

¿POR QUÉ ES TAN DIFÍCIL CULTIVAR HONGOS MICORRÍICOS COMESTIBLES?

Marcos Morcillo¹, Mónica Sánchez¹

¹Micología Forestal & Aplicada. Rbla Arnau de Vilanova 6 local D. Vilanova i la Geltrú 08800 Barcelona

www.micofora.com micofora@teleline.es

Introducción

Las constantes disminuciones en la producción de hongos silvestres y su alto valor de mercado, han llevado a investigar su cultivo. Diferentes especies de trufas (*Tuber melanosporum*, *T. uncinatum*, *T. borchii*...) ya han sido obtenidas a través de distintos sistemas de cultivo, mediante plantación de planta micorrizada o inoculación directa en campo¹. De la misma manera se han obtenido producciones de *Lactarius deliciosus*², *Suillus granulatus*, *Rhizopogon rubescens*³, *Terfezia* (A. Gutierrez sin publicar)⁴, incluso *Cantharellus cibarius*⁵.

Existen muchos otros hongos silvestres de gran importancia económica, como la trufa blanca italiana, sobre los que prácticamente no ha habido éxito alguno.

A lo largo de este artículo analizaremos las posibles causas de esta problemática, el por qué es tan complejo establecer la micorrización o por qué cuando ésta se consigue, falla la producción. Algunas de las respuestas hay que buscarlas en las complejas interacciones entre los hongos y sus plantas huésped.

Algunos de los éxitos

En nuestro país la truficultura es una realidad, las plantaciones artificiales de encina micorrizada con *Tuber melanosporum* aumentan cada año. Para este hongo la fase de producción de planta micorrizada con inóculo esporal y o miceliar ya ha sido desarrollada. Los problemas llegan en la segunda fase, su cultivo: arados, riego, temperatura, niveles



Fig. 1. Plantación de Pino piñonero micorrizado con *Lactarius deliciosus* en producción.

de luz, control de contaminantes ... (ver G. Chevalier,

<http://www.mykopat.slu.se/mycorrhiza/edible/proceed/chevalier.html>)

No conocemos en profundidad las necesidades ecológicas de este hongo y todavía menos para otras trufas (*T. magnatum*, *T. borchii*, *T. uncinatum*, *T. aestivum*)⁶ para las cuales también se ha superado la primera fase de producción de planta micorrizada.

La producción artificial de otras setas ya ha sido obtenida a través de micorrización dirigida. Hoy en día es factible micorrizar cualquier especie de pino de la península con *Lactarius deliciosus* y llevarlos a producción entre tres y siete años después de la plantación, no obstante no todo está resuelto: las producciones para algunas especies como *Pinus halepensis* son muy bajas; la micorrización con *Lactarius sanguifluus* y *L. vinosus* son algo más complejas y los conocimientos para el manejo de las plantaciones son ínfimos.

Mediante la micorrización artificial de pinos también se han obtenido producciones en campo de *Suillus granulatus*, *S. luteus*, *Tricholoma portentosum*, *Rhizopogon rubescens*⁷ (variedad muy apreciada gastronómicamente en Japón) así como alguna variedad de criadilla de tierra (*Terfezia clavertyi*) micorrizada con la jarilla *Helianthemum almeriense*. Incluso fructificaron en macetas en invernadero *Cantharellus cibarius* previamente inoculados en pino álbar, aunque la fructificación fue azarosa, ya que no se ha conseguido repetir desde 1996.



Fig.2. Primera fructificación conseguida de *Cantharellus cibarius* a partir de inoculación en cultivo puro. Autor: Danell E.

A pesar de estos éxitos, existen muchos otros hongos micorrícicos comestibles que no se han podido cultivar, incluyendo algunos de los hongos más cotizados como la trufa blanca del Piemonte (*Tuber magnatum*) o *Tricholoma matsutake*, un hongo muy apreciado en Japón y Korea, próximo a nuestro *Tricholoma caligatum* cuyo precio al recolector oscila entre 40 y 220€/kg.

¿Por qué es tan complejo establecer la micorrización con especies vegetales adecuadas?

¿Por qué algunas infecciones que parecen estables, fallan o son desplazadas por otros hongos en el campo sin llegar a fructificar?

Los primeros éxitos en el cultivo de hongos micorrícicos fueron a través de la producción de planta micorrizada en condiciones controladas estériles, para más tarde transplantarlas a campo. Éste es el sistema que mejor conocemos y que por tanto adaptamos cuando queremos cultivar nuevas especies de hongos.

Debemos tener presente que en un bosque no fructifican los mismos hongos a lo largo del tiempo. Éstos se van sucediendo de forma natural a medida que el bosque envejece. Algunos de los hongos con valor comercial como los boletos, las cantarelas, las oronjas, etc. fructifican con preferencia en bosques adultos, siendo compleja la micorrización de plantas en vivero.

Para éstas especies de hongos será interesante explorar y desarrollar técnicas de micorrización dirigida directamente en árboles adultos.

En esta línea ya se han obtenido resultados positivos con varias especies, fructificando en bosque directamente *Lactarius deliciosus*, *Boletus edulis*⁸, *Tuber melanosporum*⁹, *T. brumale*, *T. uncinatum*^{10,6} y *Lyophyllum shimeji* (http://www.kippo.or.jp/KansaiWindowhtml/News/1996-e/19961119_NEWS.HTML), o consiguiendo establecer asociaciones micorrícicas estables con *Tricholoma matsutake*¹¹, hongo que sólo fructifica en pinares de *Pinus densiflora* de más de 20 años con un 75 % de cobertura arbórea.

***Boletus edulis* fructifica a menudo cerca de *Amanita muscaria*.** Este hecho ocurre en zonas tan dispares como España, USA o Nueva Zelanda. ¿Es posible que existan relaciones complejas entre diferentes especies de hongos necesarias para su fructificación?

Boletus edulis aparece también asociado a *Clitopilus prunulus* y *Amanita excelsa*¹², con la cual no sólo fructifican juntos sino que en observaciones microscópicas, sus micelios se encuentran íntimamente ligados en la superficie de las raíces de la planta huésped.

Los anteriores no son los únicos casos; *Suillus bovinus* y *Rhizopogon* spp. aparecen a menudo junto a *Gomphidius roseus*; *Suillus* spp. aparece con *Chroogomphus* spp.; Y *Boletus parasiticus* se asocia a *Scleroderma citrinum*^{13,14,15}.

Otros hongos micorrícicos como las cantarelas⁵ y algunas trufas^{16,17,18} llevan siempre asociadas bacterias del grupo *Pseudomonas* en sus fructificaciones y micorrizas.

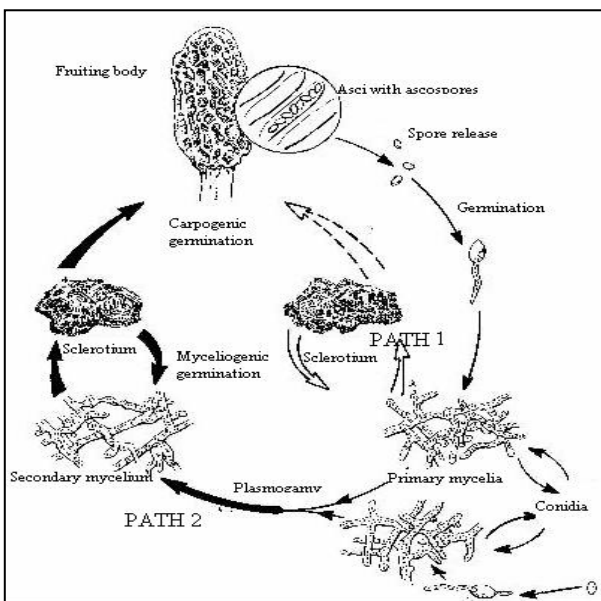


Fig. 3. Posible ciclo de *Morchella* spp. según Buscot.

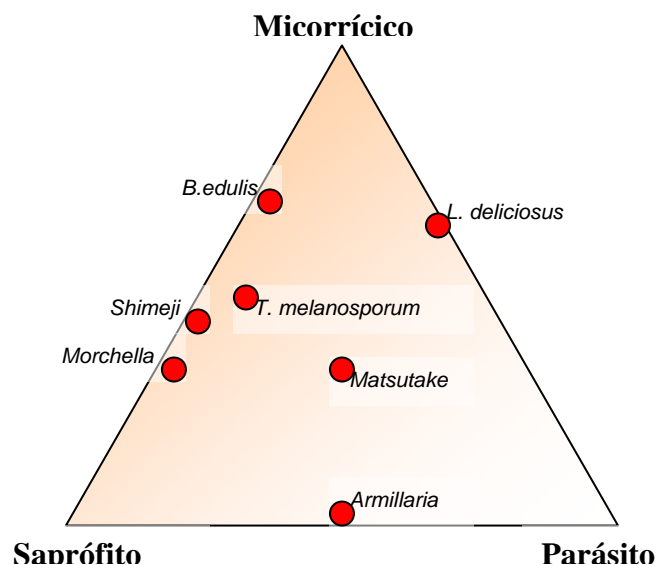


Fig.4. Aunque muchos hongos quedan bien definidos en términos de saprófito, micorrícicos y parásito, otros quedan en un contexto intermedio.

Estas bacterias parecen estar involucradas en la formación de micorrizas, en facilitar el acceso a fuentes de alimento para el hongo o en la supresión de hongos competidores. Algunos investigadores ya están realizando inoculaciones conjuntas de dos o más hongos aunque sólo interese la fructificación de uno de ellos. Es posible que para determinados hongos sean necesarios varios componentes para obtener un micorriza estable, o que sólo introduciéndolos directamente en su hábitat natural consigan fructificar.

Micorrícicos, saprófitos y parásitos

Otra posible razón por la cual no hemos conseguido cultivar algunos hongos es por presuponer que son micorrícicos, cuando su relación con la planta huésped es mucho más compleja.

Los micólogos clasifican a los hongos en micorrícicos (viven en simbiosis obteniendo un beneficio mutuo tanto el hongo como su planta huésped), saprófitos (viven de degradar la materia orgánica) y parásitos (obtienen el alimento de plantas o animales vivos sin que estos obtengan ningún beneficio). En estas tres categorías arbitrarias, creadas por el hombre, no encajan bien todos los hongos. Muchos se encuentran en puntos intermedios en un triángulo definido en términos de micorrícicos, saprófitos y parásitos (Fig. 4). Por ejemplo, algunos parásitos como *Armillaria mellea* pueden vivir en los tejidos del árbol mucho tiempo después de muerto; otros hongos "micorrícicos" presentan habilidades saprofíticas: *Boletus edulis*¹⁹, *Hebeloma*²⁰ y *Lyophyllum shimeji*^{21,22} pueden fructificar en el laboratorio sobre medio nutritivo en ausencia de la planta huésped; *Tricholoma matsutake*, inicialmente micorrícico en pinos, pasa a ser parásito destruyendo completamente el córtex radical de su huésped e incluso viviendo como saprófito una vez el árbol está muerto²³.

Las colmenillas o cagarrias (*Morchella* spp.) son consideradas saprófitas, pudiendo multiplicar su micelio en diferentes medios de cultivo y consiguiendo fructificaciones en alguno, por lo que podría cultivarse comercialmente sobre sustratos artificiales²⁴.

Parece ser que en ecosistemas forestales estables el ciclo de las colmenillas es algo más complejo, incluyendo ambas fases, saprofítica y micorrícica²⁵, oscilando en un ciclo bianual (Fig. 3). La fase saprofítica se caracteriza por la acumulación de nutrientes y formación de esclerocios (agregaciones miceliarias que permiten sobrevivir al hongo en condiciones adversas) en verano y otoño, seguida de la fase micorrícica, en la que el micelio crece a partir de los esclerocios y coloniza las raíces finas en primavera²⁶.

Los quemados o calvas producidos por la trufa negra son sobradamente conocidos. Este hongo aún estableciendo micorrizas con su planta huésped, es capaz de matar y evitar la germinación de toda la vegetación a su alrededor. Las trufas además, a los pocos días de su formación ya no presentan ninguna relación con su planta huésped, creciendo y madurando hasta 10 meses de forma saprofita.

Otro ejemplo lo encontramos en *Lactarius deliciosus*, típicamente micorrícico puede invadir las células del córtex de la raíz del pino que lo hospeda y de algunas hierbas de su alrededor, actuando más bien como un parásito²⁷. Esta misma especie produce altos niveles de polifenol oxidadasas, un encima capaz de degradar la lignina y la celulosa, típico de hongos saprófitos²⁸.

El objetivo de estas reflexiones es poner en relieve algunas de las áreas sobre las que vale la pena explorar, si pretendemos llegar a cerrar con cierto éxito, el ciclo de cultivo de algunos hongos micorrícicos con los que actualmente estamos trabajando.



Fig. 5. Rizomorfo de *Lactarius deliciosus* invadiendo la epidermis radical del pino que lo hospeda. Autor: Wang Y. Crop & food Research.



Fig. 6. Quemado producido por la presencia de *Tuber melanosporum*

Bibliografia

- ¹ Hall, I.R. et al. 2002. Edible Mycorrhizal Mushrooms and their Cultivation, Proceedings of the Second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms, CD-ROM, New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited.
- ² Poitou, N., Mamoun, M., Ducamp, Delmas J. 1984. Après le bolet granuleux, le Lactaire délicieux obtenu en fructification au champ à partir de plants mycorhizés. P.H.M. Rev. Hortic. 244: 65-68.
- ³ Wang Yun, Ian R.Hall, Carolyn Dixon, Maria Hance-halloy, George Strong and Peter Brass. 2002. The cultivation of *Lactarius deliciosus* (saffron milk cap) and *Rhizopogon rubescens* (shoro) in New Zealand. Edible Mycorrhizal Mushrooms and Their Cultivation. Proceedings of the second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms. 3-6 July 2001. CD-ROM, New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited.
- ⁴ Morte, A. et al. 2000. Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense* –*Terfezia claveryi*. *Mycorrhiza* 10, 115–119.
- ⁵ Danell E, camacho FJ. 1997. Successful cultivation of the golden chanterelle. *Nature* 385 pp 303.
- ⁶ Chevalier G, Gregori G, Frochot H, zambonelli A. 2002. The cultivation of the Burgundy truffle. In CD Rom Edible Mycorrhizal Mushrooms and Their Cultivation. Proceedings of the second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms. 3-6 July 2001. CD-ROM, New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited.
- ⁷ Yamada A, Ogura T and Ohmasa M. 2001. Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by in vitro mycorrhizal synthesis. I. Primordium and basidiocarp formation in open-pot culture. *Mycorrhiza* 11, 59-66.
- ⁸ Veselkov, J-M. 1975. Multiplication artificielle e *Boletus edulis* en foret. *Rastitel'nye Resursy* 11:574-578.
- ⁹ Morcillo M, Sánchez M, Gracia E. 2003. Open Field Mycorrhization of Adult Hazelnut Groves With *Tuber Melanosporum* Vitt. 3rd International Workshop on Edible Micorrhizal Mushrooms. 17-19 August 2003. Victoria. Canada.
- ¹⁰ Frochot Henri; Chevalier Gerard; Barbotin Patrick; Beaucamp Francois, 1999, Avancees sur la culture de la truffe de Bourgogne (*Tuber uncinatum* Chatin). Actes du V congres international Science et culture de la truffe. Aix en Provence. 387-392.
- ¹¹ Guerin-Laguette A, Matsushita N, Katsumi S, Lapeyrie F, Suzuki K. 2003. Attempts to cultivate Matsutake mushroom: two promising approaches. 3rd International Workshop on Edible Micorrhizal Mushrooms. 17-19 August 2003. Victoria. Canada.
- ¹² Hall IR, Wang Y, Amicucci A. 2003. Cultivation of edible ectomycorrhizal mushrooms. *Trends in biotechnology*. Vol.21 N°10 october 2003.
- ¹³ Agerer, R. (1990) Studies of ectomycorrhizae. XXIV. Ectomycorrhizae of *Chroogomphus helveticus* and *C. rutilis* (Gomphidaceae, Basidiomycetes) and their relationships to those of *Suillus* and *Rhizopogon*. *Nova Hedwigia* 50, 1–63.
- ¹⁴ Agerer, R. (1996) Ectomycorrhizae in the community: with special emphasis on interactions between ectomycorrhizal fungi. In *Mycorrhizas in Integrated Systems from Genes to Plant Development*, Proceedings of the Fourth European Symposium on Mycorrhizas, European Commission report EUR 16728 (Azcon-Aguilar, C. and Barea, J.M., eds), pp. 52–57, European Commission.
- ¹⁵ Olsson, P.A. et al. (2000) Molecular and anatomical evidence for a three-way association between *Pinus sylvestris* and the ectomycorrhizal fungi *Suillus bovinus* and *Gomphidius roseus*. *Mycol. Res.* 104, 1372–1378
- ¹⁶ Citterio, B. et al. (1995) Isolation of bacteria from sporocarps of *Tuber magnatum* Pico, *Tuber borchii* Vitt. and *Tuber maculatum* Vitt.: identification and characterization. In *Biotechnology of Ectomycorrhizae: Molecular Approaches* (Stocchi, V. et al., eds), pp. 241–248, Plenum
- ¹⁷ Mamoun, M. and Olivier, J.M. (1992) Effect of soil pseudomonads on colonization of hazel roots by the ectomycorrhizal species *Tuber melanosporum* and its competitors. *Plant Soil* 139, 265–273
- ¹⁸ Sbrana, C. et al. (2000) Adhesion to hyphal matrix and antifungal activity of *Pseudomonas* strains isolated from *Tuber borchii* ascocarps. *Can. J. Microbiol.* 46, 259–268
- ¹⁹ Granetti B. 1992. Alcuni aspetti della fructificazione in vitro di *Boletus aereus*, *B. edulis* e *B. reticulatus*. *Annali Facolta di Agraria*, vol. 44: 1001-1011.

-
- ²⁰ Ohta, A. 1998. Fruit body production of two ectomycorrhizal fungi in the genus *Hebeloma* in pure culture. *Mycoscience*, 39: 15-19.
- ²¹ Ohta, A. 1994. Production of fruit bodies of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*, in pure culture. *Mycoscience* 35, 147-151.
- ²² Hawai Masataka. 1997. Artificial ectomycorrhiza formation on roots of air-layered *Pinus densiflora* saplings by inoculation with *Lyophyllum shimeji*. *Mycologia*. 89(2), 228-232
- ²³ Wang, Y. et al. (1997) Ectomycorrhizal fungi with edible fruiting bodies 1. *Tricholoma matsutake* and related fungi. *Econ. Bot.* 51, 311–327
- ²⁴ Ower R, Mills G, Malachowski J. 1986. Cultivation of *Morchella*. U.S. Patent. No. 4594809
- ²⁵ Buscot F. 1992. Synthesis of two types of association between *Morchella esculenta* and *Picea abies* under controlled Culture Conditions. *J. Plant Physiol.* Vol. 141: 12-17
- ²⁶ Buscot F. 1992. Strategies ecologiques et biologiques des morilles. *Crypt Mycol.* 13: 171-179.
- ²⁷ Wang Yun, Ian R.Hall, Carolyn Dixon, Maria Hance-halloy, George Strong, Candice Barclay. 2003. Potential of cultivation of *Lactarius deliciosus* (saffron milk cap) in New Zealand. 3rd International Workshop on Edible Micorrhizal Mushrooms. 17-19 August 2003. Victoria. Canada.
- ²⁸ Giltrap NJ. 1982. production of polyphenol oxydases by ectomycorrhizal fungi with special referente to *Lactarius* species. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 78: 75-81.