

# Comprobación del tipo de pudrición y selectividad de sustrato de 15 hongos poliporoides xilófagos de Los Tuxtlas, Veracruz, México

*Luis Manuel Pinzón-Picaseño  
María Elena Ruiz Rodríguez*

*Laboratorio de Biodeterioro y Preservación de Productos Forestales, Instituto de Biología, UNAM.,  
Apartado Postal 70-233, Coyoacán, México, D.F. 04510*

## Rot-type verification tests and substrate selectivity of 15 polypore wood-decaying fungi from Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico

**Abstract.** This paper is part of a wider work on tropical wood-decaying fungi from Los Tuxtlas Tropical Biology Reserve in Veracruz, Mexico. Malt agar-sawdust-guaiacol and Badcock's sawdust methods were used to assay isolates obtained from basidiomata collected on angiosperm wood substrates. In the first method 14 fungi gave positive with-rot reaction. In the second one, 7 fungi grew and showed white-rot reaction on pine sawdust, and the remainder 8 had growth problems on it but grew densely and yielded white-rot reaction on sweetgum sawdust. Previous and present results suggest that a substrate selectivity trait might be involved in some strains. Rot-type importance in taxonomy, phylogeny and biogeography are discussed.

**Keywords:** wood-decaying fungi, rot-type tests, tropical polypores.

**Resumen.** Este trabajo es parte de una serie de contribuciones sobre hongos xilófagos tropicales de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Se confirmó experimentalmente el tipo de pudrición que causan 15 aislamientos, obtenidos de basidiomas recolectados sobre sustrato leñoso, según dos métodos: aserrín-guayacol y aserrín de Badcock. Con el primero 14 hongos dieron reacción positiva de pudrición blanca. En el segundo método con aserrín de pino solamente 7 hongos crecieron y dieron reacción típica de pudrición blanca, pero los otros 8 hongos presentaron problemas de crecimiento en este sustrato, mientras que en aserrín de liquidámbar crecieron densamente y dieron reacción positiva. Datos de resultados anteriores y actuales parecen indicar que parece presentarse un carácter de selectividad hacia el sustrato en algunos aislamientos individuales. La importancia del tipo de pudrición que causan los hongos en taxonomía, filogenia y biogeografía es discutida.

**Palabras clave:** hongos xilófagos, tipo de pudrición, poliporoides tropicales.

Received November 25 2003; Accepted April 30 2004.

Recibido 25 de noviembre 2003; aceptado 30 de abril 2004.

## Introducción

Los Basidiomicetes xilófagos son los principales causantes de la pudrición de la madera. Los hongos de la pudrición

*Autor para correspondencia: Luis Manuel Pinzón-Picaseño  
lpinzon@mail.ibiologia.unam.mx*

morena degradan rápidamente la madera debido a que metabolizan activamente la holocelulosa del complejo lignocelulósico que constituye las paredes celulares del tejido leñoso, oscurecen la madera y la vuelven fibrosa, o más frecuentemente, la fracturan en forma de cubos con aspecto carbonizado, tornándola quebradiza, ya sea en zonas extensas

o aisladas. Los hongos de la pudrición blanca degradan lentamente la madera, aunque de manera más drástica, debido a que pueden metabolizar tanto la holocelulosa como la lignina, decoloran el sustrato y reducen su peso, transformándolo en un residuo fibroso fácilmente desmenuzable, aunque en estadios intermedios el sustrato puede tener un aspecto esponjoso o alveolar [14, 30].

Determinar el tipo de pudrición que causa un hongo, además de revelar un rasgo propio de la especie, aporta conocimiento acerca de su metabolismo y otros aspectos biológicos. Si bien es cierto que las características de la madera pueden servir para determinar el tipo de pudrición que causa un hongo en el campo, éste no tiene suficiente rigor científico debido a que diversos factores pueden alterar la apariencia de la madera. En consecuencia, la manera más confiable de comprobar el tipo de pudrición que causa un hongo es por medio de pruebas fisiológicas de laboratorio [25]. Así, de hongos xilófagos de Los Tuxtlas, se han publicado resultados de este tipo de ensayos que, a la fecha, comprenden 16 especies [19, 20, 21, 22].

Otra característica importante de los hongos xilófagos es su capacidad para aprovechar diferentes tipos de sustrato. La clasificación básica consiste en si pueden desarrollarse en la madera de Gimnospermas y de Angiospermas, o sólo en una de ellas [24]; y dentro de cada grupo, la diversidad de géneros y especies que pueden utilizar como sustratos u hospedantes [25].

La presente contribución es parte de un estudio comparativo de la estructura del basidioma con los caracteres culturales del micelio de algunos hongos poliporoides xilófagos de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Como primera fase, el objetivo particular de este artículo consiste en dar a conocer los resultados correspondientes a la comprobación experimental del tipo de pudrición que causan los aislamientos obtenidos de los ejemplares recolectados y sobre indicios de selectividad hacia

el sustrato observados in vitro, así como discutir la importancia que estos caracteres poseen. Aunque ya se han realizado ensayos similares con otros aislamientos de *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. [21], y *Hexagonia tenuis* (Hook.) Fr. y *Pycnoporus sanguineus* (L.: Fr.) Murr. [19], estas especies quedaron incluidas aquí para realizar todas las fases del estudio integrado empleando los mismos especímenes y aislamientos.

## Materiales y métodos

### Área de estudio

La Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, está ubicada en la vertiente del Golfo de México al sureste del estado de Veracruz, casi al centro de la región denominada Los Tuxtlas. Datos de su localización exacta y descripciones tanto de su entorno físico como biótico se encuentran recopilados en un extenso volumen [11].

### Material estudiado

Los ejemplares se recolectaron junto con una muestra del sustrato de crecimiento. Después del aislamiento, los hongos se secaron a 65°C durante 48-72 h. Posteriormente, se hicieron cortes longitudinales y transversales delgados de himenóforo y contexto del píleo, también del estípite cuando el hongo lo presentaba; adicionalmente se realizaron macerados de dichas estructuras. Las preparaciones se montaron en fresco con KOH o solución de Melzer, para observar tipos de hifas y estructuras himeniales. Para su descripción y determinación se utilizó literatura especializada [9, 10, 26, 27]. El material está depositado en la Colección de Hongos Xilófagos del mismo laboratorio. En la tabla 1 se presenta la lista de las especies estudiadas.

### Obtención de los aislamientos

De los basidiomas recién recolectados, el mismo día antes del

Tabla 1. Lista de especies, sitios de muestreo y especímenes de hongos poliporoides xilófagos recolectados en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz, de los cuales fueron obtenidos los aislamientos estudiados en este trabajo.

#### Ganodermataceae

*Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. Potrero, camino del poblado Laguna Escondida al ejido Lázaro Cárdenas, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1108 (31-Jul-1997).  
*Ganoderma lucidum* (W. Curt: Fr.) Karst. Orilla E de la Laguna Azul, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1103 (30-Jul-1997).  
*Humphreya coffeatum* (Berk.) Steyaert. Cerro El Vigía, Circuito 1, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1120 (1-Ags-1997).

#### Hymenochaetaceae

*Phellinus gilvus* (Schw.) Pat. Ladera del Potrero Rubén Sánchez hacia la Laguna Azul, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1100 (29-Jul-1997).

#### Polyporaceae

*Antrodia liebmanii* (Fr.) Ryv. Camino del poblado Laguna Escondida al ejido Lázaro Cárdenas (ver mapa), L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1110 (31-Jul-1997).  
*Coriopsis polyzona* (Pers.) Ryv. Potrero Tomás Sinaca, camino del poblado Laguna Escondida al ejido Lázaro Cárdenas (ver mapa), L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1065 (20-Ene-97).  
*Earliella scabrosa* (Pers.) Gilbn. & Ryv. Cerro El Vigía, vereda 4, L. Pinzón y M. Ruiz #LT-1062 (19-Ene-97).  
*Fomes fasciatus* (Sw.: Fr.) Cke. Cerro El Vigía, vereda 4, huerto en la orilla E de la Laguna Azul L. Pinzón y M. Ruiz #LT-1104 (30-Jul-97).  
*Hexagonia tenuis* (Hook.) Fr. Cerro El Vigía, pendiente pronunciada entre las veredas Vigía 1 y Circuito 2, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1081 (21-Ene-1997).  
*Polyporus tricholoma* Mont. Potrero colindante al N de la Estación, en el lado izquierdo del camino hacia la población de Laguna Escondida, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1083 (22-Ene-1997).  
*Pycnoporus sanguineus* (L.: Fr.) Murr. Potrero colindante al N de la Estación, lado izquierdo del camino al poblado Laguna Escondida, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1084 (22-Ene-1997).  
*Rigidoporus microporus* (Fr.) Overeem. Camino del poblado Laguna Escondida hacia la Laguna Azul, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1107 (30-Jul-1997).  
*Trametes elegans* (Spreng.: Fr.) Fr. Potrero colindante al N de la Estación, borde izquierdo del camino hacia el poblado de Laguna Escondida, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1088 (22-Ene-1997).  
*Trametes maxima* (Mont.) David & Rajch. Potrero colindante al N de la Estación, lado izquierdo del camino al poblado Laguna Escondida, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1092 (23-Ene-1997).  
*Trichaptum biforme* (Fr. in Kl.) Ryv. Camino del poblado Laguna Escondida al ejido Lázaro Cárdenas, L. Pinzón y M.E. Ruiz #LT-1115 (31-Jul-1997).

secado, se extrajeron pequeños fragmentos del contexto, con instrumental asepticado en alcohol 96° y cerca de la flama de lámparas de alcohol; los fragmentos se colocaron en los medios de cultivo recomendados por Levy [13] y Pinzón-Picaseño *et al.* [20], AEMB: 20 g de extracto de malta, 15 g de agar bacteriológico, 0.008 g de Benlate, 0.05 g de fenol y 1000

ml de agua destilada y AEMIB: 25 g de extracto de malta, 15 g de agar bacteriológico, 0.1 g de tiocianato de amonio, 0.003 g de nitrato de sodio, 1 g de sulfato de estreptomycin y 1000 ml de agua destilada. Los medios se esterilizaron en autoclave a 121°C y 103.4 kPa, durante 20 min., se dejaron enfriar y posteriormente, se les añadieron los biocidas, después se

vertieron a frascos de vidrio tipo pastillero estériles. En el laboratorio, en condiciones de asepsia, se realizaron resiembras sucesivas en dichos medios hasta lograr cultivos puros. Finalmente, los micelios obtenidos se transfirieron a agar con extracto de malta (AEM). Las cepas se conservan en el Cepario de Hongos Xilófagos del Laboratorio de Biodeterioro y Preservación de Productos Forestales del Instituto de Biología, UNAM.

#### Pruebas de laboratorio

Se utilizaron dos métodos sencillos, económicos y confiables para asegurar la certeza de los resultados, el método del aserrín-guayacol, propuesto por Ruiz y Pinzón-Picaseño [25] y dos variantes del método de Badcock, desarrollado a partir de un medio de cultivo a base de aserrín [1, 25], este último recomendado también por otros autores [4, 12]. Se emplearon dos hongos como controles, uno de pudrición morena (*Fomitopsis pinicola* FPRL-98) y otro de pudrición blanca (*Trametes versicolor* FPRL-28A), procedentes de la Colección de Cultivos de Macromicetes Pudridores de la Madera del Forest Products Research Laboratory, Princes Risborough, Reino Unido. El aserrín para los medios de cultivo se obtuvo de piezas de madera de pino (*Pinus* sp.) y liquidámbar (*Liquidambar macrophylla* Oerst.) sin tratamiento químico, adquiridas en una maderería comercial de México, D.F. La primera de procedencia desconocida, la segunda originaria del estado de Veracruz. En ambos casos se confirmó la identificación con base en caracteres macroscópicos y anatomía de la madera a nivel de lupa de 10 y se conservan muestras para referencia. Las descripciones de las reacciones se expresan en términos de color comunes sin recurrir a claves normalizadas.

#### Método del aserrín-guayacol

En esta prueba se utilizaron 14 de las cepas aisladas, los hongos control para cada tipo de pudrición y testigos con

medio de cultivo sin inocular. Se prepararon tres repeticiones por cada variable. No fue incluida *Earliella scabrosa* debido a que las fases de purificación e incubación preliminar no estuvieron sincronizadas con la programación de las pruebas. Los hongos se cultivaron en el medio de cultivo siguiente: 20 g de extracto de malta, 15 g de agar bacteriológico, 4 g de aserrín fino de pino (tamizado en malla de 0.42 mm) y 1000 ml de agua destilada. El medio se esterilizó en autoclave a 121°C y 103.4 kPa, durante 20 min., posteriormente se vertió en cajas de Petri estériles. Las cajas se sembraron en el centro con inóculos de cultivos previamente desarrollados por dos semanas en AEM, utilizando discos de 9 mm de diámetro, obtenidos con sacabocados redondos esterilizados. Posteriormente se incubaron en cámara húmeda a 26°C y oscuridad, durante dos semanas. Cumplido el plazo, se adicionaron 2 gotas de guayacol en cada cultivo, una gota a cada lado del inóculo aproximadamente a la mitad radial de la colonia. Los resultados fueron obtenidos generalmente en 30 a 60 min. La producción de una reacción de tinción violada-morada a café ambarina fue considerada positiva de pudrición blanca (+) y la falta de reacción como indicadora de pudrición morena ().

#### Método de Badcock con aserrín de pino

Para este método se emplearon los mismos aislamientos que en la prueba anterior, con la adición de *Earliella scabrosa*, y las especies control de pudrición morena y blanca. Se prepararon dos repeticiones por cada hongo más dos tubos testigo sin inocular. El método se basa en el medio de cultivo siguiente: 1000 g de aserrín de pino (tamizado en malla de 2 mm), 30 g de harina de maíz, 20 g de harina de hueso y 2500 ml de agua destilada. El medio se colocó en tubos de cultivo de 25 x 200 mm, con tapones de algodón, los cuales se esterilizaron en autoclave a 121°C y 103.4 kPa, durante 1 h. Los cultivos se sembraron con bloques de 1 cm<sup>2</sup> del micelio previamente desarrollado en AEM por dos semanas, usando

sacabocados cuadrados esterilizados. Los tubos fueron incubados a 26°C en cámara húmeda y oscuridad durante 8 semanas. En esta prueba, la reacción de pudrición blanca (+) se distinguió por la aparición de una franja de aserrín que se oscurecía hacia tonalidades café rojizas; ésta podía ser angosta e intensa, desplazándose con la zona de avance del micelio, o bien, tenue y extendida a más de la mitad del aserrín colonizado; en ambos casos, la franja era seguida, a veces, por una decoloración amarillenta o ambarina en las zonas colonizadas durante más tiempo. La reacción de pudrición morena () se caracterizó por una decoloración progresiva del aserrín hacia tonalidades amarillentas, conforme el medio iba siendo colonizado por las hifas. Para evitar errores de interpretación, se siguió el desarrollo con observaciones semanales y se comparó cada hongo de prueba contra los cultivos control y testigos. La interpretación se basó en la totalidad de las lecturas y no sólo en la de la octava semana.

#### Método de Badcock con aserrín de liquidámbar

Esta prueba consistió en utilizar aserrín de liquidámbar en lugar del de pino, procesado de la misma manera, para probar si los 8 aislamientos que no crecieron en una madera representativa de las Gimnospermas, podían hacerlo en madera de Angiospermas. Los hongos control de cada tipo de pudrición, testigos, repeticiones, siembra y condiciones de incubación fueron similares a los de la prueba anterior; sólo el tiempo de incubación fue menor, 6 semanas. El aserrín de liquidámbar quedó oscurecido hasta un color moreno negruzco después de la esterilización en autoclave, de tal manera que la reacción de pudrición blanca (+) se caracterizó por un aclaramiento del sustrato a tonalidades cafés menos oscuras, con zonas rojizas y algunas veces amarillentas; y la reacción de pudrición morena (-) por no presentar aclaramiento sino mayor oscurecimiento del aserrín colonizado por el micelio. En esta prueba la interpretación se basó también en todas las lecturas semanales.

## Resultados

#### Método del aserrín-guayacol

Todos los hongos sometidos a esta prueba presentaron reacciones de pudrición blanca (+) y el único caso de pudrición morena (-) correspondió al hongo control. Los resultados obtenidos con este método están resumidos en la tabla 2. La figura 1 muestra el aspecto de las reacciones producidas por cada hongo. De izquierda a derecha se ubican las tres repeticiones en anverso, reverso y anverso, en las que se distingue claramente la difusión de las reacciones de color a partir de las gotas aplicadas del reactivo. Las reacciones en las repeticiones de cada aislamiento fueron uniformes, mientras que las observadas entre las distintas especies exhibieron relativamente mayor o menor intensidad. La mayoría de los hongos presentaron la reacción en 30 a 60 min., después de la aplicación del reactivo, sólo *Ganoderma lucidum* y *Trichaptum biforme* la presentaron hasta 24 h después.

#### Método de Badcock con aserrín de pino

De 15 hongos ensayados, sólo 7 dieron una reacción de pudrición blanca (+) con este método. La tabla 2 contiene un resumen de los resultados obtenidos, y la figura 2 muestra el aspecto de los cultivos a las 8 semanas de incubación. *Antrodiella liebmannii* sólo fue viable en uno de los tubos, en el cual, a partir de la cuarta semana de incubación se empezó a notar la reacción de pudrición blanca. *Coriolopsis polyzona* en la tercera semana de incubación presentó un leve oscurecimiento rojizo del aserrín; a las seis semanas se observaban además pequeñas masas amarillentas de aserrín adherido con micelio; al final, el oscurecimiento rojizo del aserrín fue parecido al del hongo control de pudrición blanca. *Ganoderma applanatum* cubrió casi la mitad del tubo a la

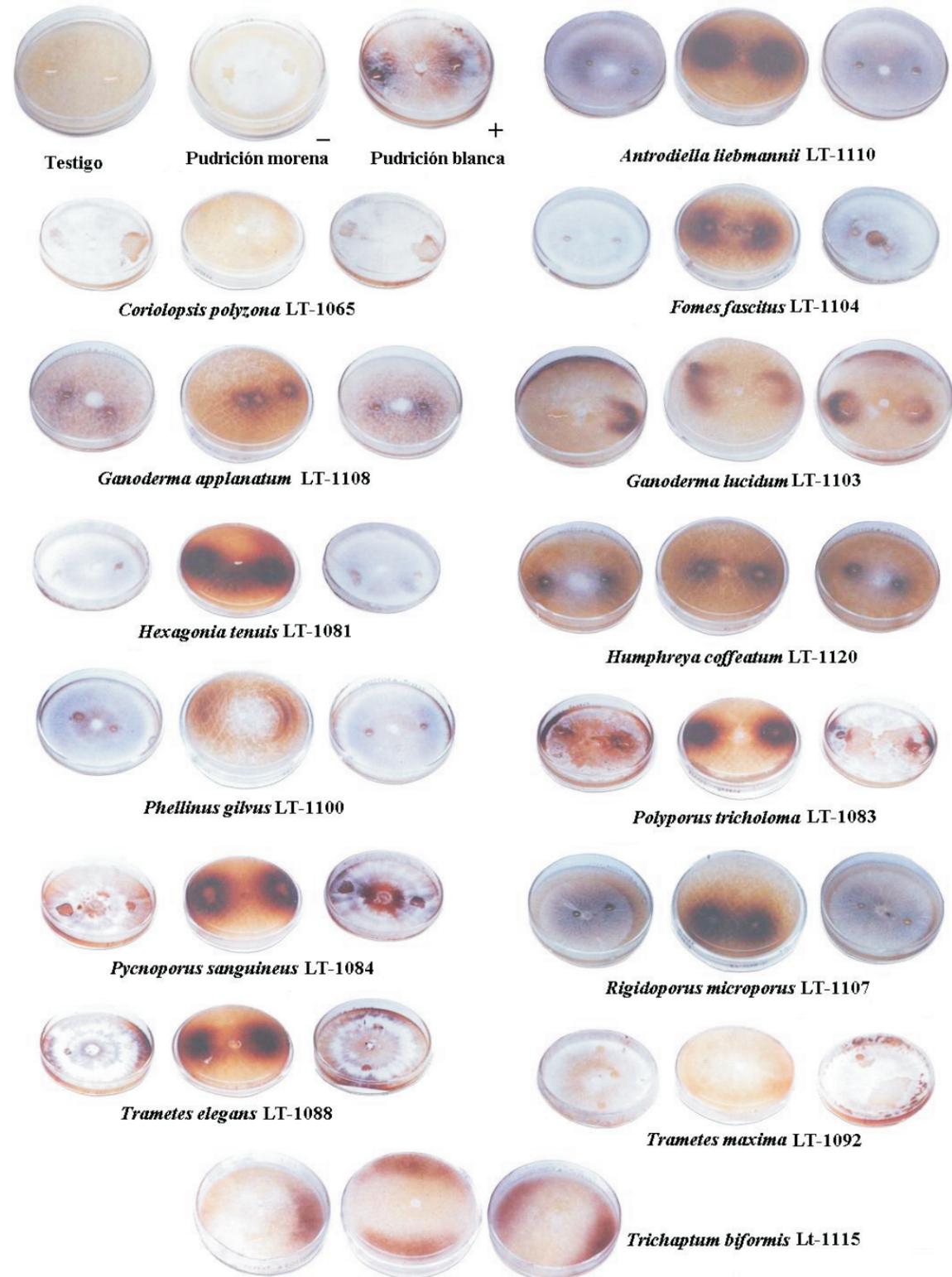


Figura 1. Método del aserrín-guayacol. Reacciones de coloración morada-violada a café ambarina indicado pudrición blanca (+) con la adición de dos gotas de guayacol en los cultivos. Tres repeticiones mostradas en anverso, reverso y anverso.

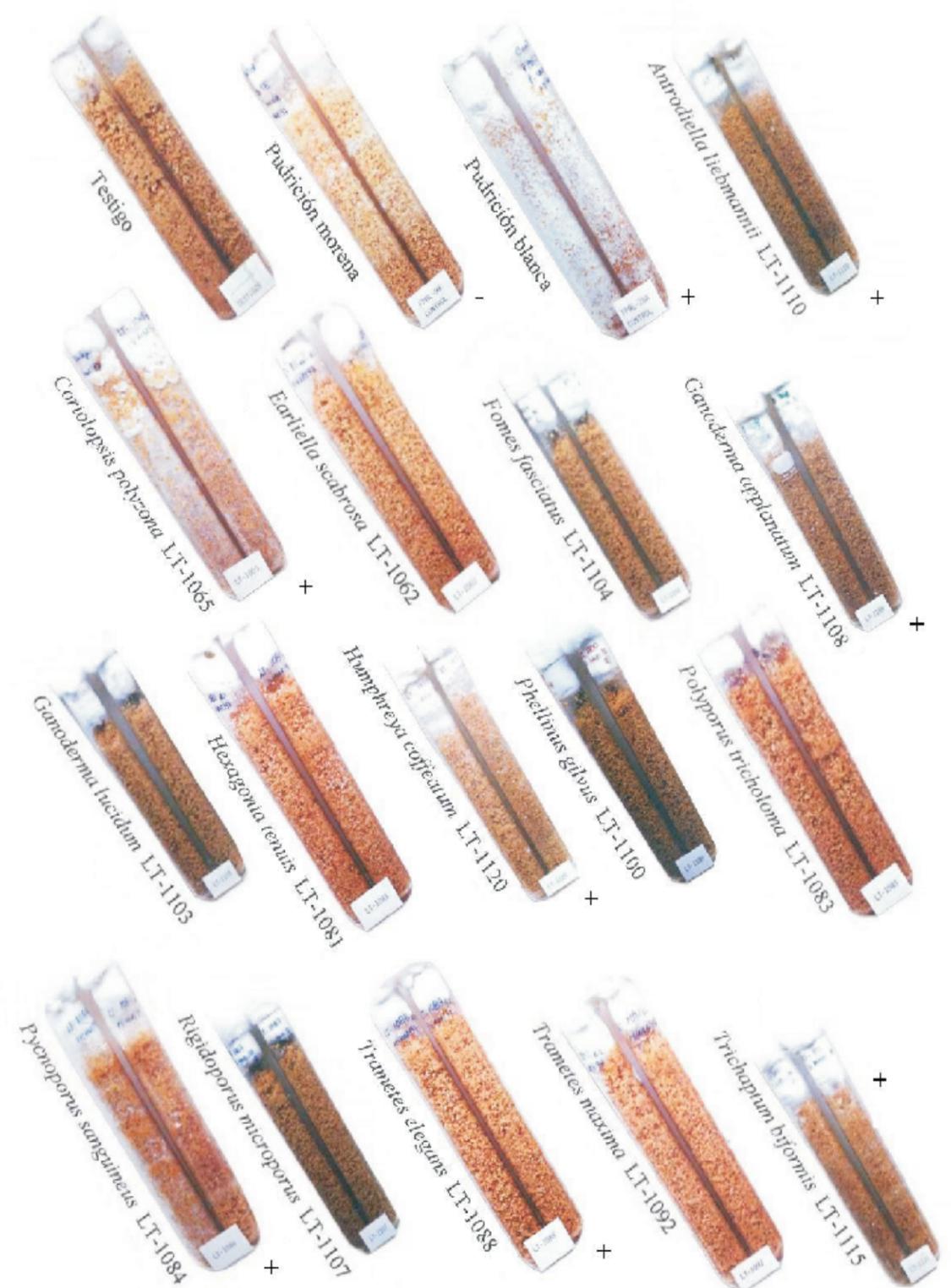


Figura 2. Método de Badcock con aserrín de pino. Cultivos a las 8 semanas de incubación. La pudrición blanca (1) se distinguió por la formación de una franja oscura café rojizo y luego aclaramiento del sustrato, la pudrición morena (-) por decoloración progresiva.

tercera semana, desde entonces se observó una zona de oscurecimiento café-rojiza que se desplazaba hacia el fondo de los tubos y fue más notoria a la terminación de la prueba, reacción considerada de pudrición blanca. *Humphreya coffeatum* en la cuarta lectura cubría tres cuartas partes del medio y presentaba ya reacción positiva, a la octava semana el oscurecimiento era más notorio en el tercio inferior de los tubos. *Pycnoporus sanguineus* desde la tercera semana de incubación formó zonas con una reacción oscura rojiza-amarillenta en el aserrín; hacia las ocho semanas de incubación, el medio de cultivo no estaba cubierto totalmente por el micelio, al borde de avance de éste le seguía una banda de aserrín oscurecido, luego, una zona de aserrín decolorado. *Trametes elegans* cubría todo el tubo en una de las repeticiones, mientras que en la otra apenas abarcaba la mitad, en la tercera observación; en ambos casos produjo franjas con ligeras reacciones oscuro-rojizas en el aserrín, que se desplazaban a partir del inóculo, y una zona aclarada que

quedaba atrás. *Trichaptum biforme* indujo en el sustrato un oscurecimiento café con zonas amarillentas en la parte media del tubo a partir de la tercera semana de incubación, la cual continuó su desplazamiento hasta el tercio inferior del tubo al finalizar la prueba. *Earliella scabrosa* inició de manera aparentemente normal su crecimiento en el medio, pero hacia las 3 semanas de incubación en los dos tubos se observó inhibición del desarrollo y se detectaron contaminaciones por un moho verdoso en el tapón de algodón y el aserrín cercano. Los hongos *Fomes fasciatus*, *Ganoderma lucidum*, *Phellinus gilvus* y *Rigidoporus microporus* no mostraron indicios de crecimiento durante las primeras 5 semanas de incubación y de la sexta a la octava semana se evidenciaron contaminaciones en el agar expuesto de los bloques de inóculo. *Hexagonia tenuis*, *Polyporus tricholoma* y *Trametes maxima* tampoco crecieron en este aserrín, aunque no se detectaron contaminaciones durante todo el periodo de incubación (tabla 2).

Tabla 2. Resultados obtenidos con los tres métodos para comprobar tipo de pudrición que causan aislamientos de hongos xilófagos de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, dos hongos de procedencia extranjera como controles y testigos sin inocular.

NOMBRE DEL HONGO Y NÚMERO DE CEPA	ASERRÍN-GUAYACOL	BADCOCK-PINO	BADCOCK-LIQUIDÁMBAR
<i>Antrodiella liebmannii</i> LT-1110	+ + +	0 +	N E
<i>Coriopsis polyzona</i> LT-1065	+ + +	+ +	N E
<i>Earliella scabrosa</i> LT-1062	N E	0 0	+ +
<i>Fomes fasciatus</i> LT-1104	+ + +	0 0	+ +
<i>Ganoderma applanatum</i> LT-1108	+ + +	+ +	N E
<i>Ganoderma lucidum</i> LT-1103	+ + +	0 0	+ +
<i>Hexagonia tenuis</i> LT-1081	+ + +	0 0	+ +
<i>Humphreya coffeatum</i> LT-1120	+ + +	+ +	N E
<i>Phellinus gilvus</i> LT-1100	+ + +	0 0	+ +
<i>Polyporus tricholoma</i> LT-1083	+ + +	0 0	+ +
<i>Pycnoporus sanguineus</i> LT-1084	+ + +	+ +	N E
<i>Rigidoporus microporus</i> LT-1107	+ + +	0 0	+ +
<i>Trametes elegans</i> LT-1088	+ + +	+ +	N E
<i>Trametes maxima</i> LT-1092	+ + +	0 0	+ +
<i>Trichaptum biforme</i> LT-1115	+ + +	+ +	+ +
Control: <i>T. versicolor</i> FPRL-28a	+ + +	+ +	+ +
Control: <i>F. pinicola</i> FPRL-98	- - -	- -	- -
Testigos sin inocular	S C	S C	S C

(+)= Reacción de pudrición blanca; ( )= Ausencia de reacción o pudrición morena; (0)= Crecimiento inhibido; (S C)= Sin cambio; (N E)= No ensayada.

#### Método de Badcock con aserrín de liquidámbar

Los 8 aislamientos cultivados en este aserrín crecieron densamente y produjeron reacción de pudrición blanca (+). En la tabla 2 se presenta la interpretación de las reacciones observadas y la figura 3 muestra la apariencia de los cultivos a las 6 semanas de incubación. *Earliella scabrosa*, *Fomes fasciatus*, *Ganoderma lucidum* y *Polyporus tricholoma* causaron decoloración del aserrín tornándolo café-rojizo a casi amarillento en algunas zonas, a partir de la tercera semana de incubación. *Hexagonia tenuis* indujo la formación de franjas rojizas en la zona de avance del micelio seguidas por desteñimiento, desde la segunda semana de incubación y, posteriormente, la reacción fue similar a las anteriores. *Phellinus gilvus* creció tan densamente que dificultó la observación, sin embargo, aclaró el sustrato de manera parecida a la de los otros hongos y fue notable la presencia de líneas zonales, típicas de pudrición blanca, en el medio cercano al inóculo. *Rigidoporus microporus* presentó el crecimiento menos denso entre los hongos de esta prueba; no obstante, también causó una reacción evidente, disminuyendo el color a tonos más cafés amarillentos que rojizos. *Trametes máxima* causó la decoloración más intensa, pues el aserrín presentó los matices más claros de café con zonas rojizas.

En suma, con las tres pruebas realizadas se confirmó experimentalmente que los 15 hongos ensayados son causantes de pudrición blanca.

#### Discusión

##### Nuevos registros

De las especies estudiadas, cuatro no están incluidas en la lista de los macromicetes de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas [7], por lo que son nuevos registros: *Antrodiella liebmannii* (Fr.) Ryv., *Fomes fasciatus* (Sw.: Fr.) Cke.,

*Humphreya coffeatum* (Berk.) Steyaert y *Rigidoporus microporus* (Fr.) Overeem. Así, el presente trabajo también es una contribución al inventario micobiótico de la localidad.

#### Comparación de las tres pruebas

El método del aserrín-guayacol demostró ser confiable, ya que las reacciones de pudrición blanca fueron muy evidentes y el hongo que sirvió de control para pudrición morena no la produjo en absoluto; además, los resultados fueron coherentes en todos los aislamientos ensayados. Con el método de Badcock, en aserrín de pino las reacciones fueron difíciles de observar e interpretar y solamente en 7 de los 15 hongos se obtuvieron reacciones positivas, mientras que en los demás se presentaron problemas de crecimiento. En aserrín de liquidámbar, las características de cada tipo de pudrición fueron ligeramente diferentes a las observadas en el de pino, pero más fáciles de distinguir; los resultados fueron consistentes y los 8 hongos ensayados crecieron vigorosamente en menos tiempo (6 semanas). En conclusión, de las tres pruebas aplicadas la más confiable, sencilla y fácil de interpretar fue la del aserrín-guayacol, porque el medio de cultivo base es muy común, sólo contiene un ingrediente extra que puede ser preparado fácilmente y un reactivo que se consigue casi en cualquier droguería; el tiempo de incubación requerido es el menor, dos semanas, y la interpretación de las reacciones es indudable.

#### Selectividad hacia el sustrato

La utilización del método de Badcock en sus dos variantes, aserrín de pino y de liquidámbar (madera representativa de Gimnospermas y de Angiospermas, respectivamente), también proporcionó información relacionada con la afinidad de los aislamientos hacia el sustrato. En aserrín de pino ocho hongos (*Earliella scabrosa*, *Fomes fasciatus*, *Ganoderma lucidum*, *Hexagonia tenuis*, *Phellinus gilvus*, *Polyporus tricholoma*, *Rigidoporus microporus* y *Trametes maxima*)

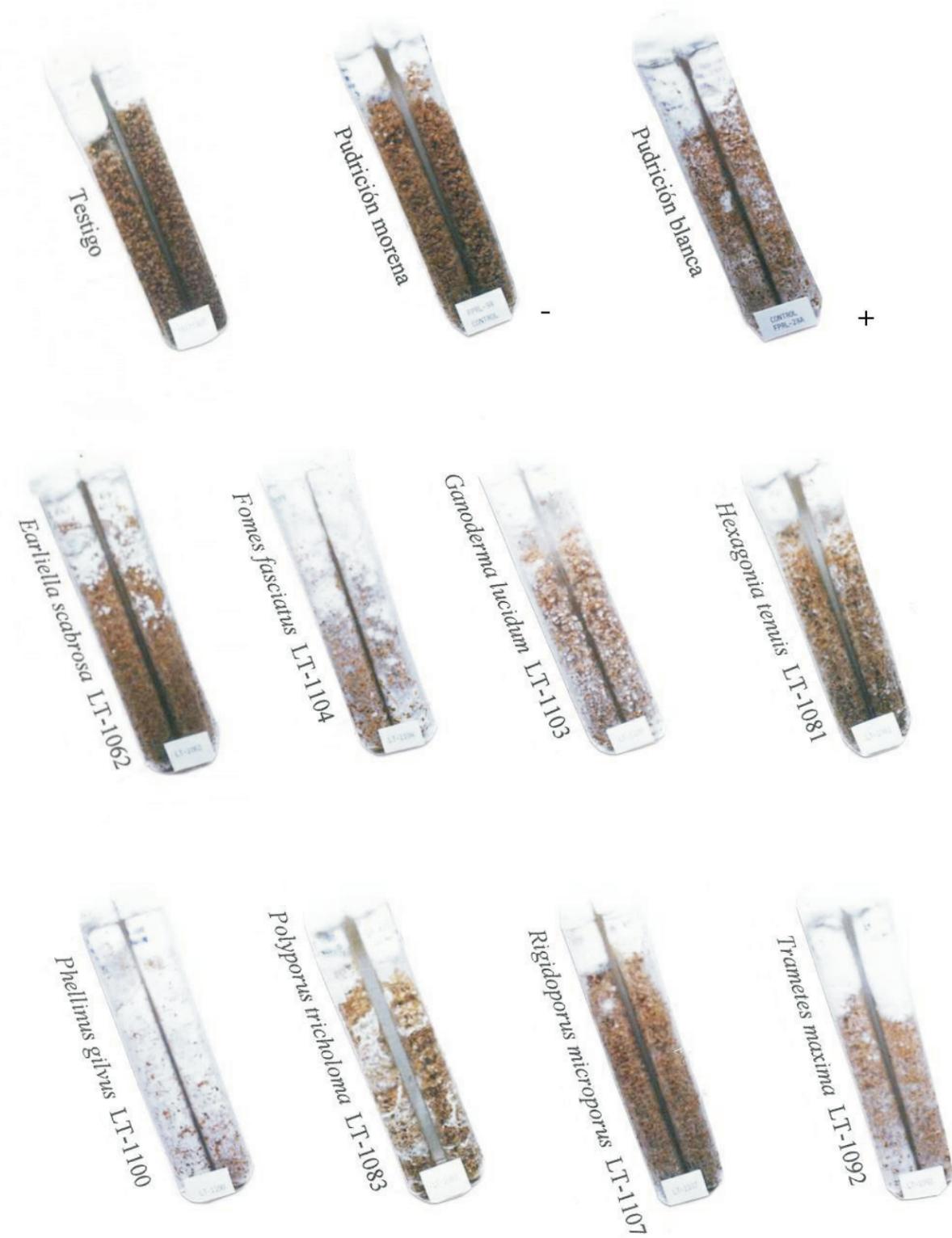


Figura 3. Método de Badcock con aserrín de liquidámbaar. Aspecto de los cultivos a las 6 semanas de incubación. La pudrición blanca (+) se reconoció por aclaramiento del sustrato a tonos rojizos o amarillentos y la pudrición morena (-) por su oscurecimiento.

tuvieron problemas de crecimiento que podrían atribuirse a incompatibilidad con el sustrato de pino, o a cierto grado de selectividad por la madera de Angiospermas. No obstante que hubo casos de contaminación, tal factor se estima irrelevante para los resultados. Esta interpretación se fundamenta, por una parte, en experiencias inéditas de los autores quienes han observado que en medios a base de aserrín, contenidos en tubos de cultivo grandes, tapados solamente con algodón e incubados durante largos periodos, son muchas las probabilidades de que los típicos mohos contaminantes de laboratorio penetren a los cultivos; éstos se hacen evidentes si el inóculo del Basidiomicete no se desarrolla bien desde el principio, o lo hace durante un tiempo corto y detiene su crecimiento; por el contrario, cuando el Basidiomicete crece vigorosamente, los contaminantes no pueden competir con él y son inhibidos, pasando desapercibidos. Así, aunque en 5 de los hongos se presentaron contaminaciones, éstas no se observaron sino hasta la tercera o sexta semanas de incubación, y en otros 3 casos nunca ocurrieron. Se elimina la posibilidad de que el esterilizado en autoclave haya sido insuficiente porque el tiempo se aumentó a 1 h., y también se descarta que los bloques de inóculo se contaminaran durante la siembra, pues los contaminantes de esta manipulación suelen notarse a los 3-5 días de incubación. Y, por otra parte, lo que más refuerza la interpretación expuesta, es que cuando estos mismos hongos fueron cultivados en aserrín de liquidámbaar todos crecieron densamente.

Estos resultados se confrontaron con datos de otros autores [2, 5, 9, 10, 27, 29], encontrándose lo siguiente: *E. scabrata*, *G. lucidum*, *H. tenuis*, *P. tricholoma*, *R. microporus* y *T. maxima*, los cuales no crecieron en aserrín de pino, así como *A. liebmannii*, *C. polyzona*, *H. coffeatum* y *T. elegans* que sí lo hicieron en este medio, han sido recolectados exclusivamente sobre madera de Angiospermas; *F. fasciatus* que no se desarrolló en el cultivo de pino y *G. applanatum* y *P. sanguineus* que sí tuvieron éxito, han sido encontrados tanto

en madera de Angiospermas como de Gimnospermas, con excepción del género *Pinus*; y por último, *Ph. gilvus*, inhibido en aserrín de pino y *T. bifforme* que evolucionó favorablemente han sido encontrados en madera de los dos grupos, incluido el género *Pinus*. Por lo tanto, los datos experimentales sólo coinciden parcialmente con los de campo de la literatura consultada. Si a lo anterior se añade el caso de otro aislamiento de *H. tenuis* (LB-204) el cual resultó capaz de crecer densamente en aserrín de pino [19], surge la posibilidad de que existan aislamientos con diferente afinidad al sustrato, para corroborarla, se requiere efectuar más pruebas. Mientras tanto, cabe resaltar el valor de la información que aporta el trabajo de laboratorio, porque todavía es muy poco lo que se conoce del comportamiento de los hongos xilófagos tropicales en cultivo.

#### Importancia del tipo de pudrición en taxonomía

Bavendamm [3] realizó las primeras pruebas de laboratorio en las que dos hongos de pudrición blanca producían reacciones de color, mientras que otras dos especies de pudrición morena no lo hacían. Interpretó que sus resultados se debían a la acción de enzimas oxidasas y propuso que se aplicaran sus pruebas a más especies de hongos. Davidson *et al.* [6] ensayaron con 210 especies y confirmaron que el 96% de las asociadas a pudrición blanca mostraban reacciones positivas. Nobles [15] contribuyó al desarrollo de más pruebas para detectar oxidasas extracelulares y posiblemente fue la primera en darle importancia taxonómica a este carácter [16], también lo aplicó para la identificación de cultivos [17]. Más recientemente, otros micólogos [26, 28] también han sostenido que diferenciar entre hongos causantes de uno u otro tipo de pudrición, por la detección de fenoloxidasas extracelulares en pruebas de laboratorio, es importante para el estudio taxonómico de los Aphyllophorales, particularmente los poliporoides. Pero este criterio también se ha extendido a otros grupos de hongos. Por ejemplo, Redhead y Ginns [23]

revisaron algunos géneros tradicionales de Agaricales lignícolas y concluyeron que *Coprinus* sólo debe incluir especies de pudrición blanca, *Hypsizygus* debe comprender especies de pudrición morena, y que del complejo *Lentinus-Pleurotus-Panus* surgieran tres nuevos géneros *Neolentinus*, *Heliocybe* y *Ossicaulis* con especies causantes de pudrición morena, mientras que las causantes de pudrición blanca sean transferidas a *Panus* y *Lentinula*, o permanezcan en *Pleurotus*. Se puede agregar que algunas publicaciones fungísticas modernas de gran cobertura ya incluyen el tipo de pudrición en las descripciones de hongos lignícolas, por ejemplo las realizadas para amplias regiones de la India [2] y Norteamérica [8, 9, 10]. En estudios similares de México, se indica este dato para los Poliporáceos de una zona de Guanajuato [18].

#### Aplicación del tipo de pudrición en filogenia

Nobles [16] teorizó que si la capacidad de utilizar la celulosa era común a todas las especies de Poliporáceos xilófagos, debería de ser considerada una característica primitiva; mientras que la habilidad para degradar la lignina habría sido adquirida posteriormente por algunas especies, de modo que sería más avanzada. Ryvardeen [26] también le concede una gran relevancia filogenética a este tema, pero discrepa en su interpretación, pues cree que tanto los hongos de pudrición morena como los de pudrición blanca evolucionaron de un ancestro Heterobasidiomicete capaz de aprovechar la celulosa y parte de la lignina, y luego, aquellos que permanecieron asociados a las Coníferas refinaron la degradación de la celulosa, transformándose en causantes de pudrición morena, proceso que ocurrió varias veces en la evolución; mientras que los hongos adaptados a las Angiospermas desarrollaron la habilidad enzimática para degradar celulosa y lignina en la misma proporción, convirtiéndose en el tronco del cual evolucionaron la mayoría de los otros Basidiomicetes. Si bien la cuestión no está

definitivamente resuelta, lo cierto es que el tipo de pudrición seguirá siendo un carácter fundamental para reconstruir la filogenia de estos hongos.

#### Utilidad del tipo de pudrición en biogeografía

Ryvardeen [26] realizó estadísticas sobre la distribución geográfica de los hongos causantes de pudrición morena. Con base en ello, coligió que habitan primariamente al norte del Trópico de Cáncer (23°27' de latitud N), que aparecen con mayor abundancia más allá de los 35 N y que por debajo de esa latitud se encuentran preferentemente en los bosques de coníferas de alta montaña o los pinares del sur de EUA, Vietnam y Tailandia, es decir, que son de afinidad boreal. Según este autor [26], son muy pocos los que habitan en los trópicos (aprox. El 2% de los poliporoides) y en las zonas templadas australes. En cuanto al trópico mexicano, se han publicado resultados de pruebas fisiológicas para determinar el tipo de pudrición que causan 16 hongos xilófagos de la Estación Los Tuxtlas [19, 20, 21, 22]. Sumando esos datos a los resultados actuales, se tiene que el total de especies ensayadas solamente aumenta a 29, porque de dos ya se han ensayado otros aislamientos (*Ganoderma applanatum* LT-47 y LT-66 y *Pycnoporus sanguineus* LB-216) y de otra (*Hexagonia tenuis* LB-204) no se obtuvieron resultados en aserrín de pino debido a la excesiva densidad de su micelio, pero es significativo que en todas ellas se ha comprobado la pudrición blanca. Si bien la muestra todavía es muy pequeña proporcionalmente a la microbiota xilófaga de la localidad, y puesto que allí están representados géneros como *Calocera*, *Dacryopinax*, *Daedalea*, *Fomitopsis* y *Laetiporus* [7], que se sabe son de pudrición morena [26], debido a que las pruebas siempre se han realizado antes de ser determinadas las especies, el proceso ha sido incidentalmente cercano a un muestreo aleatorio; así que los resultados obtenidos hasta el momento, muestran la escasa proporción de especies de pudrición morena en esta localidad tropical y apoyan

experimentalmente las estadísticas de Ryvardeen [26].

#### Agradecimientos

Los autores agradecen al Prof. Gonzalo Pérez Higareda, Jefe de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Ver., Instituto de Biología, UNAM, las facilidades otorgadas para el trabajo de campo; y al M. en C. Ricardo Valenzuela Garza su asesoría y la disponibilidad de las instalaciones del Laboratorio y Herbario de Micología, ENCB, IPN, para la identificación de las especies de hongos.

#### Literatura citada

1. Badcock, E.C. 1941. New methods for the cultivation of wood-rotting fungi. Transactions of the British Mycological Society 25: 200-205.
2. Bakshi, B.K. 1971. Indian Polyporaceae (on trees and timber). Indian Council of Agricultural Research. New Delhi.
3. Bavendamm, W. 1928. Über das Vorkommen und den Nachweis von Oxydasen bei holzzerstörenden Pilzen. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschu 38: 258-276.
4. Carey, J.K. 1975. Notes on the isolation and characterisation of wood-inhabiting fungi. Department of the Environment, Building Research Establishment Current Paper 93/75. 11 p.
5. Comer, E.J.H. 1983. Ad. Polyporaceas I. Amauroderma y Ganoderma. J. Cramer. Vaduz.
6. Davidson, R.W., W.A. Campbell, D.J. Blaisdell, 1938. Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. Journal of Agricultural Research 57: 683-695.
7. Frutis Molina, I., L.M. Pinzón-Picaseño, 1997. Macromicetos. In: González Soriano, E., R. Dirzo, R.C. Voght (eds.), Historia natural de Los Tuxtlas. Instituto de Biología e Instituto de Ecología, UNAM-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F., pp. 201-207.
8. Gilbertson, R.L. 1974. Fungi that decay ponderosa pine. The University of Arizona Press, Tucson.
9. Gilbertson, R.L., L. Ryvardeen, 1986. North American polypores. Vol. 1. Fungiflora, Oslo.
10. Gilbertson, R.L., L. Ryvardeen, 1987. North American polypores. Vol. 2. Fungiflora, Oslo.
11. González Soriano, E., R. Dirzo, R.C. Voght (eds.), 1997. Historia natural de Los Tuxtlas. Instituto de Biología e Instituto de Ecología, UNAM-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F.
12. Hudson, H.J. 1972. Fungal saprophytism. Edward Arnold, London.
13. Levy, J.F. 1976. Isolation and identification of the fungal flora in treated wood. International Research Group on Wood Preservation Document IRG/WP/144. 5 p.
14. Manion, P.D. 1981. Tree diseases concepts. Prentice-Hall. Englewood Cliff.
15. Nobles, M.K. 1958. A rapid test for extracellular oxydase in cultures of wood-inhabiting hymenomycetes. Canadian Journal of Botany 36: 91-99.
16. Nobles, M.K. 1958. Cultural characters as a guide to the taxonomy and phylogeny of the Polyporaceae. Canadian Journal of Botany 36: 883-926.
17. Nobles, M.K. 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting hymenomycetes. Canadian Journal of Botany 43: 1097-1139.
18. Ojeda-López, S., M.L. Sandoval, R. Valenzuela, 1986. Los poliporáceos de México I. Descripción de algunas especies del Noreste de Guanajuato. Revista Mexicana de Micología 2: 367-436.
19. Pinzón-Picaseño, L.M., J. Hernández Jiménez, 1987. Tipo de pudrición y agresividad hacia la madera de pino y liquidámbar de algunos hongos xilófagos mexicanos. Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México 57 (1986), Serie Botánica (No. Único): 1-10.
20. Pinzón-Picaseño, L.M., M.T. López Guerrero, F.A. Véliz Ávila, J.D. Martínez Marcial, 1982. Métodos para el estudio de algunas características de los hongos xilófagos como organismos degradadores de la madera. Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología 17: 147-157.
21. Pinzón-Picaseño, L.M., M.E. Ruiz Rodríguez, M. T. Tzompantzi Reyes, 1997. Macromicetos xilófagos. In: González Soriano, E., R. Dirzo, R.C. Voght (eds.), Historia natural de Los Tuxtlas. Instituto de Biología e Instituto de Ecología, UNAM-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F., pp. 185-194.
22. Pinzón-Picaseño, L.M., F.A. Véliz Ávila, 1984. Tipo de pudrición y agresividad hacia la madera en cuatro cepas de hongos xilófagos mexicanos. Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología 19: 65-72.
23. Redhead, S.A., J.H. Ginns, 1985. A reappraisal of agaric genera associated with brown rots of wood. Transactions of the Mycological Society of Japan 26: 349-381.
24. Rodríguez Barreal, J.A. 1998. Patología de la madera. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes. Fundación Conde del Valle de Salazar-Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
25. Ruiz, M.E., L. M. Pinzón-Picaseño, 1995. Uso de ácidos gálico y tánico, aserrín y aserrín-guayacol en pruebas de laboratorio para determinar el tipo de pudrición que causan hongos xilófagos aislados de oyamel. Revista Mexicana de Micología 11: 69-83.
26. Ryvardeen, L. 1991. Genera of polypores. Nomenclature and taxonomy. Synopsis Fungorum 5. Fungiflora, Oslo.
27. Ryvardeen, L., I. Johansen, 1980. A preliminary polypore flora of East Africa. Fungiflora, Oslo.
28. Stalpers, J.A. 1978. Identification of wood-inhabiting fungi in pure culture. Studies in Mycology No. 16. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Berna.
29. Valenzuela, R., S. Chacón-Jiménez, 1991. Los poliporáceos de México III. Algunas especies de la Reserva de la Biosfera El Cielo, Tamaulipas. Revista Mexicana de Micología 7: 39-70.
30. Zabel, R.A., J.J. Morrell, 1992. Wood microbiology. Academic Press. San Diego.