ITEA (1996), **Vol. 92V N.º 2,** 64-69

INFLUENCIA DE LOS SUBSTRATOS Y GELES, UTILIZADOS EN LA MICORRIZACIÓN DE *Q. ilex L.* POR *Tuber melanosporum Vitt.*

G. Cartié Guijarro
C. Palazón Español
I. Delgado Izquierdo
J. Barriuso Vargas*

Servicio de Investigación Agraria
(S.I.A. - D.G.A.)
Apartado 727
50080 ZARAGOZA

* Escuela Universitaria Politécnica de
Huesca Ctra. Zaragoza, Km. 67.
22071 HUESCA

RESUMEN

Se analiza en este trabajo la influencia que los substratos y geles, utilizados en el proceso de micorrización de *Q. ilex* L. mediante *T. melanosporum* Vitt., ejercen sobre la eficacia del mismo y sobre la tasa de mortalidad de las plantas. Los resultados obtenidos demuestran que existe una menor mortalidad para los substratos más artificiales, contrariamente a lo que ocurre con la receptividad a la micorrización en la que, los substratos más receptivos, son aquellos con una mayor proporción de tierra en su composición.

Palabras clave: *Tuber melanosporum* Vitt. *Quercus* spp., micorrización, ectomicorrizas, substratos.

SUMMARY

INFLUENCE OF SUBSTRATES AND GELES USED ON MY CORHIZATION PROCESS *Q. ilex L - T. melanosporum Vitt.*

On this experiment, was analized the influence of substrates and geles, used on mycorhization process *Q. ilex - T. melanosporum,* produce on its efficiency and the mortality rates of the plants. Lower mortality rates were recordered on the most artificial substrats while mycorhization receptivity was higher on substrats with a high rate of natural soil.

Key words: *Tuber melanosporum* Vitt., *Quercus* spp. mycorhization, ectomycorhizas, substrats.

Introducción

La trufa (*Tuber* spp.) es un hongo hipógeo de la familia de las Tuberáceas del grupo Ascomycotina, conocido y apreciado desde la antigüedad principalmente por sus propiedades gastronómicas, llegándose a clasificar como el "diamante negro" por su alto valor culinario.

La trufa es la fructificación del micelio subterráneo del hongo que vive en contacto con las raíces de ciertos árboles, generalmente encinas y avellanos (TALOU y KULIFAJ, 1991). Esta asociación se manifiesta por medio de un órgano denominado micorriza y que puede definirse como la simbiosis biotrófica del hongo con el sistema radicular de vegetales (RODRÍGUEZ BARREAL, 1989). En dicha simbiosis el hongo recibe del árbol substancias para su crecimiento (hidratos de carbono, aminoácidos, etc) y el árbol se ve favorecido por el hongo mediante el aporte de nutrientes minerales, a la vez que le confiere mayor resistencia a enfermedades criptogámicas y aumenta considerablemente la superficie de absorción radicular.

La micorriza de *Tuber* está constituída por un compacto entramado de hifas del hongo en torno a la raíz de la planta, de manera que esta queda recubierta por el hongo. Las hifas del hongo cubren y se introducen entre los tabiques de las células de la raíz, dando origen a la Red de Hartig, pero nunca penetran en el interior celular, por ello este tipo de micorrizas se denomina ectomicorrizas.

Cada vez es mayor el interés que despiertan los hongos micorrícicos sin lugar a duda debido a las ventajas comprobadas en la lucha contra la desertización y a la gran demanda que la sociedad de consumo está realizando hacia muchas setas comestibles (*Boletus* spp., *Lactarius* spp.) generadas a partir de los mismos.

Aunque el proceso de micorrización se desarrolla espontáneamente en la naturaleza, también puede realizarse de modo artificial, existiendo en la actualidad plantaciones industriales de planta micorrizada para la obtención de setas comestibles.

En el caso de la trufa negra la domesticación de su cultivo ha planteado numerosas dificultades por la complejidad de los factores que influyen sobre el proceso, siendo el substrato utilizado en la micorrización uno de los aspectos a considerar para la correcta instalación de la simbiosis. Numerosos autores (CHEVALIER, y DUPRE 1988; POITOU, 1988; PERRIN, 1993) han coincidido en la importancia de las características físico-químicas de los substratos utilizados en la micorrización artificial de la trufa y en la gran influencia que las enmiendas orgánicas é inorgánicas tienen en la producción de planta micorrizada.

El objetivo del trabajo que aquí se expone pretende hacer una primera valoración sobre la influencia de los componentes más comunes utilizados en la elaboración de los substratos para la producción de planta micorrizada así como la de los geles utilizados en dicho proceso.

Material y métodos

Para efectuar este ensayo se utilizaron diversos substratos cuya composición en peso puede verse en la tabla nº 1, en la cual se puede observar que los componentes situados más a la izquierda corresponden a suelos o tierras naturales y que, a medida que progresamos hacia la derecha, los componentes son más artificiales por sí solos en

la elaboración de un suelo. Los diferentes substratos que han resultado a partir de estos componentes difieren no solo en sus características físico-químicas sino también en algo muy importante como sus componentes bióticos.

La mezcla de los componentes de estos substratos, se realizó en hormigonera pasando después a esterilizar el substrato resultante en desinfectadora de suelos a 96 °C durante 60 minutos o en autoclave durante 150 minutos a 121 °C y 1 atmósfera de presión.

A los substratos 1, 2, 3 y 4 se les añadieron 2,5 Kg de abono de liberación lenta (17-1,6 -8,7)

El material vegetal utilizado correspondió siempre a la especie *Q. ilex*, obtenida a partir de la siembra de semilla desinfectada en contenedores plásticos de base abierta enrejillada sobre un lecho de perlita previamente desinfectada y humedecida.La procedencia de esta especie fue Torre Las Arcas (Teruel).

El hongo inoculado fue *Tuber melanosporum* Vitt. de la misma procedencia anteriormente citada. Para obtener el inóculo esporal se procedió a triturar carpoforos de trufa maduros mezclados con una cierta cantidad de agua, resultando una "papilla" que más tarde se mezclaba con un coadyuvante.

La inoculación se realizó a los tres meses de la siembra, momento en el que previamente se cortaba la extremidad de la raíz pivotante para favorecer el crecimiento de raíces secundarias.

El método utilizado para la inoculación fue el de inmersión en un gel, formado por el coadyuvante y el inóculo esporal, procediendo a sumergir la raíz de la planta en dicha suspensión y pasando después a repicarlas en sus respectivos contenedores con los diferentes substratos. Los geles utilizados como coadyuvantes en el aporte de inóculo fueron alginato de sodio, un producto comercial compuesto por alginato y alga parda marina, y agar.

Los contenedores utilizados en el ensayo tenían una capacidad de 250 ml, eran de forma cónica con el fondo perforado, para permitir el drenaje del agua y el autorepicado de la raíz, impidiendo el enrollamiento de la misma.

TABLA Nº 1
COMPOSICIÓN EN PESO Y PH FINAL DE LOS DIFERENTES SUBSTRATOS UTILIZADOS
WEIGHT COMPOSITION AND FINAL PH OF DIFFERENT SUBSTRATES USED

Componentes	Tierra de Aula Dei	Tierra de Peñaflor	Tierra trufera	Humin Substrat	Turba rubia	Corteza de pino	Vermiculita	Dolomita	pH
S1	71%				18%		7%	4%	8,1
S2	67%			25%			8%		7,3
S3			100%						8,38
S4					52%		41%	4%	7,91
S5		67%		25%			8%		7,95

Las plantas se mantuvieron en invernaderos climatizados mediante el sistema "cooling" con una temperatura mínima de 15° y una máxima de 25°C.

El protocolo del experimento fué el siguiente: Se inocularon 10 plantas por cada gel, en cada uno de los cinco substratos, lo que hizo un total de 150 plantas inoculadas (3 geles x 5 substratos x 10 plantas / gel / substrato), reservando 5 testigos no inoculados para cada uno de los substratos.

En el experimento se realizaron dos controles, el primero de ellos a los 2 meses de la inoculación con el recuento de plantas muertas por cada tratamiento, obteniendo de aquí los porcentajes de mortalidad. A los 8 meses se procedió al recuento de ápices micorrizados de cada planta obteniendo los porcentajes de micorrización de cada tratamiento. Con estos datos se realizó el análisis estadístico mediante el programa SAS, utilizando el análisis de varianza ANOVA y en aquellos casos en los que existían diferencias estadísticamente significativas, se procedía a realizar una separación de medias, utilizando el test de Duncan para un error del 5%.

Resultados

Los datos referentes a la mortalidad de las plantas dos meses después de la inoculación, han permitido detectar diferencias significativas según el substrato utilizado, viniendo recogidas en el cuadro 1, en el que se aprecia una mayor mortalidad con el substrato S3, precisamente aquel cuya composición era tierra trufera.

El análisis de los porcentajes de micorrización, ocho meses después de la inocula-

CUADRO 1
MEDIAS DE MORTALIDAD DE *Q. ILEX* PARA LOS DISTINTOS SUBSTRATOS Y GELES UTILIZADOS EN LA INOCULACIÓN
MORTALITY MEANS OF Q. ILEX ON THE DIFFERENT SUBSTRATES AND GELES USED ON MYCORHIZATION

Geles / Substratos	A1	A2	A3	Testigo	Medias
S3	100%	80%	90%	20%	73% a
S1	70%	60%	50%	20%	50% b
S2	50%	80%	50%	0%	45% b
S4	50%	60%	50%	10%	43% b
S5	60%	60%	50%	0%	43% b
Medias	66% a	68% a	58% a	10% b	

* Separación de medias por Test de Duncan, nivel 5%. Para la expresión gráfica se han utilizado letras en las comparaciones. Las cifras señaladas con la misma letra no difieren significativamente.
* Means analysis by Duncan Test ($p < 0,05$). The figures with the same letter are not significantly different.

CUADRO 2
MEDIAS DE MICORRIZACIÓN DE *Q. ILEX* POR T. MELANOSPORUM EN LOS DISTINTOS SUBSTRATOS Y GELES UTILIZADOS
MYCORHIZATION MEANS OF Q. ILEX ON THE DIFFERENT SUBSTRATES AND GELES USED

	Agar	Alginato	Agricol	Testigos	Medias
S2	48%	46%	41%	0%	45% a
S5	50%	32%	35%	0%	39% a
S1	42%	28%	33%	0%	35% a
S3	28%	MUERTAS	0%	0%	9% b
S4	4%	5%	0%	0%	3% b
Medias	35% a	28% ab	22% b	0% c	

* Separación de medias por Test de Duncan, nivel 5%. Para la expresión gráfica se han utilizado letras en las comparaciones. Las cifras señaladas con la misma letra no difieren significativamente.
* Means analysis by Duncan Test ($p < 0,05$). The figures with the same letter are not significantly different.

ción, muestra diferencias significativas para los substratos y los geles utilizados en el ensayo, según el cuadro 2, en el que se aprecia como el substrato 4, que es el más artificial, presenta un grado de micorrización menor, junto con el substrato 3, aunque en este último es debido fundamentalmente a la elevada mortalidad registrada.

Discusión y Conclusiones

La tasa de mortalidad de las plantas de *Q. ilex* inoculadas con *T. melanosporum* se ve sensiblemente afectada por la naturaleza del substrato utilizado, siendo precisamente la tierra de origen trufero la que provoca una mortalidad mayor, lo que puede deberse a que en este substrato existe una flora indígena muy elevada que produce una colonización demasiado rápida, e impide que la planta pueda adaptarse a la misma, produciendo su muerte. Este fenómeno en que la relación es puramente parasítica en lugar de simbionte, está de acuerdo con la teoría de AGRIOS (1985) que habla de la simbiosis como un caso de parasitismo, en el que en ocasiones hay un beneficio mutuo para los dos organismos. Coincidiendo con DELMAS (1979), se ha observado en diversos ensayos, la existencia de un efecto positivo en el primer momento de inoculación del hongo sobre la salud y el crecimiento del árbol, pero cuando esta micorrización se intensifica va ocupando progresivamente todo el sistema radical activo, pudiendo conllevar un crecimiento más lento del huésped. En cualquier caso, la composición del substrato ha influído notablemente en la mortalidad de las plantas, que oscila entre el 43 y el 73 p. 100, demasiado elevada en todos los tratamientos..

Respecto a la mortalidad no se aprecian diferencias significativas para los distintos

geles, no pudiendo concluir que haya un gel que sea más inocuo para las plantas. No obstante, hay que considerar la posible acción fitotóxica de todos ellos, al diferir significativamente del testigo.

En cuanto a las tasas de micorrización, se observó que los porcentajes de micorrrización son más elevados en aquellos substratos con una mayor proporción de tierra en su composición, si bien ello obliga a extremar las medidas de desinfección de los mismos, para evitar contaminaciones de otras micorrizas indeseables. CHEVALIER (1985) a este respecto, indicó la conveniencia de utilizar substratos lo más artificiales posibles en la micorrización de plantas en vivero para evitar problemas de contaminaciones, aunque en nuestro caso, no se han producido en ningún momento. También POITOU (1988) recalcó la importancia de que estos suelos posean un aporte mineral adecuado que favorezca el desarrollo preponderante de la micorriza que se quiere intalar, hecho que no se ha considerado en esta experiencia, al haberse incorporado en todos los tratamientos el mismo tipo de fertilizante.

Por lo que respecta a los geles utilizados parece existir un mayor grado de micorrización en el caso del agar, coadyuvante más natural, si bien con algunos substratos (S3 y S4),los valores alcanzados distan mucho de considerarse correctos.

Los resultados obtenidos han permitido confirmar la importancia de los substratos y la de los geles utilizados en el proceso de micorrización de *Quercus* spp. por *T. melanosporum*, para intentar conseguir tasas de mortalidad lo más pequeñas posibles junto con elevados porcentajes de micorrización.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por el Instituto de Investigación y Tenología Agraria y Alimentaria (INIA), en el marco del Programa Sectorial de I+D Agraria y Alimentaria del MAPA, Proyecto SC95-041.

Bibliografía

AGRIOS, G.N., 1985. Fitopatología. 756 pp. Ed. Limusa.

CHEVALIER, G., 1985, La mycorhization controle en pepiniere forestiere. Possibilites d'application aux conteneurs. Revue Forestiere Francaise, vol 37 (2), 93 - 104 pp.

CHEVALIER, G. et DUPRE, C; 1988. Recherche et experimentation sur la truffe et la trufficulture en France. Congresso Internazionale sul tartufo: 157 - 166 pp.

DELMAS, J., 1979. Les truffes. La Science, vol 26, 69 - 80 pp.

PERRIN, R., 1993. Comunicación personal.

POITOU, N., 1988. Les sols truffiers francais. Congréss International sur la Truffe. Spoleto, Italia, 391 - 396 pp.

RODRÍGUEZ BARREAL, J.M., 1989. Importancia de la micorrización de diversas especies forestales españolas. Boletín Sanidad Vegetal, Plagas, vol 15, 33 - 41 pp.

TALOU, T., KULIFAJ, J., 1991. Los secretos de la trufa. Mundo Científico, vol 12, 226 - 235 pp.

(Aceptado para publicación el 19 de junio de 1996)