

9CFE-1564



Efecto del co-cultivo de encinas micorrizadas con trufa negra y plantas aromáticas formadoras de micorrizas arbusculares sobre el desarrollo de las plantas

GÓMEZ MORTE, A. (1), ARENAS, F. (2) ALBÓ, D. (4), BAROU, V. (5), BONET, JA. (3,6), RINCÓN, A. (1), PARLADÉ, J. (5) y OLIACH, D. (4)

(1) Instituto de Ciencias Agrarias, ICA-CSIC. C/ Serrano 115bis, 28006, Madrid.

(2) Universidad de Murcia, UM. CEIR, CMN, Campus de Espinardo, 30100, Murcia.

(3) Universidad de Lleida, UdL. Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida.

(4) Centro de Ciencia y Tecnología Forestal de Cataluña, CTFC. Ctra. Sant Llorenç de Morunys km 2, 25280 Solsona (Lleida).

(5) Institut de Recerca i Tecnologia Agrolimentàries, IRTA. Centre de Cabrils. Ctra. de Cabrils km. 2, 08348 Cabrils (Barcelona).

(6) Agrotecnio-CERCA, Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida.

Resumen

La trufa negra (*Tuber melanosporum* Vittad.) es un hongo de gran valor económico y ecológico, que establece simbiosis ectomicorrícica, principalmente con quercíneas en zonas de clima Mediterráneo. Aunque la expansión de plantaciones es considerable, el cultivo de trufas requiere una alta inversión inicial y varios años para ser productivo. La incorporación de cultivos complementarios como plantas aromáticas y medicinales, podría mejorar la productividad y sostenibilidad de los sistemas agroforestales truferos.

Este trabajo estudia las interacciones entre encinas y plantas aromáticas y sus distintas asociaciones micorrícicas (ectomicorrícica o arbuscular, respectivamente), en condiciones de campo. Para ello, en 2021, se estableció una parcela experimental en Maials (Lleida) con encinas micorrizadas con trufa negra y un año más tarde se co-cultivaron con plantas aromáticas micorrizadas con hongos micorrícicos arbusculares nativos y plantas aromáticas sin micorrizar. Se ha monitorizado el crecimiento, la supervivencia de las plantas, y la persistencia de los hongos micorrícicos en el suelo.

Los resultados revelarán si existe competencia entre encinas y plantas aromáticas, y entre los diferentes hongos micorrícicos, así como el efecto de éstos sobre la productividad de las plantas. Esto ayudará a evaluar la viabilidad de incorporar otros cultivos formadores de micorrizas y diseñar estrategias para maximizar la producción sostenible de trufa negra y los servicios ecosistémicos asociados.

Palabras clave

Trufa negra, *Quercus ilex*, *Tuber melanosporum*, ectomicorrizas, micorrizas arbusculares, plantaciones truferas, plantas aromáticas y medicinales, sistemas agroforestales truferos

1. Introducción

La trufa negra (*Tuber melanosporum* Vittad.) es un hongo ascomiceto hipogeo de alto valor económico y ecológico, que establece simbiosis ectomicorrícica principalmente con árboles del género *Quercus*, en regiones de clima mediterráneo como Francia, Italia y España (Reyna y Garcia-Barreda, 2014). En esta simbiosis formada entre las raíces de la planta y las hifas del hongo, ambos simbiosntes se benefician: mientras que el hongo aporta principalmente a la planta minerales y agua, la planta le suministra hidratos de carbono procedentes de la fotosíntesis (Smith y Read, 2010).

La trufa negra presenta un aroma y sabor muy apreciados culinariamente, y es rica en carbohidratos y proteínas, teniendo un bajo contenido en grasas. Es un alimento rico en fibra, ácidos grasos monoinsaturados y se puede considerar una fuente de productos bioactivos como aminoácidos libres esenciales y minerales (Alirezalu *et al.*, 2016). Este hongo destaca también por sus propiedades medicinales, entre las que se incluyen efectos antioxidantes, antiinflamatorios, inmunosupresores, antimutagénicos y anticancerígenos, lo que hace muy interesante su cultivo (Alirezalu *et al.*, 2016).

Por otro lado, el cultivo de la trufa fomenta la participación de las comunidades rurales en la conservación y gestión de los ecosistemas (Pérez-Moreno *et al.*, 2021). Otros beneficios ambientales de las plantaciones truferas son su actividad como potencial cortafuegos y el mantenimiento de los ecosistemas rurales, así como su biodiversidad (Barou *et al.*, 2023a).

El cultivo de *T. melanosporum* constituye una actividad en continua expansión conforme aumenta el conocimiento acerca de los requerimientos agronómicos para su cultivo. En España, las plantaciones truferas cubren aproximadamente 20,000 hectáreas, con un notable incremento de las mismas en las últimas décadas (Oliach *et al.*, 2021). No obstante, la entrada en producción de estas plantaciones no comienza hasta al menos cinco años después del establecimiento de los árboles micorrizados y se requieren entre siete y once años para alcanzar su nivel regular de producción (Reyna y Garcia-Barreda, 2014). Otro factor a tener en cuenta es que, a pesar de que puede ser un cultivo altamente rentable (Oliach *et al.*, 2021), la inversión inicial para llevarlo a cabo es elevada.

Por estas razones, el cultivo intercalado de encinas truferas con otras especies vegetales compatibles está cobrando interés. En esta práctica se incorpora un cultivo complementario durante las etapas pre-productivas de las plantaciones truferas, lo que puede ayudar a mejorar tanto los servicios ecosistémicos como la rentabilidad de las mismas. Entre los cultivos compatibles, las plantas medicinales y aromáticas (MAPs) pueden ser una opción óptima, ya que comparten las mismas condiciones ecológicas que las encinas truferas. Como indican Geoffroy *et al.* (2018) y Martin-Chave (2019), los cultivadores de trufas del sur de Francia perciben que la

práctica de intercalar cultivos con plantas medicinales y aromáticas podría proporcionar diversos beneficios como la mejora de la producción de trufas, el aumento de la materia orgánica del suelo o el incremento de la resistencia a la sequía.

A medida que el micelio de *T. melanosporum* coloniza el suelo alrededor del árbol hospedante, se produce un efecto denominado quemado o "brûlé" (Fig. 1). Este término hace referencia a la zona del suelo alrededor del árbol, caracterizada por la ausencia de vegetación y posiblemente relacionada con el efecto alelopático de los metabolitos emitidos por la expansión del micelio del hongo (Streiblová *etal.*, 2012). Este fenómeno podría afectar al cultivo intercalado al transformar el entorno local afectando la flora y la microbiota del suelo (Streiblová *etal.*, 2012).



Figura 1. Efecto de brûlé o quemado en una encina micorrizada con *Tuber melanosporum*.

Existen pocos estudios sobre las interacciones entre las plantas productoras de trufa (que forman ectomicorrizas, ECM) y otras plantas acompañantes, como arbustos y herbáceas (en su mayoría formadoras de otro tipo de micorrizas, las arbusculares, AM), que crecen de forma espontánea o cultivada en brûlés de trufa (Taschen *etal.*, 2020). Entre las especies estudiadas, se ha comprobado que los árboles del género *Quercus* pueden establecer ambos tipos de simbiosis micorrícicas, formando estructuras AM y ECM. Sin embargo, la interacción simultánea y recíproca entre plantas que albergan hongos AM y ECM sigue siendo un área muy poco explorada (Netherway *etal.*, 2021).

Para lograr diseños eficientes en cultivos intercalados que mejoren la sostenibilidad y los servicios ecosistémicos, es fundamental comprender los procesos ecológicos subyacentes. En el caso de las plantas aromáticas y medicinales, investigaciones previas han evidenciado un aumento en el rendimiento de biomasa de brotes y producción de aceite esencial al inocular plantas como romero (*Rosmarinus officinalis* L) (Camprubí *et al.* 2013), salvia



(*Salvia officinalis* L.), tomillo (*Thymus vulgaris* L.) u orégano (*Origanum vulgare* L.) (Tarraf *etal.*, 2015) con hongos micorrícicos arbusculares (AM).

Recientemente, Barou *etal.* (2023b) observaron que el co-cultivo de encinas truferas y plantas medicinales y aromáticas mostraba interacciones, tanto a nivel vegetal como fúngico, en condiciones controladas de invernadero. En particular, los co-cultivos de encina con lavanda redujeron significativamente el crecimiento de ambas especies vegetales en comparación con sus respectivos monocultivos. No obstante, en el caso de las aromáticas, este efecto negativo fue mitigado por su colonización con hongos AM nativos.

Dada su importancia, la gestión de los hongos AM y plantas medicinales y aromáticas en las plantaciones truferas puede resultar de especial interés para optimizar el éxito de cultivos intercalados que, combinando distintas especies vegetales y distintos tipos de micorrizas, han de resultar compatibles.

2. Objetivos

El principal objetivo de este trabajo es evaluar las interacciones entre encinas y plantas aromáticas (tomillo y lavanda) y sus distintas asociaciones micorrícicas – ectomicorrícica ECM o arbuscular AM, respectivamente-, en condiciones experimentales de campo.

3. Metodología

En el año 2021, se estableció una parcela experimental en Maials (Lleida) con encinas de una savia micorrizadas con trufa negra, procedentes del vivero Vivers Massanés (Lleida), co-cultivadas un año mas tarde con plantas de tomillo (Fig. 2A). Paralelamente, se plantaron tomillos que habían sido previamente inoculados o no con hongos micorrícicos arbusculares (AM) nativos procedentes de otras plantaciones truferas productivas localizadas en Batea (BT) y Ports de Beceite (PT) (Tarragona) y en Montant de Tost (MT) (Lleida) (Barou *et al.* 2023b). Los tomillos se cultivaron en macetas con vermiculita en un umbráculo del IRTA (Cabrils, Barcelona) con irrigación por aspersión y fertilización con Osmocote Pro 19-9-10 + 2 Mg (1 g/planta en una única dosis inicial) y posteriormente se inocularon o no con el correspondiente inóculo AM.

Las encinas micorrizadas con trufa negra se plantaron a 6 metros de distancia entre sí y se co-cultivaron con dos plantas de tomillo plantadas a ambos lados, a 30 cm del huésped (Fig. 2A).



Figura 2: (A) Encina de tres años micorrizada con trufa negra y co-cultivada con dos plantas de tomillo. (B) Encina de 9 años micorrizada con trufa negra y co-cultivada con dos plantas de lavanda dentro y fuera del quemado

En total, se establecieron cinco tratamientos para testar el factor “compatibilidad”: 1) encinas sin tomillo (CC), 2) encinas con tomillo no inoculado (C) y encinas con tomillos inoculados con 3) hongos AM de BT, 4) de PT y 5) de MT, con 10 encinas por tratamiento. Además, se tuvo en cuenta el factor “riego” aplicando dos niveles por tratamiento de compatibilidad: 1) riego bajo al 35% de Evapotranspiración Referida (ETO) (n = 5) y 2) riego alto al 65% ETO (n = 5). El riego se aplicó desde mayo-agosto y se paró entre septiembre y octubre, según las condiciones del año.

En paralelo, en la misma finca experimental, se estableció un segundo ensayo de co-cultivo de encinas con plantas de lavanda (Fig. 2B). En este caso, el ensayo se instaló en una plantación productiva de encinas trufas de 9 años y lavandas, micorrizadas o no con inóculo BT de hongos AM. Las lavandas se co-cultivaron una dentro y otra fuera del quemado de cada encina, aproximadamente a 50 cm y 100 cm del tronco de la misma en el primer y segundo caso, respectivamente (Fig. 2B). Las lavandas habían sido previamente cultivadas e inoculadas en el IRTA (Cabrils, Barcelona), en las mismas condiciones descritas para el ensayo anterior.

En total se dispusieron 40 encinas micorrizadas con *T. melanosporum*, co-cultivadas con dos plantas de lavanda, una dentro y otra fuera del quemado, micorrizadas o no con inóculo AM de BT (n = 20). Además de los factores “compatibilidad” y “quemado”, también se tuvo en cuenta el factor “riego” con los mismos niveles descritos anteriormente.



A lo largo de los tres años desde el establecimiento de los ensayos en campo, se monitorizó el crecimiento anual y la supervivencia de las encinas en el ensayo de tomillo y el crecimiento y supervivencia de lavandas en el segundo ensayo, a la vez que se recogieron muestras de suelo para evaluar la diversidad y abundancia fúngicas.

Los datos de crecimiento de las plantas se analizaron mediante modelos lineales generalizados teniendo en cuenta la interacción entre factores ($p < 0,05$). Para las comparaciones por pares, se utilizó la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) para identificar diferencias significativas entre los niveles de cada factor. Todos los análisis y gráficos se realizaron con el software R v. 4.2.1 (R Team, 2022).

4. Resultados y Discusión

4.1. Co-cultivo de encinas truferas con tomillos

En el ensayo de co-cultivo con tomillo, la supervivencia de las encinas truferas fue del 96 % y la de los tomillos del 81 %, después de tres años de su establecimiento en campo.

Los factores “tiempo” y “compatibilidad” mostraron un efecto significativo sobre el crecimiento de las encinas, mientras que el “riego” no tuvo efecto y no se observaron interacciones entre los distintos factores (Tabla 1).

Las diferencias de crecimiento de las encinas a lo largo del tiempo fueron significativas, mostrando mayores diámetro y altura en el año 2024 que en los años anteriores (Tabla 1, Fig. 3).

El factor “compatibilidad” tuvo un efecto significativo sobre las encinas que, cuando se crecieron sin tomillo (CC) o con tomillo inoculado con MT, crecieron menos que con el resto de tratamientos, presentando el mayor crecimiento las encinas control con tomillos no micorrizados con AM (C) y las micorrizadas con el inóculo AM de BT, seguidas de las micorrizadas con PT (Tabla 1, Fig. 3).

Tabla 1. A) Análisis del crecimiento (diámetro y altura) de encinas micorrizadas con trufa negra en función de los factores Tiempo (2022, 2023, 2024), Compatibilidad (sin tomillo (CC), o con tomillo inoculado o no (C) con hongos AM de distintas procedencias BT, MT, PT) y Riego (bajo 35% ETO, alto 65% ETO) mediante modelos lineales generalizados teniendo en cuenta la interacción entre factores ($p < 0,05$). Las variables fueron normalizadas con la función logaritmo. B) Medias $\pm$ error estándar del diámetro y altura de las encinas por cada factor. Para cada factor, letras distintas indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0,05$).

(A)	Diámetro		Altura		
df	F	Sig.	F	Sig.	
Tiempo (T)	2	431,5	< 0,0001	175,9	< 0,0001
Compatibilidad (Co)	4	2,9	0,0229	3,2	0,0157
Riego (R)	1	0,2	0,665	1	0,317
T x Co	8	0,4	0,918	0,5	0,828
T x R	2	0,2	0,778	1,3	0,258
Co x R	4	2,3	0,063	2,3	0,063
T x Co x R	8	0,17	0,994	0,21	0,998
(B)	Diámetro (mm)		Altura (cm)		
Tiempo					
2022	6,7 ± 0,21 a		56,3 ± 1,1 a		
2023	24,2 ± 0,96 b		103,8 ± 3,7 b		
2024	33,6 ± 1,46 c		123,4 ± 4,3 c		
Compatibilidad					
CC	19 ± 2,1 a		85,1 ± 5,3 a		
C	23,4 ± 2,6 b		99,6 ± 6,9 c		
BT	23,6 ± 2,8 b		100,6 ± 8 c		
MT	19,4 ± 2 ab		88,4 ± 5,4 ab		
PT	22,5 ± 2,7 b		101,5 ± 8,3 bc		
Riego					
Bajo	21,1 ± 1,5 a		97 ± 4,6 a		
Alto	21,9 ± 1,6 a		92,5 ± 4 a		

El factor “riego” no afectó al crecimiento de las encinas (Tabla 1); sin embargo, aunque no se detectó interacción entre los distintos factores (Tabla 1), se observaron ciertas tendencias (Fig. 3). En este sentido, la compatibilidad entre plantas y hongos micorrícicos mostró una tendencia de efecto distinta en función de la dosis de riego aplicada, aunque sólo fue marginalmente significativa para el diámetro (compatibilidad x riego: $F=2,2$; $p=0,071$) (Fig. 3).

En 2024, con dosis de riego bajo, el crecimiento de las encinas fue similar en todos los tratamientos de compatibilidad, excepto en el inoculado con MT que fue ligeramente menor que el resto (Fig. 3). Al aplicar una dosis de riego alto, la presencia del tomillo parecía favorecer el crecimiento en diámetro y altura de las encinas con respecto al monocultivo sin tomillo (CC). Sin embargo, el hecho de que estos tomillos estuvieran inoculados con hongos AM parecía reducir el diámetro (BT, MT, PT) y la altura (MT) de las encinas con respecto a los árboles co-cultivados con tomillos no inoculados (C) (Fig. 3).

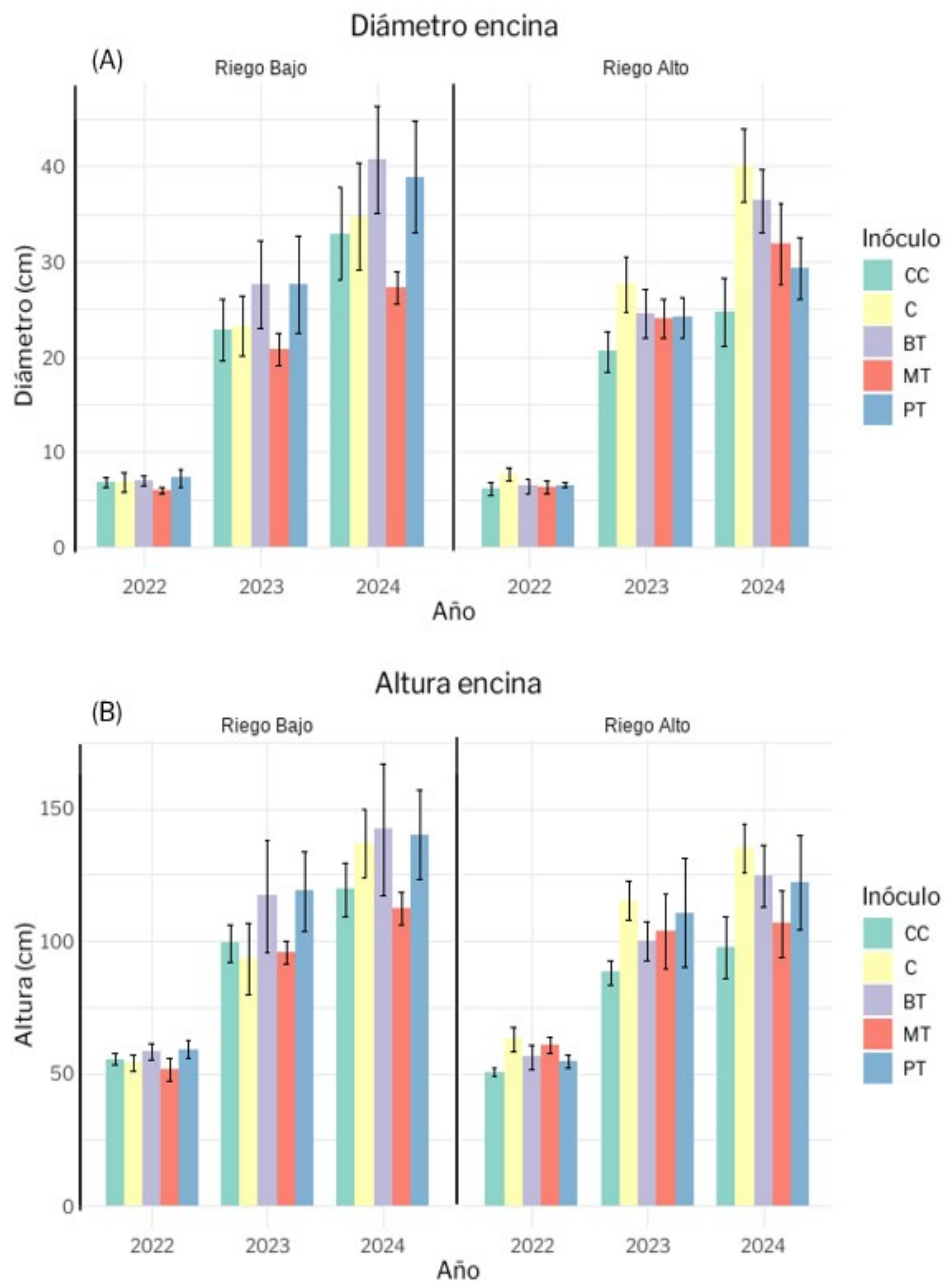




Figura 3: (A) Diámetro y (B) Altura de encinas micorrizadas con trufa negra y co-cultivadas con tomillos inoculados (CC) o con tomillos no inoculados (C) o inoculados con hongos micorrícicos arbusculares de distintas procedencias (BT, MT, PT), a lo largo de 3 años de crecimiento en la parcela de Maials (Lleida). Los resultados se presentan separados por régimen de riego: Riego Bajo 35% ETO y Riego Alto 65% ETO, para cada año. Datos = media $\pm$ error estándar, n = 5 encinas por tratamiento.

En ensayos previos de mesocosmos, Barou *et al.*, (2023b) obtuvieron resultados opuestos a las tendencias observadas en campo con dosis altas de riego en el presente estudio, ya que el co-cultivo de encina con distintas plantas medicinales y aromáticas - incluidas tomillo y lavanda - reducía significativamente el crecimiento de las encinas en comparación con el tratamiento de monocultivo, efecto que en general se agudizaba cuando las plantas aromáticas estaban previamente micorrizadas con hongos AM.

Una posible explicación a esta tendencia en los ensayos de campo de menor crecimiento de la encina en monocultivo que en co-cultivo con tomillo es que la presencia de éste pudiera favorecer la proliferación de hongos AM y sus conexiones con la encina (es decir, la micorrización dual ECM y AM). Esto supondría la competencia con el micelio de la trufa, pero, a su vez, facilitaría una mayor captación de agua y/o nutrientes poco disponibles para la encina. Algunos autores han sugerido que en suelos con exceso de agua los hongos AM pueden verse favorecidos respecto a los hongos ECM en plantas con micorrización dual (Teste *et al.*, 2019).

Por otro lado, la movilización de algunos nutrientes como el fósforo está estrechamente relacionada con los hongos AM (Ferrol *et al.*, 2019) y, además, este elemento es particularmente limitante en suelos básicos como los de las parcelas truferas (Sardans y Peñuelas, 2004). Cabe la posibilidad de que los tomillos control se colonizaran con los propágulos de hongos AM nativos del suelo de la parcela de Maials, más adaptados a las condiciones locales, y probablemente más competitivos que el resto de inóculos AM de otras procedencias, aspecto que se tendría que elucidar en futuros trabajos.

En cualquier caso, es necesario realizar un seguimiento exhaustivo del ensayo (ej., cuantificación del micelio de *T. melanosporum* y de hongos AM; verificación de micorrización de las raíces de encina etc.) y más a largo plazo para comprobar todas estas hipótesis.

4.2, Co-cultivo de encinas truferas con lavandas

Respecto al ensayo de co-cultivo de encinas adultas con lavanda, no se observaron diferencias significativas de los factores analizados “inoculación-AM, “riego”, y “quemado” sobre la altura de las lavandas, aunque, en todos los casos, se detectó una ligera reducción del crecimiento dentro del quemado y un efecto positivo del mismo en plantas micorrizadas con hongos AM (Fig.4).

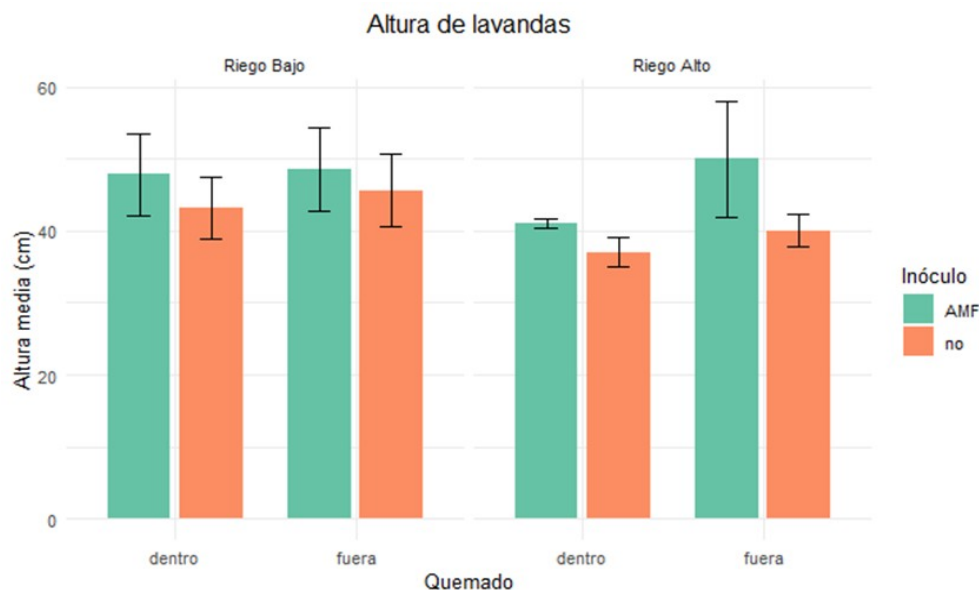


Figura 4: Altura de plantas de lavanda co-cultivadas dentro o fuera del quemado producido alrededor de encinas adultas (9 años) micorrizadas con *Tuber melanosporum*, tras tres años de crecimiento en la parcela de Maials (Lleida). Las lavandas estaban previamente micorrizadas (inóculo de BT) o no con hongos micorrícicos arbusculares (AMF). Los resultados se presentan separados por régimen de riego (Riego Bajo 35% ETO (izquierda) y Riego Alto 65% ETO (derecha), Datos = media $\pm$ error estándar, $n = 5$ lavandas por tratamiento

Esto podría estar relacionado con el efecto alelopático de los metabolitos producidos por la trufa, aunque no es descartable el efecto sombra de los árboles adultos sobre las plantas de lavanda (García-Barreda *et al.*, 2023), aspecto que habrá que seguir investigando.

Varios autores han observado un efecto significativamente negativo en co-cultivos encina-lavanda, tanto en condiciones controladas de crecimiento en invernadero (Barou *et al.*, 2023b), como en condiciones de campo (García-Barreda *et al.*, 2023), posiblemente indicando un fuerte efecto competitivo entre los hongos AM de la aromática y el micelio de *T. melanosporum*. Sin embargo, es necesario llevar a cabo el seguimiento a largo plazo de los dos ensayos presentados en este trabajo para poder obtener resultados más concluyentes.

5. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio de co-cultivo de encinas con plantas aromáticas (tomillo y lavanda) muestran que, en general, el desarrollo de las encinas no se ve fuertemente afectado por la presencia de estas especies, aunque su crecimiento es ligeramente influenciado por factores como la compatibilidad con los hongos micorrícicos y el régimen de riego aplicado.

De hecho, el crecimiento de las encinas jóvenes mejoró en presencia de tomillo no inoculado y, aunque el riego no tuvo un efecto significativo, se observaron tendencias marginales en cuanto a su interacción con el factor compatibilidad. Por ejemplo, en los tratamientos con riego alto, la sola presencia de tomillo parecía



favorecer el crecimiento de las encinas de tres años, lo cual podría relacionarse con su colonización por hongos AM nativos que pudiesen establecer conexiones con las encinas favoreciendo su crecimiento. Sin embargo, la inoculación previa de plantas aromáticas con hongos AM podría retrasar la producción de trufa negra, especialmente en plántulas jóvenes, debido a la competencia por recursos.

Nuestros resultados parecen indicar que el co-cultivo con plantas aromáticas puede ser beneficioso en etapas pre-productivas de las plantaciones truferas, permitiendo así la rentabilización del terreno sin afectar gravemente el desarrollo de las encinas. Estos hallazgos resaltan la importancia de considerar tanto las condiciones ambientales, como las interacciones entre las especies de hongos y plantas, a la hora de implementar prácticas de co-cultivo en truficultura.

Sin embargo, es necesario ajustar el equilibrio de las distintas prácticas de manejo, como dosis de riego o incorporación de inóculos AM potencialmente competidores del micelio de trufa, para no afectar el comienzo de la producción de trufa en este tipo de plantaciones mixtas. Por ello, es conveniente extender el monitoreo de estos ensayos durante todo el ciclo productivo de las MAPs (8-10 años) e ir cuantificando la abundancia del micelio de *T. melanosporum* y de hongos AM en el suelo, así como evaluar la posible micorrización dual (ECM y AM) en raíces de encina, para comprender las interacciones competitivas o sinérgicas entre simbioses y su impacto en la estabilidad del sistema suelo-planta-hongo.

Simultáneamente, sería útil analizar cómo afecta la expansión gradual del brúle. En las primeras etapas, cuando el brúle aún es pequeño, la influencia del micelio de *T. melanosporum* sobre las MAPs podría ser limitada. Sin embargo, a medida que el brúle se expande –indicando una mayor colonización del suelo por el hongo–, la competencia por recursos edáficos (p.ej., fósforo, agua) entre el micelio de trufa y las raíces de las MAPs podría intensificarse, reduciendo su crecimiento y producción de aceites esenciales, así como de servicios ecosistémicos clave (captura de carbono, apoyo a polinizadores). En este sentido, sería fundamental evaluar cómo la coexistencia de estos simbioses y su competencia por recursos afectan la biodiversidad microbiana del suelo y la resiliencia del ecosistema trufero a lo largo del tiempo.

Para ello, será crucial monitorear no solo parámetros agronómicos (rendimiento de biomasa, calidad de aceites), sino también cambios en las propiedades del suelo, como la dinámica de las comunidades microbianas. Además, sería relevante investigar si las MAPs, a través de sus exudados o aceites esenciales –con propiedades alelopáticas documentadas en otros sistemas (Zheljaskov et al., 2021)–, pueden influir en la producción trufera o incluso actuar como agentes de control biológico frente a plagas como *Leiodes cinnamomeus*, un coleóptero que daña las trufas en España (Araujo et al., 2023).

Dado que la interacción entre MAPs y *T. melanosporum* puede evolucionar a lo largo del ciclo productivo, sería conveniente ajustar las prácticas de manejo en función de la fase de desarrollo del brúle, optimizando variables como el riego, la poda o la densidad de MAPs para minimizar la competencia con *T. melanosporum*.



y maximizar la productividad del sistema en cada etapa del cultivo.

Todo esto, junto con análisis económicos que integren los costes de manejo, la rentabilidad de las MAPs y la productividad trufera, permitirá diseñar protocolos agronómicos adaptados a cada fase del cultivo, maximizando su sostenibilidad.

6. Agradecimientos

La investigación presentada en esta publicación ha sido financiada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MCIU), la Agencia Estatal de Investigación (AEI) y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) mediante los proyectos TUBERSYSTEMS (RTI2018-093907-BC21/2) y TUBERLINKS (PID2022-1364780B-C31/2/3).

7. Bibliografía

ALIREZALU, K.; AZADMARD-DAMIRCHI, S.; ACHACHLOUEI, B. F.; HESARI, J.; EMARATPARDAZ, J.; TAVAKOLIAN, R.; 2016. Physicochemical properties and nutritional composition of black truffles grown in iran. *Chem. Nat. Compd.* 52(2) 290–293.

BAROU, V.; VARELA, E.; RINCÓN, A.; PARLADÉ, J.; 2023a. Ecosystem services (es) related to truffle production. Int. Truffle Congr. Trufforum 2023, 3-5 Feb. Vic (Barcelona).

BAROU, V.; RINCÓN, A.; CALVET, C.; CAMPRUBÍ, A.; PARLADÉ, J.; 2023b. Aromatic plants and their associated arbuscular mycorrhizal fungi outcompete *Tuber melanosporum* in compatibility assays with truffle-oaks. *Biol.* 12(4) 628–640.

CAMPRUBÍ, A.; ZÁRATE, I. A.; ADHOLEYA, A.; LOVATO, P. E.; CALVET, C.; 2015. Field performance and essential oil production of mycorrhizal rosemary in restoration low-nutrient soils. *Land Degrad. Dev.* 26(8): 793–799.

FERROL, N.; AZCÓN-AGUILAR, C.; PÉREZ-TIENDA, J.; 2019. Review: Arbuscular mycorrhizas as key players in sustainable plant phosphorus acquisition: An overview on the mechanisms involved. *Plant Sci.* 280, 441-447

GARCÍA-BARREDA, S.; NAVARRO-ROCHA, J.; GÓMEZ-MOLINA, E.; BAROU, V.; SANZ, M. A.; SÁNCHEZ, S.; PARLADÉ, J.; 2023. Intercropping of aromatic plants in truffle orchards: short-term effect on extraradical truffle mycelium and aromatic plant growth. *Plant Soil.* <https://doi.org/10.1007/s11104-023-06106-3>

GEOFFROY, A.; RICHARD, F.; SANGUIN, H.; 2018. Impact of intercropping cultures



on truffle production and soil microbial communities in Mediterranean oak orchards. Bookl. Sféologie 2018; *Soc. Fr. Écol. Évol.*

MARTIN-CHAVE, A.; 2019. Produire de la truffe en agroforesterie: pratiques traditionnelles et expérimentations dans le sud-est. *SCOP Agroof.* Anduze, France.

NETHERWAY, T.; BENGTSSON, J.; KRAB, E. J.; BAHRAM, M.; 2021. Biotic interactions with mycorrhizal systems as extended nutrient acquisition strategies shaping forest soil communities and functions. *Basic Appl. Ecol.* 50 25–42.

OLIACH, D.; VIDALE, E.; BRENGO, A.; MAROIS, O.; ANDRIGHETTO, N.; STARA, K.; MARTÍNEZ DE ARAGÓN, J.; COLINAS, C.; BONET, J. A.; 2021. Truffle market evolution: an application of the Delphi method. *Forests* 12(9): 1174.

PÉREZ-MORENO, J.; GUERIN-LAGUETTE, A.; RINALDI, A. C.; YU, F.; VERBEKEN, A.; HERNÁNDEZ-SANTIAGO, F.; MARTÍNEZ-REYES, M.; 2021. Edible mycorrhizal fungi of the world: what is their role in forest sustainability, food security, biocultural conservation, and climate change? *Plants, People, Planet* 3(5) 471–490.

R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing 2022; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2022; Available online: <https://www.R-project.org/>

REYNA, S.; GARCÍA-BARREDA, S.; 2014. Black truffle cultivation: a global reality. *For. Syst.* 23 317–328.

SARDANS, J.; PEÑUELAS, J.; 2004. Increasing drought decreases phosphorus availability in an evergreen Mediterranean forest. *Plant Soil* 267, 367–377.

SMITH, S. E.; READ, D. J.; 2010. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press. 787 pages. London

STREIBLOVÁ, E.; GRYNLEROVÁ, H.; GRYNLER, M.; 2012. Truffle brûlé: an efficient fungal life strategy. *FEMS Microbiol. Ecol.* 80(1) 1–8.

TARRAF, W.; RUTA, C.; DE CILLIS, F.; TAGARELLI, A.; TEDONE, L.; DE MASTRO, G.; 2015. Effects of mycorrhiza on growth and essential oil production in selected aromatic plants. *Ital. J. Agron.* 10(3), 633

TASCHEN, E.; SAUVE, M.; VINCENT, B.; PARLADÉ, J.; VAN TUINEN, D.; AUMEERUDDY-THOMAS, Y.; ASSENAT, B.; SELROSSE, M.-A.; RICHARD, F.; 2020. Insight into the truffle brûlé: tripartite interactions between the black truffle (*Tuber melanosporum*), holm oak (*Quercus ilex*) and arbuscular mycorrhizal plants.



Plant Soil 446(1) 577–594.

TESTE, F. P.; JONES, M. D.; DICKIE, I. A.; 2020. Dual-mycorrhizal plants: their ecology and relevance. *New Phytol.* 225(5): 1835–1851.