



Fundación
Miguel Lillo
Tucumán
Argentina

doi

Evaluación morfológica de la interacción de raíces de *Pinus* y *Quercus* con hongos del género *Tuber* en el marco del primer proyecto desarrollado en la provincia de Tucumán (Argentina)

Morphological evaluation of the interaction of *Pinus* and *Quercus* roots with fungi of the genus *Tuber* in the framework of the first project developed in the province of Tucumán (Argentina)

Albornoz, Patricia L.^{1,2*}; Aldo Berettoni³; Jorge Ale³; Alicia Forns³; Myriam del V. Catania^{4*}

¹ Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo (UNT), Miguel Lillo 205, San Miguel de Tucumán T4000JFE, Argentina.

² Instituto de Morfología Vegetal, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, San Miguel de Tucumán T4000JFE, Argentina.

³ Sección Horticultura, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Av. William, W. Cross 3150, T4101XAC San Miguel de Tucumán, Tucumán.

⁴ Instituto Criptogámico, Sección Micología, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, San Miguel de Tucumán T4000JFE, Argentina.

* Autores correspondientes: <albornoz@csnat.unt.edu.ar> <mcatania@lillo.org.ar>

Resumen

Las trufas son hongos hipógeos que crecen en asociación con las raíces de ciertas especies arbóreas, formando una asociación simbiótica mutualista. En la provincia de Tucumán, en el año 2012, la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres llevó a cabo el primer proyecto provincial y regional para evaluar el cultivo de trufas como alternativa productiva en el noroeste argentino. En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la interacción de inóculos ectomicorrícicos en especies forestales, caracterizar los diferentes tipos

► Ref. bibliográfica: Albornoz, P. L.; Berettoni, A.; Ale, J.; Forns, A.; Catania, M. del V. 2025. Evaluación morfológica de la interacción de raíces de *Pinus* y *Quercus* con hongos del género *Tuber* en el marco del primer proyecto desarrollado en la provincia de Tucumán (Argentina). *Lilloa* 62 – Suplemento N° 2: "Interacciones biológicas en un mundo cambiante": 157-175. doi: <https://doi.org/10.30550/j.lil/2184>

► Recibido: 8 de marzo 2025 – Aceptado: 24 de mayo 2025 – Publicado: 27 de junio 2025.



OPEN ACCESS

► URL de la revista: <http://lilloa.lillo.org.ar>

► Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

morfológicos de las estructuras micorrícicas y describir las características del esporoma de *Tuber uncinatum* diferenciado en la interacción. Las plantaciones fueron establecidas en cinco localidades de la provincia, ubicadas en zonas de piedemonte y en valles intermontanos y de altura. Se inocularon dos especies de *Pinus* y dos de *Quercus* con tres especies de *Tuber*. Los muestreos se llevaron a cabo en los meses de mayo y junio de los años 2015 a 2018, así como en diciembre de 2024. Se tomaron muestras de raíces, compuestas por tres submuestras, correspondiente a cada individuo/combinación/localidad. Posteriormente, se realizaron cortes transversales de las raíces a los cuales se aplicaron técnicas histológicas y tinciones convencionales. En todos los sitios analizados se evidenció la existencia de una simbiosis efectiva entre las raíces y los hongos inoculados, tal como fue corroborado por las características morfológicas y anatómicas observadas. Las estructuras se describen e ilustran en las seis combinaciones evaluadas. Esta producción forestal con diferenciación de esporomas de *Tuber* muestra un potencial de rentabilidad a futuro, consolidándose como una alternativa productiva prometedora para el desarrollo económico y ecológico de la región.

Palabras clave: Desarrollo regional; ectomicorizas; inoculación; *Pinus*; *Quercus*; *Tuber*.

Abstract

Truffles are hypogeous fungi that grow near the roots of certain tree species, forming a mutualistic symbiotic association. In the province of Tucumán, in 2012, the Obispo Colombres Agro-Industrial Experimental Station carried out the first provincial and regional project to evaluate truffle cultivation as a productive alternative in Northwestern Argentina. In this context, the present study aims to assess the interaction of ectomycorrhizal inocula in forest species, characterize the different morphological types of mycorrhizal structures, and describe the features of the *Tuber uncinatum* sporocarp, differentiated in the interaction. The plantations were established in five localities within the province, located in piedmont zones, intermontane and high-altitude valleys. Two species of *Pinus* and two of *Quercus* were inoculated with three species of *Tuber*. The samplings were carried out in the months of May and June from 2015 to 2018, as well as in December 2024. Root samples were taken with three subsamples, corresponding to each individual/combination/locality. Subsequently, cross-sections of the root were made, to which histological techniques and conventional staining methods were applied. An effective symbiosis between the roots and the inoculated fungi was evident at all analysed sites, as corroborated by the morphological and anatomical characteristics observed. These structures are described and illustrated in the six combinations evaluated. This forestry production with *Tuber* sporocarp differentiation shows a potential for future profitability, consolidating itself as a promising productive alternative for the economic and ecological development of the region.

Keywords: Ectomycorrhizae; inoculation; *Pinus*; *Quercus*; *Tuber*; regional development.

INTRODUCCIÓN

Las trufas son hongos hipógeos que establecen asociaciones simbióticas mutualistas con los sistemas radiculares de especies arbóreas específicas, principalmente encinas, robles y avellanos, entre otras (Boa, 2004; Quiroga *et al.*, 2024). Estos hongos pertenecen al género *Tuber* P. Micheli ex F.H. Wigg., de la familia Tuberaceae (Pezizales, Ascomycota). La "trufa" corresponde al esporoma, ascoma o cuerpo fructífero del hongo, cuya morfología y características organolépticas varían entre especies (Quiroga *et al.*, 2024).

Diversas especies del género *Tuber* poseen valor comercial, entre ellas *Tuber aestivum* Vittad., *T. borchii* Vittad., y *T. magnatum* Picco, siendo *T. melanosporum* Vittad. la más destacada a nivel mundial por su demanda y volumen de comercialización (Zambonelli *et al.*, 2017). Francia lidera la producción de la trufa negra del Périgord (*T. melanosporum*), seguida por Italia, principal productor de trufa blanca (*T. magnatum*). Otros países como España, Eslovenia, Grecia, Turquía, Argentina, Chile, Australia y Nueva Zelanda también cultivan trufa negra, mientras que Croacia sobresale en la producción de trufa blanca. Estados Unidos produce ambas variedades (Leonardi *et al.*, 2021).

En Argentina, la truficultura se inició en la década de 1990 con la importación de esporas europeas por parte de productores locales. En 2007, la empresa Trufas del Sur S.A., ubicada en Coronel Suárez (Buenos Aires), fundó la primera planta de producción de árboles micorrizados con *Tuber melanosporum*, con asesoramiento de especialistas españoles y chilenos (<https://trufasdelsur.com/>). Posteriormente, en 2011, se estableció Trufas del Nuevo Mundo, en Espartillar y Sierra de la Ventana (Buenos Aires), la cual desde 2020 exporta trufa negra argentina a mercados europeos y estadounidenses (<https://trufasdelnuevomundo.com/historia/>).

Actualmente, en Argentina, el cultivo de trufas se extiende desde el norte de la Patagonia hasta Tucumán, abarcando provincias como Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba, Neuquén y Mendoza, entre otras (Infocampo, 2025a). Existen más de 400 hectáreas plantadas en distintas etapas de desarrollo, de las cuales aproximadamente 75 hectáreas están en fase productiva (Lagos, 2025).

Bajo condiciones adecuadas, la producción puede comenzar alrededor del cuarto año tras el establecimiento de la forestación, aunque para fines de evaluación se considera el inicio del ciclo productivo a partir del quinto año. La mayor producción suele alcanzarse en torno a los 10 años, periodo de tiempo después del cual se estabiliza (Leonardi *et al.*, 2021). Una plantación de trufas tiene una vida útil estimada de entre 20 y 25 años, con posibilidad de realizar múltiples cosechas en una misma temporada, lo que incrementa su rentabilidad a largo plazo (Infocampo, 2025b).

La truficultura se considera un sistema agroforestal que no solo contribuye a la reforestación de terrenos, sino que también impulsa el desarrollo económico de zonas rurales con recursos limitados (Boa, 2004; Sáez y De Miguel, 2008; Reyna, 2012; Reyna y García-Barreda, 2014). En este marco, la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), en el año 2012, llevó a cabo el primer proyecto provincial para evaluar el cultivo de trufas como alternativa productiva en el noroeste argentino. En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la efectividad de la inoculación con suspensión de esporas de diferentes especies de *Tuber* en cuatro plantaciones forestales, caracterizar los diferentes tipos morfológicos de las estructuras micorrícicas diferenciadas y describir las características del esporoma de *Tuber uncinatum* Chatin generado en la interacción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios del ensayo y muestreo

En la provincia de Tucumán, en el año 2012, se establecieron plantaciones de truferas en cinco localidades de la provincia: Las Carreras (Tafí del Valle, 26°54'30"S 65°45'47"O, 2270 m snm), Villa Padre Monti, (Burruyacú, 26°30'39"S 64°59'50"O, 915 m nsm), Rodeo Grande (Trancas, 26°28'43"S 65°33'49"O, 1494 m snm), Encalilla (Amaicha del Valle, 26°28'34"S 65°58'41"O, 1755 m snm), y Benjamín Paz (Trancas, 26°24'48"S 65°17'45"O, 769 m snm). La Tabla 1 presenta las interacciones entre especies del género *Tuber* y diversas especies de plantas forestales empleadas en los sitios previamente seleccionados, en función de sus condiciones climáticas y edáficas (Fig. 1).

Los muestreos se realizaron en mayo y junio del 2015 al 2018 y en diciembre del 2024. Se tomaron muestras de raíces, compuestas por tres submuestras, por individuo/combinación/localidad.

Inóculo-Hospedante

El inóculo consistió en particulados de esporomas específicos, procedentes de la Universidad de Perugia, Italia. Las especies de hongos fueron: *Tuber aestivum*, *T. borchii*, *T. melanosporum* y *T. uncinatum*. Este material fue utilizado para la generación de una suspensión mezclando 10 gr de inóculo en 1 l. de agua, la cual fue homogeneizada con un agitador magnético durante 12 h. La aplicación de cada suspensión se llevó a cabo a través de la inyección de 10 ml de la misma en el cuello de cada planta de no más de 15 cm de alto. Las especies arbóreas inoculadas fueron: *Quercus ilex* L., *Q. robur* L., *Pinus halepensis* Mill., *P. pinea* L. (Tabla 1).



Fig. 1. Plantaciones de truferas en la provincia de Tucumán. A, B) Tafí del Valle, *Pinus halepensis*. C, D) Rodeo Grande, *Quercus robur*. E, F) Benjamín Paz, *Pinus halepensis*.

Fig. 1. Truffle plantations in Tucumán province. A, B) Tafí del Valle, *Pinus halepensis*. C, D) Rodeo Grande, *Quercus robur*. E, F) Benjamín Paz, *Pinus halepensis*.

Tabla 1. Ubicación de las truferas y combinaciones de hospedantes con hongos ectomicorrícicos.
Table 1. Location of truffle trees and host combinations with ectomycorrhizal fungi.

Combinación (hospedante-trufa)	Número de plantas por localidad				
	Tafí del Valle	Rodeo Grande	Benjamín Paz	Va Padre Monti	Encalilla
HA <i>Pinus halepensis</i> inoculado con <i>Tuber aestivum</i>	51	50	32	49	61
IM <i>Quercus ilex</i> inoculado con <i>Tuber melanosporum</i>	51	50	49	55	20
PB <i>Pinus pinea</i> inoculado con <i>Tuber borchii</i>	51	50	50	35	62
PHB <i>Pinus halepensis</i> inoculado con <i>Tuber borchii</i>	51	50	60	60	63
RA <i>Quercus robur</i> inoculado con <i>Tuber aestivum</i>	51	50	60	62	68
RU <i>Quercus robur</i> inoculado con <i>Tuber uncinatum</i>	20	20	20	26	24

Análisis morfológico de las raíces

En el laboratorio, las raíces fueron cuidadosamente lavadas y observadas con microscopio estereoscópico (Olympus SZX7, Tokyo, Japan), para determinar la morfología de las últimas ramificaciones. Se caracterizó cada morfotipo siguiendo la metodología estándar (Agerer, 1991). Para la descripción morfológica de las ectomicorrizas se consideró el tipo de ramificación y el grosor del manto (Agerer, 1986, 1991; Agerer y Rambold, 2025). Además, se realizaron cortes transversales a mano libre, los que fueron decolorados con agua-lavandina (1:1), enjuagados y posteriormente teñidos con azul astrasafranina (D' Ambrogio de Argüeso, 1986). Por otra parte, se efectuaron cortes transversales ultrafinos de raíces fijadas en solución de Karnovsky (formaldehído 4%, glutaraldehído 5%, buffer fosfato sódico 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4) y posteriormente fijadas con una solución buffer de fosfato de sodio 1/1 con 2% de tetróxido de osmio (Karnovsky, 1965). Luego, las mismas fueron incubadas a 4°C durante una noche, lavadas, embebidas en resina Spurr y seccionadas en ultramicrotomo. Se obtuvieron secciones de 3 µm de espesor, las que se tiñeron con azul de toluidina 0,05% (Heslop-Harrison y Heslop-Harrison, 1981). Las observaciones se realizaron con microscopio óptico (Axiostar Plus, Zeiss, Göttingen, Germany) y se fotografiaron con cámara digital (Canon A620, Power Shot 7.1 M.P.).

El análisis de las características morfológicas macroscópicas y microscópicas del esporoma de *Tuber uncinatum* se realizó con material fresco utilizando microscopio estereoscópico (Leica MZ6) y microscopio óptico (Olympus CX31), respectivamente. Los ascos y las ascosporas se separaron de la gleba con una cuchilla descartable y fueron montados en agua. En total, se midieron 20 ascos y al menos 30 esporas.

Análisis de suelo

Para la caracterización del suelo rizosférico se consideraron diversas propiedades morfoedáficas, entre las que se incluyen la profundidad, el pH, el contenido de carbonatos, la textura, la materia orgánica, el fósforo y la capacidad de intercambio catiónico (CIC).

Las determinaciones analíticas correspondientes se realizaron mediante técnicas específicas. El pH se evaluó en agua destilada, utilizando una relación suelo:agua de 1:2,6, aplicando métodos colorimétricos y potenciométricos, según lo descrito por Atkins (1989). La determinación del contenido de carbonato se llevó a cabo mediante el método vasométrico.

La textura del suelo se estableció utilizando el método densimétrico, a través del densímetro de Bouyoucos. A partir de las fracciones obtenidas se clasificaron los suelos según las clases texturales, utilizando el triángulo de textura propuesto por Etcheverhere (1976).

La materia orgánica (expresada en porcentaje) se determinó por el método de Walkley-Black (1934). El fósforo extraíble fue cuantificado utilizando el método de Bray I (Bray y Kurtz, 1945), el cual permite medir tanto el fósforo soluble en agua como el fósforo lábil. Finalmente, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) se expresó en meq/100 g de suelo, a saturación con acetato de sodio (NaAc) a pH 8,2.

RESULTADOS

La identificación de las estructuras simbióticas se basó en la caracterización morfológica de las ectomicorizas, cuyos tipos se presentan a continuación.

Pinus halepensis + *Tuber aestivum*

(Fig. 2A; Fig. 3A; Fig. 4A, B; Fig 5A)

Raíces con morfología externa simple, dicotómica y pinnada irregularmente, con extremos de forma variable, de color castaño claro. El manto es pseudoparenquimático, compacto bien desarrollado, de 10,5-13,5 μm de espesor; hifas con tabiques; la red de Hartig penetra hasta la 3-4 estratos del parénquima cortical.

Quercus ilex + *Tuber melanosporum*

(Fig. 2B; Fig. 3B; Fig. 4C; Fig 5B)

Raíces simples o con ramificación monopodial pinnada, de ápices redondeados. Color castaño oscuro. El manto es prosenquimático, compacto, desarrollado, de 4,5-6 μm de espesor; hifas tabicadas; la red de Hartig penetra hasta la 2-3 estratos del parénquima cortical.

Pinus halepensis + *Tuber borchii*

(Fig. 2D; Fig. 3D, E; Fig. 4E; Fig 5D)

Raíces con morfología simple, monopodial pinnada, y dicotómica de color castaño oscuro, con extremos redondeados a ensanchados, castaño claro. El manto es plectenquimático, compacto bien desarrollado, de 7,5-10,5 μm de espesor; hifas con tabiques; la red de Hartig penetra hasta la primera capa del parénquima cortical.

Pinus pinea + *Tuber borchii*

(Fig. 2C; Fig. 3C; Fig. 4D; Fig 5C)

Raíces cortas, simples o con ramificación monopodial pinnada, de ápices generalmente agudos. Color castaño claro. El manto es plectenquimático, compacto, bien desarrollado, de 1,5-4,5 μm de espesor; hifas tabicadas; la red de Hartig penetra hasta la 2-3 estratos del parénquima cortical.

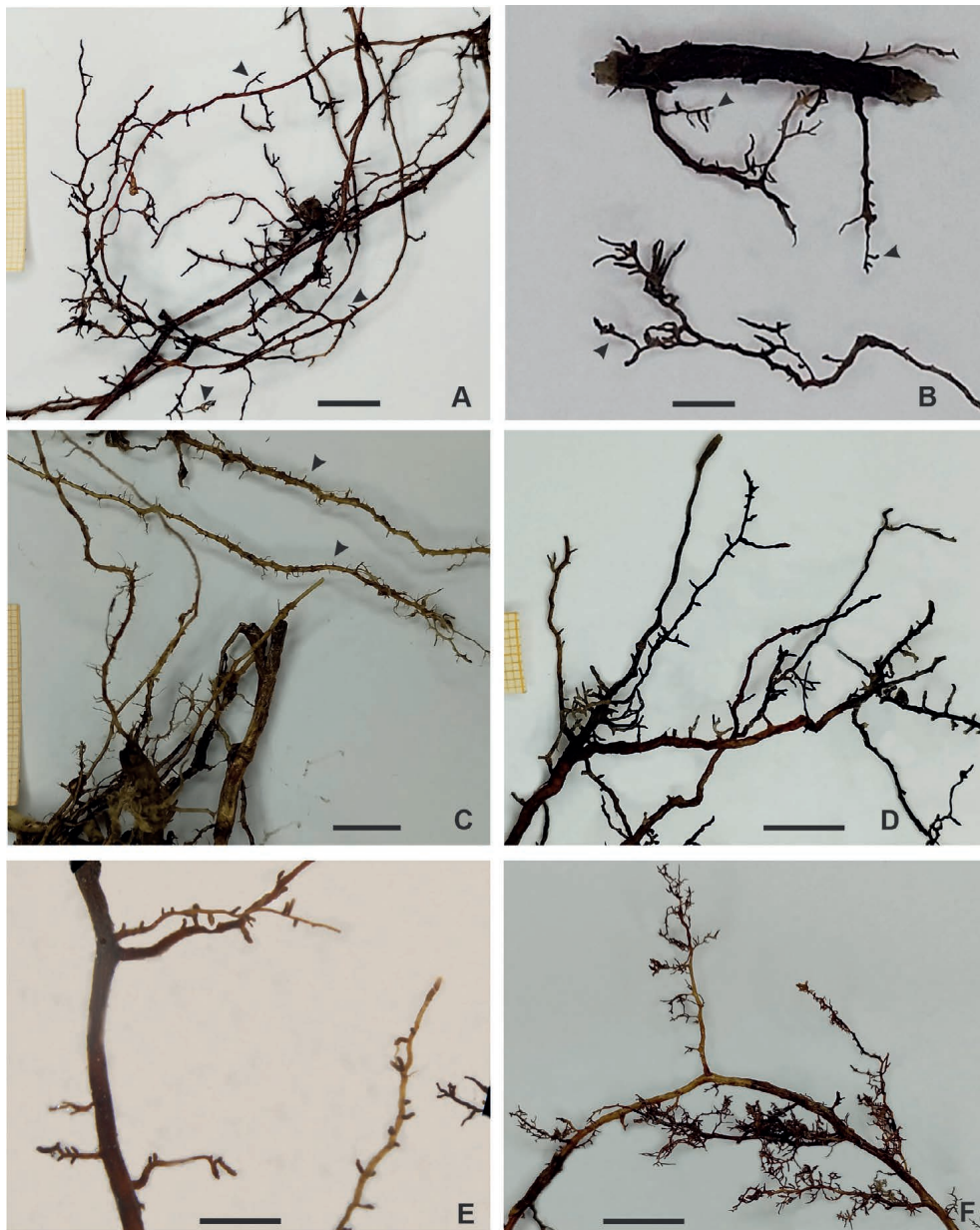


Fig. 2. Aspecto de las raíces. A) *Pinus halepensis* con *Tuber aestevium*. B) *Quercus ilex* con *T. melanosporum*. C) *P. pinea* con *T. borchii*. D) *P. halepensis* con *T. borchii*. E) *Q. robur* con *T. aestevium*. F) *Q. robur* con *T. uncinatum*. Escala: A-F = 1 cm.

Fig. 2. Appearance of roots. A) *Pinus halepensis* with *Tuber aestevium*. B) *Quercus ilex* with *T. melanosporum*. C) *P. pinea* with *T. borchii*. D) *P. halepensis* with *T. borchii*. E) *Q. robur* with *T. aestevium*. F) *Q. robur* with *T. uncinatum*. Scale bar: A-F = 1 cm.

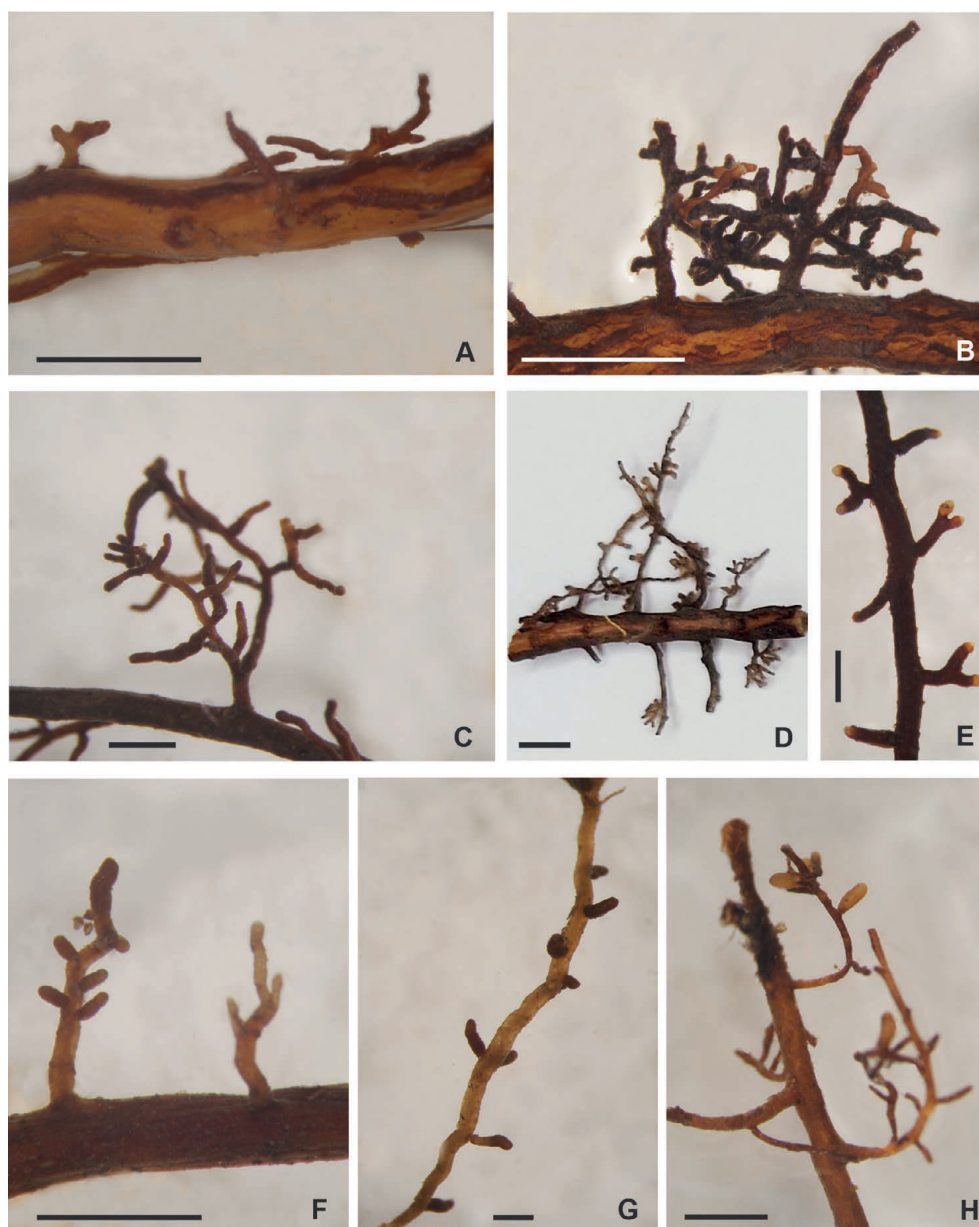


Fig. 3. Morfotipos de las raíces ectomicorrícicas. A) *Pinus halepensis* con *Tuber aestivum*. B) *Quercus ilex* con *T. melanosporum*. C) *P. pinea* con *T. borchii*. D, E) *P. halepensis* con *T. borchii*. F-G) *Q. robur* con *T. aestivum*. H) *Q. robur* con *T. uncinatum*. Escala: A-G = 10 mm. H: 5 mm.

Fig. 3. Ectomycorrhizal root morphotypes. A) *Pinus halepensis* with *Tuber aestivum*. B) *Quercus ilex* with *T. melanosporum*. C) *P. pinea* with *T. borchii*. D, E) *P. halepensis* with *T. borchii*. F-G) *Q. robur* with *T. aestivum*. H) *Q. robur* with *T. uncinatum*. Scale bar: A-G = 10 mm. H: 5 mm.

Quercus robur* + *Tuber aestivum

(Fig. 2E; Fig. 3F, G; Fig. 4F, G)

Raíces con morfología simple y monopodial piramidal, con extremos redondeados, de color castaño claro. El manto es prosenquimático, compacto bien desarrollado, de 7-10 μm de espesor; hifas tabicadas; la red de Hartig penetra la 1-2 capas del parénquima cortical.

Quercus robur* + *Tuber uncinatum

(Fig. 2F; Fig. 3H; Fig. 4H; Fig 5E)

Raíces con morfología simple y monopodial pinnada, con extremos redondeados a ensanchados, de color castaño. El manto es plectenquimático, compacto bien desarrollado, de 6-15 μm de espesor; hifas con tabiques; la red de Hartig penetra hasta la primera capa del parénquima cortical.

La asociación entre *Quercus ilex* + *Tuber melanosporum*, también evidenciaron la presencia de hifas tabicadas con fíbulas, lo que sugiere la existencia de otros hongos en la interacción.

Relevamiento de las plantaciones, diferenciación y recuento de esporomas

En todas las localidades, la inoculación con diferentes especies de *Tuber* ha demostrado ser efectiva en todas sus combinaciones. Sin embargo, hasta la fecha, Rodeo Grande ha sido la única localidad donde se ha observado la producción de esporomas de *Tuber*. Este sitio comenzó su plantación con una hectárea, luego amplió a tres hectáreas y, actualmente, cuenta con un total de 13 hectáreas, cultivando diversas especies arbóreas y especies de *Tuber*. En Rodeo Grande, en el año 2016, se logró la primera cosecha significativa: la combinación de *Pinus halepensis* inoculado con *Tuber borchii* produjo un total de 20 esporomas, cada uno de aproximadamente 50 gramos. Sin embargo, a finales de 2017 no se obtuvieron esporomas de *T. borchii* por la pérdida de los ejemplares de *P. halepensis*, debido al exceso de humedad en los suelos, provocado por el fenómeno de “El Niño”, que ese año generó precipitaciones intensas y persistentes (<https://www.unsta.edu.ar/el-fenomeno-el-nino-es-uno-de-los-generadores-de-las-precipitaciones-en-tucuman/>). Posteriormente, en 2019 y 2020, se encontraron esporomas de *Tuber* en las combinaciones *Quercus ilex* + *Tuber melanosporum* y *Quercus robur* + *Tuber uncinatum*.

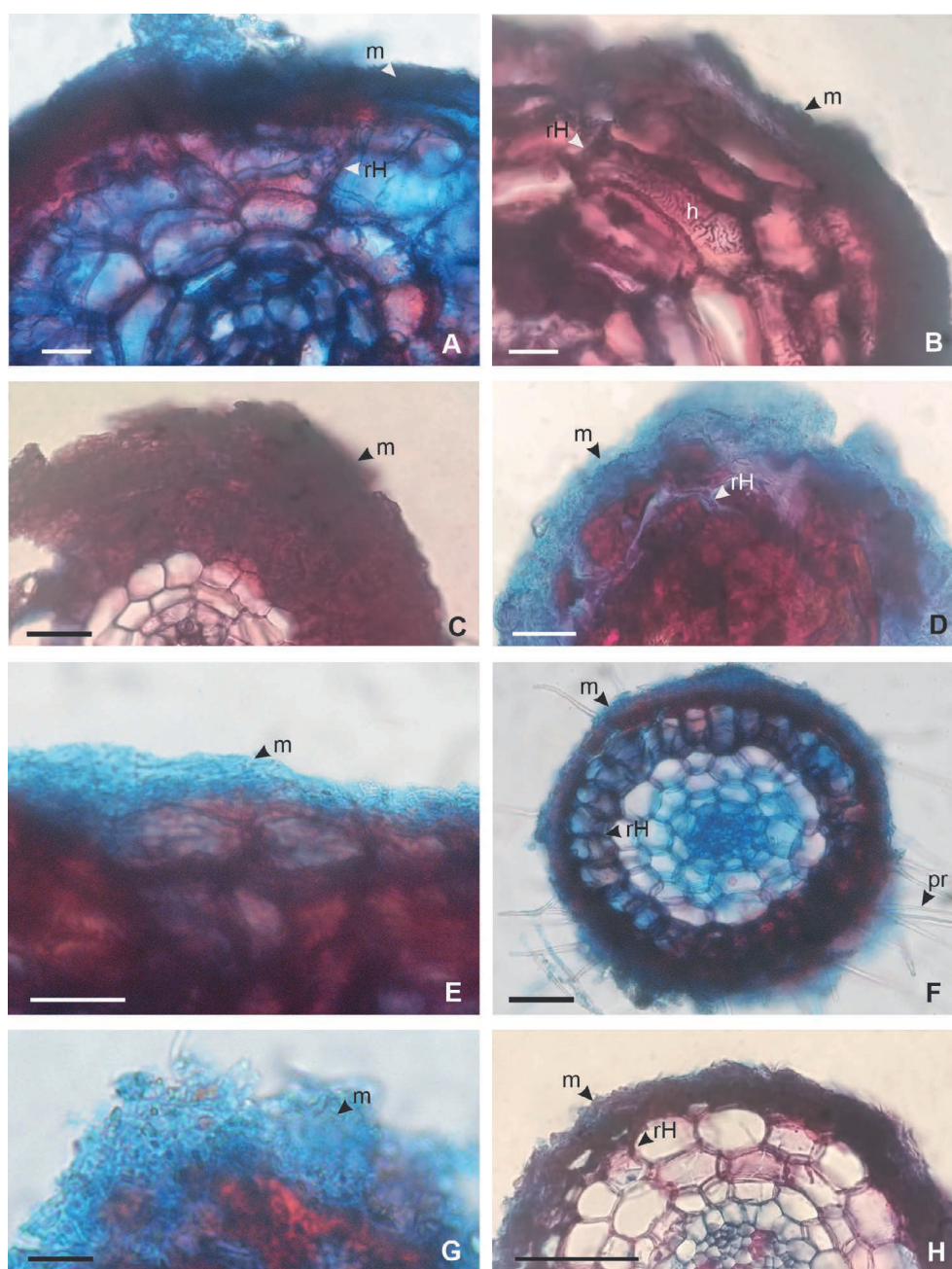


Fig. 4. Cortes transversales de raíces con ectomicorrizas (técnica “mano alzada”). A, B) *Pinus halepensis* con *Tuber aestevium*. C) *Quercus ilex* con *T. melanosporum*. D) *P. pinea* con *T. borchii*. E) *P. halepensis* con *T. borchii*. F, G) *Q. robur* con *T. aestevium*. H) *Q. robur* con *T. uncinatum*. Referencias: h: hifas, m: manto, pr: pelos radicales, rH: red de Hartig. Escala: A, B, E, F, H = 20 μ m. C, D, G = 5 μ m.

Fig. 4. Cross-sections of roots with ectomycorrhizae (“free-hand” technique). A, B) *Pinus halepensis* with *Tuber aestevium*. C) *Quercus ilex* with *T. melanosporum*. D) *P. pinea* with *T. borchii*. E) *P. halepensis* with *T. borchii*. F, G) *Q. robur* with *T. aestevium*. H) *Q. robur* with *T. uncinatum*. Reference: h: hifae, m: mantle, pr: root hairs, rH: Hartig net. Scale bar: A, B, E, F, H = 20 μ m. C, D, G = 5 μ m.

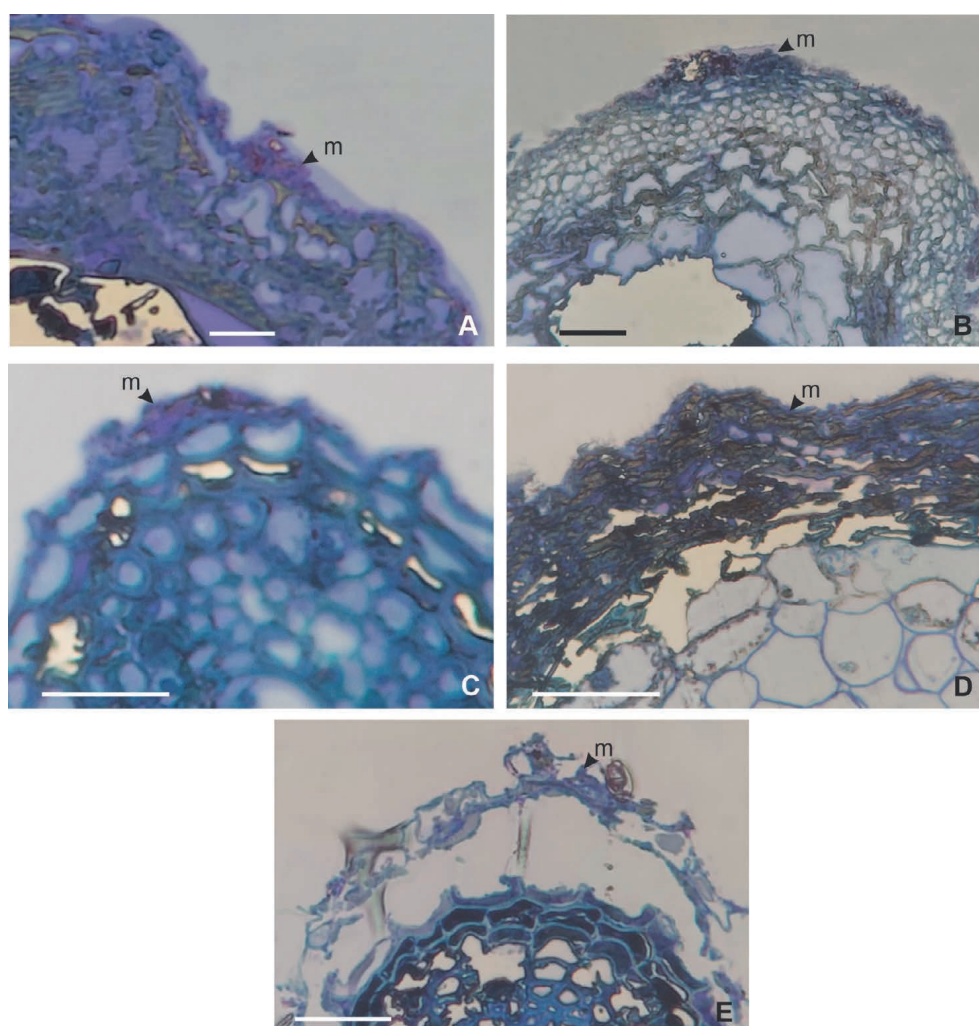


Fig. 5. Cortes transversales de raíces con ectomicorrizas (ultrafinos). A) *Pinus halepensis* con *Tuber aestivum*. B) *Quercus ilex* con *T. melanosporum*. C) *P. pinea* con *T. borchii*. D) *P. halepensis* con *T. borchii*. E) *Q. robur* con *T. uncinatum*. Referencia: m: manto. Escala: A, D, E = 30 μm . B, C = 10 μm .

Fig. 5. Cross-sections of roots with ectomycorrhizae (ultrafine). A) *Pinus halepensis* with *Tuber aestivum*. B) *Quercus ilex* with *T. melanosporum*. C) *P. pinea* with *T. borchii*. D) *P. halepensis* with *T. borchii*. E) *Q. robur* with *T. uncinatum*. Reference: m: mantle. Scale bar: A, D, E = 30 μm . B, C = 10 μm .

Caracterización de los esporomas de *Tuber uncinatum* diferenciados en asociación a *Quercus robur*.— Se describieron los esporomas de *Tuber uncinatum*, diferenciados en el 2024 en los ejemplares de *Quercus robur* implantados en Rodeo Grande (Fig. 6):

Ascoma hipógeo, 1-4 cm de diám., subgloboso a irregular, superficie castaño oscuro a negro, fuertemente verrugoso. Peridio de 50–100 μm de grosor. Verrugas de 2–5 mm de ancho en la base, piramidales, de 4–6 caras, con fisuras verticales. Gleba carnosa, con venas finas, meandriformes, blanco-ocre a oscuro, dependiendo del estado de madurez. Ascospores 70–85 x 57–67,5 μm , globosos a subglobosos, algunos irregulares, de paredes delgadas,

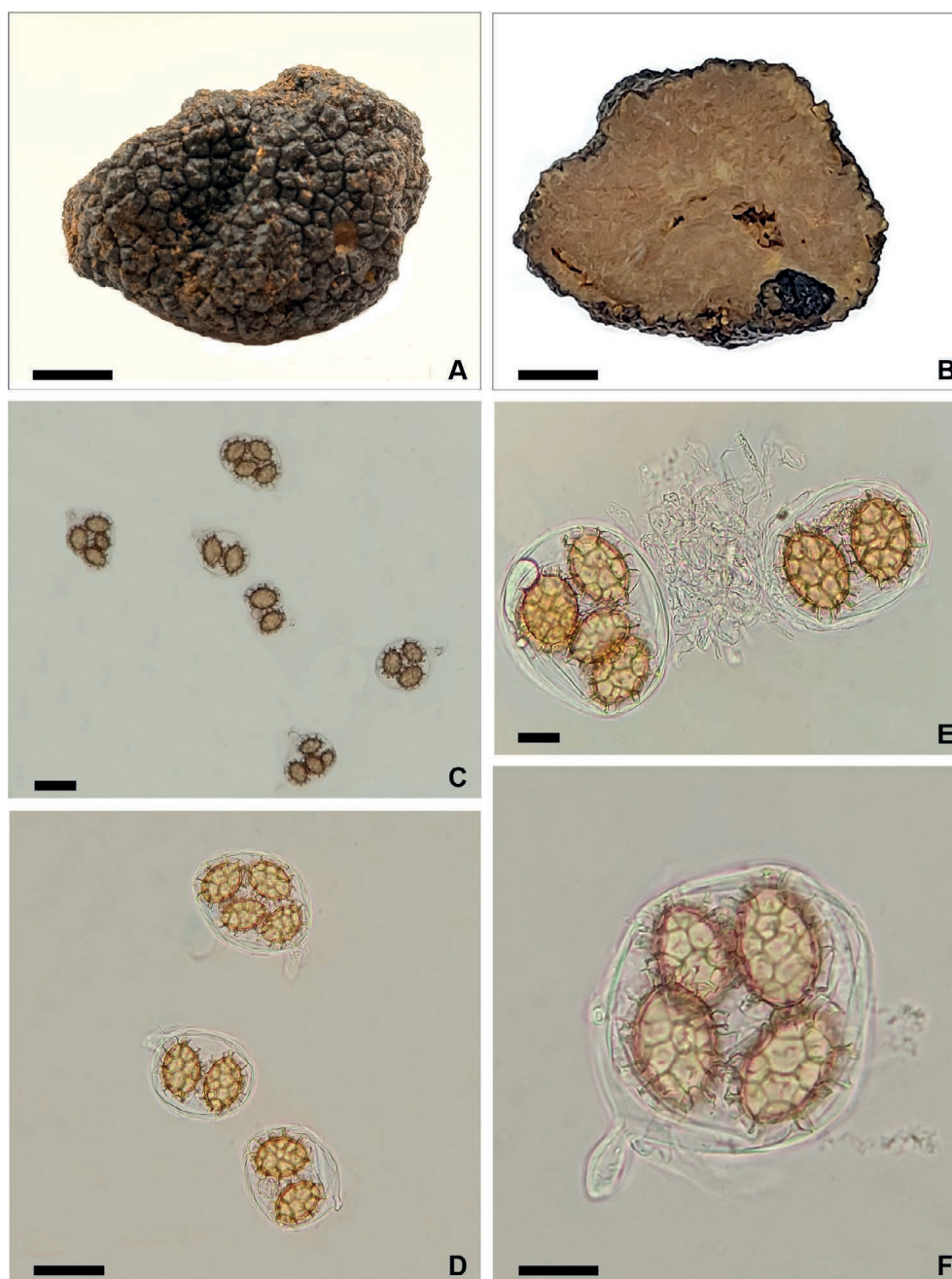


Fig. 6. *Tuber uncinatum*. A) Ascoma, vista externa. B) Ascoma en sección transversal con tejido glebal. C-D) Ascos con 2-4 esporas. E) Ascos con esporas. F) Asco, detalle. Escala: A, B = 10 mm. C, D, E = 50 μ m. F = 20 μ m.

Fig. 6. *Tuber uncinatum*. A) Ascomata external view. B) Ascomata in cross-section with gleba tissue. C-D) Asci with 2-4 spores. E) Asci with spores. F) Ascus, detail. Scale bar: A, B = 10 mm. C, D, E = 50 μ m. F = 20 μ m.

pedicelos cortos a veces alargados, hialinos, 2–4 (–6) esporas. Ascosporas 27,5–45 x 22,5–32,5 μm , subglobosas a elipsoides, ornamentación reticulada con areolas, hialinas cuando jóvenes, castaño claro a oscuro en la madurez.

Sitios de plantación forestal y análisis del suelo rizosférico.— Los sitios seleccionados para la instalación y evaluación de las truferas fueron identificados previamente por los expertos (Dr. Mario Honrrubia de la Universidad de Murcia, España, y el Ing. Forestal Gustavo Cortés, titular de la Dirección de Producción Forestal del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Argentina), como áreas con alto potencial para el cultivo de especies de trufas. Rodeo Grande, Benjamín Paz y Encalilla originalmente se encontraban cubiertos por pastura; en Villa Padre Monti, la vegetación era propia del monte, y en Tañí del Valle, se dedicaba al cultivo de papa.

En la Tabla 2 se detalla el análisis granulométrico y físico-químico realizado en los suelos procedentes de diferentes localidades de la provincia de Tucumán, donde se encuentran las plantaciones de *Pinus* spp. y *Quercus* spp.

En cuanto a la granulometría, se observó que los suelos de Tañí del Valle y Encalilla presentan una textura arenoso-franca; los de Rodeo Grande y Benjamín Paz, una textura franco-limosa; mientras que Villa Padre Monti muestra una textura franco-arcillosa.

El análisis físico-químico reveló que las localidades de Tañí del Valle y Rodeo Grande presentaron los valores de pH más bajos, por lo que fue necesario aplicar encalado, previo a la implantación del cultivo, para favorecer el crecimiento del hongo. En contraste, en Benjamín Paz, Villa Padre Monti y Encalilla se registraron valores de pH superiores a 7,5. Respecto al contenido de carbonato de calcio (Ca CO_3), Villa Padre Monti presentó el porcentaje más alto. En cuanto a la materia orgánica, fue mayor en Villa Padre Monti y Rodeo Grande, mientras que Encalilla presentó el menor porcentaje. El contenido de fósforo presente en el suelo tiene influencia directa con el grado de asociación micorrícica y en este sentido los resultados muestran que en todos los sitios analizados fue inferior a 20 ppm, siendo Encalilla la localidad con el mayor valor y Villa Padre Monti la que presentó el menor. La capacidad de intercambio catiónico fue mayor en Villa Padre Monti (20,4 me/100g); mientras que, los valores más bajo fueron en Encalilla.

Tabla 2. Análisis granulométrico y físico-químico de suelos rizosféricos procedentes de diferentes localidades de la provincia de Tucumán, donde se encuentran las plantaciones de *Pinus* spp. y *Quercus* spp.

Table 2. Granulometric and physicochemical analyses of rhizospheric soils from different locations in the Province of Tucumán, where *Pinus* spp. and *Quercus* spp. crops were established.

Localidad	Profundidad (cm)	pH (agua 1: 2,6)	Ca CO ₃ % Vasometría	Textura Capilaridad	Materia Orgánica, % Walkley-Black (1934)	Fósforo, ppm Bray y Kurtz (1945)	Capacidad de intercambio catiónico me/100g
Tafí del Valle	0-30	6,0	-	Arenoso franco	1,7	13,0	9,2
Rodeo Grande	0-30	6,1	-	Franco limoso	3,0	16,7	11,2
Benjamín Paz	0-30	7,5	0,4	Franco limoso	2,5	17,3	16,0
V ^a Padre Monti	0-30	7,9	6,7	Franco arcilloso	3,8	7,0	20,4
Encalilla	0-30	8,1	0,6	Arenoso franco	0,7	20,6	8,8

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Este estudio preliminar aporta información valiosa sobre la morfología de las raíces diferenciadas en el ensayo, incluyendo la descripción, ilustración y análisis anatómico de las raíces pertenecientes a seis combinaciones específicas entre las especies arbóreas y hongos simbióticos utilizados. Cabe destacar que la simbiosis, en la planta huésped, se evidenció en todas las plantaciones analizadas después de los 4 años de su implantación. La caracterización detallada de las ectomicorrizas analizadas y sus tipos morfológicos contribuye a la vez al conocimiento de las interacciones planta-hongo bajo las condiciones donde se llevó a cabo el ensayo, lo que resulta esencial para la comprensión de los procesos ecológicos que se pueden explotar en ambientes variados como los correspondientes a unos con antecedentes de pasturas y cultivos de papa o prístinos propios del monte. En este sentido, los resultados obtenidos pueden ser utilizados como referencia en estudios de biodiversidad, conservación y manejo sostenible en ecosistemas forestales desarrollados en ambientes diversos.

En la provincia de Tucumán las truferas se implantaron en el año 2012. De las cinco localidades en donde se realizaron los ensayos, Rodeo Grande inició la producción de trufas en el año 2016. La combinación *Pinus halepensis* inoculado con *Tuber borchii* produjo 20 esporomas de aproximadamente 50 gramos cada uno, siendo menor el tiempo requerido para la diferenciación de los mismos (Leonardi *et al.*, 2021) quienes reportaron que la producción comienza generalmente alrededor de los 10 años. Este hecho podría estar relacionado con la implementación de un manejo agroforestal más eficiente, lo que favorece el establecimiento exitoso de la simbiosis micorrícica, y también responde a los principios de sostenibilidad y desarrollo rural señalados por diversos autores quienes destacan el potencial de producción para promover la reforestación y dinamizar economías locales en territorios con recursos limitados (Boa, 2004; Sáez y De Miguel, 2008; Reyna, 2012; Reyna y García-Barreda, 2014).

En lo que respecta al análisis de suelos, se considera esencial un pH superior a 8, un contenido de materia orgánica mayor al 3 %, niveles de fósforo inferiores a 20 ppm y una precipitación anual de entre 700 y 1.000 milímetros concentrada en primavera y verano, para asegurar condiciones óptimas para el establecimiento de la simbiosis, la colonización del hongo en la raíz y la posterior diferenciación de esporomas (InfoCampo, 2025b). No obstante, la respuesta productiva puede diferir según la especie de *Tuber*: por ejemplo, *T. melanosporum* tiende a desarrollarse mejor en suelos calizos con pH alto, mientras que *T. aestivum* puede adaptarse a una gama más amplia de condiciones edáficas, incluyendo suelos con pH ligeramente más bajo y mayor contenido de materia orgánica (Zambonelli et al., 2015).

Cabe destacar que el contenido de fósforo disponible en el suelo es una de las condiciones necesarias por la cual una especie vegetal puede depender de la asociación con hongos micorrícicos para subsistir; ese valor se estima por debajo de 20 ppm de fósforo (Smith y Read, 2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (3rd ed.). Academic Press.). Sin embargo, cada especie vegetal puede tener un nivel óptimo de fósforo soluble a partir del cual se estimularía fuertemente la colonización del hongo simbiote (Hirata et al., 1988). La materia orgánica no sólo afecta el intercambio aniónico, también interviene en la dinámica del fósforo por la formación de complejos órgano-fosfatados que son fácilmente atacables por los organismos del suelo que, al mineralizarse, contribuyen al fósforo disponible (Boschetti et al., 2003). Estas interacciones edáficas y micorrícicas también varían entre especies de árboles hospedantes, siendo más eficientes en algunas combinaciones planta-hongo que en otras, según lo evidencian estudios previos en otras regiones truferas (Hall et al., 2007).

Actualmente, en Tucumán se ha avanzado con el establecimiento de cinco truferas ubicadas en zonas de piedemonte y en valles intermontanos y de altura: Tafi del Valle, Rodeo Grande, Benjamín Paz, Villa Padre Monti y Encalilla. En todas ellas se observó a nivel morfológico la colonización fúngica en las raíces analizadas, lo que sugiere el éxito de la inoculación. Sin embargo, en la combinación *Quercus ilex* + *Tuber melanosporum*, se detectó además la presencia de hifas pertenecientes a un representante del phylum Basidiomycota, lo que sugiere la necesidad de estudios moleculares en las raíces a fin de verificar la presencia de los hongos aplicados al comienzo del ensayo. Los hongos ectomicorrícicos que coexisten en un mismo nicho del suelo pueden competir por los recursos nutricionales de las raíces de las plantas huésped o, en algunos casos, coexistir en equilibrio dinámico (Kennedy, 2010). En este contexto, es probable que, bajo condiciones naturales, las ectomicorrizas de *Tuber* se vean asociadas a otros micelios ectomicorrícicos estableciendo una simbiosis con diferentes hongos componentes (Leonardi et al., 2013). Para abordar esta cuestión, las técnicas moleculares han aclarado aspectos como la inoculación del suelo y la detección de microorganismos competidores o patógenos. Se ha descubierto que los genotipos de las micorrizas cambian con la edad de los árboles y que las especies

de *Tuber* son flexibles, adaptándose a diferentes raíces (Galappaththi *et al.*, 2025; Slavova *et al.*, 2025).

La producción forestal basada en la diferenciación de esporomas de *Tuber* demuestra un potencial de rentabilidad a mediano y largo plazo, constituyéndose como una alternativa productiva para el desarrollo económico y ecológico de la región.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente a los propietarios de las truferas, en particular al Ing. Antonio Posadas (Rodeo Grande) y al Sr. Eduardo Villagra (Benjamín Paz), por su generosa colaboración al facilitarnos los materiales necesarios para este estudio.

FINANCIACIÓN

Trabajo subsidiado por la Fundación Miguel Lillo, proyectos B-0002-1 y B-0024-1.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

BIBLIOGRAFÍA

- Agerer, R. (1986). Studies on ectomycorrhizae II. Introducing remarks on characterization and identification. *Mycotaxon* 26: 473-492.
- Agerer, R. (1991). Characterization of ectomycorrhiza. En: Norris J.R., Read D.J. y Varma A.K. Eds. *Methods in microbiology* 23: Techniques for the study of mycorrhiza., pp. 25-73, Academic, London.
- Agerer, R. y Rambold, G. (2025). DEEMY – An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae. www.deemy.de. (Consultada 02 de marzo de 2025).
- Atkins, P. W. (1989). *Physical chemistry* (4th ed.). Oxford University Press.
- Boa, E. (2004). Wild edible fungi, a global overview of their use and importance to people. Nonwood forest products Series 17. Food and agriculture organization of the United Nations, Rome, 147 p.
- Boschetti, N. G., Quintero, C. E., Benavidez, R. A. y Giuffrè, L. (2003). Cuantificación de las fracciones orgánicas e inorgánicas de fósforo en suelos de la Mesopotamia Argentina. *Ciencia del Suelo* 21: 1-8.
- Bray, R. H. y Kurtz, L. T. (1945). Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* 59 (1): 39-46.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de técnicas en histología vegetal*. Editorial Hemisferio Sur SA, Buenos Aires.

- Galappaththi, M. C. A., Dunstan, W. A., Hardy, G. E. S., et al. (2025). Advances in molecular genetics have increased knowledge of *Tuber* species' life cycle and population genetic structure, indicating ways to improve yield. *Mycorrhiza* 35: 2. <https://doi.org/10.1007/s00572-024-01177-1>
- Hall, I. R., Zambonelli, A. y Primavera, F. (2007). Edomycorrhizal fungi and their role in truffle production. Springer.
- Heslop-Harrison, Y. y Heslop-Harrison, J. (1981). The digestive gland of pinguicula: structure and cytochemistry. *Annals of Botany* 47: 293-319.
- Hirata, H., Masunaga, T. y Koiwa, H. (1988). Respose of chickpea grown on ando-soil to vesicular arbuscular mycorrhizal infection in relation to the level of phophorus application. *Soil Science and Plant Nutrition* 34: 441-449.
- Infocampo. (2025a). <https://www.infocampo.com.ar/lionel-el-messi-frances-de-las-trufas-negras-que-apuesta-por-argentina-es-un-pais-muy-prolif-ico-para-la-truficultura/>
- Infocampo. (2025b). ¿Cómo se adiestra un perro para que “coseche” trufas negras?: las claves del alimento premium que crece en Argentina. <https://www.infocampo.com.ar/como-se-adiestra-un-perro-para-que-coseche-trufas-negras-las-claves-del-alimento-premium-que-crece-en-argentina/>
- Karnovsky, M. J. (1965). A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137-138.
- Kennedy, P. (2010). Ectomycorrhizal fungi and interspecific competition: species interactions, community structure, coexistence mechanisms, and future directions. *New Phytology* 187: 895-910. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03399>
- Lagos, D. A. (2025). Desarrollo y cultivo de trufas en Argentina. <https://elregionaldigital.com.ar/se-presento-el-primer-libro-sobre-trufas-en-la-argentina/>
- Leonardi, M., Iotti, M., Oddis, M., et al. (2013). Assessment of ectomycorrhizal fungal communities in the natural habitats of *Tuber magnatum* (Ascomycota, Pezizales). *Mycorrhiza* 23: 349-358. <https://doi.org/10.1007/s00572-012-0474-7>
- Leonardi, M., Iotti, M., Pacioni, G. R., Hall, I., Zambonelli, A. (2021). *Truffles: Biodiversity, Ecological Significances, and Biotechnological Applications*. In: Abdel-Azeem, A.M., Yadav, A.N., Yadav, N., Usmani, Z. (eds.) *Industrially Important Fungi for Sustainable Development*. Fungal Biology. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-67561-5_4
- Quiroga, R., Morelli, G. A., de Hagen, T., Saparrat, M. C. N. (2024). *Carya illinoensis* y hongos del género *Tuber* en Argentina: un análisis bibliográfico. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 123: 1-17.

- Reyna, S. (2012). Sostenibilidad de la truficultura: aspectos ecológicos, económicos y sociales. En: Truficultura: fundamentos y técnicas. 2º Edición revisada y ampliada (Ed. Reyna S.), pp. 49-72. Ed. Mundiprensa. Madrid, España.
- Reyna, S. y García-Barreda, S. (2014). Black truffle cultivation: a global reality. *Forest Systems* 23 (2): 317-328.
- Sáez, R. y De Miguel, A. M. (2008). La trufa. Guía práctica de truficultura. ITGA, Pamplona, España, 132 p.
- Slavova, M., Leonardi, M., Iotti, M., Paz-Conde, A., Assyov, B. y Pacioni, G. (2025). Phylogenetic and morphological evidence supports the recently described *Tuber thracicum*. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology* 159 (2): 369-377. <https://doi.org/10.1080/11263504.2025.2472748>
- Smith, S. E. y Read, D. J. (2008). Mycorrhizal Symbiosis (3rd ed.). Academic Press.
- Walkley, A. y Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37 (1): 29-38.
- Zambonelli, A., Iotti, M. y Murat, C. (2015). True Truffle (*Tuber* spp.) in the World: Soil Ecology, Systematics and Biochemistry. Springer.
- Zambonelli, A., Leonardi, P., Lotti, M. y Hall I. (2017). Ecological and genetic advances in the cultivation of *Tuber* spp. *Revista Fitotecnica Mexicana* 40 (4): 371-377.