

Características culturales de algunos hongos ectomicorrícicos en cultivo puro

Fernando Sánchez, Mario Honrubia y Pilar Torres

Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Facultad de Biología, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, Murcia, España

Resumen

Se describen las características macro y microscópicas más resaltables de los cultivos de 21 especies de hongos ectomicorrícicos, haciendo hincapié en su importancia como posibles criterios de carácter taxonómico. Los medios de cultivo empleados son MMN y BAF. Cabe destacar que algunas de las características, como coloración o morfología de los micelios, que presentan algunos de nuestros aislamientos también son citadas por distintos autores para estas mismas especies, u otras próximas taxonómicamente. Es el caso de los micelios de *Boletus satanas* y *Lactarius deliciosus* en medio BAF, o de *Hebeloma edurum*, *Lycoperdon perlatum*, *Paxillus atrotomentosus*, *Rhizopogon roseolus* y *Suillus collinitus*, en medio MMN. A nivel macroscópico, las características más variables entre las distintas cepas fueron la coloración del micelio, abundancia de micelio aéreo, y presencia de exudados, mientras que la presencia de engrosamientos y de grupos de hifas flexuosas, lo fueron a nivel microscópico.

Palabras clave

Hongos ectomicorrícicos, Cultivo puro, MMN, BAF, El Maestrazgo

Cultural characteristics of some ectomycorrhizal fungi in pure culture

Summary

Macro and microscopic features for 21 species of ectomycorrhizal fungi are presented, with regard to their particular importance as possible taxonomic criteria. The culture media used are MMN and BAF. Cultural characteristics of some of our isolates, like color or morphology of the mycelia, were comparable to those observed by different authors for the same species, or species which are closely related taxonomically, as for example *Boletus satanas* and *Lactarius deliciosus* in BAF media, or *Hebeloma edurum*, *Lycoperdon perlatum*, *Paxillus atrotomentosus*, *Rhizopogon roseolus* and *Suillus collinitus* in MMN media. Macroscopically the color of mycelia, the amount of aerial mycelia and microscopically the exudates and the presence of inflated and flexuous cells were the most variable characteristics within species.

Key words

Ectomycorrhizal fungi, Pure culture, MMN, BAF, El Maestrazgo

La obtención y caracterización de un banco de cultivos miceliarios de hongos ectomicorrícicos lo más completo posible, ha sido, en los últimos años, uno de los principales objetivos del grupo de Micología-Micorrizas de la Universidad de Murcia. Prueba de ello son los distintos trabajos publicados en este sentido [1-4]. En esta misma línea, con el trabajo que aquí se presenta, se amplía el número de colecciones disponibles, además de aportar algunas descripciones de cepas aisladas anteriormente.

Este aspecto resulta de gran interés a la hora de caracterizar las diferentes especies desde el punto de vista de su diversidad miceliar. Nuestro principal objetivo, por tanto, ha sido la caracterización macro y microscópica de las diferentes especies de hongos ectomicorrícicos aislados, lo que aporta una serie de datos adicionales a los caracteres taxonómicos de los carpóforos, de gran interés a la hora de caracterizar los diferentes taxones.

Para determinados trabajos de investigación aplicada en el campo de las micorrizas, es imprescindible la disponibilidad de un amplio banco de cultivos puros de los hongos que forman tales asociaciones. La inoculación de plantas con inóculos miceliarios requiere que los micelios presenten unos valores de crecimiento radiales y biomasa lo más elevado posible, para disponer de la cantidad de inóculo suficiente [5,6]. El conocimiento de las características biológicas y fisiológicas de los micelios de los hongos ensayados, así como la especificidad que presentan con determinados hospedantes, son fundamentales a la hora de elegir las especies idóneas para inoculaciones controladas en vivero.

Dirección para correspondencia:

Dr. Fernando Sánchez Sánchez
Dpto. Biología Vegetal (Botánica), Facultad de Biología,
Universidad de Murcia, Campus de Espinardo,
30100 Murcia, España
Tel.: +34 968 364 982 / 730 716. Fax: +34 968 363 963
E-mail: micolab@fcu.um.es / fersan@fcu.um.es

Aceptado para publicación el 6 de Mayo de 2000

MATERIAL Y MÉTODOS

Los aislamientos se realizaron a partir de carpóforos de hongos ectomicorrícicos recolectados en distintos bosques situados en la parte más oriental del Sistema Ibérico (E España), entre las provincias de Teruel, Castellón y Tarragona, desde 1991 hasta 1994. En cada una de las especies se ofrece el número de registro, el medio de cultivo, localidad de procedencia y fecha de aislamiento. Asimismo, en la Tabla 1 se lleva a cabo una relación de las localidades, indicando vegetación dominante, UTM y altitud.

La metodología empleada para la obtención de los cultivos ha sido la indicada por diferentes autores a partir de fragmentos de los cuerpos fructíferos [1,4,7]. Todos los ejemplares que se utilizaron en la obtención de los micelios se encuentran depositados en el herbario MUB-Ma Fungi de la Universidad de Murcia, disponibles para cualquier revisión o consulta solicitada.

Los medios nutritivos empleados fueron MMN [8] o BAF [9], a pH 5,5, en la oscuridad, y a 22-24°C). La elección del medio de cultivo se llevo a cabo según los requerimientos nutricionales de cada especie [1,10]. Después de varias semanas de cultivo, dependiendo de la velocidad de crecimiento de cada hongo, los micelios resultantes se replicaron a placas con medio fresco.

Después de cuatro semanas se procedió a la descripción, tanto morfológica (color del micelio, micelio aéreo, forma del margen, presencia de exudados, etc.), como microscópica (tamaño y forma de las hifas, ramificaciones, presencia de hifas moniliformes o submoniliformes, células engrosadas, presencia de fíbulas y anastomosis, etc.) de los micelios resultantes. Se consideraron aislamientos positivos, todos aquellos con crecimientos y características miceliarias uniformes, sin presencia de estados conidiales [11].

RESULTADOS

A continuación se describen las características macro- y microscópicas de los micelios obtenidos a partir de 21 especies puestas en cultivo. Las descripciones que se presentan están basadas en las características comunes que presentaron las diferentes cepas aisladas para cada especie. Asimismo se reflejan las variaciones que pudieron ser observadas entre cepas de la misma especie. En el caso de *Lactarius sanguifluus*, *Tricholoma focale* y *Tricholoma caligatum*, tan sólo se realizó una descripción de las características macroscópicas ya que las colonias se perdieron por contaminación previamente a su estudio microscópico. Además, se presenta un listado adicional de 23 especies, donde se indican todos los aislamientos realizados a lo largo de los años de estudio y que no experimentaron crecimiento en los medios utilizados o sufrieron distintos procesos de contaminación, y por tanto no fueron descritos.

Boletus satanas Lenz

Nº Registro: 118ED. Medio de Cultivo: BAF. Loc. 2. Fecha de Aislamiento: 9/IX/1991.

Nº Registro: 119ED. Medio de Cultivo: BAF. Loc. 2. Fecha de Aislamiento: 9/IX/1991.

Descripción: Micelio pardo oscuro. Micelio aéreo poco abundante distribuido por toda la colonia, pardo-grisáceo en el centro, blanquecino en el margen. Margen irregular, de color más claro que el centro. Reverso pardo. Exudado de gotitas parduscas sobre el centro de la colonia, así como de pigmentos pardo-ocráceos al medio. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento

es de 2 cm. Hifas hialinas a ligeramente pigmentadas, de paredes delgadas, de 2 a 4 µm de diámetro. Algunas son flexuosas. Ramificaciones simples. Sin fíbulas.

Observaciones: Al parecer, el oscurecimiento de los micelios, al crecer sobre medio BAF, es una característica de algunas especies de este género *Boletus*, como *B. pinophilus* Pilat & Dermek [4] o, en nuestro caso, *B. satanas*.

Chalciporus pierrhuguesii Boud.

Nº Registro: 117ED. Medio de Cultivo: MMN y BAF. Loc. 14. Fecha de Aislamiento: 20/X/1992.

Descripción: Micelio pardo-anaranjado, anaranjado-amarillento, anaranjado en el centro. Micelio aéreo escaso de color blanco y aspecto algodonoso, distribuido por toda la superficie. Margen irregular de color crema. Reverso pardo-anaranjado. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 7 x 4,3 cm. En medio BAF, las colonias de esta especie presentaron micelios más densos, y una mayor cantidad de micelio aéreo, de aspecto algodonoso, y con tonalidades amarillentas. Hifas de hialinas a ligeramente amarillentas, de paredes delgadas, hasta 4,5 µm de diámetro. Aparecen algunas hifas moniliformes y flexuosas. Presenta algunos engrosamientos intercalares, de 15-17 µm de diámetro. Ramificaciones simples. Sin fíbulas.

Observaciones: No hemos encontrado en la bibliografía consultada, ninguna descripción del micelio de este hongo, por lo que pensamos que es la primera vez que se aísla.

Hebeloma crustuliniforme (Bull.: Fr.) Quéf.

Nº Registro: 202ED. Medio de Cultivo: MMN. Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Descripción: Micelio anaranjado a ocre-anaranjado. Micelio aéreo escaso, blanquecino-amarillento, distribuido por toda la colonia. Margen regular. Reverso anaranjado. Exudado débil de pigmentos amarillentos. Diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 4 cm. Hifas amarillentas, de paredes delgadas, septadas, hasta 6,5 µm de diámetro. Aparecen numerosas hifas flexuosas y subflexuosas. Presenta gran cantidad de engrosamientos intercalares, hasta 7 µm de diámetro. Ramificaciones sencillas. Sin fíbulas.

Observaciones: Bruchet [12] indica que la mayor parte de las especies de este género incluidas en la sección *Hebeloma*, a la que pertenece *H. crustuliniforme*, muestran micelios de color blanquecino, sobre medio Agar-Malta [13], lo que claramente difiere de nuestros resultados para ejemplares de esta especie. Asimismo, este mismo autor señala la presencia de numerosas fíbulas, que no fueron observadas en nuestro caso.

Hebeloma edurum Metrod ex M. Bon

Nº Registro: 144ED. Medio de Cultivo: MMN. Loc. 15. Fecha de Aislamiento: 13/XI/1992.

Nº Registro: 201ED. Medio de Cultivo: MMN. Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Descripción: Micelio de color blanco-crema, dispuesto en bandas concéntricas. En la cepa 201ED aparecen unos pequeños acúmulos miceliarios en forma de botones irregularmente distribuidos. Micelio aéreo muy escaso, de color crema con reflejos salmón-rosáceo. Margen regular, blanquecino. Reverso blanco-crema. Hifas hialinas, de 2-4 µm de diámetro, de paredes delgadas. Algunas son flexuosas. Presenta células intercalares engrosadas, de 9-16 µm de diámetro, con las paredes gruesas, hasta 2 µm de espesor. Ramificaciones simples. Sin fíbulas.

Observaciones: Los botones de micelio que presentan los micelios de la cepa 201ED, descritos previamente como "bulbilos" [14], en cultivos de algunas especies ectomicorrícicas, podrían corresponder a estructuras análogas a los esclerocios citados por muchos autores en varias especies de hongos ectomicorrícicos. Descripciones previas en MMN de los micelios de *H. edurum* [4] coinciden, a grandes rasgos, con las características morfológicas de nuestras cepas para esta misma especie.

***Lactarius chrysorrhoeus* Fr.**

Nº Registro: 149ED. Medio de Cultivo: MMN. Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 16/X/1992.

Descripción: Micelio de color crema, incluido en su mayor parte en el medio, que se dispone en forma de cordones o ramas irregulares hacia el exterior, lo que le da un aspecto estrellado. Micelio aéreo blanco, muy escaso. Margen irregular, profundamente aserrado. Reverso crema. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 3,5 cm. Hifas hialinas de paredes delgadas, de 2 a 5 µm de diámetro. Presentan algunos engrosamientos intercelulares (hasta 7,5 µm de diámetro). Ramificaciones simples. Sin fíbulas.

Observaciones: Al contrario que otras especies de *Lactarius*, con crecimientos muy lentos en medio MMN, *L. chrysorrhoeus* presenta un desarrollo óptimo en este medio de cultivo. Hormilla [15] también describe las colonias de esta especie, sobre medio PDA, en donde los micelios adquirirían una coloración más oscura que en nuestro caso.

***Lactarius deliciosus* (L.: Fr.) S.F. Gray**

Nº Registro: LDF1. Medio de Cultivo: BAF. Loc. 9. Fecha de Aislamiento: 17/X/1992.

Nº Registro: 131ED. Medio de Cultivo: BAF. Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 18/X/1992.

Nº Registro: 203ED. Medio de Cultivo: BAF y MMN. Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Nº Registro: 204ED. Medio de Cultivo: BAF y MMN. Loc. 9. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Nº Registro: 205ED. Medio de Cultivo: BAF y MMN. Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Descripción: Micelio crema-anaranjado. Micelio aéreo blanquecino a grisáceo, escaso y de aspecto fibroso, con puntos de color verde irregularmente distribuidos. Algunas cepas (131ED) presentan una coloración verde muy patente en toda la superficie de la colonia. Margen irregular, blanco-crema. Reverso de coloración no uniforme, crema-anaranjado. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 5,5 cm. Hifas de paredes delgadas, hialinas a ligeramente anaranjadas, hasta 5,5 µm de diámetro. Presenta algunas hifas subflexuosas. Ramificaciones simples y complejas. Aparecen algunas fíbulas y anastomosis.

Observaciones: El micelio de esta especie ha sido descrito en varias ocasiones [1,16], ambas en medio BAF. Las características de nuestros aislamientos coinciden, tanto en morfología y coloración de los micelios, como a nivel microscópico, con las de estos autores para *L. deliciosus*.

***Lactarius evosmus* Kühner**

Medio de Cultivo: BAF y MMN. Loc. 2. Fecha de Aislamiento: X/1994.

Descripción: Micelio parduzco, de aspecto estriado. Micelio aéreo abundante, blanco-ceniciento, de aspecto aterciopelado, distribuido por toda la colonia. Margen lobulado a irregular. Reverso concoloro al micelio.

Diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 3,5 cm. Presenta exudados anaranjados débiles. En medio MMN el micelio adquiere un aspecto estriado, con menor cantidad de micelio aéreo, alcanza 2 cm tras cuatro semanas de crecimiento, y carece de exudados. Hifas hialinas de paredes delgadas, muy estrechas, hasta 3,5 µm de diámetro. Presenta algunos grupos de hifas subflexuosas, y numerosas hifas moniliformes, con gran cantidad de engrosamientos intercalares de hasta 12 [15] µm de diámetro. Ramificaciones sencillas y algunas complejas. Sin fíbulas.

Observaciones: Hormilla [15] describe el micelio de una especie muy próxima taxonómicamente, *L. zonarius* (Bull.) Fr., crecida en medio PDA, la cual presentó zonaciones y un micelio aéreo parecido al de nuestro cultivo.

***Lactarius sanguifluus* (Paulet.: Fr.) Fr**

Nº Registro: 131ED. Medio de Cultivo: BAF. Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 18/X/1992.

Nº Registro: 203ED. Medio de Cultivo: BAF y MMN. Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Nº Registro: 204ED. Medio de Cultivo: BAF y MMN. Loc. 9. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Nº Registro: 205ED. Medio de Cultivo: BAF y MMN. Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Descripción: Micelio naranja a crema-anaranjado, en ocasiones con manchas de color verde irregularmente distribuidas. Micelio aéreo escaso, de color anaranjado y aspecto fibriloso. Margen regular, en ocasiones algo lobulado. Reverso crema. El diámetro de las colonias tras cuatro semanas es de 2,5 a 3 cm.

***Lepista nuda* (Bull.: Fr.) Cooke**

Nº Registro: 138ED. Medio de Cultivo: MMN. Loc. 3. Fecha de Aislamiento: 15/X/1992.

Descripción: Micelio pardo claro. Micelio aéreo blanco, poco abundante, distribuido por toda la superficie de la colonia. Margen irregular blanquecino. Reverso pardo claro. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 2,6 cm. Hifas hialinas o ligeramente pigmentadas de paredes delgadas, de 1 a 5,2 µm de diámetro. Ramificaciones simples. Con fíbulas.

***Leucopaxillus gentianeus* (Qué.) Kotl.**

Nº Registro: 154ED. Medio de Cultivo: MMN. Loc. 9. Fecha de Aislamiento: 15/X/1993.

Nº Registro: 209ED. Medio de Cultivo: MMN. Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 11/X/1994.

Descripción: Micelio blanco. Micelio aéreo blanco, muy abundante, sobrepasando los límites de la colonia. Margen irregular blanco. Reverso blanco-crema. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 4 cm. Hifas hialinas de paredes delgadas, de 1,6 a 4 µm de diámetro, con algunas hifas flexuosas. Presencia de anastomosis. Aparecen numerosas células terminales provistas la mayoría de un largo pedicelo, las cuales se separan de las hifas, pudiendo tratarse de clamidosporas, o de simples engrosamientos, muy frecuentes en cultivos de hongos ectomicorrícicos (Hutchinson, 1989). Ramificaciones simples. Con numerosas fíbulas.

Observaciones: Nuestro aislamiento coincide plenamente con otras descripciones macromorfológicas [15] de esta misma especie, también en medio MMN.

***Lycoperdon perlatum* Pers.: Pers.**

Nº Registro: 210ED. Medio de Cultivo: MMN. Loc. 14. Fecha de Aislamiento: 11/X/1994.

Descripción: Micelio blanco, blanco-crema, en

parte inmerso en el medio. Micelio aéreo muy escaso, de aspecto pruinoso. Margen regular, finamente lobulado a dentado. Reverso crema. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 1,5-2,5 cm. Hifas hialinas de paredes delgadas, hasta 5 µm de diámetro. Aparecen numerosos grupos de hifas flexuosas, con gran cantidad de pequeños engrosamientos intercalares de hasta 5,5 µm. También presenta algunos grupos de hifas de aspecto moniliforme. Ramificaciones sencillas y algunas complejas. Sin fíbulas.

Observaciones: El micelio de esta misma especie ha sido descrito por Hormilla [15], también sobre MMN, y al igual que ocurre en nuestros aislamientos, se caracteriza por la coloración blanca a blanco-crema, y el crecimiento en la parte interna del medio. Asimismo, nuestra descripción del micelio de *Lycoperdon perlatum* presentó numerosas características morfológicas similares a las del micelio de *Lycoperdon umbrinum* Pers.: Pers., descrito por Torres [1], procedente de El Valle (Murcia) bajo *Pinus halepensis*.

***Paxillus atrotomentosus* (Batsch.) Fr.**

Nº Registro: 133ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 10. Fecha de Aislamiento: 17/X/1992.

Nº Registro: 134ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 15. Fecha de Aislamiento: 16/IX/1992.

Descripción: Micelio pardo, con tonalidades granates a rojizas. Micelio aéreo pardo grisáceo a pardo anaranjado, abundante, sobre todo en el centro de la colonia, repartiéndose hacia los bordes de forma más o menos radial. Margen de la colonia irregular, algo lobulado, pardo rojizo. Reverso pardo. Presenta exudados de color pardo anaranjados. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 7 cm de diámetro. Hifas pigmentadas pardo-grisáceas, de paredes delgadas, muchas de ellas flexuosas, de 1 a 7 µm de diámetro. Ramificaciones simples. Presenta algunas fíbulas y anastomosis.

Observaciones: Nuestra descripción coincide en cuanto a coloración y morfología del micelio, así como en la microscopía, con el cultivo de *Paxillus pannuoides* Fr. descrito por Torres [1], en medio MMN, recolectado en El Valle (Murcia), sobre madera de *Pinus halepensis*. Sin embargo, el micelio de *Paxillus involutus* (Batsch.) Fr. obtenido por Hormilla [15], en este mismo medio de cultivo, muestra una coloración con tintes parduzcos, en ningún caso granates o rojizos.

***Rhizopogon roseolus* Fr.**

Nº Registro: 125ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 16. Fecha de Aislamiento: X/1992.

Nº Registro: 128ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 7. Fecha de Aislamiento: 18/X/1992.

Nº Registro: 158ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 16. Fecha de Aislamiento: 16/X/1993.

Descripción: Micelio pardo, a pardo-granate en el centro, en ocasiones con una banda externa anaranjada. Micelio aéreo blanquecino, con tonos pardo-rosáceos a anaranjados en 158ED, más abundante en el centro. Margen irregular, lobulado, pardo. Reverso pardo-rojizo. Exudado de pigmentos pardo-amarillentos o anaranjados al medio. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 4,5 cm. Hifas de paredes delgadas, ligeramente amarillo-anaranjadas, flexuosas en su mayoría, de 1,2 a 5,6 µm de diámetro. Aparecen algunas anastomosis. Ramificaciones simples. Sin fíbulas.

Observaciones: Nuestros micelios son, en general, coincidentes con los obtenidos, en medio MMN, por Miller & Miller [14] y Torres & Honrubia [3].

***Suillus collinitus* (Fr.) Kuntze**

Nº Registro: 104 ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 1. Fecha de Aislamiento: 15/X/1992.

Nº Registro: 105ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 3 Fecha de Aislamiento: 15/X/1992.

Nº Registro: 107ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 16/X/1992.

Nº Registro: 108ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 13. Fecha de Aislamiento: 16/IX/1992.

Nº Registro: 156ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 11. Fecha de Aislamiento: 16/X/1993.

Nº Registro: 157 ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 13. Fecha de aislamiento: 16/X/1993

Nº Registro: 161 ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 17/X/1993.

Nº Registro: 213ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 13 Fecha de Aislamiento: 12/X/1994.

Descripción: Micelio pardo, pardo-oscuro. Micelio aéreo blanco, abundante, aunque a veces irregularmente distribuido, con algunos tonos rosáceos a crema-parduzco hacia los bordes. En algunas cepas (108ED y 213ED) tanto el micelio basal como el aéreo adquieren coloraciones pardorrojizas más oscuras que el resto de cepas. Margen irregular, lobulado, pardo a crema, crema-amarillento. Reverso pardo a pardo-claro. Algunas colonias exudan pigmentos de color amarillento al medio. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 3 a 5,2 cm. Hifas hialinas, en ocasiones ligeramente parduzcas, de paredes delgadas, de 1,2 a 4,4 µm de diámetro. Algunas de ellas son flexuosas. Ramificaciones simples. Se observa un engrosamiento en el extremo de algunas hifas. Sin fíbulas.

Observaciones: La coloración de nuestros cultivos coincide plenamente con la de Torres & Honrubia [3] y Torres [1], también sobre MMN, diferenciándose solamente al presentar algunas colonias un exudado de color amarillento al medio, que no mostraron los cultivos de los citados autores.

***Suillus granulatus* (L.: Fr.) Kuntze**

Nº Registro: 101ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 10 Fecha de Aislamiento: 27/IX/1991.

Nº Registro: 102ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 16/X/1992.

Nº Registro: 155ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 10. Fecha de Aislamiento: 15/X/1993.

Nº Registro: 216ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 14. Fecha de Aislamiento: 26/X/1994.

Descripción: Micelio pardo claro, pardo-anaranjado. Micelio aéreo blanco, abundante en el centro, más escaso en el resto, pero distribuido por toda la colonia. Margen regular, en algunos casos algo lobulado, de color crema. Reverso pardo, pardo claro-crema hacia el borde. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 4 a 5,7 cm de diámetro. Hifas hialinas de paredes finas, de 1 a 4 µm de diámetro. Presentan engrosamientos intercalares (hasta 10,5 µm de diámetro) Ramificaciones simples. Sin fíbulas.

Observaciones: La coloración parduzca clara, incluso en ocasiones blanquecina que mostraron nuestros micelios de *Suillus granulatus* coincide con los resultados de Miller & Miller [14], sobre medio MMN, para esta misma especie, al igual que la presencia, en las hifas, de engrosamientos intercalares de hasta 10,5 µm de diámetro. Sin embargo, otros aislamientos de esta misma especie obtenidos por Torres & Honrubia [3], también sobre MMN, presentaron una coloración pardorrojiza de los micelios diferente a la obtenida en el presente estudio.

Suillus luteus (L.: Fr.) Gray

Nº Registro: 111ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 16/X/1992.

Nº Registro: 113ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 8. Fecha de Aislamiento: 17/X/1992.

Nº Registro: 114ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 9. Fecha de Aislamiento: 17/X/1992.

Nº Registro: 159ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 17/X/1993.

Nº Registro: 164ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 7. Fecha de Aislamiento: 17/X/1993.

Nº Registro: 219ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 14. Fecha de Aislamiento: 26/X/1994.

Descripción: Micelio pardo, pardo-anaranjado, algunas veces con tonalidades rosáceas. Micelio aéreo, blanco, muy abundante, de aspecto algodonoso, distribuido por toda la colonia, sobrepasando el micelio basal. Margen irregular de color crema. Reverso pardo, pardo-amarillento en el borde. Exudado de algunos pigmentos amarillentos, amarillento-anaranjados. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 4 cm. Hifas hialinas o ligeramente pardo-amarillentas, de paredes finas, algunas flexuosas, de 1,5 a 6,5 µm de diámetro. Presentan engrosamientos intercalares de hasta 12 µm. Ramificaciones simples. Sin fíbulas.

Observaciones: Las tonalidades rosáceas que presentan nuestros cultivos, así como el micelio aéreo, blanco, muy abundante, de aspecto algodonoso, distribuido por toda la colonia, los diferencian de las descripciones en MMN de Torres & Honrubia [4] de *Suillus luteus*.

Suillus variegatus (Swartz.: Fr.) Kuntze

Nº Registro: 109ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 9. Fecha de Aislamiento: 17/X/1992.

Nº Registro: 110ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 5. Fecha de Aislamiento: 12/X/1992.

Nº Registro: 160ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 5. Fecha de Aislamiento: 17/X/1993.

Nº Registro: 220ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 9. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Descripción: Micelio pardo a pardo-anaranjado. Micelio aéreo blanco a blanco-grisáceo en el centro, donde es más abundante y de aspecto algodonoso; en el borde es más laxo blanco-grisáceo, gris-parduzco con tonos rosados. Margen irregular, lobulado, crema-anaranjado a pardo-crema. Reverso pardo, pardo claro. Exudado de pigmentos amarillentos. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 2,7 a 5,5 cm. Hifas hialinas a ligeramente pardas, de paredes delgadas, algunas flexuosas, de 1,5 a 6,4 µm de diámetro, con engrosamientos a nivel de los septos. Presenta algunas células intercalares engrosadas de hasta 11,2 µm de diámetro. Ramificaciones simples. Presencia de anastomosis. Sin fíbulas.

Observaciones: Las tonalidades rosáceas, también indicados, sobre este mismo medio de cultivo, por Torres & Honrubia [4], son las características más resaltables del micelio de esta especie, además de la presencia de anastomosis y engrosamientos de las hifas, a nivel de los septos.

Tricholoma caligatum (Viv.) Ricken

Nº Registro: 207ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Descripción: Micelio pardo, más oscuro en la parte central, con un bandeo concéntrico débil. Micelio aéreo abundante, blanco, distribuido por toda la colonia. Margen irregular, crema-blanquecino. Reverso pardo. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 2,5 cm.

Tricholoma focale (Fr.) Ricken

Nº Registro: 223ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 16. Fecha de Aislamiento: 26/X/1994.

Descripción: Micelio pardo-crema a pardo claro. Micelio aéreo muy abundante, blanquecino, dispuesto en bandas, más o menos concéntricas, distribuido por toda la colonia. Margen irregular. Reverso concoloro al micelio. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 2,5-3 cm.

Tricholoma striatum (Schaeff.) Sacc.

Nº Registro: 140ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 5. Fecha de Aislamiento: 19/X/1992.

Nº Registro: 224ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Nº Registro: 226ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 16. Fecha de Aislamiento: 11/XI/1994.

Descripción: Micelio pardo-crema a pardo-anaranjado. Micelio aéreo blanco esponjoso, muy abundante, extendido en toda la superficie de la colonia. Margen irregular parduzco. Reverso pardo claro. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 3,3 cm. Hifas hialinas de paredes delgadas, de 1,6 a 6,4 µm de diámetro, algunas de las cuales se disponen en espiral, y otras presentan el extremo capitado o en forma de maza. Ramificaciones simples. Sin fíbulas.

Xerocomus subtomentosus (L.: Fr.) Quél.

Nº Registro: 116ED. Medio de Cultivo: MMN.

Localidad de Recolección: Loc. 12. Fecha de Aislamiento: 16/IX/1992.

Descripción: Micelio pardo. Micelio aéreo muy abundante, de aspecto algodonoso, de color pardo claro, pardo-grisáceo, distribuido por toda la colonia. Margen de la colonia grisáceo, más o menos regular, con salientes formados por pequeños cordones miceliarios, que parecen proceder del micelio aéreo. Reverso pardo, más claro en los bordes. Exuda pigmentos al medio de color pardo anaranjados. El diámetro de la colonia tras cuatro semanas de crecimiento es de 3 cm. Hifas amarillentas, de hasta 10 µm de diámetro, de paredes delgadas. Aparecen algunas hifas flexuosas. Presenta numerosas células engrosadas, tanto intercalares como terminales, de 22-30 µm. Ramificaciones simples. Sin fíbulas.

Observaciones: Morfológicamente, nuestra descripción coincide con la de Hormilla [15], en medio MMN, destacando por la coloración amarilla-parduzca, y la presencia de un micelio aéreo muy abundante, de aspecto algodonoso, además de liberar pigmentos al medio, de color pardo anaranjados.

Otras especies aisladas que se perdieron por contaminación o no crecieron en los medios ensayados***Amanita gracilior*** Bas & Honrubia

Nº Registro: 1351ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 13. Fecha de Aislamiento: 2/VII/1992.

Amanita ovoidea (Bull.: Fr.) Link

Nº Registro: 135ED. Medio de Cultivo: MMN y

BAF. Loc. 12. Fecha de Aislamiento: 16/IX/1992.

Nº Registro: 1352ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 25/X/1994.

Amanita pantherina (DeCand.: Fr.) Krombholz

Nº Registro: 1353ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 2. Fecha de Aislamiento: 24/X/1994.

Clitocybe alexandrii (Gillet) Gillet

Nº Registro: 137ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 8. Fecha de Aislamiento: 17/X/1992.

Nº Registro: 163ED. Medio de Cultivo: MMN.

Loc. 6. Fecha de Aislamiento: 17/X/1993.

- Clitocybe geotropa* (Bull.: Fr.) Quel.
Nº Registro: 136ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 10. Fecha de Aislamiento: 18/X/1992.
- Cortinarius calochrous* (Pers.: Fr.) Fr.
Nº Registro: 142ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 2. Fecha de Aislamiento: 12/XI/1992.
- Cortinarius cedretorum* Maire
Nº Registro: 143ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 2. Fecha de Aislamiento: 17/X/1992.
- Cortinarius trivialis* Lange
Nº Registro: 1431ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 17. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Gautieria othii* Trog.
Nº Registro: 050ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 15. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Hydnellum ferrugineum* (Fr.: Fr.) P. Karst.
Nº Registro: 040ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 9. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Hygrophorus personii* Arnolds
Nº Registro: 030ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 4. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Hygrophorus russula* (Schaeff.: Fr.) Quel.
Nº Registro: 031ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 2. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Hygrophorus pseudodiscoideus* (Maire) Malencon & Bertault
Nº Registro: 032ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 2. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Hymenogaster remyii* Dodge & Zeller
Nº Registro: 051ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 16. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Inocybe rimosa* (Bull.: Fr.) Kummer
Nº Registro: 020ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 4. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Leccinum lepidum* (Bouchet ex Essette) Quadraccia
Nº Registro: 115ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 17. Fecha de Aislamiento: 13/XI/1992.
- Melanogaster variegatus* (Vitt.) Tul. & Tul.
Nº Registro: 051ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 2. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Russula densifolia* Gillet
Nº Registro: 1411ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 6. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Russula torulosa* Bres.
Nº Registro: 141ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 15. Fecha de Aislamiento: 21/X/1992.
- Scleroderma verrucosum* Bull.: Pers.
Nº Registro: 139ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 16/X/1992.
- Nº Registro: 150ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 16/X/1992.
- Nº Registro: 153ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 4. Fecha de Aislamiento: 16/X/1992.
- Tricholoma aurantium* (Schaeff.: Fr.) Ricken
Nº Registro: 1401ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 2. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Tricholoma orirubens* Quel.
Nº Registro: 1402ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 2. Fecha de Aislamiento: X/1992.
- Xerocomus rubellus* (Krombh.) Quel.
Nº Registro: 228ED. Medio de Cultivo: MMN.
Loc. 12. Fecha de Aislamiento: 12/X/1994.

DISCUSIÓN

Prácticamente todas las cepas del género *Suillus* puestas en cultivo, presentaron ciertos caracteres parecidos en coloración de las colonias y a nivel microscópico, donde la presencia de hifas flexuosas y algunos engrosamientos, se repitió de forma constante. En cuanto a *S. collinitus*, hemos podido apreciar algunas colonias con coloraciones más parduzcas a pardorrojizas, tanto en el micelio inmerso en el sustrato como en el aéreo, que las diferencia claramente de las colonias típicas de esta especie aisladas anteriormente. Las especies de *Rhizopogon* desarrollaron micelios morfológicamente parecidos a los de algunas especies de *Suillus*, lo que reafirma la posible conexión filogenética entre ambos géneros [17]. También mostraron buenos desarrollos las cepas de *Xerocomus subtomentosus* y *Chalciporus pierrhuguesii*. Previamente a nuestro trabajo, no hemos encontrado, en la bibliografía consultada, ninguna descripción de las colonias de *C. pierrhuguesii*.

En cuanto a los rusuláceos, todas las cepas de *Lactarius deliciosus* y *Lactarius sanguifluus*, pertenecientes a la sección Dapetes, crecieron de forma rápida y vigorosa sobre medio BAF, con micelios de coloraciones parecidas a las que presentan los carpóforos de estas especies. Por el contrario, en medio MMN su crecimiento fue muy lento. Oort [16] indica una clara separación, a nivel morfológico, entre los cultivos de *L. deliciosus* y *L. sanguifluus*. En nuestro caso, aunque se apreciaron diferencias morfológicas, esta separación no estuvo tan clara debido a que las coloraciones anaranjadas y las tonalidades verdosas fueron características comunes en varias cepas de ambas especies. Por otra parte, y al contrario que las dos especies citadas anteriormente, *L. chrysorrheus* experimentó un crecimiento óptimo en MMN, donde formó abundantes cordones miceliares.

Los aislamientos realizados a partir de especies del género *Russula*, después de desarrollar las primeras hifas detuvieron su crecimiento tras ser repicadas a medio fresco. Este género crece con dificultad o no crece sobre medios sintéticos o semisintéticos [1,18].

Por lo que respecta a los cortinariáceos, los aislamientos de *Hebeloma*, presentaron buenos crecimientos. Especies de este género, como *H. anthracophilum* Maire, *H. sarcophyllum* Peck. y más raramente *H. caliptrosporium* Bruchet y *H. fastibile* (Pers.: Fr.) Kumm. pueden llegar a fructificar en cultivo [12], lo que indica que probablemente no se trata de hongos ectomicorrízicos estrictos. Un caso muy claro de este hecho lo representa *H. spoliatum* (Fr.) Gillet, con capacidad de formar micorrizas *in vitro* [19], y fructificar en medios artificiales [12,19]. Por el contrario, de las especies del género *Cortinarius* aisladas solamente una cepa de *C. calochrous* creció en medio MMN, donde formó un micelio blanco con abundante micelio aéreo, aunque se perdió por contaminación tras dos semanas de crecimiento. Las demás cepas de este género puestas en cultivo no formaron colonias, probablemente debido a que precisan de medios nutritivos específicos [4]. Asimismo, las especies del género *Inocybe* no llegaron a crecer en los medios ensayados.

Los intentos de aislamiento en las especies de *Tricholoma* presentaron resultados diferentes. Así, las especies pertenecientes al grupo de *T. terreum* y *T. orirubens*, no experimentaron crecimientos. Sin embargo las especies del grupo *Albobrunnea*, como *T. striatum* o *T. aurantium*, esta última no descrita por posterior contaminación, o los anillados *T. caligatum* y *T. focale*, presentaron crecimientos vigorosos, aunque lentos. Tanto estas

Tabla 1. Relación de localidades prospectadas.

1	Vallivana (Castellón): Pinar de <i>Pinus halepensis</i> . UTM: 31T BE 50 92. Altitud: 685 msm.
2	Puerto del Querol (Castellón): Carrascal de <i>Quercus rotundifolia</i> . UTM: 30T YK 52 94. Altitud: 1030 msm.
3	Vallibona (Castellón): Pinar de <i>Pinus halepensis</i> . UTM: 31T BF 54 99. Altitud: 900 msm
4	Los Carrascales (Castellón): Pinar de <i>Pinus nigra</i> mezclado con carrascal de <i>Quercus rotundifolia</i> . UTM: 30T YK 43 90. Altitud: 1023 msm.
5	Monte Pereroles (Castellón): Pinar de <i>Pinus nigra</i> y <i>Pinus sylvestris</i> . UTM: 30T YL 48 09. Altitud: 1100 msm.
6	Herbeset (Castellón): Pinar de <i>Pinus nigra</i> . UTM: 30T YL 53 05. Altitud: 1180 msm.
7	Bojar (Castellón): Pinar mixto de <i>Pinus sylvestris</i> y <i>Pinus nigra</i> . UTM: 31T BF 53 04. Altitud: 1220 msm.
8	Colonia Europea (Castellón): Pinar de <i>Pinus sylvestris</i> . UTM: 31T BF 61 08. Altitud: 1000 msm.
9	Beceite alto (Tarragona): Pinar de <i>Pinus sylvestris</i> . UTM: 31T BF 62 13. Altitud: 1240 msm.
10	Beceite medio (Teruel): Pinar de <i>Pinus nigra</i> . UTM: 31T BF 61 16. Altitud: 1100 msm.
11	Beceite bajo (Teruel): Pinar de <i>Pinus halepensis</i> . UTM: 31T BF 61 18. Altitud: 840 msm.
12	Los Bertolines (Teruel): Pinar de <i>Pinus halepensis</i> . UTM: 30T YL 33 32. Altitud: 560 msm.
13	Foz Calanda (Teruel): Pinar de <i>Pinus halepensis</i> . UTM: 30T YL 31 33. Altitud: 580 msm.
14	Cuarto Pelado (Teruel): Pinar de <i>Pinus sylvestris</i> . UTM: 30T YK 12 91. Altitud: 1612 msm.
15	Villarroya (Teruel): Pinar de <i>Pinus sylvestris</i> . UTM: YK 885 025. Altitud: 1620 msm.
16	Gúdar (Teruel): Pinar de <i>Pinus sylvestris</i> . UTM: 30T XK 66 95. Altitud: 1630 msm.
17	Mora de Rubielos (Teruel): Carrascal de <i>Quercus rotundifolia</i> mezclado con pinar de <i>Pinus pinaster</i> . UTM: 30T 63 92. Altitud: 1160 msm.

dos últimas, como *T. striatum* presentaron micelios con características morfológicas parecidas, con coloraciones predominantemente blancas y crema, y gran cantidad de micelio aéreo. Estos caracteres se corresponden con los descritos por Torres [1] para *T. batschii* Gro Gulden y *Tricholoma* sp., y por Hormilla [15] para *T. acerbum* (Buller: Fr.) Qué. y *T. sejunctum* (Sow.: Fr.) Qué. Como ocurría con los cultivos de *Chalciporus pierrhuguesii*, no hemos encontrado, en la bibliografía consultada, descripciones de los micelios de las especies de *Tricholoma* ensayadas en este trabajo.

Otras especies de tricolomatáceos aisladas, y que destacan por su vigorosidad y rapidez de crecimiento, son las distintas cepas de *Lepista nuda* y *Leucopaxillus gentianeus*. Cabe destacar que tanto estas dos especies como *Lycoperdon perlatum* y *Paxillus atrotomentosus*, no son especies ectomicorrícicas, aunque fueron aisladas debido a su abundante fructificación en la zona de estudio.

Es de destacar, que ninguna de las especies de *Hygrophorus* puestas en cultivo desarrolló crecimiento alguno en los medios utilizados.

Con respecto al género *Amanita*, se consiguieron aislar distintas cepas de *A. citrina*, *A. gracilior*, *A. pantherina* y *A. ovoidea*. Únicamente *A. ovoidea* creció de forma lenta a partir del tejido original en MMN, formando un micelio de color blanco, similar a la descripción de Torres [1] para esta especie, aunque se perdió por contaminación después de tres semanas de crecimiento.

Se pusieron en cultivo distintas especies de hongos hipogeos y semihipogeo, como *Gautieria othii*, *Hymenogasterb remyi* o *Melanogaster variegatus*, que no experimentaron ningún desarrollo en los medios ensayados. *Scleroderma verrucosum* presentó un crecimiento muy lento, con abundantes exudados amarillentos al medio, pero a causa de distintas contaminaciones se perdieron las colonias a las dos semanas de su aislamiento.

Todos los micelios obtenidos de *Rhizopogon roseolus* presentaron coloraciones pardorrojizas a pardo-granates y características microscópicas muy parecidas, tanto en pigmentación de las hifas, como en presencia de engrosamientos, ausencia de fíbulas, etc.

A modo de conclusión, se puede apreciar la existencia, en alguno de los hongos cultivados como *Suillus collinitus* o *Lactarius deliciosus*, de una variabilidad intraespecífica, que posiblemente corresponda con la expresión de una variabilidad genética dentro de la misma especie. Asimismo, pensamos que la diversidad de características miceliales que presentan las especies aisladas puede constituir una herramienta taxonómica importante como complemento a los caracteres tradicionalmente considerados en taxonomía de hongos, como son la macro- y microscopía de los carpóforos.

Más trabajos de este tipo son necesarios para caracterizar culturalmente el banco de inóculo de las diferentes especies de hongos ectomicorrícicos.

Bibliografía

1. Torres P. Estudio de las micorrizas del pino carrasco (*Pinus halepensis* Miller). Tesis doctoral (inéd.). Murcia 1992.
2. Torres P, Honrubia M. Ectomycorrhizal fungi on *Pinus halepensis* from south-eastern Spain. Abstracts 2 nd European Symposium on Mycorrhizae, August 14-20, 1988, Prague, Czechoslovakia 1989: 106-107.
3. Torres P, Honrubia M. Dinámica de crecimiento y caracterización de algunos hongos ectomicorrícicos en cultivo. *Cryptogamie (Mycologie)* 1991; 12: 183-192.
4. Torres P, Honrubia M. Descripción de algunos hongos ectomicorrícicos en cultivo. *Bol Soc Micol Madrid* 1993; 18: 163-170.
5. Mikola P. Applications of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. En: Mars CG, Kozlowski TT (Eds.) *Ectomycorrhizae: their ecology and physiology*. Academic Press. New York 1973: 383-411.
6. Trappe JM. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Annual Rev Phytopathol* 1977; 15: 203-222.
7. Molina R, Palmer JG. Isolation, maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. En: N. C. Schenck (Ed.). *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. Schenk, University of Florida 1982: 115-129.
8. Marx DH. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infection. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* 1969; 59: 153-163.
9. Moser M. Die Gattung *Phlemacium*. Die Pilze Mitteleuropa's 4. J. Hlinkhardt. Bad. Heilbrunn 1960.
10. Honrubia M, Torres P, Díaz G, Cano A. Manual para micorrizar plantas en viveros forestales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. ICONA. Proyecto LUCDEME VIII. Monografías 54, 1992.
11. Hutchison LJ. Absence of conidia as a morphological character in ectomycorrhizal fungi. *Mycologia* 1989; 81: 587-594.
12. Bruchet G. Contribution à l'étude du genre *Hebeloma*. Essai taxonomique et écologique. Tesis doctoral (inéd.). Lyon, 1970.
13. Nobles MK. Studies in forest pathology. VI. Identification of cultures of wood-rotting fungi. *Can J Res, Sect C, Bot Sc* 1948; 26: 286-431.
14. Miller OK, Miller SL. Description and identification of selected mycorrhizal fungi in pure culture. *Mycotaxon* 1983; 18: 457-481.
15. Hormilla S. Estudio de la simbiosis ectomicorrícica en *Quercus robur* L. y valoración de su influencia en la fisiología de la planta. Tesis Doctoral (inéd.). Bilbao, 1995.
16. Oort AJP. Nutritional requirements of *Lactarius* species, and cultural characters in relation to taxonomy. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, Oxford, New York, 1981.
17. Singer R. The Agaricales in the modern taxonomy. 4th ed. Vaduz, J. Cramer, 1986.
18. Dighton J. Ecology and management of ectomycorrhizal fungi in the UK. En: Sylvia DM, Hung LL, Graham JM (Eds.). *Mycorrhizae in the next decade: practical applications and research priorities*. 7th NACOM. Inst of Food and Agric Sci, Univ of Florida, Gainesville, 1987; 75-78.
19. Giltrap N J. *Hebeloma* spp. as mycorrhizal associates of birch. *Trans Brit Mycol Soc* 1982; 79: 157-160.