



2025 | 16-20
GIJÓN | JUNIO

9º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

9CFE-1567

Organiza





El proyecto TUBERLINKS: Estudio de las relaciones árbol-hongo-suelo en sistemas truferos para adaptar las mejores prácticas de gestión y optimizar las producciones

RINCÓN, A. (1), PEGUERO-PINA, J. J. (2), BONET, J. A. (3, 4), ÁGUEDA, B. (5), ARENAS, F. (6), ALBÓ, D. (3, 7), BAROU, V. (8), COLINAS, C. (3, 7), GÓMEZ-MORTE, A. J. (1), MARTÍNEZ-PEÑA, F. (9), FERRIO, J. P. (10), MARTÍNEZ DE ARAGÓN, J. (7), DE MIGUEL, A. (11), OLIACH, D. (7), PROBANZA, A. (12) y PARLADÉ, J. (8).

- (1) Instituto de Ciencias Agrarias, ICA-CSIC. C/ Serrano 115bis, 28006, Madrid.
- (2) Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, CITA. Avda. De Montañana 930, 50059, Zaragoza.
- (3) Universidad de Lleida, UdL. Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida.
- (4) Agrotecnio-CERCA, Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida.
- (5) EifAB, Universidad de Valladolid, UVa Soria. Campus Duques de Soria s/n, 42004, Soria.
- (6) Universidad de Murcia, UM. CEIR CMN, Campus de Espinardo, 30100 Murcia.
- (7) Centro de Ciencia y Tecnología Forestal de Cataluña, CTFC. Ctra. Sant Llorenç de Morunys km 2, 25280 Solsona (Lleida).
- (8) Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, IRTA. Centre de Cabrils. Ctra. de Cabrils km. 2, 08348 Cabrils (Barcelona).
- (9) Centro para la Calidad de los Alimentos (CCA-INIA-CSIC), José Tudela s/n Campus Universitario Duques de Soria, Soria.
- (10) Estación Experimental de Aula Dei, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEAD-CSIC), Avda. Montañana 1005, 50059, Zaragoza.
- (11) Universidad de Navarra, UNAV. C/ Irunlarrea s/n, 31008, Pamplona (Navarra).
- (12) Universidad San Pablo CEU. P.O. Box 67, 28660, Boadilla del Monte (Madrid).

Resumen

La trufa negra (*Tuber melanosporum* Vittad.) es uno de los hongos comestibles más valorados mundialmente y España es uno de sus principales productores. Los requisitos agronómicos para el cultivo de trufa son conocidos, pero el desconocimiento sobre su ecología todavía dificulta la optimización de su producción. Además, la intensificación del cultivo genera problemas típicos de la agricultura convencional, como limitaciones hídricas y/o nutricionales o plagas, siendo recomendable el estudio del sistema árbol-trufa-suelo en su conjunto.

El proyecto TUBERLINKS tiene como principal objetivo investigar las interacciones ecológicas en el suelo de sistemas truferos y sus vínculos con la fisiología del árbol huésped, para optimizar estrategias de manejo basadas en el conocimiento y realizar una gestión sostenible de las plantaciones truferas. La hipótesis general es que comprender la ecología (biodiversidad, funcionamiento) del sistema suelo-trufa-árbol y sus interacciones con el entorno (clima, suelo), permitirá la gestión óptima de los sistemas agroforestales truferos y maximizará los servicios ecosistémicos asociados.

Se espera que TUBERLINKS genere nuevos conocimientos para diversos usuarios finales sobre la ecología de los sistemas truferos, el funcionamiento del suelo, la ecofisiología del árbol-huésped, la susceptibilidad de los sistemas truferos a la



gestión y las limitaciones medioambientales y la gestión sostenible de la producción de trufa.

Palabras clave

Quercus ilex, *Tuber melanosporum*, ectomicorrizas, ecología de la trufa, truficultura, sistema árbol-trufa-suelo.

1. La trufa negra y su producción

La trufa negra, *T. melanosporum*, es uno de los hongos comestibles más apreciados a nivel mundial y España es uno de sus principales productores (OLIACH et al., 2021). Se trata de un hongo ascomiceto, hipogeo, que forma simbiosis ectomicorrícica con diferentes especies de árboles, como la encina (*Quercus ilex* L.) o el quejigo (*Quercus faginea* Lam.). La trufa negra se distribuye de forma natural principalmente en Francia, Italia y España, donde tradicionalmente también ha sido cultivada. Dada su gran importancia económica, el cultivo de la trufa se ha extendido a otros países de clima mediterráneo como Australia, Sudáfrica, Nueva Zelanda o Chile.

En la España calcárea, la recolección de trufa silvestre ha desempeñado un papel relevante en la economía rural, con unos ingresos estimados de 7,5 M€ al año (REYNA Y GARCIA-BARREDA, 2014), aunque su producción sufrió un gran declive a partir de la segunda mitad del siglo XX (LE TACON et al., 2016), lo que promovió la expansión de plantaciones. En España, se estima que hay unas 20.000 ha de plantaciones truferas, que producen la mayor parte del rendimiento total de trufa, con ~ 600 ha de nuevo cultivo cada año (REYNA Y GARCIA-BARREDA, 2014; OLIACH et al., 2021).

La truficultura es, por tanto, una valiosa herramienta para el desarrollo local sostenible, ya que promueve la economía local, así como la implicación de las comunidades rurales en la protección y gestión de los ecosistemas mediterráneos, normalmente poco productivos y muy vulnerables al cambio climático, contribuyendo así a generar servicios ecosistémicos clave (OLIACH et al., 2021).

En las últimas décadas, la mejora del conocimiento de la biología de la trufa negra, incluyendo la secuenciación de su genoma, ha abierto nuevos horizontes en la investigación de este hongo, aportando nuevos criterios para mejorar su cultivo (LE TACON et al., 2016). Sin embargo, aunque los requisitos agronómicos generales para el establecimiento de plantaciones de trufa están bien documentados (BONET et al., 2009), el ciclo de vida y la ecología de las trufas y sus interacciones con el árbol huésped son todavía poco conocidos, lo que dificulta enormemente la optimización y estabilización de la producción de estos hongos. Además, la intensificación del cultivo genera problemas típicos de la agricultura convencional, como limitaciones hídricas y/o nutricionales o la presencia de plagas, lo que hace recomendable el estudio del sistema árbol-trufa-suelo en su conjunto.

2. El proyecto de investigación TUBERLINKS: objetivos y metodologías

El estudio de la biología de la trufa negra, sus interacciones con el suelo y los servicios ecosistémicos asociados tiene un largo recorrido (REYNA, 2007; MURAT et al., 2013; PARLADÉ et al., 2013; OLIVIER et al., 2018). Fruto de la colaboración interdisciplinar entre numerosos investigadores que cuentan con una larga



trayectoria en el estudio de la trufa en España, y precedido del proyecto TUBERSYSTEMS (IRTA, ICA-CSIC), desde finales del año 2023 está en marcha el proyecto coordinado TUBERLINKS (<https://tuberlinks.csic.es/>). Con este nuevo proyecto pretendemos dar un paso más en el estudio de la trufa aportando una visión integrada de distintas líneas de investigación complementarias en los campos de la ecología microbiana del suelo, la ecofisiología vegetal, la simbiosis micorrícica y la gestión de sistemas agroforestales. La colaboración de los tres grupos de investigación que unen sus conocimientos en este proyecto ((ICA-CSIC, CITA, Agrotecnio) está creando sólidas sinergias entre la investigación básica y aplicada contribuyendo a una mejor comprensión del ciclo de vida de la trufa y su cultivo.

El principal objetivo del proyecto coordinado TUBERLINKS es investigar las interacciones ecológicas en el suelo de sistemas truferos y sus vínculos con la fisiología del árbol, para optimizar estrategias basadas en el conocimiento y realizar una gestión sostenible de las plantaciones truferas. La hipótesis general es que la comprensión de la ecología (biodiversidad, funcionamiento) del sistema suelo-trufa-huésped y sus interacciones con el entorno (clima, suelo), permitirá la gestión óptima de los sistemas agroforestales truferos y maximizará los servicios ecosistémicos asociados a los mismos.

El proyecto propone tres objetivos generales (*Figura 1*), a desarrollar en tres sub-proyectos, centrados en: 1) estudiar el impacto del micelio de la trufa en la biodiversidad y funcionalidad del suelo en sistemas truferos silvestres y gestionados, 2) estudiar la fisiología del árbol huésped micorrizado por la trufa y la respuesta del sistema árbol-suelo a la disponibilidad de agua y nutrientes y 3) perfeccionar las técnicas de cultivo de la trufa en función de las necesidades fisiológicas del árbol huésped y de la dinámica del suelo, considerando el sistema árbol-trufa-suelo en su conjunto.

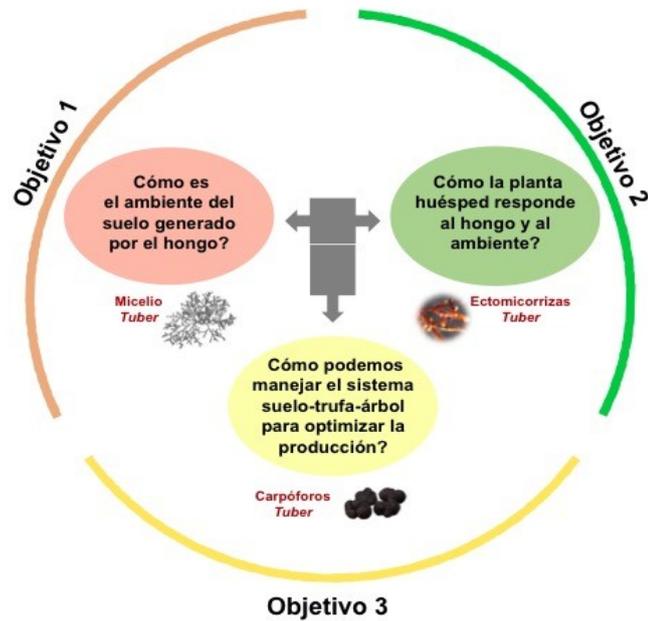


Figura 1. Objetivos generales del proyecto coordinado TUBERLINKS y cuestiones clave interrelacionadas que se abordan sobre la biodiversidad y el funcionamiento del suelo (Objetivo 1), las respuestas fisiológicas de la planta huésped a la trufa y las condiciones ambientales (Objetivo 2), y el diseño de itinerarios de gestión para optimizar los rendimientos de las plantaciones truferas (Objetivo 3).

El proyecto TUBERLINKS dispone de una extensa red de parcelas procedente de proyectos e iniciativas anteriores lideradas por el equipo de investigación y que incluyen plantaciones truferas monoespecíficas y bosques adyacentes productores de trufa silvestre, que cubren el área de distribución natural potencial de la trufa negra en España (BAROU et al., 2024, PIÑUELA et al., 2021). En España, el árbol elegido para las plantaciones truferas suele ser la encina y/o el quejigo, por lo que el estudio de ambas especies vegetales se contempla en este proyecto.

En TUBERLINKS, se están llevando a cabo 1) diseños observacionales de campo para determinar el efecto del tipo de producción (silvestre vs plantación) y la estacionalidad sobre la biodiversidad y funcionalidad del suelo trufero, 2) diseños experimentales de campo para determinar el efecto de la disponibilidad de agua y nutrientes, así como de distintas prácticas de manejo (desherbado, riego, poda, cultivo con otras plantas) y 3) diseños en condiciones controladas de invernadero para analizar la respuesta del sistema planta-hongo a distintos niveles de estrés hídrico edáfico/atmosférico y de fertilización.



Se emplean técnicas de microbiología y biología molecular para la cuantificación del micelio de *T. melanosporum* y otros hongos por qPCR (PARLADÉ et al., 2013; BAROU et al., 2023) y la determinación de la biodiversidad microbiana del suelo mediante secuenciación masiva y análisis bioinformáticos, así como técnicas de edafología para la caracterización físico-química y funcional de los suelos (BAROU et al., 2025). Asimismo, se utilizan diversas técnicas de ecofisiología vegetal, incluyendo el análisis de isótopos estables de carbono y oxígeno, técnicas punteras de teledetección (ej., medida en continuo de la temperatura de la copa mediante termómetros de infrarrojo) y vuelos de dron con cámaras multispectrales que permiten determinar el estado hídrico y la actividad fotosintética de las plantas de manera integrada a escala de árbol y de plantación (SANCHO-KNAPIK et al., 2022; MARTÍNEZ-RODRIGO et al., 2022) en las parcelas productoras. Los datos que se están obteniendo serán evaluados mediante distintos análisis estadísticos como modelos mixtos generalizados, modelos estructurales y/o análisis multivariante.

3. Avances de TUBERLINKS en la investigación sobre la trufa negra

A pesar de ser una de las especies micorrícicas comestibles más valoradas a nivel mundial, la trufa sigue presentando importantes interrogantes científicos relacionados con su ecología y manejo. Con la creciente profesionalización de los trufficultores, la trufficultura se ha convertido en la principal actividad económica para muchos de ellos. Este avance ha impulsado el aumento de las plantaciones, lo que, a su vez, ha dado lugar a desafíos comunes de la agricultura convencional, como las limitaciones hídricas y nutricionales, problemas de sanidad vegetal, adecuación del suelo, y la calidad y productividad de las masas fructíferas, entre otros. Además, las plantaciones de trufa negra comienzan a ser rentables aproximadamente a partir del quinto año, lo que ha despertado el interés por diversificar las producciones asociadas, una línea prometedora dentro del sector. Es necesario, por tanto, mejorar el conocimiento científico de la ecología de la trufa negra y poder perfeccionar las técnicas culturales a utilizar por los agricultores profesionales. Todas estas cuestiones centrales están siendo abordadas en el proyecto TUBERLINKS desde su inicio a final de 2023 y serán estudiadas a lo largo de cuatro años. El proyecto pretende dar respuesta a esta demanda de conocimiento a través del estudio integrado del sistema suelo-trufa-planta en su conjunto. Además, se espera que este proyecto proporcione conocimiento técnico para mejorar la gestión del cultivo y la fructificación en las plantaciones de trufa negra.

Los resultados obtenidos hasta el momento en el marco del proyecto TUBERLINKS han permitido evaluar el uso de distintos índices para determinar el estado fisiológico de las encinas, monitorizar la compatibilidad del co-cultivo con plantas medicinales y aromáticas en plantaciones truferas, y profundizar sobre distintos aspectos de la ecología de la trufa negra.

Por un lado, se ha evaluado el uso de varios índices fisiológicos basados en la medida de la temperatura de la copa mediante termómetros de infrarrojo y la reflectancia en el visible y en el infrarrojo cercano para la monitorización continua del estado fisiológico de la planta huésped y el uso del agua en el cultivo de la trufa. Así, SANCHO-KNAPIK et al. (2022) ya demostraron que la termometría de infrarrojos puede ser un estimador preciso de la transpiración de la encina medida



en continuo a escala de planta entera, bajo distintas condiciones de disponibilidad de agua en el suelo y en la atmósfera. El proyecto TUBERLINKS va a utilizar esta metodología para estimar el consumo de agua en diversas plantaciones trufas bajo condiciones climáticas contrastadas. Además, el proyecto TUBERLINKS ya ha conseguido resultados que evidencian que la reflectancia foliar en las “bandas del agua” (especialmente a 1450 nm) puede ser una prometedora herramienta para la monitorización precisa de los cambios en el estado hídrico de la encina, incluso sin la necesidad de usar una banda de referencia (PEGUERO-PINA et al., 2023). Estas investigaciones permiten la monitorización continua del estado fisiológico de la encina y el control inteligente del agua en el cultivo de la trufa.

Por otro lado, recientemente se han aportado nuevos datos sobre la ecología de la trufa negra, determinando las principales variables ambientales que afectan al micelio y su impacto sobre la funcionalidad del suelo. La modelización de la biomasa micelial de *T. melanosporum* a lo largo del área de distribución natural en España ha revelado una densidad de micelio similar en bosques y plantaciones (BAROU et al., 2024), aunque en bosques influyen factores como el carbonato cálcico, sodio y zinc, mientras que en plantaciones destacan la elevación, materia orgánica y nutrientes como fósforo y magnesio. Respecto a la dinámica funcional del micelio de trufa, se ha comprobado que los suelos de bosques productores tienen, en general, menor actividad enzimática que los de plantaciones y que ésta es, a su vez, mayor en primavera que en otoño (BAROU et al., 2025). También se ha observado que la abundancia del micelio de trufa afecta negativamente a las actividades enzimáticas relacionadas con la movilización de carbono y nitrógeno en el suelo, lo cual podría tener implicaciones para la nutrición de la planta huésped. Estos hallazgos contribuyen al avance científico sobre la ecología de la trufa negra, integrando el papel del micelio y del entorno edáfico, y permiten comprender mejor la funcionalidad de los sistemas productores de este hongo.

En paralelo, dando continuidad al trabajo previo realizado por BAROU et al. (2023), se está evaluando la compatibilidad del co-cultivo de plantas aromáticas, como tomillo y lavanda, con encinas trufas, en condiciones experimentales de campo, con el fin de optimizar la rentabilidad en las primeras etapas de las plantaciones. Para ello, se está realizando el seguimiento de plantaciones de encinas ectomicorrizadas con trufa negra y la compatibilidad del co-cultivo con plantas aromáticas inoculadas o no con hongos micorrícicos arbusculares. Estos estudios de compatibilidad entre especies vegetales y sus hongos simbiotes, así como otros estudios que se llevan a cabo en el marco del proyecto sobre otras prácticas de manejo (riego, fertilización, poda, desherbado), son fundamentales desde el punto de vista aplicado y la perspectiva del aumento del rendimiento de las producciones en las plantaciones.

El proyecto TUBERLINKS tiene potencial para generar nuevos conocimientos para diferentes usuarios finales sobre la ecología de los sistemas trufas, el funcionamiento del suelo, la ecofisiología del árbol huésped, y la gestión sostenible de la trufa. La combinación de investigación básica y aplicada en torno a este tema es esencial para mejorar las estrategias de gestión y aumentar la producción controlada de este valioso hongo comestible. La gestión óptima de estos sistemas agroforestales requiere conocer el ciclo de vida de la trufa, la ecología (biodiversidad, funcionamiento) del sistema suelo-trufa-árbol huésped y sus interacciones con el medio. Se espera que los resultados del proyecto ayuden a diseñar estrategias para optimizar la producción de micelio y esporocarpos de trufa, así como otras producciones compatibles.



4. Conclusiones

El proyecto TUBERLINKS aborda investigaciones que aportarán conocimientos clave para diversos usuarios finales, desde agricultores hasta investigadores, sobre la ecología de los sistemas truferos, la optimización de la biomasa micelial y la gestión sostenible de las producciones.

Los resultados obtenidos hasta el momento han permitido evaluar índices para el estado fisiológico de las encinas, monitorizar la compatibilidad del co-cultivo de plantas aromáticas en plantaciones truferas, y profundizar en el conocimiento de la ecología de la trufa negra.

El enfoque integral de este proyecto permitirá diseñar estrategias más efectivas para aumentar la producción controlada de este valioso hongo comestible, fomentando así el manejo más eficiente y sostenible de las plantaciones truferas.

5. 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 el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) mediante los proyectos TUBERSYSTEMS (RTI2018-093907-B-C21/2) y TUBERLINKS (PID2022-I364780B-C31/2/3). JJPP, FMP y JPF agradecen el apoyo del Grupo de Referencia S74_23R (Gobierno de Aragón).

6. Bibliografía

BAROU, V.; RINCÓN, A.; CALVET, C.; CAMPRUBÍ, A.; PARLADÉ, J.; 2023. Aromatic plants and their associated arbuscular mycorrhizal fungi outcompete *Tuber melanosporum* in compatibility assays with truffle-oaks. *Biology* 12(4) 628–640. <https://doi.org/10.3390/biology12040628>

BAROU, V.; RINCÓN, A.; PARLADÉ, J.; 2024. Modelling environmental drivers of *Tuber melanosporum* extraradical mycelium in productive holm oak plantations and forests. *For Ecol Man* 563: 121988. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2024.121988>

BAROU, V.; PARLADÉ, J.; RINCÓN, A.; 2025. *Tuber melanosporum* Vittad. abundance and specific soil parameters predict soil enzymatic activity in wild and managed truffle producing systems. *Appl Soil Ecol* 206: 105872. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2025.105872>

BONET, J. A.; OLIACH, D.; FISCHER, C.; OLIVERA, A.; MARTÍNEZ DE ARAGÓN, J.; COLINAS, C.; 2009. Cultivation methods of the black truffle, the most profitable mediterranean non-wood forest product; a state-of-the-art review. In: Modelling, valuing and managing Mediterranean forest ecosystems for non-timber goods and services, 57. EFI Proceedings. Palahí, M.; Birot, Y.; Bravo, F.; Gorriz, E.; (eds). EFI Publisher, Saarijärvi, Finland.



LE TACON, F.; RUBINI, A.; MURAT, C.; RICCIONI, C.; ROBIN, C.; BELFIORI, B.; ZELLER, B.; DE LA VARGA, H.; AKROUME, E.; DEVEAU, A.; MARTIN, F.; PAOLOCCI, F.; 2016. Certainties and uncertainties about the life cycle of the Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.). *Ann For Sci* 73, 105-117. DOI 10.1007/s13595-015-0461-1

MARTÍNEZ-RODRIGO, R.; GÓMEZ, C.; TORAÑO-CAICOYA, A.; BOHNHORST, L., UHL, E.; ÁGUEDA, B.; 2022. Stand structural characteristics derived from combined TLS and landsat data support predictions of mushroom yields in Mediterranean forest. *Remote Sens* 14(19), 5025. <https://doi.org/10.3390/rs14195025>

MURAT, C.; RUBINI, A.; RICCIONI, C.; DE LA VARGA, H.; AKROUME, E.; BELFIORI, B.; GUARAGNO, M.; LE TACON, F.; ROBIN, C.; HALKETT, F.; MARTIN, F.; PAOLOCCI, F.; 2013. Fine scale spatial genetic structure of the black truffle (*Tuber melanosporum*) investigated with neutral microsatellites and functional mating type genes. *New Phytol* 199 (1): 176-187

OLIACH, D.; VIDALE, E.; BRENKO, 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: 1174. <https://doi.org/10.3390/f12091174>

OLIVIER, J. M.; SAVIGNAC, J. CH.; SOURZART, P; 2018. Truffe et Trufficulture. 352 pp. ISBN-978-286577-287-2. Ed. FANLAC, France

PARLADÉ, J.; DE LA VARGA, H.; DE MIGUEL, A. M.; SÁEZ, R.; PERA, J.; 2013. Quantification of extraradical mycelium of *Tuber melanosporum* in soils from truffle orchards in northern Spain. *Mycorrhiza* 23(2), 99–106. doi: 10.1007/s00572-012-0454-y

PEGUERO-PINA, J. J.; SANCHO-KNAPIK, D.; FERRIO, J. P.; LÓPEZ-BALLESTEROS, A.; RUÍZ-LLATA, M.; GIL-PELEGRIN, E.; 2023. Reevaluating Near-Infrared Reflectance as a tool for the study of plant water status in Holm Oak (*Quercus ilex* subsp. *rotundifolia*). *Forests* 14(9). 1825. <https://doi.org/10.3390/f14091825>

PIÑUELA, Y.; ALDAY, J. G.; OLIACH, D.; CASTAÑO, C.; BOLAÑO, F.; COLINAS, C.; BONET, J. A.; 2021. White mulch and irrigation increase black truffle soil mycelium when competing with summer truffle in young truffle orchards. *Mycorrhiza* 31(3), 371-382 <https://doi.org/10.1007/s00572-020-01018-x>

REYNA, S.; 2007. Truficultura. Fundamentos y Técnicas. 688 pp. ISBN 10: 84-8476-305-6. Mundi-Prensa, Madrid.

REYNA, S.; GARCÍA-BARRERA, S.; 2014. Black truffle cultivation: a global reality. *For*



Syst 23: 317–328. <https://doi.org/10.5424/fs/2014232-04771>

SANCHO-KNAPIK, D.; MENDOZA-HERRER, Ó.; ALONSO-FORN, D.; SAZ, M.A.; MARTÍN-SÁNCHEZ, R.; DOS SANTOS SILVA, J.V.; OGEE, J.; PEGUERO-PINA, J.J.; GIL-PELEGRÍN, E.; FERRIO, J.P. 2022. Vapor pressure deficit constrains transpiration and photosynthesis in holm oak: A comparison of three methods during summer drought. *Agric For Meteorol* 327, 109218. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2022.109218>