas presente monopodial común, o dicotómicas; pseudoparenquimático micoclona proximal o medio, o distal con células poligonales, las células con lóbulos o pseudoparenquimático.

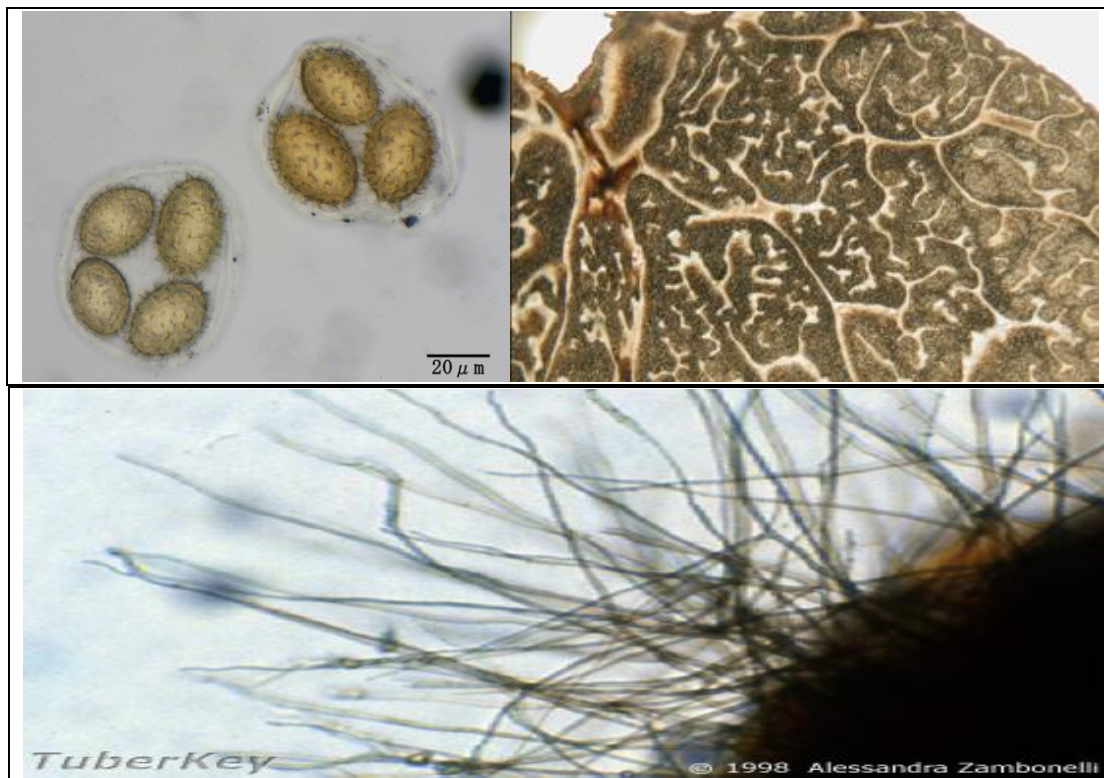


Figura 1.- Aspecto de la micorriza, esporas y carpóforos de *T. Indicum*.



Certificación de la trufa negra del perigord producida en Chile

Uno de los resultados más importantes realizados en el proyecto fue el desarrollo en conjunto con el departamento de biotecnología de la universidad católica del Maule de un protocolo de certificación de las trufas cosechadas en Chile , que permitió emitir un certificado por esta entidad a cada propietario, respaldando que el producto a exportar efectivamente es trufa melanosporum. Estos certificados se realizaron en diferentes temporadas. Anexo N° 1. Certificados productores.

Validación de la calidad gastronómica de las trufas cosechadas en chile

Referente a la validación de la calidad gastronómica de las trufas cosechadas en chile, solo se ha podido recabar información de forma oral, debido a que principalmente las trufas chilenas están en una etapa de penetración de los mercados, enviando principalmente pruebas para su degustación a nivel nacional como internacional.

Cabe señalar que se han realizado muchas actividades con chef profesionales, escuelas gastronómicas, eventos con personeros públicos, quienes han definido a la trufa nacional como una trufa para competir a nivel internacional. A continuación una serie de actividades gastronómicas y algunas exportaciones para penetración de mercado.

Muestra Culinaria en Talca

Esta actividad se realizó en Agosto del 2012 en la feria criolla de Talca: “Estamos de Chanco muerto” que reúne a diferentes expositores de muestras culinarias de todas las regiones del país, durante el evento, la empresa Agrobiotruf entregó dos trufas cosechadas en la región del Maule en julio del 2012 para ser utilizadas por el chef Héctor Celis encargado de cocinarlas, quien preparo una serie de platos con este exquisito aderezo. Dentro de estos platos destaca albóndigas trufadas con motemei.



Foto1: Chef Héctor Celis



Foto 2: cocinando con trufas



Foto 3: albóndigas con motemei



Foto 4: albóndigas, chancho y motemei

Día de Campo con el chef ejecutivo en gastronomía del hotel casino Talca

Se realizó en el mes de Junio del 2013 un día de campo con el personal encargado de la gastronomía del Hotel Casino Talca y el chef Francesco Manzone para fomentar el consumo de la trufa negra del perigord en su menú gastronómico.



Foto1. Chef Francesco Manzone



Foto 2. Personal del hotel casino Talca.

Día de campo Con personal del departamento de agricultura de Estados Unidos

Se realizó en Agosto del 2013 un día de campo con personal del departamento de agricultura de los estados Unidos para establecer lazos comerciales con ese país. En esta ocasión se realizaron degustaciones para determinar la calidad organoléptica de las trufas chilenas.



Foto 1. Propietario con personal de la embajada de Estados Unidos



Foto2. Agrobiotruf con personal de la embajada de Estados Unidos

Participación feria gastronómica de Cunco

En Mayo del 2013, la empresa Agrobiotruf s.a participo de la feria gastronómica de Cunco con el objeto de dar a conocer la calidad organoléptica de la trufa negra y la variedad de platos donde se puede utilizar.



Foto 1: participando en feria gastronómica



Foto 2: preparación conejo trufado.

Día de Campo con el chef del restaurante Emilia romagna

Se realizó en el mes de Junio del 2014 un día de campo con el personal encargado de la gastronomía del Restaurante Emilia romagna y el chef esteban contreras para fomentar el consumo de la trufa negra del perigord en su menú gastronómico.



Foto 1: Chef de Emilia romagna cocinando en campo

Exportación de las primeras trufas certificadas a suiza

El productor Guillermo Callejas con apoyo de la empresa Agrobiotruf S.A envió las primeras trufas certificadas a Suiza, siendo pionero en las exportaciones. Cabe señalar que el propietario envió a través de Chileexpress las trufas, las que llegaron al comprador en el lapso de 3 días. Este propietario debió cumplir con algunos requisitos por parte del SAG (Las trufas deben estar muy limpias, sin restos de tierra o larvas de insectos) además creó su propia marca comercial para enviar las trufas. La cantidad enviada por la temporada fue de 5 kilos a un valor de US\$ 1.600. Actualmente se están estableciendo contactos en Alemania y estados unidos para exportar las trufas cosechadas el 2014.



Foto1.- Propietario con personal de Agrobiotruf S.A cosechando trufas



Foto2. Marca comercial y forma de embalaje para exportar



Exportación de las primeras trufas certificadas a Estados Unidos

En junio del 2015, se realizó la primera exportación de trufas certificadas chilenas a estados unidos, donde se desarrollaron varios eventos gastronómicos para validar su calidad gastronómica.



Contact Ander P. del Rio Naiz
Telephone

Email
Website www.farmerschile.com

FOR IMMEDIATE RELEASE
June 29, 2015

FIRST CHILEAN TRUFFLES IMPORTED INTO THE UNITED STATES

For the first time ever, Chile has exported Black Perigord truffles to the world, imported to New York City for ProChile's Fancy Food Show Event at the Grand Banks.

Brooklyn, NY, June 29, 2015— For the first time ever, Black Perigord truffles (*Tuber melanosporum*) have been exported from Chile. The winter truffles are some of the first production of these 21st century Chilean plantations.

"We are very excited to be able to say this event marks the first ever, official truffle export from Chile, and its first official import into the United States. Perigord truffles are a brand new gourmet offering for Chile, and we firmly believe these Chilean truffles distinguish themselves with their especially high quality," said Ander del Rio, CEO of FarmersChile.com who imported the truffles for the event.

The truffled hors d'oeuvres were prepared compliments of FarmersChile.com for ProChile's Fancy Food Show event. The event, held at the Grand Banks oyster bar on June 29th, showcased a tasting of Chilean wine and Pisco, and was sponsored by ProChile along with Chilean food and beverage producers. The truffles used were donated by AT Chile A.G. (the Association of Truffle Growers of Chile), the Chilean truffle oil was donated by Katankura, and both were exported by Exportadora Farmer's Friend of Linares, Chile.



Foto1: platos para degustar en Nueva York, Estados unidos.



Foto 2. Trufas chilenas junto a subproductos nacionales

Constitución de la asociación de truficultores de Chile

Otro de los resultados muy importantes del proyecto fue la constitución de la asociación de truficultores de Chile el 12 de Abril del 2013, siendo la primera asociación de truficultores de Chile y América del sur.



205

ACTA CONSTITUTIVA

ASOCIACIÓN GREMIAL TRUFICULTORES DE CHILE A.G.

En la Escuela Agrícola San José de Duao, Duao, comuna de Maule, séptima Región del Maule, a doce días de abril del año 2013, en presencia del Ministro de Fe, don Ignacio Vidal Domínguez, Notario Público Titular de la Primera Notaría de Talca, conforme lo dispuesto el Decreto Ley N° 2.757 de 1979, se suscribe el acta de la Asamblea Constitutiva de la Asociación Gremial Truficultores de Chile, con domicilio en la Escuela Agrícola San José de Duao, Duao, comuna de Maule, séptima Región del Maule, con la asistencia de las personas que se individualizan al final de la presente acta, los cuales, por unanimidad acuerdan lo siguiente:

1.- Constituir una entidad denominada Asociación Gremial Truficultores de Chile A.G., dotada de personalidad jurídica y plena capacidad de acuerdo a las disposiciones legales establecidas en el Decreto Ley N° 2757 del año 1979 de la república de Chile, siendo sus objetivos los siguientes: a) representar a los asociados ante autoridades y organismos públicos y/o privados, instituciones de toda índole, personas naturales y/o jurídicas, y en general, en todas aquellas actividades tanto nacionales como extranjeras en las cuales la asociación lo estime pertinente; b) buscar canales de comercialización, en el más amplio sentido de la palabra, y actuar como facilitador entre los socios y agentes compradores, en la comercialización de Trufas provenientes de sus plantaciones; c) promover y fomentar el consumo y comercialización de la Trufa chilena; d) fomentar y/o desarrollar actividades de capacitación y el encuentro con personas naturales y/o jurídicas, profesionales, productores, asociaciones u otros organismos del rubro a nivel nacional e internacional; e) establecer vínculos con proveedores de materiales e insumos, laboratorio de suelos, centros técnicos, profesionales y empresa afines; f) generar una plataforma de intercambio de experiencias entre los socios; g) desarrollar proyectos de investigación y desarrollo (I + D); h) establecer, actualizar y formalizar los estándares de calidad para la trufa producida en Chile, que aseguren un prestigio y posicionamiento a nivel internacional; i) gestionar ante las autoridades correspondientes todas aquellas medidas de protección fitosanitarias y certificaciones de calidad, que permitan la inocuidad de las trufas producidas en Chile.

2.- Aprobar los Estatutos por los cuales se registrará esta asociación Gremial, dando lectura de los mismos, los que se entienden formar parte de la presente acta constitutiva y que son los siguientes:

DIARIO OFICIAL

DE LA REPUBLICA DE CHILE

Núm. 40.582.-

Año CXXXVI - N° 815.596 (M.R.)

Santiago, Miércoles 12 de Junio de 2013

Fundado el 15 de Noviembre de 1876

Núm. 1 publicado el 1 de Marzo de 1877

II
CUERPO

DECRETOS, NORMAS DE INTERÉS PARTICULAR Y PUBLICACIONES JUDICIALES

SUMARIO	
Normas Particulares	
PODER EJECUTIVO	
MINISTERIO DE ECONOMÍA, FOMENTO Y TURISMO	
Subsecretaría de Economía y Empresas de Menor Tamaño	
Asociaciones Gremiales	
Asociación Gremial Truficultores de Chile..... P.1	
MINISTERIO DE JUSTICIA	
Decreto número 382.- Concede personalidad jurídica y aprueba estatutos a "Corporación Municipal de Deportes y Recreación de Curaco de Vélez"..... P.1	
Entidades Religiosas de Derecho Público	
Iglesia Encuentro con Dios..... P.2	
MINISTERIO DE VIVIENDA Y URBANISMO	
Secretaría Regional Ministerial XII Región de Magallanes y Antártica Chilena	
Resolución número 439 exenta.- Aprueba nómina de postulantes seleccionados correspondientes al mes de abril de 2013 del Programa de Pro-	
tección del Patrimonio Familiar en su Título II, para el Acondicionamiento Técnico de Viviendas en la Región de Magallanes y Antártica Chilena y aprueba recursos que se destinarán al financiamiento de subsidios correspondientes al citado Programa..... P.3	
MINISTERIO DE TRANSPORTES Y TELECOMUNICACIONES	
Subsecretaría de Telecomunicaciones	
Decreto número 263 exento.- Modifica concesión de radiodifusión sonora de mínima cobertura para la comuna de Buin..... P.4	
PUBLICACIONES JUDICIALES	
Juicios de Quiebras	
A	
Águila Walter - Ingeco S.A..... P.6	
B	
Bisquert Torrealba Luis Felipe Ramón y Buhler Winkler Guillermo Carlos..... P.6	
C	
C & G Chile S.A. - Julio Bernabé y Compañía Limitada..... P.6	
Comercial Diez de Julio Ltda. / Comercializadora Imex Chile Limitada / Constructora e Inmobiliaria Montegrande Limitada y Constructora Ferroprep S.A..... P.7	
G	
General Telephone S.A..... P.7	
P	
Papelera Pons S.A.C.I..... P.7	
S	
Soc. Constructora Longhi / Soc. Financiera del Sur S.A. - So-	
ciudad Comercial El Sendero Ltda. / Soc. Industria Sodipol Limitada / Soc. Wildery Cia. Ltda. / Sociedad Constructora e Inmobiliaria Meta Limitada / Sociedad Financiera del Sur S.A. - Empresa Minera Chorrillos Ltda. y Syngenta Agribusiness S.A. - Agrícola Forestal Automotriz Franco Temuco S.A..... P.7	
V	
Vidrios y Aluminios Lagos Limitada..... P.7	
Muertes presuntas de: Benavides Mansilla Rodrigo Andrés / Hernández Soto Manuel Wenceslao y Manosalva Cárcamo Ramón Arnobio..... P.7	
Avisos de: Industrias Cleaner Chile S.A..... P.4 Ministerio de Obras Públicas..... Pp. 4 y 5 Russo-Balt Belaz S.A..... P.5	

Normas Particulares

PODER EJECUTIVO

Ministerio de Economía, Fomento y Turismo

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMPRESAS DE MENOR TAMAÑO

Asociaciones Gremiales

ASOCIACIÓN GREMIAL TRUFICULTORES DE CHILE

(Extracto)

Ignacio Vidal Domínguez, Notario Público Titular Talca, 1 Norte 963, Of. 103, certifico: Que con fecha 12 de abril de 2013, se constituyó Asociación gremial Truficultores de Chile. Domicilio: Escuela Agrícola San José de Duao, comuna Maule, Séptima región del Maule. Objeto: promover la racionaliza-

ción, desarrollo y protección de la actividad común de sus socios, cual es: a) Representar a los asociados ante autoridades y organismos públicos y/o privados, instituciones de toda índole, personas naturales y/o jurídicas, y, en general, en todas aquellas actividades tanto nacionales como extranjeras en las cuales la asociación lo estime pertinente; b) buscar canales de comercialización, en el más amplio sentido de la palabra, y actuar como facilitador entre los socios y agentes compradores en la comercialización de Trufas provenientes de sus plantaciones; c) promover y fomentar el consumo de la Trufa Chilena; d) fomentar y/o desarrollar actividades de capacitación y el encuentro con personas naturales y/o jurídicas, profesionales, productores, asociaciones, u otros organismos del rubro a nivel nacional e internacional; e) establecer vínculos con proveedores de materias e insumos, laboratorio de suelos, centros técnicos, profesionales y empresas afines; f) generar una plataforma de intercambio de experiencias entre los socios; g) desarrollar proyectos de investigación y desarrollo (I+D); h) establecer, actualizar y formalizar los estándares de calidad para la fruta producida en Chile, que aseguren un prestigio y posicionamiento a nivel internacional; i) gestionar ante las autoridades correspondientes todas aquellas medidas de protección fitosanitarias y certificaciones de calidad, que permitan la inocuidad de las Trufas

producidas en Chile. El Directorio quedó constituido por Presidente: Javier Norberto Rozas Vera, Vicepresidente: Rafael Leonardo Henríquez Chamorro, Secretario: Karin Zapata Staub, Tesorero: Patricia Schneider López, Director: Carlos Weber Dietrich. Asistieron a la constitución de la asociación dieciséis personas, siete de ellas personas naturales y nueve personas jurídicas. Quedó inscrita en Ministerio de Economía, Fomento y Turismo con número 272-7. Demás estipulaciones constan en documento protocolizado con el número 205, repertorio N° 1594-2013. Talca, 6 de junio de 2013.

Ministerio de Justicia

CONCEDE PERSONALIDAD JURÍDICA Y APRUEBA ESTATUTOS A "CORPORACIÓN MUNICIPAL DE DEPORTES Y RECREACIÓN DE CURACO DE VELEZ"

Santiago, 9 de mayo de 2013.- Hoy se decretó lo que sigue:

Núm. 382.- Vistos: Estos antecedentes, lo dispuesto en el artículo N° 118, de la Constitución Política de la República de Chile; en el decreto con fuerza de

Decretos, Normas de Interés Particular y Publicaciones Judiciales



Actualmente la asociación gremial Truficultores de Chile se compone del siguiente directorio:

Presidente: Javier Norberto Rozas Vera

Vicepresidente: Rafael Leonardo Henríquez Chamorro

Tesorera: Patricia Elena Schneider López

Secretaria: Karin Elizabeth Zapata Staub

Director: Carlos Ricardo Weber Dietrich

Además la asociación cuenta con 30 asociados, representados por empresas privadas y personas naturales.



Foto 1. Reunión constitutiva de la asociación truficultores de Chile

- Cuadro comparativo de los resultados esperados en la propuesta de proyecto y los alcanzados finalmente.

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Meta del indicador (esperado)	Meta del indicador (logrado real)	Fecha real alcance meta	
1	1	Bases técnicas regulatorias para la exportación del genero Tuber	Documento técnico	cantidad documentos	1	1	Junio 2015	100%

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Meta del indicador (esperado)	Meta del indicador (logrado real)	Fecha real alcance meta	
2	1	Certificación de trufas negras cosechadas en Chile	Protocolo de certificación de trufas cosechadas	Cantidad documento técnico	1	1	Diciembre 2013	100%
			Certificación lotes de producción	% del volumen total	10% del volumen producido	10% del volumen producido	Diciembre 2014	100%
					20 % del volumen producido	20% del volumen producido	Julio 2015	

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Meta del indicador (esperado)	Meta del indicador (Logrado real)	Fecha real alcance meta	
2	2	Validación calidad gastronómica de las trufas cosechadas en Chile.	Nivel calidad trufas cosechadas según forma, aroma y degustación	% calidad	30% calidad alta 55% calidad media 15% calidad baja	40% calidad alta 50% calidad media 10% calidad baja	Julio 2015	200% 50% 100%
			Calidad organoléptica	Nº de restaurantes, chef y hoteles	15	12	Julio 2015	75%
			Valor comercial por calidad	U\$/kg de alta, mediana y baja calidad	U\$ 1.600 calidad alta U\$ 1.200 calidad media U\$ 120 calidad baja	U\$ 1.400 calidad alta U\$ 1.100 calidad media U\$ 300 calidad baja	Julio 2015	150% 100% 125 %

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Meta del indicador (esperado)	Meta del indicador (logrado real)	Fecha real alcance meta (una vez logrado)	
3	1	Método estandarizado de manejo agronómico que permita un incremento productivo	Productividad promedio de truferas según año plantación	Kg/ha 5 año Kg/ha 6 año Kg/ha 7 año Kg/ha 8 año Kg/ha 9 año Kg/ha 10 año	0.3-0.35 Kg/ha 0.8-2 Kg/ha 3.5-5.5 Kg/ha 7.5-10.5 Kg/ha 12.5-18.5 Kg/ha 0 Kg/ha	0.428 kg/ha 1.004 Kg/ha 2.453 Kg/ha 5.725 kg/ha 17 k/ha 0 kg/ha	Julio 2015	200 % 100% 40% 260% 450% 0%
			Cantidad truferas productivas por edad	Nº trufera 5 años	2	3	Julio 2015	150%
				Nº truferas 6 años	5	4		67%
				Nº truferas 7 años	4	4		100%
				Nº truferas 8 años	2	2		133%
				Nº truferas 9 años	3	4		
			Cantidad total truferas productivas	Nº truferas en producción/año	16	17	Julio 2015	109%

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Meta del indicador (esperado)	Meta del indicador (logrado real)	Fecha real alcance meta	
3	2	Método estandarizado de manejo agronómico que permita un incremento productivo	producción total de trufas en Chile	Kg total	100kg/año	55 kg/año	Julio 2015	52%
			Cantidad clones terreno	Nº clones /trufera	20	0		0%
			Densidad de clones terreno	Nº clones/ha	50	0		0%

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Meta del indicador (esperado)	Meta del indicador (logrado real)	Fecha real alcance meta	
4	1	Constitución de la asociación de truficultores de Chile	Productores y comercializadores participante en la asociación	Nº socios	25	30	Abril 2014	120%
			Superficie truferas productivas perteneciente a ATCHILE	Nº ha productivas	20	90	Abril 2014	450%

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Meta del indicador (esperado)	Meta del indicador (logrado real)	Fecha real alcance meta (una vez logrado)	
5	1	Capacitación y asesoría técnica a la asociación	Capacitaciones y asesorías entregadas	Nº capacitaciones y asesorías	5	5	Mayo 2014	100%
			Cantidad de socios capacitados	Nº socios capacitados	52	30	Mayo 2014	58%

- Razones que explican las discrepancias entre los resultados esperados y los obtenidos.

Las principales discrepancias se obtuvieron en resultado esperado de validación de la calidad gastronómica de las trufas cosechadas, debido a que solo logramos que 12 entes (chef, restaurantes y hoteles) validaran la calidad organoléptica, alcanzando solo el 75% de los resultados esperados (meta esperada al final del proyecto 15 entes).

Referente a la productividad promedio de las truferas productivas en Chile, según año de plantación, se esperaba un rendimiento superior entre el sexto y séptimo año, alcanzado rendimiento bajo lo esperado del orden de un 40 % según modelos australianos. La disminución se debió principalmente a malas prácticas en el manejo agronómico y el descuido en algunas truferas en la mantención anual.

Así también la producción total de trufas en Chile, solo se alcanzó un 52% de lo esperado (se lograron 55 kilos en total y se esperaba del orden de 100 kg total, esto se debió a la pérdida de algunas truferas productivas y la escasa producción de algunas truferas por falta de manejos agronómicos).

También se lograron discrepancias en la cantidad de socios capacitados, ya que la asociación está compuesta por 30 socios, los cuales todos fueron capacitados, se esperaba un número mayor de socios (52 participantes), lográndose un 58% de lo esperado.

5. Fichas Técnicas y Análisis Económico:

- Fichas técnicas y de costos del o los cultivos, rubros, especies animales o tecnologías que se desarrolló en el proyecto (*según corresponda a la naturaleza del proyecto*).

FICHA TECNICA

Trufa negra del perigord (*Tuber melanosporum* Vitt.)

1.-Descripción

El nombre de la trufa negra de invierno viene del latín: *Tuber*= protuberancia; *melanosporum*= negro, por sus esporas.

Trufa globosa a subglobosa, de 3 a 12 cm de diámetro, firme y compacta. Peridio negro, mate, recubierto de verrugas piramidales y poligonales de 3-5 mm. Gleba compacta, al principio gris violáceo y en la madurez parda negruzco, recorrida por venaciones estériles blanquecinas, de tonalidades rosadas al contacto con el aire. Olor perfumado muy característico y de agradable sabor (Moreno *et al.*, 2005). Las esporas son elipsoidales, espinosas y de tamaño variable según el número de esporas que tenga el asco, llegando hasta 40x20 μ m, son de color pardo oscuro cuando están maduras, las espinas son muy largas y finas llegan a medir hasta 5 μ m de longitud.



Figura 1. Aspecto de la micorriza, esporas y carpóforos de *T. melanosporum*.

Análisis de Rentabilidad del Cultivo de Trufa Negra

Flujos	Año 0	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9
Producción Kg	0	0	0	0	0	4	9	18	26	31
Ingresos \$/hectárea	0	0	0	0	0	1,577,055	3,558,095	6,615,000	9,671,905	11,652,945
Egresos \$/hectárea	0	746,550	891,870	933,870	1,689,870	1,608,538	1,134,590	1,198,785	1,262,980	1,304,582
Desmalezado, Mantenición y Riego	0	435,000	435,000	435,000	435,000	435,000	435,000	435,000	435,000	435,000
Cosecha	0	0	0	0	720,000	120,000	120,000	120,000	120,000	120,000
Encalado Mantenición	0	0	0	0	0	491,000	0	0	0	0
Poda	0	0	0	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000
Servicios laboratorio	0	96,000	96,000	96,000	96,000	96,000	96,000	96,000	96,000	96,000
Asesorías	0	0	138,400	138,400	138,400	138,400	138,400	138,400	138,400	138,400
Administración	0	180,000	180,000	180,000	180,000	211,541	251,162	312,300	373,438	413,059
Imprevistos	0	35,550	42,470	44,470	80,470	76,597	54,028	57,085	60,142	62,123
Resultado	0	-746,550	-891,870	-933,870	-1,689,870	-31,483	2,423,505	5,416,215	8,408,925	10,348,363
Inversión	7,786,000	0	0	261,000	0	0	261,000	0	0	261,000
Preparación Terreno	1,806,000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Establecimiento Plantación	4,240,000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Equipamiento	1,740,000	0	0	261,000	0	0	261,000	0	0	261,000
Flujo de Caja	-7,786,000	-746,550	-891,870	-1,194,870	-1,689,870	-31,483	2,162,505	5,416,215	8,408,925	10,087,363

Análisis de Rentabilidad del Cultivo de Trufa Negra

Año 10	Año 11	Año 12	Año 13	Año 14	Año 15	Año 16	Año 17	Año 30
33	34	35	35	35	35	35	35	35
12,602,556	12,992,042	13,141,454	13,197,287	13,217,947	13,225,563	13,228,367	13,229,399	13,230,000
1,840,074	1,332,703	1,335,841	1,337,013	1,337,447	1,853,157	1,337,666	1,337,687	1,337,700
435,000	435,000	435,000	435,000	435,000	435,000	435,000	435,000	435,000
120,000	120,000	120,000	120,000	120,000	120,000	120,000	120,000	120,000
491,000	0	0	0	0	491,000	0	0	0
40,000	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000
96,000	96,000	96,000	96,000	96,000	96,000	96,000	96,000	96,000
138,400	138,400	138,400	138,400	138,400	138,400	138,400	138,400	138,400
432,051	439,841	442,829	443,946	444,359	444,511	444,567	444,588	444,600
87,623	63,462	63,611	63,667	63,688	88,246	63,698	63,699	63,700
10,762,482	11,659,340	11,805,613	11,860,274	11,880,500	11,372,406	11,890,702	11,891,712	11,892,300
0	0	261,000	0	0	261,000	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	261,000	0	0	261,000	0	0	0
10,762,482	11,659,340	11,544,613	11,860,274	11,880,500	11,111,406	11,890,702	11,891,712	11,892,300

Análisis de Rentabilidad del Cultivo de Trufa Negra

Inversión	Jornada/Maq.	Jornada/Hom.	Insumos o servicios	Monto Total
Subsolado y aradura	2	0	\$ 0	\$ 140,000
Rastraje	1	0	\$ 0	\$ 25,000
Encalado inicial	2	2	\$ 1,575,000	\$ 1,641,000
Preparación Terreno				\$ 1,806,000
Ahoyadura, estacada, plantación	0	10	\$ 0	\$ 80,000
Plantas y asesoría inicial	0	0	\$ 4,160,000	\$ 4,160,000
Plantación				\$ 4,240,000
Instalación Riego 1lt/seg	0	0	\$ 1,500,000	\$ 1,500,000
Establecimiento plantación	0	5	\$ 200,000	\$ 240,000
Equipamiento				\$ 1,740,000

Labores año	Jornada/Maq.	Jornada/Hom.	Insumos o servicios	Monto Total
Desmalezado, Mantenimiento y Riego al año	3	45	\$ 0	\$ 435,000
Encalado Mantenimiento cada 5 años	1	2	\$ 450,000	\$ 491,000
Cosecha	0	15	\$ 0	\$ 120,000
Poda desde año 3	0	5	\$ 0	\$ 40,000
Servicios de laboratorio al año	0	0	\$ 96,000	\$ 96,000

Supuestos	Valores
Labor Maquinaria pesada / jornada	\$ 70,000
Jornada Maquinaria liviana	\$ 25,000
Jornada Hombre	\$ 8,000
Cal agrícola \$/ton (puesta predio)	\$ 45,000
Aplicación Cal Ton/Ha	35
Análisis laboratorio / muestra	\$ 32,000
Perro Recolector (adquisición 1 perro)	\$ 600,000
Electricidad, Mantenimiento \$/mensual	\$ 40,000
Precio Venta Trufa Eur/Kg	€ 650.00
Tipo Cambio \$/Euro	\$ 797
Plantas por Hectárea	416
Precio Planta micorrizada \$/Un. sin IVA	\$ 10,000
Mantenimiento Equipamiento % Valor Compra	15%
Administración \$/mensuales	\$ 15,000
Administración % Venta	2%
Imprevistos % Egresos	5%
Asesoría y Análisis Técnicos UF/año	UF 8

- Análisis económico actualizado, comparando con los análisis de la propuesta de proyecto.

La truficultura nacional ha tenido un crecimiento del orden del 30 % desde que se inició el proyecto, donde existían del orden de 120 hectáreas plantadas (2012) alcanzando hoy en día del orden de 400 hectáreas, esto ha permitido una producción anual del orden de 55 kilos de trufa fresca. En la actualidad el crecimiento anual es del orden de 40 hectáreas anuales, con una proyección al 2025 del orden de 1000 hectáreas a nivel nacional, que permitiría posicionarnos en el mercado internacional. Si bien es cierto que el volumen a nivel nacional es muy pequeño, es importante haber comenzado con las primeras exportaciones y degustaciones en el extranjero, permitiendo posicionar la calidad de nuestras trufas a nivel mundial, siendo capaz de competir con trufas australianas, españolas y francesas.

En la actualidad, a través de la aplicación de manejos agronómicos desarrollados por la empresa Agrobiotruf S.A en el marco de este proyecto, ha permitido adelantar la entrada en producción de nuevas truferas entre el tercer y cuarto año, además de aumentar la producción de truferas de escasa productividad. Si a esto se le agrega que el precio de la trufa se ha mantenido del orden de 600 a 650 euros el kilo, genera perspectivas favorables en el futuro, permitiendo posicionar a Chile como un pequeño polo productivo al sur del Mundo.

- Análisis de las perspectivas del rubro, actividad o unidad productiva desarrollada, después de finalizado el proyecto.

El mercado internacional de la trufa negra está en continua expansión, debido a la alta demanda del producto a nivel mundial y la escasa oferta por parte de Europa, principales productores de trufa natural, esto ha permitido que nuevos países del cono sur, como Australia, nueva Zelanda, Tasmania y actualmente Chile comiencen a ser actores relevantes e influyentes en las exportaciones, abriéndose nuevos nichos de mercado.

En Chile, a pesar que el negocio de la trufa negra esta incipiente, teniendo producciones muy bajas en comparación con las producciones del cono sur: principalmente las Australianas, está en la perspectiva y orientación correcta, lo que permitirá en los próximos 10 años ser un actor mucho más importante en las exportaciones de trufa del cono sur.

Uno de los aspectos fundamentales obtenidos del proyecto y que beneficiara en el futuro las exportaciones nacionales, fue el validar y certificar la trufa negra del perigord cosechada en Chile como una trufa de alta calidad organoléptica, lo que respaldara técnicamente las acciones futuras de penetración de mercados internacionales, permitiendo proyectarse como un polo productivo y competitivo a nivel mundial.

- Descripción estrategias de marketing de productos, procesos o servicios (*según corresponda a la naturaleza del proyecto*).

Durante la ejecución del proyecto se desarrollaron distintas estrategias de manejo, comercialización y acciones para incentivar la exportación de trufa a nivel internacional.

Para Aumentar los niveles de producción al mediano plazo se desarrollaron manejos agronómicos adecuados para cada trufera, con el objetivo de aumentar el volumen de trufas en fresco, así también a través de los manejos agronómicos se ha adelantado la entrada en producción, incorporado nuevos exportadores en el corto plazo

Se ha difundido el cultivo de la trufa en diferentes medios de comunicación: televisión, prensa, programas radiales, etc. Con el objetivo de incentivar el cultivo entre empresarios y agricultores, generando una alternativa de cultivo de alta rentabilidad y de exportación a mercados internacionales.

A través de la asociación de truficultores de Chile S.A, se ha podido establecer lazos comerciales con importadores de Europa y estados unidos, especialistas internacionales y además de asociaciones de truficultores, que permita asentar las bases comerciales para futuras exportaciones. Cabe señalar que la asociación está en conversaciones con ProChile para realizar capacitaciones a sus asociados de como exportar el producto de la trufa a diferentes mercados internacionales.

Actualmente en Chile, se está posicionando la exportadora y comercializadora Farmer's Friends, quien realizó el primer envío a Estados Unidos de trufas frescas y productos secundarios de la trufa (aceites trufados, Sal trufada, pastas trufadas, etc.) siendo para el 2016, un poder comprador en Chile que permitirá recolectar y acopiar las trufas cosechadas de la temporada, unificando el volumen de exportación.

6. Impactos y Logros del Proyecto:

- Descripción y cuantificación de los impactos obtenidos, y estimación de lograr otros en el futuro, comparación con los esperados, y razones que explican las discrepancias.

Producción: La producción se midió en base al número de kilos de trufa por hectárea que producen en promedio los propietarios, la comparación se realizó en base a la curva de crecimiento promedio y los parámetros que han desarrollado los australianos. Durante los dos primeros años de producción, el crecimiento productivo ha sido levemente mejor que el promedio mínimo de los australianos, obteniendo del orden de 200 a 300 gr más de producto.

En el séptimo y octavo año, las producciones nacionales en promedio están bajo el mínimo australiano, del orden de 600 a 1300 gr, se debe principalmente a que en esta etapa debe realizarse manejos agronómicos que permitan una activación miceliar e incorporar un encalado de apoyo, lo cual se está realizando en conjunto con los productores.

El noveno año ha presentado en las dos truferas que actualmente presentan esta edad productiva un crecimiento promedio superior al modelo australiano, del orden de 5000 gr, lo que nos da una señal, que la productividad nacional puede ser del orden de 30-35 kg/ha al año decimo.

Capacitación y asesoría técnica: Durante el proyecto se capacitaron directamente 30 personas, integrantes de la asociación de truficultores de Chile, en la aplicación de manejos agronómicos que incentiven la activación miceliar, aumentando las producciones nacionales. Además se capacitaron en la certificación y mejoras en la calidad de los productos que serán enviados al extranjero.

Al inicio del proyecto se estimaba del orden de 50 personas los integrantes de la asociación, lamentablemente solo se llegó a 30 los integrantes, se espera que el próximo año se integren más personas a la asociación de truficultores de Chile.

Certificación del producto: Durante el proyecto se desarrolló un servicio en conjunto con el departamento de biotecnología de la universidad católica del Maule para certificar los lotes de trufas cosechadas en Chile. Este servicio al término del proyecto estará a disposición de cualquier persona que desee certificar sus productos. Cabe señalar que este servicio no existía en Chile antes del proyecto.

- Indicadores de impactos y logros a detallar dependiendo de los objetivos y naturaleza del proyecto:

Impactos Productivos, Económicos y Comerciales

Logro	Al inicio del Proyecto	Al final del proyecto	Diferencial
Formación de empresa o unidades de negocio			
Producción (<i>por producto</i>) N° de kilos de trufa/ha según curva de crecimiento (año productivo modelo australiano) *: aun en chile no existen truferas productivas de 10 años	Año 5: 0.2-0.25 kg/ha Año 6: 0.7-1.5 kg/ha Año 7: 3-5 kg/ha Año 8: 7-10 kg/ha Año 9: 12-18 kg/ha Año 10: 20-25 kg/ha	Año 5: 0.4 kg/ha Año 6: 1.0 kg/ha Año 7: 2.4 kg/ha Año 8: 5.7 kg/ha Año 9: 17 kg/ha Año 10: 0 kg/ha *	Año 5: 0.2 kg/ha Año 6: 0.3 kg/ha Año 7: 0.6 kg/ha (-) Año 8: 1.3 kg/ha (-) Año 9: 5 kg/ha Año 10: 0 kg/ha*
Costos de producción			
Ventas y/o Ingresos			
<i>Nacional</i>			
<i>Internacional</i>			
Convenios comerciales			

Impactos Sociales

Logro	Al inicio del Proyecto	Al final del proyecto	Diferencial
Nivel de empleo anual			
Nuevos empleos generados			
Capacitaciones y asesorías a integrantes de ATCHILE	50	30	20 (-)

Impactos Tecnológicos

Logro	Numero			Detalle
	Nuevo en mercado	Nuevo en la empresa	Mejorado	
Producto				
Proceso				
Servicio	Certificación de trufas cosechadas en chile			Informe de certificación por lotes de trufas cosechadas en chile para exportación

Propiedad Intelectual	Número	Detalle
Patentes		
Solicitudes de patente		
Intención de patentar		
Secreto industrial		
Resultado no patentable		
Resultado interés público		

Logro	Número	Detalle
Convenio o alianza tecnológica		
Generación nuevos proyectos		

Impactos Científicos

Logro	Número	Detalle (<i>Citas, título, descripción</i>)
Publicaciones		
(<i>Por Ranking</i>)		
Eventos de divulgación científica		
Integración a redes de investigación		

Impactos en Formación

Logro	Numero	Detalle (<i>Título, grado, lugar, institución</i>)
Tesis pregrado		
Tesis postgrado		
Pasantías		
Cursos de capacitación		

7. Problemas Enfrentados Durante el Proyecto:

- Legales

En el aspecto legal, el único problema fue la demora en desarrollar las resoluciones que tipificaban las variedades de trufa en fresco importadas permitidas en Chile. Cabe señalar el compromiso de la empresa de seguir gestionando otros aspectos legales como la regulación por parte del SAG que los viveros productores de plantas utilicen inóculo certificado y controlar a través de un protocolo, la certificación de las trufas en fresco exportadas e importadas.

- Técnicos

En el aspecto técnico, nos enfrentamos a dos problemas:

La escasa capacidad de enraizamiento de estacas de árboles productores de la especie *Quercus Ilex.*, lo que se tradujo en el incumplimiento del establecimiento del jardín clonal.

Como alternativa se recolectaron semillas de árboles productores y se inocularon para establecer un ensayo de 50 plantas en terreno y determinar si presentan una tendencia a entrar en producción. Esto se realizó posterior a la fecha término del proyecto.

La falta de experimentar con otras especies de árboles altamente productores en Europa, principalmente *Quercus pubescens* y *Quercus Faginea* por exceder los plazos del proyecto debido a la cuarentena que debían permanecer estas especies.

Cabe señalar que la empresa está gestionando la traida de estas especies y utilizar un área cercana al vivero para establecer un huerto experimental bajo cuarentena.

- Administrativos

En este aspecto no hubo problemas durante la ejecución del proyecto

- Gestión

En este aspecto no hubo problemas durante la ejecución del proyecto.



- Medidas tomadas para enfrentar cada uno de ellos.

Legales:

Incentivar al SAG a ser un actor relevante en la regulación y control de la exportación e importación de trufa fresca a través de la incorporación de resoluciones y normativas regulatorias a nivel nacional.

Establecer capacitaciones con personal del SAG para la identificación y reconocimiento de las principales amenazas que puedan afectar a este rubro.

Técnicos:

Como alternativa de la escasa capacidad de enraizamiento de la especie *Quercus ilex*, se recolectaron semillas de árboles productores y se inocularon para establecer un ensayo de 50 plantas en terreno y determinar si presentan una tendencia a entrar en producción. Esto se realizara posterior a la fecha término del proyecto.

Como alternativa por La falta de experimentar con otras especies de árboles altamente productores en Europa, principalmente *Quercus pubescens* y *Quercus Faginea*, la empresa está gestionando la traída de estas especies y utilizar un área cercana al vivero para establecer un huerto experimental bajo cuarentena.

8. Otros Aspectos de Interés

Otros aspectos de interés fue la participación de la empresa Agrobiotruf S.A en la feria del día de la mujer campesina que contó con la participación del ministro de Agricultura de la época el Sr. Luis Mayol y la primera dama la Sra Cecilia Morel en el año 2013.

La participación de la empresa Agrobiotruf S.A y la asociación de truficultores de Chile en conjunto con FIA de la inauguración de la temporada de cosecha de trufa 2014 junto al restaurante Emilia Romagna en la ciudad de Concepción con la participación del director de FIA: El Sr Héctor Echeverría y personeros públicos.

La participación de la empresa Agrobiotruf S.A y la asociación de truficultores de Chile en conjunto con FIA de la inauguración de la temporada de cosecha de trufa 2015 junto al ministro de agricultura el Sr. Carlos Furche Y la participación del director de FIA El Sr Héctor Echeverría y personeros públicos.

9. Conclusiones y Recomendaciones:

- Desde el punto de vista:
 - Técnico

Durante el desarrollo del proyecto se obtuvieron resultados técnicos que permitieron por una parte, establecer parámetros de manejos agronómicos que estimulen la entrada en producción en truferas de 3 y 4 años y que además permita aumentar las producciones nacionales.

Así también se definieron los protocolos para la certificación de las trufas cosechadas en Chile, permitiendo exportar un producto con respaldo técnico, generando una confianza con los importadores internacionales.

Además cabe señalar el vínculo técnico-profesional entre la empresa Agrobiotruf S.A y la asociación de truficultores de Chile generado con SAG, que permitirá fiscalizar y regular el rubro de la truficultura nacional.

- Económico

Durante el desarrollo del proyecto el beneficio económico, se basó principalmente en la comercialización nacional y la exportación de trufa fresca por parte de los propietarios.

El precio de la trufa en promedio se comercializó a nivel de productor del orden de los U\$ 1.000 a 1.200. Los propietarios que pudieron exportar la trufas, las comercializaron en Suiza y en Estados Unidos entre U\$ 1.400 a 1600 dólares el kilo en fresco, según datos proporcionados por los productores a nivel nacional se consumieron del orden de 12 kilos y se exportaron del orden de 10 kilos, el resto de la producción los propietarios en conjunto con Agrobiotruf realizaron una re- inoculación de sus truferas para aumentar la producción los próximos dos años siguientes.

- De gestión.

Durante el desarrollo del proyecto en el ámbito de la gestión se estableció la asociación de truficultores de Chile (ATCHILE), quien ha permitido generar vínculos profesionales y comerciales entre los asociados, además de establecer y gestionar lazos comerciales con importadores internacionales.

IV. INFORME DE DIFUSIÓN

- Difusión de los resultados obtenidos **adjuntando** las publicaciones realizadas en el marco del proyecto o sobre la base de los resultados obtenidos, el material de difusión preparado y/o distribuido, las charlas, presentaciones y otras actividades similares ejecutadas durante la ejecución del proyecto.
- **Díptico informativo:** El díptico informativo se entregaba a los productores miembros de la asociación de truficultores de Chile, asistentes a las charlas técnicas.



- Folleto informativo en ferias y exposiciones

AGRO BIOTRUF®

www.trufaschile.cl

DUAO TALCA-VII REGION DEL MAULE CHILE.

¿Qué son las trufas?

Las trufas son los cuerpos fructíferos de hongos Ascomicetos del género *Tuber*, que se desarrollan bajo la superficie de la tierra (hipogeos). Estos hongos viven en simbiosis ectomicorrícica con algunos árboles forestales tales como Encinos, encinas y avellanos.

Las trufas han sido consumidas desde épocas remotas, egipcios, romanos y griegos conocían y admiraban sus propiedades. Las trufas, hoy en día, son consideradas, para algunos, como un alimento de gran poder afrodisíaco y como el aromatizante por excelencia para condimentar o aromatizar variedad de platos exquisitos, y darles un “toque” de sabor absolutamente inigualable.

Una de las trufas más interesantes de cultivar es *Tuber melanosporum*, conocida como trufa negra del perigord, por su alta demanda en el mercado internacional

Los árboles más aptos para el desarrollo del *Tuber melanosporum* son *Quercus ilex* (Encina), *Quercus robur* (Roble europeo), *Quercus pubescens* (Roble negro) y *Quercus faginea* (Roble carrasqueño) La trufa necesita de un Periodo inicial de 4-5 años para adaptarse al terreno y producir una sobresaturación de micelio. Cuando alcanza volúmenes muy importantes, se generan los primordios (al que podríamos denominar estadio inicial de la trufa). Solo cuando las trufas están maduras emiten el potente aroma que las caracteriza y que las hace tan valoradas en la gastronomía.



¿Qué se necesita para establecer una plantación trufera?

Para establecer una plantación trufera se requiere de tres factores importantes: **El suelo** debe presentar una serie de características físicas, estructura, capacidad de drenaje, capacidad de retención de agua y balance de elementos nutricionales entre otros. **El Clima** debe ser de tipo continental, con estaciones bien marcadas, inviernos fríos y veranos calurosos. **La Planta** debe ser de calidad, inoculada con el hongo bajo condiciones controladas en invernadero.

¿Quiénes Somos?

Agrobiotruf, es una empresa nacional, líder en Investigación, Desarrollo y Producción del cultivo de Trufas en Chile. Nuestra empresa produce árboles (encinas y robles europeos) micorrizados con trufa negra del perigord (*Tuber melanosporum*) los cuáles son certificados mediante los más avanzados estándares Biotecnológicos (Análisis Genético-PCR), entregando un producto de alta calidad a nuestros clientes. Además como parte de nuestros servicios entregamos a nuestros clientes, un completo rango de asesorías en todo el proceso de establecimiento, desarrollo, producción y comercialización de este cultivo.

Somos la empresa en Chile que actualmente asesora 200 hectáreas de plantaciones truferas a lo largo de todo nuestro país, equivalente al 95% de la superficie total plantada, con resultados óptimos que avalan nuestros 12 años de experiencia en la materia. Nuestros sistemas de producción y Know-How disponibles, son fruto de un largo proceso de investigación y desarrollo tecnológico a nivel nacional e internacional.





Nuestros Productos y servicios:

Planta micorrizada de calidad

Nuestro proceso de producción en viveros requiere de un período mínimo de 12 meses para obtener plantas terminadas de alta calidad y fuertemente micorrizadas. Las especies que producimos son principalmente encinas (*Quercus ilex*) y robles europeos (*Quercus robur* y *Quercus cerris*), ambas propagadas a partir de material vegetal selecto de origen nacional.

Nuestras plantas micorrizadas y sistemas de producción de trufas son los únicos probados en el país con resultados validados y confiables, que están respaldados por Proyectos de Investigación Nacionales y experiencias de campo en conjunto con la Fundación para la Innovación Agraria-FIA.

Nuestros árboles y técnicas de cultivo han logrado producciones de trufas en campo a los 4 y 5 años desde el establecimiento, garantizando que todas las plantas disponibles en el punto de venta se encuentran micorrizadas con el hongo trufa negra (*Tuber melanosporum*) en sus raíces, bajo estrictos controles de calidad de laboratorios independientes.

Asesoría en el manejo agronómico

Agrobiotruf S.A. cuenta con el Know how para brindar a sus clientes el asesoramiento técnico en el seguimiento y productividad de los huertos productores de trufas negras. Cada proyecto tiene necesidades particulares, por lo cual cada asesoramiento es único e irrepetible. Este apoyo comienza desde el establecimiento hasta la producción de trufas.

Asesoría en la cosecha y comercialización

Agrobiotruf ofrece asesoría especializada en la cosecha, como asimismo podemos proveerle de perros especialmente adiestrados.

Nuestra empresa tiene contactos internacionales para la colocación del producto. Manteniendo lazos comerciales con los principales comercializadoras del mundo.

- Taller de capacitación personal del SAG regional



CONTENIDO DEL TALLER PERSONAL SAG REGIONAL

Sábado 19 de julio 2014

9:30 – 10:30	Los hongos de micorriza y su interés en la silvicultura
10:30 – 10:50	Coffee break
10:50 – 11:30	Micorrizas: Identificación y aplicaciones prácticas. Laboratorio
11:40 – 12:30	Biología de las trufas
12:30 – 13:15	Almuerzo
13:30 – 14:30	Ecología de las trufas negras
14:30 – 14:50	Coffee break
14:50 – 15:50	Análisis Edafo-climático de truferas productivas a nivel nacional e Internacional
15:50 – 16:50	Nociones básicas de la cosecha de trufas
16:50 – 17:10	Ronda de preguntas

Domingo 20 de julio 2014

9:30 – 10:30	Factores a considerar en el establecimiento de una trufera
10:30 – 10:50	Coffee break
10:50 – 11:30	Establecimiento de una trufera
11:30 – 12:30	Manejos agronómicos en una trufera
12:30 – 13:15	Almuerzo
13:20 – 18:00	Visita terreno:

• Participación de la empresa en la exposago

Economía

EL AUSTRAL | Viernes 25 de octubre de 2013 | 15

Plumones de ganso y hongos negros captan atención en ExpoSofo

EXPOSICIÓN. Con la presencia del ministro de Agricultura hoy se realizará la inauguración.

Andrea Arias
arias@quintramundo.cl

Dentro de los 170 expositores que están presentes este año en versión número 83 de la Exposición Agrícola, Ganadera, Industrial y Comercial más grande del sur del país, ExpoSofo 2013, hay dos productos: uno agrícola y el otro comercial, que han captado las miradas y consultas de los visitantes.

El del área agrícola es el cultivo de la trufa negra, una verdadera delicatessen hongos muy apetecido y valorado económicamente en los mercados internacionales, que desarrolla y comercializa en Chile Agrobioruf S.A.

Mientras que en el área comercial destacan los ecológicos y terapéuticos plumones de ganso elaborados por la emprendedora de Indap Yolanda Carhuinca, de Tolén.

HONGOS NEGROS

Según explicó Rafael Henríquez, socio fundador de Agrobioruf S.A., empresa cuya casa matriz está en Talca, la trufa negra es una variedad que se cosecha de las raíces del roble europeo utilizando perros adiestrados para localizar el producto, debido al aroma que expelen.

"Este cultivo que introdujimos en Chile hace 13 años es una de las delicatessen más caras del mundo, ya que el kilo se comercializa en el mercado internacional a más de mil dólares, esto significa que el grano puesto al plato en un restaurante son \$2.500 como mínimo", indicó el empresario.

Respecto del potencial que posee la Región para cul-



Cristian Topp,
Ciudadano del Año 2012



Yolanda Carhuinca,
artesana de Tolén

tivar esta exótica variedad, Henríquez afirmó que "ya tenemos algunos clientes y, precisamente, debido a su éxito decidimos participar de esta feria para dar a conocer el producto al agro regional, ya que La Araucanía en su masa central tiene buen clima para el cultivo, lo único que se necesita son suelos al- reados y con capacidad de drenaje".

La inversión inicial es de 7 millones de pesos por hectárea (incluye plantas, riego y las modificaciones del suelo), siendo su rentabilidad de 30 mil dólares por hectárea anual al cabo de 12 años.

"Es un negocio altamente lucrativo y nosotros certificamos la aptitud de los suelos. Es muy útil y una alternativa real en hectáreas que no se están utilizando", explicó Henríquez.

PLUMONES

Yolanda Carhuinca es una artesana de Tolén que desde hace más de una década trabaja confeccionando plumones de ganso.

"En Indap me ayudaron

con maquinaria y capacitación. Así de a poco fui agregando valor al producto. Como yo era del campo al comienzo las fundas las hacía de colores, pero los mismos clientes me fueron dando las orientaciones y así nació el producto que tengo hoy: tiene finas terminaciones y la funda es de color crudo. La verdad es que ha gustado mucho", aseveró Yolanda.

Esta artesana cuenta que en su campo realiza todo el proceso, ya que ella misma cría a los gansos y extrae la materia prima: pluma de pecho y semi duvet.

"Las plumas no sólo abrigan, además poseen sus propiedades terapéuticas naturales: es como un antiinflamatorio que te desestresa", puntualizó.

INAUGURACIÓN

Aunque Gastón Caminondo, presidente de la Sociedad de Fomento Agrícola de Temuco (Sofo) no quiso adelantar el tenor de lo que será el discurso del acto inaugural de mañana (hoy), el cual contará con la presencia del mi-



LAS TRUFAS NEGRAS (HONGOS) SE CULTIVAN DE LAS RAÍCES DEL ROBLE EUROPEO (QUERCUS).

7 mil

personas han visitado la exposición durante los primeros 3 días en que tuvo lugar el certamen ganadero bovino y equino.

ministro de Agricultura, Luis Mayol, si afirmó que sus dichos, por segundo año consecutivo, se darán en el marco del conflicto mapuche y el caso Luchsinger.

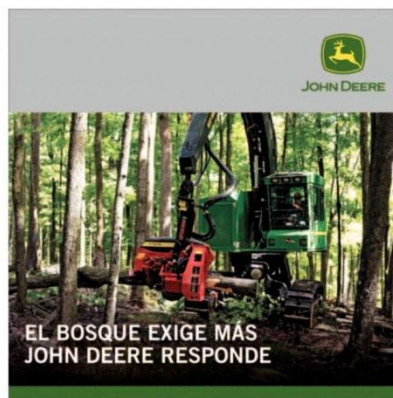
Asimismo, Caminondo pu-

Certamen ganadero

● Culminó ayer la tradicional jura de ganado. En total fueron 150 los vacunos y equinos provenientes de 45 criaderos desde Santiago a Los Lagos los que compitieron aspirando a conseguir algún lugar en el cuadro de honor. Hoy, inmediatamente después de los discursos inaugurales de la ExpoSofo 2013, se realizará el destile ganadero.

so en valor la tradicional iniciativa con la que no sólo la gente del campo se identifica, sino la comunidad en general. "Esta exposición es un punto de encuentro de la gen-

te del campo y de la ciudad, ya que la idea es traspasar el quehacer del agro al mundo urbano de manera de contribuir a la valorización del sector", apuntó Caminondo.



**EL BOSQUE EXIGE MÁS
JOHN DEERE RESPONDE**

La faena forestal impone las condiciones más adversas. Saque ventaja al terreno, al clima y a los plazos exigentes con su Cosechadora John Deere: más potencia, precisión y eficiencia, con financiamiento directo de fábrica y el respaldo de Salffa en todo Chile.

SALFFA
75 AÑOS MOVIENDO A CHILE

JOHN DEERE
FINANCIAL

Ruta Sur 2680, esq. Cruce • Camino Aeropuerto Comuna Padre Las Casas, Temuco
Fono (45) 2204025 • Fax (45) 2337279
600 360 6200
www.salffa.cl

VALDIVIA • COPIAPO • ANTOFAGASTA • CORNAPU • LA SERENA • SANTIAGO
TALCA • CONCEPCIÓN • LOS ANGELES • TEMUCO • PUERTO MONTT
COPIAPO • PUNTA ARENAS

expo sofo 2013

83ª Exposición Agrícola, Ganadera, Industrial y Comercial

23 AL 27 DE OCTUBRE

club de lectores

Sofo 2x1

Compra tus entradas, aprovechando el 2x1 hasta las 14 horas en las boleterías de Recinto SOFO

facebook.com/clubdelectores www.parcoclub.cl

• Reportaje a las exportaciones de trufa negra certificada

29/10/13

Comienzan las exportaciones del diamante negro chileno | Portal Fruticola

Martes 29 octubre 2013 / Semana N° 44

PortalFruticola.com

Fresh Fruit Portal.com

China Fruit Portal.com



Publicite aquí | Nosotros | Contáctenos | Eventos | Publicar reportajes

Edición Especial Internacional

Newsletter



Ud. está viendo PortalFruticola.com en:
Cambie su país

Chile

Precios frutas | El tiempo | Puertos | Proveedores | Indicadores económicos



Impacto de las Heladas
en las Exportaciones
Chilenas

Haz PortalFruticola.com tu página de inicio

Ingrese texto a buscar!



Comienzan las exportaciones del diamante negro chileno

Twitter

6

Recomendar

54

0

Enviar a un amigo

Imprimir

Volver

31 de julio de 2013

Comenzó la exportación de trufas a Suiza y ya existen clientes interesados en EE.UU. y Alemania

Agrobiotruf es una empresa dedicada a la producción de plantas micorizadas con **trufa** y asesoría técnica especializada a los truficultores desde hace 13 años. En esta ocasión, uno de sus socios, Rafael Henríquez, habló con www.portalfruticola.com para contarnos más sobre el cultivo de este hongo, que ya cuenta con exportaciones a Suiza, y los desafíos que deberán enfrentar las exportaciones futuras.

"La **trufa** negra de périgord, llamada así por su origen de una región de Francia, es causa de devoción en el mundo de la alta gastronomía, casi una religión. No por nada la llaman el "diamante negro" y su precio puede superar los US\$ 1.000 por kilo en promedio pagados al agricultor, y cuando se trata de algunos gramos el precio aumenta hasta US\$2.500 en el comercio local", comentó.



Y es que la **trufa**, un hongo subterráneo "adosado" a las raíces de árboles, es considerado un tesoro para la gastronomía, el cual se cultiva en el campo chileno, entre la región Metropolitana y la de Los Lagos, desde el 2009.

De acuerdo a lo declarado por Henríquez, actualmente, en Chile hay más de 50 truferas establecidas, las cuales sobrepasan las 250 hectáreas. Sin embargo, sólo nueve están en producción, ya que tienen la edad y los cuidados necesarios. De estas nueve, cuatro eran ensayos que se hicieron hace un tiempo en los proyectos de inicios de la truficultura en Chile, por lo cual son muy pequeñas y las cinco restantes son unidades de baja superficie.

"Los huertos pueden tardar entre cinco y siete años en comenzar a producir, se da en pocos lugares del mundo y, además, para cosecharlas, se requiere de métodos muy particulares basados en el uso de perros entrenados que pueden detectar el potente y agradable aroma de la trufa que está bajo tierra, desde mayores distancias que los humanos", señaló Henríquez.

"Todo esto se inició con el apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Ya ha pasado todo el tema de investigación y el desarrollo, así que ahora hay que empezar a tener datos y resultados para que la gente empiece a plantar y motivar a aquellos que deseen invertir en este cultivo. Lo principal es difundir, todavía hay gente en Chile que piensa que esto es un chocolate, por eso hay que hacer hincapié en que esto es un producto de alto valor culinario y monetario", dijo.



"Este año surgió la posibilidad de exportar **trufa** fresca a Suiza, ya que uno de nuestros clientes tiene contactos en ese país y, a partir de eso, comenzaron los contactos para exportar **trufas** negras de périgord. Así surgió un interesado, que actualmente está comprando casi un kilo por semana y tenemos otros interesados en Estados Unidos y Alemania. No obstante, la principal dificultad de esta operación es la escasez del producto a nivel nacional", comentó Henríquez.

Sin embargo, el socio de Agrobiotruf destacó que lo más importante, por ahora, no son las cantidades exportadas,

si no los comentarios de los consumidores finales en Suiza.

"Las **trufas** chilenas destacan por su calidad organolépticas y su tamaño", aseveró.

Consultado sobre las proyecciones y los futuros mercados a los que quisieran llegar, Henríquez indicó que: "Nuestra meta es que el país pueda llegar a mil hectáreas productivas para el 2025, lo que posicionaría a Chile como un actor relevante, con un 10% del mercado global de las trufas frescas. Lo que necesitamos es gente comprometida, visionaria que comprenda que esta es una oportunidad de negocio a largo plazo".

PRODUCE MARKETING ASSOCIATION

pma
FRESH
CONNECTIONS

Viernes
15 de Noviembre
2013
8:30AM / 14:00PM

Seminario
Fresh Connections : Perú

HOTEL LOS DELFINES • LIMA • PERU

中国水果门户
China Fruit Portal.com

... Ahora también
estamos en China!

PortalFruticola.com
Fresh Fruit Portal.com



agronoticias

América Latina y el Caribe

cias: detalle



Chile comienza las exportaciones de trufa

Fecha de publicación: 31/07/2013

País: Chile

Fuente: portalfruticola.com

Agrobiotruf es una empresa dedicada a la producción de plantas micorrizadas con trufa y asesoría técnica especializada a los truficultores desde hace 13 años. En esta ocasión, uno de sus socios, Rafael Henríquez, habló con www.portalfruticola.com sobre el cultivo de este hongo, que ya cuenta con exportaciones a Suiza, y los desafíos que deberán enfrentar las exportaciones futuras.

“La trufa negra de pèrigord, llamada así por su origen de una región de Francia, es causa de devoción en el mundo de la alta gastronomía, casi una religión. No por nada la llaman el “diamante negro” y su precio puede superar los US\$ 1.000 por kilo en promedio pagados al agricultor, y cuando se trata de algunos gramos el precio aumenta hasta US\$2.500 en el comercio local”, comentó.

Y es que la trufa, un hongo subterráneo “adosado” a las raíces de árboles, es considerado un tesoro para la gastronomía, el cual se cultiva en el campo chileno, entre la región Metropolitana y la de Los Lagos, desde el 2009.

De acuerdo a lo declarado por Henríquez, actualmente, en Chile hay más de 50 truferas establecidas, las cuales sobrepasan las 250 hectáreas. Sin embargo, sólo nueve están en producción, ya que tienen la edad y los cuidados necesarios. De estas nueve, cuatro eran ensayos que se hicieron hace un tiempo en los proyectos de inicios de la truficultura en Chile, por lo cual son muy pequeñas y las cinco restantes son unidades de baja superficie.

“Los huertos pueden tardar entre cinco y siete años en comenzar a producir, se da en pocos lugares del mundo y, además, para cosecharlas, se requiere de métodos muy particulares basados en el uso de perros entrenados que pueden detectar el potente y agradable aroma de la trufa que está bajo tierra, desde mayores distancias que los humanos”, señaló Henríquez.

“Todo esto se inició con el apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Ya ha pasado todo el tema de investigación y el desarrollo, así que ahora hay que empezar a tener datos y resultados para que la gente empiece a plantar y motivar a aquellos que deseen invertir en este cultivo. Lo principal es difundir, todavía hay gente en Chile que piensa que esto es un chocolate, por eso hay que hacer hincapié en que esto

es un producto de alto valor culinario y monetario”, dijo.

“Este año surgió la posibilidad de exportar trufa fresca a Suiza, ya que uno de nuestros clientes tiene contactos en ese país y, a partir de eso, comenzaron los contactos para exportar trufas negras de pèrigord. Así surgió un interesado, que actualmente está comprando casi un kilo por semana y tenemos otros interesados en Estados Unidos y Alemania. No obstante, la principal dificultad de esta operación es la escasez del producto a nivel nacional”, comentó Henríquez.

Sin embargo, el socio de Agrobiotruf destacó que lo más importante, por ahora, no son las cantidades exportadas, si no los comentarios de los consumidores finales en Suiza.

“Las trufas chilenas destacan por su calidad organolépticas y su tamaño”, aseveró.

Consultado sobre las proyecciones y los futuros mercados a los que quisieran llegar, Henríquez indicó que: “Nuestra meta es que el país pueda llegar a mil hectáreas productivas para el 2025, lo que posicionaría a

- Listado (número y detalle) de actividades por instrumento de difusión, como por ejemplo:

- Presentaciones en congresos y seminarios

Dentro del periodo de ejecución del proyecto se organizó en conjunto con FIA, un simposio internacional durante el 2014 “La truficultura en Chile: a una década de iniciada la truficultura nacional” con la participación de dos expertos internacionales: España: El Sr. Santiago Reyna Domenech y de Italia: El Sr. Gianluigi gregori.

- Organización de seminarios y talleres

Dentro del periodo de ejecución del proyecto se realizó un taller de capacitación al personal del SAG regional, en Julio del 2014, con la participación de director del SAG regional el Sr. Nicanor cuevas

- Días de campo o reuniones técnicas

Dentro del periodo de ejecución del proyecto se realizaron las siguientes actividades:

- Julio 2013. Charla técnica a integrantes de la asociación de truficultores de Chile (ATCHILE): manejo agronómico y cosecha en plantaciones productoras.
- Agosto 2013. Degustación de platos trufados a integrantes de ATCHILE. Centro eventos Caupolicán, Penciahue. objetivo: identificar el grado de madurez de las trufas cosechadas y su calidad organoléptica.
- Junio 2013. Día de campo con el chef ejecutivo en gastronomía del hotel casino de Talca. Francesco Manzone. Objetivo: Fomentar el consumo de la trufa negra nacional en su menú gastronómico.
- Agosto 2013. Día de campo con personal del departamento de agricultura de Estados Unidos. Objetivo: establecer lazos comerciales y degustar la calidad gastronómica de la trufa nacional.
- Mayo 2013. Participación feria gastronómica de Cunco. Objetivo: dar a conocer la calidad culinaria y sus variadas aplicaciones.
- Agosto 2013. Día de campo personal FIA. Objetivo fomentar y dar a conocer el cultivo
- Septiembre 2013. Seminario de truficultura. Objetivo: dar a conocer los avances de la truficultura nacional a productores y empresarios de la sexta, séptima y octava región.

- Abril 2014. Capacitación y asesoría técnica a ATCHILE. Objetivo: capacitación en el control de malezas y mejoramiento de la zona radicular.
- Julio 2014. Capacitación técnica en terreno a ATCHILE. Objetivo: identificación de contaminantes en truferas productivas.
- Junio 2014. Evento gastronómico restaurante Emilia Romagna. Degustación de platos trufados, con la participación de director de FIA: Sr. Héctor Echeverría.
- Publicaciones científicas: No hubo publicaciones en el proyecto
- Publicaciones divulgativas: No hubo publicaciones en el proyecto
- Artículos en prensa
 - Julio 2013. Agronoticias. Chile comienza con las exportaciones de trufa.
 - Octubre 2013. Portalfruticola. Comienzan las exportaciones del diamante negro chileno.
 - Octubre 2013. Economía y negocios del mercurio. Participación de la trufa en la exposago.
- Agosto 2015. Participación de la empresa Agrobiotruf en programa NICOLATE del cable.
- Agosto 2015. Entrevista Agrobiotruf en CNN Chile sobre el cultivo de la trufa y perspectivas futuras.

V. ANEXOS

Entregar los antecedentes como fue indicado para los informes técnicos de avance, pero en este caso la información no corresponde sólo a la actualización sino a la histórica. Por ejemplo, cambios en el equipo técnico, se debe adjuntar la ficha de todos los participantes que participaron en alguna de las etapas del proyecto aunque hayan sido reemplazados.

Anexo N° 1. Certificado de productores



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: Guillermo Callejas

Fecha: 6 de Agosto de 2013

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnos Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 7 muestras de cuerpo fructífero para ser analizado, las cuales se

procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos.

En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo. Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/μl.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa DUPLEX con dos marcadores moleculares específicos para *T. melanosporum* y *Tuber brumale* que son capaces de descartar entre las dos especies con un 99.99 % de efectividad.

Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 1-14: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestra amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y de *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia y que no hay contaminación con ninguna biológica con *Tuber brumale*.

Reacción 15: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de solo esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 16: Muestra problema conteniendo ADN de referencia para *Tuber brumale* amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. brumale* que tiene un tamaño de aproximadamente 820 pb en el ADN, lo que indica la presencia de solo esta especie en la muestra control y la efectividad del

método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 17: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum* o *T. brumale*, confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

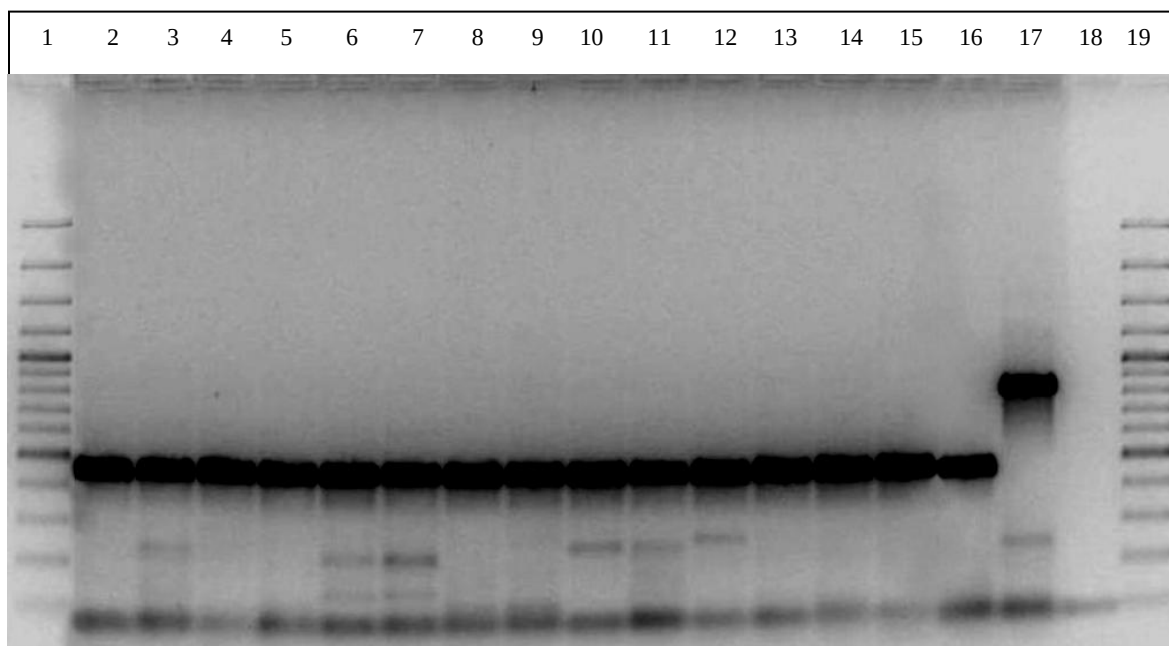


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – ITSBL (específico para la especie *Tuber brumale*) y 3' ITSBLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-15. Cuerpos fructíferos denominados M1-M7 y sus repeticiones biológicas; 16. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 7.- Control positivo interno de *Tuber brumale*, 18. Control negativo con H₂O destilada; 19. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) **NO** corresponde a *Tuber brumale* con un 99.99% de probabilidad, según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.
- La muestras de trufa suministradas (muestra problema) **NO** presenta ningún tipo de contaminación con *Tuber brumale* con un 99.99% de probabilidad, según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT. Juillet, 1988- n°10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494.
- Paolocci F., Rubini A., Granetti B., Arcioni S. 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of *Tuber* spp. ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology 28: 23-30.
- Mabru, D., Douet, J.P., Mouton, A., Dupré, C., Ricard, J.M., Médina, B., Castroviejo, M., Chevalier, G. 2004. PCR-RFLP using a SNP on the mitochondrial Lsu-rDNA as an easy method to differentiate *Tuber melanosporum* (Perigord truffle) and other truffle species in cans. International Journal of Food Microbiology 94: 33– 42.



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: P. Schneider

Fecha: 14 de Agosto de 2013

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnos Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 3 muestras de cuerpo fructífero para ser analizado, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos.

En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo. Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/μl.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa DUPLEX con dos marcadores moleculares específicos para *T. melanosporum* y *Tuber brumale* que son capaces de descartar entre las dos especies con un 99.99 % de efectividad.

Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 1-6: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestra amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y de *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia y que no hay contaminación con ninguna biológica con *Tuber brumale*.

Reacción 7: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de solo esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 8: Muestra problema conteniendo ADN de referencia para *Tuber brumale* amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. brumale* que tiene un tamaño de aproximadamente 820 pb en el ADN, lo que indica la presencia de solo esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 9: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum* o *T. brumale*, confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

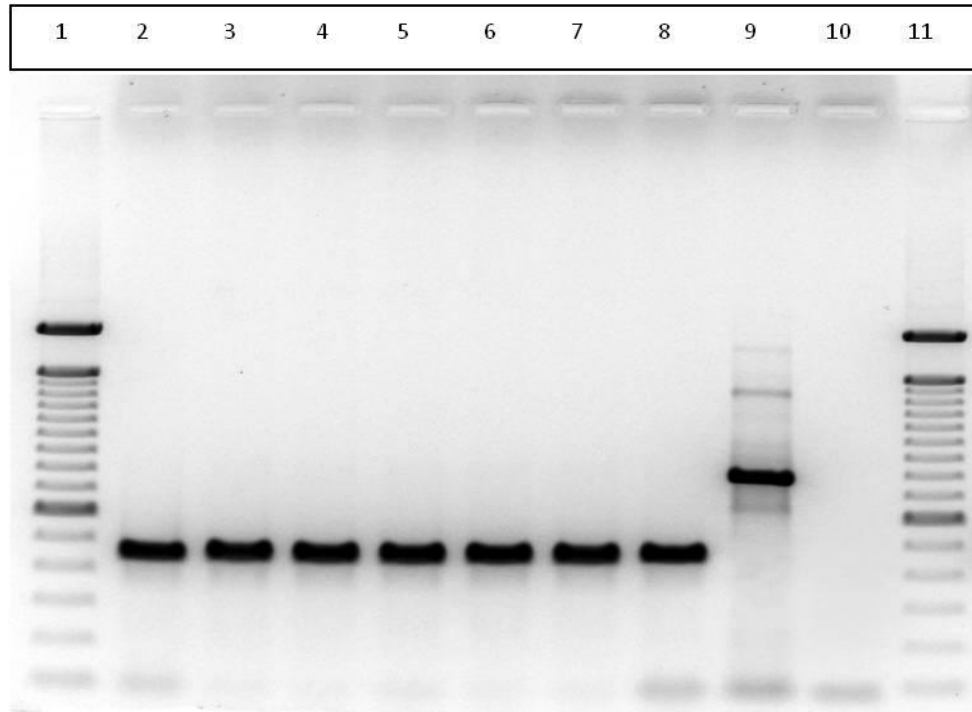


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – ITSB (específico para la especie *Tuber brumale*) y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-7. Cuerpos fructíferos denominados M1-M2-M3 y sus repeticiones biológicas; 8. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 9.- Control positivo interno de *Tuber brumale*, 10. Control negativo con H₂O destilada; 11. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.
- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) **NO** corresponde a *Tuber brumale* con un 99.99% de probabilidad, según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.
- La muestras de trufa suministradas (muestra problema) **NO** presenta ningún tipo de contaminación con *Tuber brumale* con un 99.99% de probabilidad, según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT. Juillet, 1988- n°10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494.
- Paolocci F., Rubini A., Granetti B., Arcioni S. 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of *Tuber* spp. ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology 28: 23-30.
- Mabru, D., Douet, J.P., Mouton, A., Dupré, C., Ricard, J.M., Médina, B., Castroviejo, M., Chevalier, G. 2004. PCR-RFLP using a SNP on the mitochondrial Lsu-rDNA as an easy method to differentiate *Tuber melanosporum* (Perigord truffle) and other truffle species in cans. International Journal of Food Microbiology 94: 33– 42.



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: Pedro Bejares

Fecha: 6 de Agosto de 2013

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnos Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 2 muestras de cuerpo fructífero para ser analizado, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos.

En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo. Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/μl.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa DUPLEX con dos marcadores moleculares específicos para *T. melanosporum* y *Tuber brumale* que son capaces de descartar entre las dos especies con un 99.99 % de efectividad.

Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 1-4: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestra amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y de *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia y que no hay contaminación con ninguna biológica con *Tuber brumale*.

Reacción 5: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de solo esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 6: Muestra problema conteniendo ADN de referencia para *Tuber brumale* amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. brumale* que tiene un tamaño de aproximadamente 820 pb en el ADN, lo que indica la presencia de solo esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 7: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum* o *T. brumale*, confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

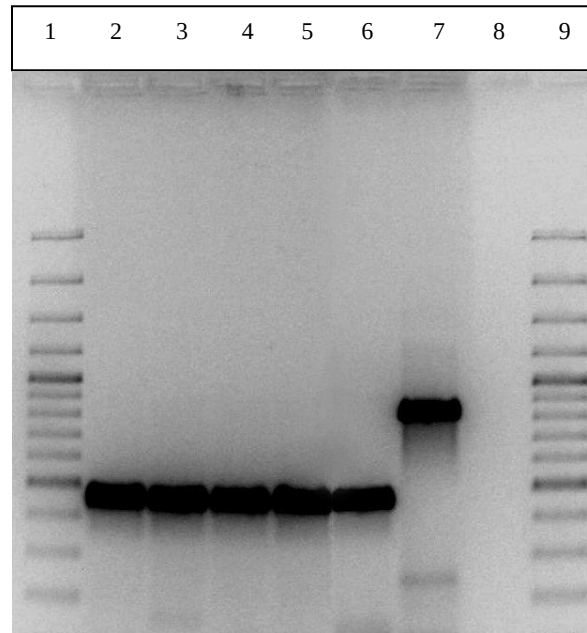


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – ITSB (específico para la especie *Tuber brumale*) y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-5. Cuerpos fructíferos denominados M1-M2 y sus repeticiones biológicas; 6. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 7.- Control positivo interno de *Tuber brumale*, 8. Control negativo con H₂O destilada; 9. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.
- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) **NO** corresponde a *Tuber brumale* con un 99.99% de probabilidad, según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.
- La muestras de trufa suministradas (muestra problema) **NO** presenta ningún tipo de contaminación con *Tuber brumale* con un 99.99% de probabilidad, según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT. Juillet, 1988- n°10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494.
- Paolocci F., Rubini A., Granetti B., Arcioni S. 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of *Tuber* spp. ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology 28: 23-30.
- Mabru, D., Douet, J.P., Mouton, A., Dupré, C., Ricard, J.M., Médina, B., Castroviejo, M., Chevalier, G. 2004. PCR-RFLP using a SNP on the mitochondrial Lsu-rDNA as an easy method to differentiate *Tuber melanosporum* (Perigord truffle) and other truffle species in cans. International Journal of Food Microbiology 94: 33– 42.



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: J. Bannister

Fecha: 14 de Agosto de 2013

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnos Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 2 muestras de cuerpo fructífero para ser analizado, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos.

En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo. Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/μl.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa DUPLEX con dos marcadores moleculares específicos para *T. melanosporum* y *Tuber brumale* que son capaces de descartar entre las dos especies con un 99.99 % de efectividad.

Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 1-4: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestra amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y de *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia y que no hay contaminación con ninguna biológica con *Tuber brumale*.

Reacción 5: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de solo esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 6: Muestra problema conteniendo ADN de referencia para *Tuber brumale* amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. brumale* que tiene un tamaño de aproximadamente 820 pb en el ADN, lo que indica la presencia de solo esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 7: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum* y *Tuber brumale*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum* o *T. brumale*, confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

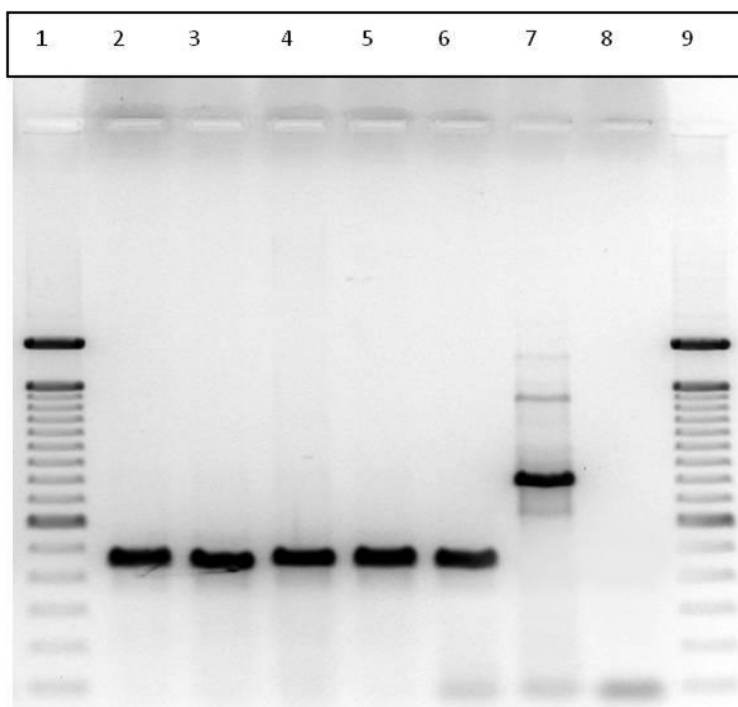


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – ITSB (específico para la especie *Tuber brumale*) y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-5. Cuerpos fructíferos denominados M1-M2 y sus repeticiones biológicas; 6. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 7.- Control positivo interno de *Tuber brumale*, 8. Control negativo con H₂O destilada; 9. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.
- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) **NO** corresponde a *Tuber brumale* con un 99.99% de probabilidad, según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

La muestras de trufa suministradas (muestra problema) **NO** presenta ningún tipo de contaminación con *Tuber brumale* con un 99.99% de probabilidad, según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT. Juillet, 1988- n°10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494.
- Paolocci F., Rubini A., Granetti B., Arcioni S. 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of *Tuber* spp. ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology 28: 23-30.
- Mabru, D., Douet, J.P., Mouton, A., Dupré, C., Ricard, J.M., Médina, B., Castroviejo, M., Chevalier, G. 2004. PCR-RFLP using a SNP on the mitochondrial Lsu-rDNA as an easy method to differentiate *Tuber melanosporum* (Perigord truffle) and other truffle species in cans. International Journal of Food Microbiology 94: 33– 42.



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: Patricia Schneider

Fecha: 13 de Agosto de 2014

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnología Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 5 muestras de cuerpo fructífero para ser analizadas, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos. En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con 1 marcador molecular específico para *T. melanosporum* que es capaz de descartar con un 99.99 % de efectividad.

Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 2-11: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestras amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* produciendo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia.

Reacción 12: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 13: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum*. Confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

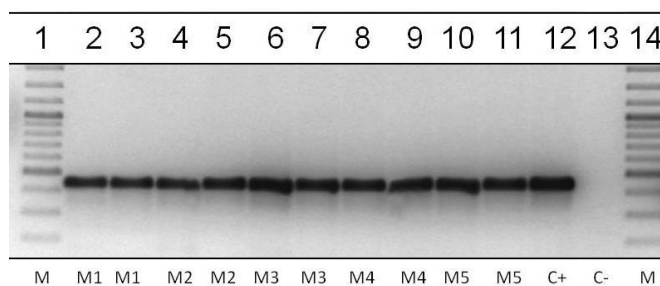


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-11. Cuerpos fructíferos denominados M1-M5 y sus repeticiones biológicas; 12. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 13. Control negativo con H₂O destilada; 14. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT.
- Juillet, 1988- n°10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494.
- Paolocci F., Rubini A., Granetti B., Arcioni S. 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of *Tuber* spp. ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology 28: 23-30.
- Mabru, D., Douet, J.P., Mouton, A., Dupré, C., Ricard, J.M., Médina, B., Castroviejo, M., Chevalier, G. 2004. PCR-RFLP using a SNP on the mitochondrial Lsu-rDNA as an easy method to differentiate *Tuber melanosporum* (Perigord truffle) and other truffle species in cans. International Journal of Food Microbiology 94: 33– 42.



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: Jonh Banister

Fecha: 14 de agosto de 2014

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnología Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 5 muestras de cuerpo fructífero para ser analizado, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos.

En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo.

Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/μl

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con 1 marcador molecular específico para *T. melanosporum* que es capaz de descartar con un 99.99 % de efectividad.

Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 2-11: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestras amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* produciendo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia.

Reacción 12: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 13: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum*. Confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

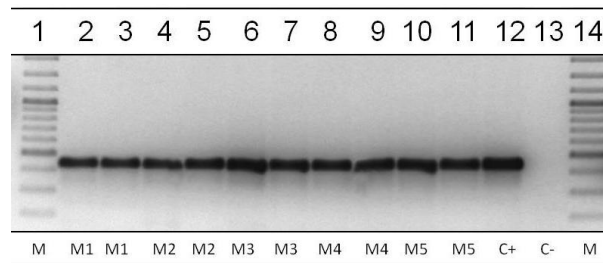


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-11. Cuerpos fructíferos denominados M1-M5 y sus repeticiones biológicas; 12. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 14. Control negativo con H₂O destilada; 16. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT.
- Juillet, 1988- n.º10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494.
- aolocci F., Rubini A., Granetti B., Arcioni S. 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of *Tuber* spp. ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology 28: 23-30.
- Mabru, D., Douet, J.P., Mouton, A., Dupré, C., Ricard, J.M., Médina, B., Castroviejo, M., Chevalier, G. 2004. PCR-RFLP using a SNP on the mitochondrial Lsu-rDNA as an easy method to differentiate *Tuber melanosporum* (Perigord truffle) and other truffle species in cans. International Journal of Food Microbiology 94: 33– 42.



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: Sr. Claudio Segura

Fecha: 22 de Julio 2014

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnología Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 2 muestras de cuerpo fructífero para ser analizadas, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos. En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo.

Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/μl.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con 1 marcador molecular específico para *T. melanosporum* que es capaz de descartar con un 99.99 % de efectividad. Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 2-5: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestras amplificadas con los partidores de *Tuber melanosporum* produciendo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia.

Reacción 6: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 7: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum*. Confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

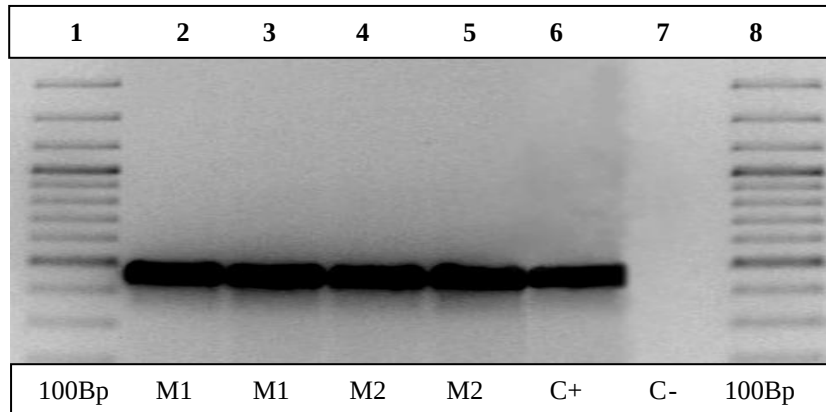


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-5. Cuerpos fructíferos denominados M1-M2 y sus repeticiones biológicas; 6. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 7. Control negativo con H₂O destilada; 8. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT.
- Juillet, 1988- n.º10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: Sr. Francisco Avilés

Fecha: 22 de Julio 2014

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnología Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibió 1 muestra de cuerpo fructífero para ser analizada, la cual se procesó de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos. En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo.

Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/μl.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con 1 marcador molecular específico para *T. melanosporum* que es capaz de descartar con un 99.99 % de efectividad. Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 2-3: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestras amplificadas con los partidores de *Tuber melanosporum* produciendo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia.

Reacción 4: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 5: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum*. Confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

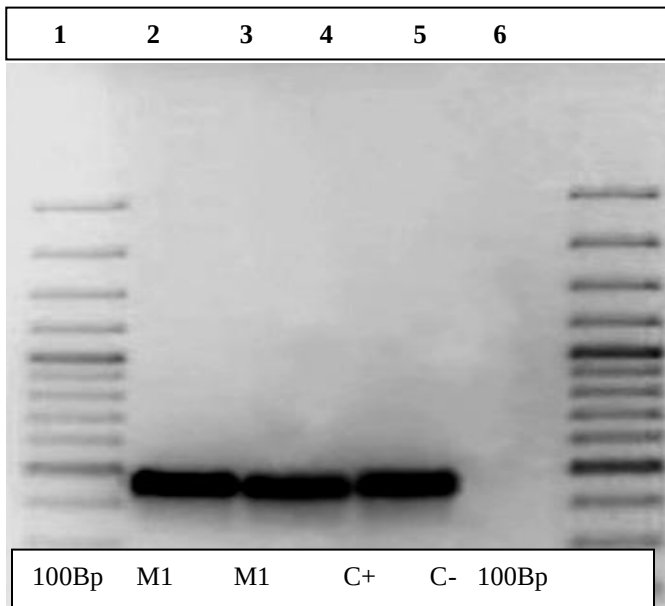


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-3. Cuerpos fructíferos denominado M1 y su repetición biológica; 4. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 5. Control negativo con H₂O destilada; 6. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- La muestra de trufa suministrada (muestra problema) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT.
- Juillet, 1988- n.º10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural.



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: Sr. Guillermo Callejas

Fecha: 22 de Julio 2014

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnología Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 10 muestras de cuerpo fructífero para ser analizadas, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos. En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo.



Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/ μ l.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con 1 marcador molecular específico para *T. melanosporum* que es capaz de descartar con un 99.99 % de efectividad.

Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 2-21: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestras amplificadas con los partidores de *Tuber melanosporum* produciendo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia.

Reacción 22: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 23: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum*. Confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

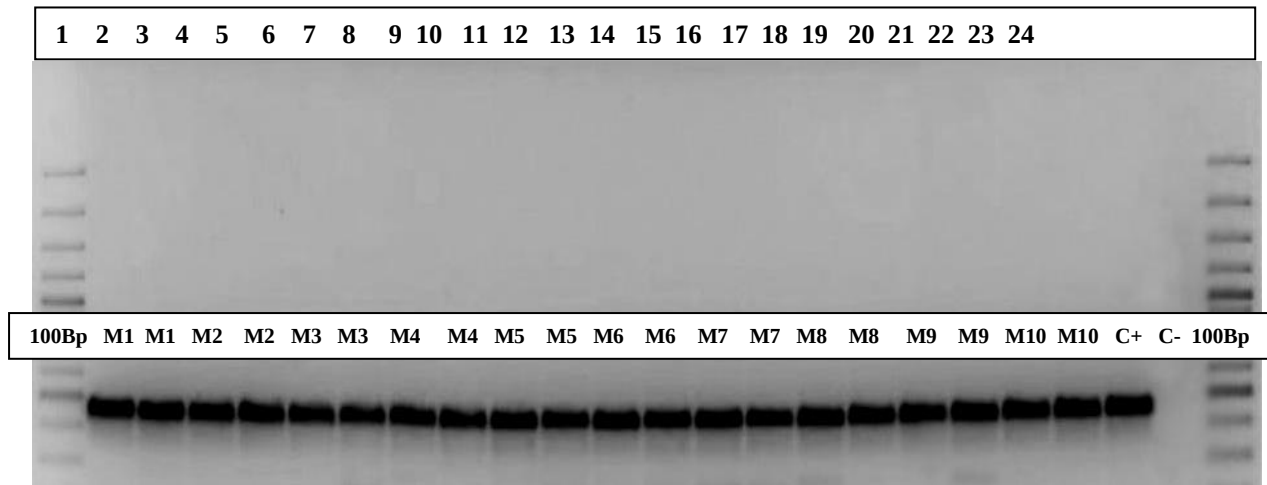


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-21. Cuerpos fructíferos denominados M1-M10 y sus repeticiones biológicas; 22. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 23. Control negativo con H₂O destilada; 24. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT.
- Juillet, 1988- n.º10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: Jordi Grau

Fecha: 22 de Julio 2014

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnología Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 3 muestras de cuerpo fructífero para ser analizado, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos. En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo.

Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/μl.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con 1 marcador molecular específico para *T. melanosporum* que es capaz de descartar con un 99.99 % de efectividad. Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 2-7: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestras amplificadas con los partidores de *Tuber melanosporum* produciendo una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre la muestra analizada y la muestra de referencia.

Reacción 8: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 9: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum*. Confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por el cuerpo fructífero de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

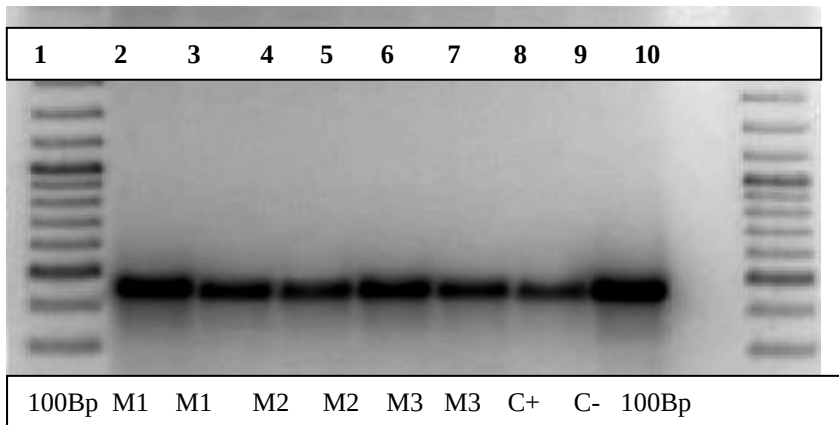


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-7. Cuerpos fructíferos denominados M1-M7 y sus repeticiones biológicas; 8. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 9. Control negativo con H₂O destilada; 10. Marcador de peso molecular 100 bp.

Conclusiones

- Las muestras de trufas suministradas (muestras problemas) es idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT.
- Juillet, 1988- n°10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494.



INFORME

Servicio identificación de identidad de *Tuber melanosporum* mediante marcadores moleculares

Productor: Sr. Carlos Weber

Fecha: 1 de Agosto 2014

Informe Elaborado por: Dr. Rolando García.
Laboratorio Biotecnología Ltda.

Muestra: Fragmento de cuerpo fructífero.

Antecedentes generales

El uso de marcadores moleculares para la detección de *T. melanosporum* ha sido recomendado en Italia, España y Francia (**Mabru et al., 1994; Mabru et al., 2004**) con el objetivo de detectar con exactitud la especie de trufa que se encuentra micorrizando las especies arbóreas y así garantizar un mejor control de las plantas. También, se ha recomendado el uso de marcadores moleculares para asegurar la calidad y la trazabilidad en el proceso de producción y comercialización de las trufas (**Paolocci et al., 1999**), lo que le da transparencia y seguridad al productor y al comprador. La identificación de *T. melanosporum* consta de tres etapas críticas: 1) La toma de la muestra; 2) La extracción de ADN.; 3) La identificación molecular de *T. melanosporum* mediante marcadores específicos para la especie.

Resultados del análisis de identidad mediante marcadores moleculares

Extracción de ADN

Se recibieron 9 muestras de cuerpos fructífero para ser analizadas, las cuales se procesaron de acuerdo al protocolo recomendado por Cordero et al. (2011). Este método consiste en la extracción de ADN mediante la combinación de lavados con detergentes de alto peso molecular, separación mediante centrifugación de las diferentes fracciones del contenido celular y purificación mediante solventes y reductores orgánicos. En la toma de muestra de este material vegetal, se utilizaron dos replicas biológicas para la extracción de ADN del hongo.

Se obtuvo ADN de alta calidad y a una concentración estimada mediante electroforesis en gel de agarosa de 25 ng/μl.

Identificación molecular de *T. melanosporum* .

Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con 1 marcador molecular específico para *T. melanosporum* que es capaz de descartar con un 99.99 % de efectividad. Se realizaron las siguientes reacciones:

Reacciones 2-21: Muestras Problemas conteniendo ADN de la muestras amplificada con los partidores de *Tuber melanosporum* produciendo en 18 muestras una señal única de 440 pb, específica para *T. melanosporum* y similar a la muestra control. Esto indica un 100% de identidad entre las muestras que presentaron amplificación y la muestra de referencia.

Reacción 22: Muestra control positivo conteniendo ADN de referencia para *Tuber melanosporum* amplificada con los partidores de *Tuber*. Esta combinación de marcadores produjo una señal única, específica, para *T. melanosporum* que tiene un tamaño de aproximadamente 440 pb, lo que indica la presencia de esta especie en la muestra control y la efectividad del método para detectar la especie en estas condiciones experimentales.

Reacción 24: Muestra control negativo de contaminación conteniendo agua amplificada solo con los partidores de *Tuber melanosporum*. No se observa ningún tipo de señal de reacción, lo que indica que todos los reactivos y materiales están libres de contaminantes de *T. melanosporum*. Confirmando la confiabilidad de este método de detección de identidad.

Al comparar las señales de amplificación emitidas por las muestras de los cuerpos fructíferos de las Muestras problema con el control positivo de referencia de *Tuber melanosporum* se observa que ambas señales tienen un peso molecular idéntico.

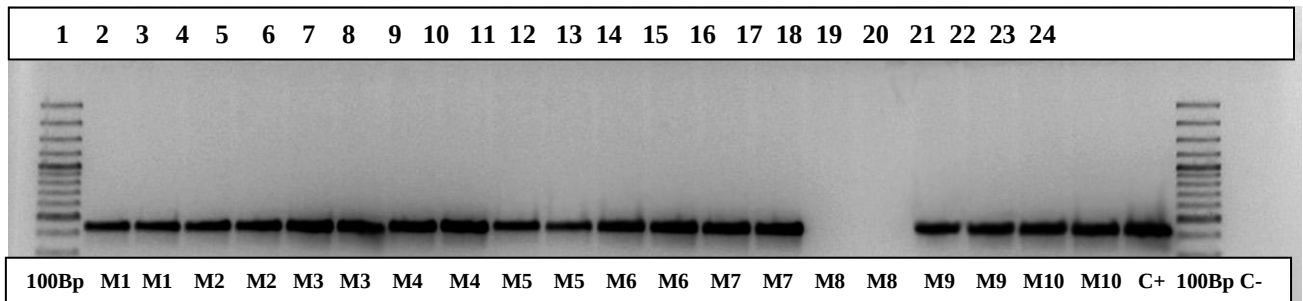


Figura 1. Amplificación de fragmentos con los partidores 5' ITSML (específico para la especie *Tuber melanosporum*) – y 3' ITSLNG (específico del género *Tuber* sp.). 1. Marcador de peso molecular 100 bp; 2-21. Muestras problema denominadas M1-M10 y sus repeticiones biológicas; 22. Control positivo interno de *Tuber melanosporum*; 23. Marcador de peso molecular 100 bp. 24 Control negativo con H₂O destilada; 24.

Conclusiones

- Las muestras de cuerpos fructíferos (muestras problemas) son idéntica a *Tuber melanosporum*, con un 99.99% de probabilidad según la detección de identidad con marcadores moleculares específicos para la especie.

Referencias bibliográficas

- Agerer, R. 1987-2002.. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Munich.
- Giraud, M., 1988. Prélèvement et analyse de mycorhizes. CTIFL, 1988- La truffe. p49-63 FNPT.
- Juillet, 1988- n°10. Ed. Charles PARRA. Congrès de la trufficulture. Saintes, 27-28 novembre 1987.
- Cordero C., Cáceres P., González G., Bravo C., Quiroz K., Carrasco B., García-González R. 2011. Rapid and efficient detection of Black truffle (*Tuber melanosporum*) in soil and roots from artificially inoculated plants. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3): 488-494.
- aolucci F., Rubini A., Granetti B., Arcioni S. 1999. Rapid molecular approach for a reliable identification of *Tuber* spp. ectomycorrhizae. FEMS Microbiology Ecology 28: 23-30.
- Mabru, D., Douet, J.P., Mouton, A., Dupré, C., Ricard, J.M., Médina, B., Castroviejo, M., Chevalier, G. 2004. PCR-RFLP using a SNP on the mitochondrial Lsu-rDNA as an easy method to differentiate *Tuber melanosporum* (Perigord truffle) and other truffle species in cans. International Journal of Food Microbiology 94: 33– 42.



VI. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Hall, I. 2009. Trufas. Historia .ciencia .cultivo y recoleccion. Editorial tutor.

Reyna, S.2012. Truficultura: Fundamentos y técnicas. Segunda edición. Editorial mundiprensa.

Sourzat, P. 2012. Truffe et trufficulture. Editorial Fanlac.