

# Evaluación de la agresividad de *Fomitopsis pinicola* y *Heterobasidion annosum* hacia la madera de *Abies religiosa*

María Elena Ruiz Rodríguez  
Luis Manuel Pinzón-Picaseño

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

## Aggressiveness assessment of *Fomitopsis pinicola* and *Heterobasidion annosum* against *Abies religiosa* wood

**Abstract.** A laboratory soil-block decay test was carried out to assess the aggressiveness of eight isolates of *Fomitopsis pinicola* and one of *Heterobasidion annosum*, against heartwood of Mexican-fir (*Abies religiosa*). This assay was part of a diagnosis about decay problems in Mexican-fir standing trees at the Nevado de Toluca National Park, State of Mexico. Results showed a very different decay capacity in the two species. Out of seven native isolates of *F. pinicola*, two were highly aggressive and four were very aggressive. Another native isolate and a foreign strain were moderately aggressive. The only isolate tested of *H. annosum* was slightly aggressive. Activity variation among isolates is analyzed. Fundamentals of testing and approach to Koch's Postulates are discussed. Control measures for these wood-decay fungi of forest relevance are recommended.

**Key words:** wood-decay, *Fomitopsis*, *Heterobasidion*, *Abies*.

**Resumen.** Se realizó una prueba de laboratorio tipo suelo-bloque para evaluar la agresividad de ocho aislamientos de *Fomitopsis pinicola* y uno de *Heterobasidion annosum*, hacia la madera de duramen de oyamel (*Abies religiosa*). Este ensayo es parte de un diagnóstico sobre problemas de pudrición en árboles en pie en el Parque Nacional Nevado de Toluca, Estado de México. Los resultados evidenciaron que las dos especies tienen muy diferente capacidad para pudrir la madera. De los aislamientos locales de *F. pinicola*, dos fueron altamente agresivos, cuatro muy agresivos y uno moderadamente agresivo. Una cepa extranjera de la misma especie resultó moderadamente agresiva. El único aislamiento ensayado de *H. annosum* fue ligeramente agresivo. Se analiza la variación de la actividad entre los aislamientos. Se discuten los fundamentos del método y su analogía con los Postulados de Koch. Se recomienda el control de estos hongos xilófagos de importancia forestal.

**Palabras clave:** Pudrición del duramen, *Fomitopsis*, *Heterobasidion*, *Abies*.

Received 29 June 2006; accepted 18 September 2006.

Recibido 29 de junio 2006; aceptado 18 de septiembre 2006.

## Introducción

En el Ejido Loma Alta del Parque Nacional Nevado de Toluca, Zinacantepec, Estado de México, se detectaron

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

problemas de pudrición del duramen en oyameles (*Abies religiosa* [H.B.K.] Schl. et Cham.), aparentemente causados por una especie de *Fomitopsis* P. Karst. Para estimar el grado de incidencia de estas pudriciones, se aplicó un método de muestreo por cuadrantes con punto central a lo largo de transectos lineales y se encontró que 58% de los árboles

presentaron evidencias de pudrición, de los cuales, los individuos mayores de 60 años eran más susceptibles [9].

A partir de estos datos, se decidió que era importante realizar un diagnóstico más detallado. Para ello, de los casos más representativos, se aislaron a cultivo puro ocho cepas de hongos y se inició una serie de trabajos de laboratorio con ellas: el estudio de sus caracteres culturales según el método-clave de Nobles [10] y tres pruebas para determinar el tipo de pudrición que causan. Con la determinación taxonómica de los basidiomas, la identificación de micelios aislados directamente de la madera, las descripciones de los caracteres culturales de los aislamientos resultados de las pruebas fisiológicas, se encontró que había involucradas una especie causante de pudrición morena *Fomitopsis pinicola* (Sw. ex Fr.) P. Karst., que efectivamente era el hongo asociado a la pudrición del duramen y además, inesperadamente, se identificó otra especie, *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref., causante de pudrición blanca en la albura [17, 18].

En este artículo se presenta una continuación de esos trabajos, la realización de una prueba de laboratorio tipo suelo-bloque con el objetivo de evaluar la agresividad hacia la madera de los siete aislamientos de *F. pinicola* y el de *H. annosum*, asociados a pudriciones en oyameles de la localidad estudiada. Con el fin de hacer algunas comparaciones, se incluyó también una cepa de *F. pinicola* de procedencia extranjera.

## Materiales y métodos

### Área de estudio

La ubicación y la información ambiental del Ejido Loma Alta, Zinacantepec, Edo. de México se describen ampliamente en varias publicaciones [6, 8, 9, 17, 18, 19].

### Aislamientos estudiados

Se utilizaron las mismas cepas estudiadas en los trabajos

previos: NT-1, NT-2, NT-3, NT-6a, NT-6b, NT-6c y NT-7 de *Fomitopsis pinicola* y NT-5 de *Heterobasidion annosum* [17, 18]. Los datos de campo y el método de aislamiento se indicaron en la primera contribución publicada [18]. Los datos de la cepa originaria de Francia (*F. pinicola* FPRL-98) se pueden consultar en un catálogo [7].

### Bloques de ensayo

Se utilizó madera de duramen de oyamel donada por una empresa maderera de la región. De una sola tabla aserrada en plano tangencial, procurando incluir el menor número posible de anillos de crecimiento y que éstos fueran uniformes entre sí, se cortaron pequeños bloques de  $5 \times 10 \times 30$  mm, con la dimensión mayor en orientación longitudinal. De esta forma, se evita lo más posible heterogeneidad en la madera. Se mezclaron los bloques y luego fueron seleccionados al azar para cada serie de 10 repeticiones por aislamiento, según un diseño experimental completamente aleatorio.

### Prueba de agresividad

Las operaciones microbiológicas se realizaron en una campana de flujo laminar de aire estéril. Para obtener inóculos homogéneos, los aislamientos se incubaron durante 2 semanas a  $26^\circ\text{C}$  y a oscuras en cajas Petri conteniendo agar con extracto de malta (AEM: extracto de malta, 30 g; agar, 15 g; agua destilada, 1000 ml).

Los bloques de madera, rotulados con lápiz, se secaron en horno a  $105\text{-}107^\circ\text{C}$  durante 24 h, se dejaron enfriar en desecadores con sílica gel durante 30 min, y se pesaron en balanza analítica para registrar su peso seco inicial ( $P_i$ ) con aproximación de 0.01 g. Entonces, quedaron listos para su colocación en los frascos de incubación.

Se emplearon frascos de vidrio tipo tarro para conserva, de 235 ml de capacidad, con tapaderas de polipropileno, de rosca y sin empaque, a los cuales se les añadieron 49 ml de agua destilada y 110 g de suelo. Esta proporción equivale a un contenido de humedad de 130% de

la capacidad de retención de agua del suelo. El volumen de los frascos, el tipo de suelo, el horizonte de procedencia, la textura, la densidad aparente, el pH, y la capacidad de retención de agua del suelo, se ajustan a las recomendaciones de las normas ASTM D 2017-94 [1], ASTM D 1413-99 [2] y AWWA M 10-70 [3]. En cada frasco se colocaron semienterrados, en posición paralela horizontal, dos bloques de madera con su cara ancha superior nivelada con la superficie del suelo. Preparados todos los frascos y con las tapaderas aflojadas  $\frac{1}{4}$  de vuelta se esterilizaron en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  y 103.4 kPa durante 60 min. Para su exposición al ataque de los hongos cada bloque de madera se inoculó con el micelio previamente desarrollado, excepto los bloques testigo. Los inóculos, de  $1\text{ cm}^2$ , se obtuvieron con sacabocados esterilizados de la periferia de las colonias, aproximadamente a la misma distancia radial, y se colocaron en la parte media de los bloques, con su base de agar mitad sobre la madera y mitad sobre el suelo. Los frascos de cultivo inoculados y los testigos se incubaron con las tapaderas aflojadas  $\frac{1}{4}$  de vuelta, en cajas de plástico acrílico de  $37 \times 27 \times 16$  cm, con agua destilada en el fondo para proporcionar alta humedad relativa, a  $26^\circ\text{C}$  y a oscuras durante 6 semanas.

Al final de la incubación, los bloques se extrajeron uno a uno, se limpiaron con un cepillo dental suave para eliminar partículas de suelo y micelio superficial, y se pesaron inmediatamente para registrar su peso húmedo final ( $P_h$ ). Después, fueron secados en horno, enfriados y pesados de manera idéntica a la fase inicial, para obtener su peso seco

final ( $P_f$ ). Se calcularon los porcentajes de peso perdido debido al ataque de los hongos (PP) y de contenido de humedad (CH) de los bloques al final de la prueba con las fórmulas de la Tabla 1.

## Resultados

En la Tabla 2 se presentan los porcentajes de peso perdido (PP) y contenido de humedad (CH) obtenidos en los bloques de duramen de oyamel expuestos a la pudrición, como observaciones individuales, promedios, desviaciones típicas ( $S$ ) y rangos de cada serie experimental, por aislamiento.

El contenido de humedad en los bloques al final de la prueba, sirve para verificar si la madera estaba en condiciones favorables a la pudrición. Generalmente se considera que éste debe ser superior a 35% [5]. Los resultados (Tabla 2), muestran que así fue en todas las observaciones y que, en la gran mayoría de los casos, con porcentajes de peso perdido mayores coincidieron los más altos contenidos de humedad, aunque en un intervalo muy amplio (aprox. 150-265%).

Los porcentajes promedio de peso perdido de cada serie experimental, por aislamiento, y los testigos de la Tabla 2 se transformaron a términos autoexplicativos denominados categorías de agresividad conforme la clasificación de la Tabla 1, para describir los resultados.

De esos datos se obtiene que, los aislamientos NT-7 (30.50% = D) y NT-2 (26.42% = D) causaron los mayores

Tabla 1. Fórmulas para convertir los registros de peso de los bloques a porcentajes de peso perdido y de contenido de humedad, así como la clasificación de los primeros en categorías de agresividad.

Peso perdido % = $\frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$		Contenido de humedad % = $\frac{P_h - P_f}{P_f} \times 100$	
Donde: $P_i$ = peso seco inicial. $P_h$ = peso húmedo al final de la prueba. $P_f$ = peso seco final.			
Porcentaje de peso perdido	Categoría de agresividad	Clave	
< 5	Ligeramente agresivo	A	
6 - 15	Moderadamente agresivo	B	
16 - 25	Muy agresivo	C	
26 - >	Altamente agresivo	D	

Tabla 2. Porcentajes de peso perdido y contenido de humedad de los bloques de madera de duramen de oyamel (*Abies religiosa*) expuestos al ataque de los hongos. Incubación: 6 semanas a 26°C, alta humedad relativa y oscuridad.

Aislamiento		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{X}$	S	Intervalo	
<i>Fomitopsis pinicola</i>	PP <sup>1</sup>	1.48	0.55	20.72	31.95	23.70	18.13	0.75	1.49	1.29	1.42	10.14	12.10	0.55 – 31.95	
	NT-1	CH <sup>2</sup>	95	81	210	265	204	211	96	109	91	88	145	69	81 - 265
<i>Fomitopsis pinicola</i>	PP	20.04	22.5	25.28	32.00	32.09	34.19	21.27	16.67	25.01	35.60	26.42	6.60	16.67 – 35.60	
	NT-2	CH	168	188	196	206	172	179	162	169	182	157	177	15.31	157 - 205
<i>Fomitopsis pinicola</i>	PP	17.30	18.50	25.41	18.89	16.15	14.40	15.06	15.73	18.42	5.96	16.58	4.85	5.96 – 25.41	
	NT-3	CH	184	224	201	168	202	164	167	157	199	133	180	27	133 - 224
<i>Heterobasidion annosum</i>	PP	0.49	0.58	1.14	0.13	1.56	0.70	1.11	0.66	1.05	0.82	0.82	0.44	0.13 – 1.56	
	NT-5	CH	81	86	103	83	105	76	77	82	92	87	10	76 – 105	
<i>Fomitopsis pinicola</i>	PP	14.95	25.22	12.37	13.3	24.16	20.38	26.96	21.22	28.95	14.83	20.20	6.08	12.37 – 28.95	
	NT-6a	CH	222	187	138	164	248	223	219	194	197	175	33	138 - 248	
<i>Fomitopsis pinicola</i>	PP	21.45	22.91	35.47	24.64	27.98	28.50	11.21	7.68	19.63	21.08	22.05	8.13	7.68 – 35.47	
	NT-6b	CH	204	195	175	202	186	192	220	214	205	183	14	175 - 220	
<i>Fomitopsis pinicola</i>	PP	24.39	25.60	6.72	5.47	26.24	22.55	24.49	28.20	23.93	31.45	21.90	8.70	5.47 – 31.45	
	NT-6c	CH	191	218	80	72	195	159	163	213	174	173	50	72 - 218	
<i>Fomitopsis pinicola</i>	PP	35.94	38.45	27.81	27.74	34.24	27.55	27.41	27.88	28.30	29.73	30.50	4.11	27.41 – 38.45	
	NT-7	CH	164	194	217	217	197	150	181	182	181	182	21	150 - 217	
<i>Fomitopsis pinicola</i>	PP	16.13	22.09	10.12	2.60	4.40	22.27	1.53	9.23	8.89	1.03	10.32	8.95	1.03 – 22.27	
	FPRL-98	CH	195	199	197	129	123	178	65	117	86	62	135	54	62 – 199
Testigos	PP	0.70	1.26	0.81	1.59	0.85	1.59	1.04	1.56	1.49	1.58	1.24	0.36	0.70 – 1.59	
	CH	70	72	71	84	88	75	82	69	85	69	76	8	69 – 88	

<sup>1</sup> peso perdido; <sup>2</sup> contenido de humedad

valores de peso perdido, si bien con cierta diferencia en sus promedios, y se ubicaron en la categoría de altamente agresivos. Los aislamientos NT-6b (22.05% = C), NT-6c (21.90% = C) y NT-6a (20.20% = C), quedaron clasificados en la categoría de muy agresivos con promedios muy cercanos entre sí. También el aislamiento NT-3 (16.58% = C) se ubicó en esta categoría, con un porcentaje algo menor al de los tres aislamientos anteriores. Por su parte, la cepa extranjera de *F. pinicola* (FPRL-98), resultó moderadamente agresiva en promedio (10.32% = B), actuando de manera muy parecida al aislamiento NT-1. Finalmente, el aislamiento de *Heterobasidion annosum* NT-5, causante de pudrición blanca, fue el hongo menos agresivo de todos los ensayados por presentar el promedio de peso perdido más bajo (0.82% = A), quedando clasificado como ligeramente agresivo.

Estos resultados evidenciaron que los aislamientos de *Fomitopsis pinicola* del Nevado de Toluca desarrollaron diferentes grados de agresividad hacia la madera de duramen de oyamel de la misma región, en las condiciones de esta prueba. De tal manera que el comportamiento de la población local de esta especie ensayada hasta ahora puede ser de

moderadamente agresivo a altamente agresivo. También se demostró que la agresividad de los aislamientos de *F. pinicola* y la del aislamiento de *H. annosum* hacia el duramen de oyamel es significativamente diferente. De lo anterior se concluye que, de las dos especies que se encontraron relacionadas con los problemas de pudrición de la madera en oyameles del Ejido Loma Alta del Parque Nacional Nevado de Toluca, el agente causal de la pudrición morena del duramen es *F. pinicola*, mientras que *H. annosum*, la especie causante de pudrición blanca, no desempeña un papel importante en la pudrición del duramen y posiblemente se restringe a causar pudrición en la albura.

## Discusión

Evaluar la actividad xilófaga de los hongos por la pérdida de peso que causan, es sencillo, preciso y confiable, pues se mide la masa de madera metabolizada por el micelio. Pero, principalmente debido a que la madera un material muy higroscópico, es posible que ocurra algún grado de error

experimental. Éste puede ser detectado en los bloques testigo, ya sea como incremento o como pérdida de peso. Los bloques testigos de este ensayo (Tabla 2) mostraron pérdidas de peso en promedio del 1.24% (intervalo = 0.70-1.59%) que se consideran insignificantes tanto en pruebas de agresividad como de resistencia de la madera a la pudrición y de evaluación de preservadores para madera [1, 2, 3, 11].

Para interpretar qué tan significativos son los porcentajes de peso perdido debido al ataque de hongos se requiere experiencia. En cambio, al emplear una escala de categorías de agresividad, es posible convertir las cifras a conceptos que, de manera autoexplicativa, indiquen su nivel de importancia. La escala de la tabla 1, se ha usado en varias publicaciones para evaluar los resultados según la categoría de los promedios [12, 13, 14, 15, 16]. Ahora, se propone modificar de la escala original la designación de la categoría “agresivo” por “muy agresivo” con el fin de uniformar la terminología a dos vocablos y que éstos describan más adecuadamente el nivel de actividad xilófaga de los hongos.

En las pruebas de agresividad citadas se utiliza normalmente madera de albura, por ser más susceptible a la pudrición y así favorecer que los hongos desarrollen su máximo potencial. En cambio, aquí se empleó madera de duramen, porque las dos especies estudiadas están entre las principales causantes de pudrición del duramen en coníferas, *Heterobasidion annosum* en Europa y particularmente en el Reino Unido [5] y *Fomitopsis pinicola* en Norteamérica [4]. Aunque *H. annosum* fue aislado de albura, se decidió ensayarlo también con duramen para comparar los resultados en igualdad de condiciones.

La actividad mínima del aislamiento de *Heterobasidion annosum* del Nevado de Toluca, no parece haber sido anormal ni dudosa, se trata efectivamente de un hongo poco agresivo. En otro ensayo de laboratorio actuó lentamente en bloques pequeños de pino y haya, causando pérdidas de peso de 10% en 16 semanas, plazo mayor en 10 semanas al de esta prueba [5]. Apesar de no ser muy agresivo,

este hongo tiene importancia mundial por ser uno de los principales patógenos de las raíces de las coníferas [4] por lo que la presencia de esta especie en la localidad es importante pues representa un peligro potencial al estado fitosanitario de los bosques de oyamel y pinos en el Parque Nacional Nevado de Toluca.

El identificar los hongos asociados a algún problema de pudrición no siempre es suficiente para considerarlos agentes causales del mismo o que lo sean en grado similar. La determinación taxonómica y mediante caracteres culturales de los aislamientos obtenidos de casos típicos de pudrición del duramen y de albura en oyameles (*Abies religiosa*) del Parque Nacional Nevado de Toluca fue la fase inicial del diagnóstico etiológico [18]. Como segunda fase, se realizaron anteriormente pruebas de laboratorio para comprobar el tipo de pudrición que causan los hongos aislados [17] y ahora para evaluar su agresividad hacia la madera. Al aplicar estas pruebas en el diagnóstico se siguieron con bastante fidelidad los postulados de Koch en etiología de las enfermedades.

Por la importancia forestal fitosanitaria y por ende, económica de estas dos especies de hongos, es prioritario continuar este diagnóstico con métodos de control, prevención y combate. Particularmente interesante sería la línea de control químico, mediante ensayos toxicométricos de laboratorio, para seleccionar los productos más promisorios.

## Agradecimientos

Los autores dedican este trabajo como un homenaje personal y profesional al Dr. Teófilo Herrera Suárez maestro de ambos en épocas muy distanciadas, reflejo de su larga trayectoria académica.

## Literatura citada

1. American Society for Testing and Materials, 1999. Standard method of accelerated laboratory test of natural decay resistance of woods. ASTM Designation: D 2017-94. Annual book of ASTM standards. Section 4 Construction, Vol. 4.10 Wood. West Conshohocken.
2. American Society for Testing and Materials, 2003. Standard test method for wood preservatives by laboratory soil-block cultures. ASTM Designation: D 1413-99. Annual book of ASTM standards. Section 4 Construction, Vol. 4.10 Wood. West Conshohocken.
3. American Wood Preservers' Association, 1971. Revised standard method of testing wood preservatives by laboratory soil-block cultures. AWP A D M-10-71. Proceedings of the American Wood-Preserver's Association 67: 75-82.
4. Boyce, J.S., 1976. Forest pathology. Mc. Graw-Hill. Nueva York.
5. Cartwright, K.St.G., W.P.K. Findlay, 1958. Decay of timber and its prevention. Her Majesty's Stationery Office. Londres.
6. Comisión del Territorio Nacional y Planeación, 1970. Cartas de climas 14 Q-V escala 1:500,000. Secretaría de la Presidencia, Dirección de Planeación. México, D.F.
7. Forest Products Research Laboratory, 1969. List of cultures of wood-rotting macrofungi. Ministry of Technology, Forest Products Research Laboratory. Princes Risborough.
8. Guzmán-Huerta, G., 1958. El hábitat de *Psilocybe muliercula* Singer & Smith (= *Ps. wassoni* Heim), agaricáceo alucinógeno mexicano. Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural 19: 215-219.
9. López Barajas, R., 1987. Evaluación de los daños causados por pudriciones del duramen en oyamel (*Abies religiosa* H.B.K.) Schlecht et Cham. en el Ejido Loma Alta, Nevado de Toluca, Zinacantepec, Estado de México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
10. Nobles, M.K., 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting hymenomycetes. Canadian Journal of Botany 36: 91-99.
11. Pérez-Morales, J.V., L.M. Pinzón-Picaseño, R. Echenique-Manrique, 1977. Ensayo de laboratorio sobre resistencia natural de la madera de especies tropicales mexicanas al ataque de hongos xilófagos. Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología 11: 99-109.
12. 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, UNAM, 57 (1986) Serie Botánica: 1-10.
13. 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.
14. Pinzón Picaseño, L.M., J.D. Martínez Marcial, 1987. Agresividad de dos cepas de *Pycnoporus sanguineus* (L. ex Fr.) Murr. hacia maderas tropicales mexicanas. Anales del Instituto de Biología UNAM, 54 (1983) Serie Botánica: 233-240.
15. 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.
16. Pinzón Picaseño, L.M., F.A. Véliz Ávila, M.T. López Guerrero, 1987. Evaluación de la agresividad de hongos xilófagos: Ensayos de laboratorio con *Pycnoporus sanguineus* (Fungi, Basidiomycetes). Anales del Instituto de Biología UNAM, 54 (1983) Serie Botánica: 227-232.
17. Ruiz, M.E., L.M. Pinzón-Picaseño, 1995. Uso de ácidos gálico y tánico, aserrín y aserrí-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.
18. Ruiz Rodríguez, M.E., L.M. Pinzón-Picaseño, 1994. Caracteres culturales de *Fomitopsis pinicola* y *Heterobasidion annosum*, hongos xilófagos de importancia forestal asociados a pudriciones en oyamel. Boletín de la Sociedad Botánica de México 54: 225-250.
19. Vela-Gálvez, L., J.C. Boyas Delgado, A. Hernández Reyna, A. Mancera-Orozco, A. Rodríguez-Ángeles, 1976. El Nevado de Toluca. Ciencia Forestal 1(4): 53-61.