



# Universidad Nacional Autónoma de México

---

FACULTAD DE CIENCIAS

“Estudios in vitro del micelio de y la pudrición  
ocasionada por dos poliporáceos xilófagos: Fomes  
pinicola y Polyporus versicolor”.

## T E S I S

Que para obtener el título de

B I O L O G O

P r e s e n t a

MARIA DE LOS ANGELES HERRERA CAMPOS



México, D. F.

1985



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## C O N T E N I D O

|   |    |
|---|----|
| RESUMEN   | 1  |
| 1. ANTECEDENTES   | 3  |
| 2. INTRODUCCION   | 5  |
| 2.1 Familia Polyporaceae  | 7  |
| 2.2 Origen, Estructura y Composición de la Madera   | 11 |
| 2.3 Degradación de la Madera  | 16 |
| 3. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS  | 26 |
| 4. METODOS Y MATERIALES   | 28 |
| 4.1 Obtención de las muestras   | 28 |
| 4.2 Aislamiento y Purificación  | 28 |
| 4.3 Descripción de las características morfológicas y fisiológicas de los cultivos  | 29 |
| 4.4 Estimación de la capacidad de degradar la madera  | 30 |
| 4.5 Descripción de los daños morfológicos ocasionados <u>in vitro</u> a madera de <u>Pinus sp.</u> y <u>Liquidambar sp.</u> | 32 |
| 4.5.1 Microscopía fotónica  | 32 |
| 4.5.2 Microscopía electrónica   | 32 |
| 5. RESULTADOS   | 34 |
| 6. DISCUSION  | 81 |
| 7. CONCLUSIONES   | 88 |
| 8. RECOMENDACIONES  | 89 |
| 9. REFERENCIAS  |    |

## RESUMEN

En este trabajo se realizó una caracterización in vitro de dos especies de poliporáceos xilófagos: Fomes pinicola (Sw. ex Fr.) Cooke y Polyporus versicolor (L. ex Fires), provenientes de regiones de clima templado, causantes, respectivamente, de pudrición morena en gimnesperma y de pudrición blanca en angiosperma.

Se consideró que una caracterización de hongos xilófagos quedaría más completa tomando en cuenta, además de los caracteres morfofisiológicos propios del hongo, la forma en que degrada este sustrato y los daños morfológicos que le ocasiona así como la existencia de una selectividad por alguna de las dos maderas utilizadas, pino y liquidámbar.

En general el desarrollo de esta tesis comprendió básicamente dos etapas: trabajo de campo y trabajo de laboratorio. Durante la primera fase se llevó a cabo la colecta y descripción de los ejemplares fúngicos y el sustrato correspondiente, así como la obtención del micelio de cada especie a partir del contexto de las fructificaciones. Posteriormente se realizó en el laboratorio la purificación de los cultivos hasta lograr el estado axénico de los mismos para proceder así con la caracterización de los micelios.

Dicha caracterización estuvo basada en los rasgos morfológicos y fisiológicos de los cultivos, la estimación del grado de daño ocasionado a madera de Pinus sp. y Liquidambar sp. y en la descripción de estas alteraciones a nivel microscópico en condiciones experimentales.

Las observaciones macroscópicas permitieron establecer la morfología colonial y la topografía del tapete micelial. Los estudios

de microscopía fotónica revelaron rasgos distintivos de cada especie estudiada, tales como septación y tipo de hifas, presencia de estructuras especializadas como esporas asexuales.

Los aspectos fisiológicos considerados en la descripción fueron: tasa de crecimiento micelial, color y olor de los cultivos, pH de los mismos y producción de oxidasa extracelular determinada siguiendo los métodos de Ravendam y de Badcock descritos por Nobles (1948) y Véliz Avila (1982) a partir de los cuales se determinó en el laboratorio el tipo de pudrición que causan estas dos especies.

Por otra parte, la estimación del daño ocasionado a la madera se hizo con la técnica de suelo-bloque con base en la pérdida de peso de los bloques expuestos al ataque fúngico y considerando el aspecto microscópico del sustrato alterado a través de la observación de cortes semifinos con microscopía óptica y de bloques adecuadamente orientados observados al microscopio electrónico de barrido.

## 1. ANTECEDENTES

En México existen diversos estudios acerca de la degradación de la madera a causa de hongos, sin embargo la mayoría de ellos se ocupan más de las propiedades alteradas del sustrato que de los hongos xilófagos como organismos causales. Uno de los atributos de la madera mayormente estudiado es su resistencia natural a la pudrición, sobre la cual han trabajado García Carmona (1948), Gómez Nava et al. (1969), Herrera Rodríguez et al. (1976), De la Paz Pérez Olvera y Salinas Quinard (1977), Pérez Morales et al. (1977) y Herrera Rodríguez et al. (1974).

En torno al aislamiento de estos hongos, podemos citar los trabajos de Obregón Arceo y Ehcnique Manrique (1974), quienes lo hicieron a partir de postes de conducción de líneas eléctricas.

Por otra parte, trabajos cuyos objetivos estuvieron centrados principalmente en la actividad xilofágica de los hongos, en particular el tipo de pudrición que ocasionan, los efectos de su ataque y la resistencia a preservadores de madera, es decir encaminados directamente a la caracterización experimental de los organismos causantes del deterioro, fueron realizados por López-Guerrero (1970) y Véliz-Avila (1982). En esta misma línea de trabajo también podemos citar el de Hernández-Jiménez (1984), el de Martínez Marcial (1983) quien se abocó principalmente a evaluar la actividad de dos cepas de poliporáceos de diferente procedencia sobre tres maderas tropicales.

Acercas de los estudios microscópicos sobre este tópico, es pertinente citar como antecedente del presente trabajo el de Vilchis Arqueta (1983) acerca de la micromorfología de la pudrición ocasionada por poliporáceos tropicales causantes de pudrición blanca sobre madera de gimnospermas en condiciones naturales.

Otro trabajo que habría que mencionar debido a que trata con microorganismos asociados con descortezadores es el de Salinas-Quinard y Macías-Campos (179), quienes se dedican a probar varias técnicas histológicas útiles para detectar estos organismos productores de la "mancha azul".

## 2. INTRODUCCION

La constitución del reino Fungi independientemente del resto de los vivientes obedece principalmente a las diferencias que, con respecto a ciclo de vida, modo de nutrición y de desarrollo, son encontradas en este grupo.

El micelio es la forma vegetativa del hongo a partir de la cual se desarrollan las estructuras reproductivas, asexuales y sexuales. En la mayoría de los hongos los órganos reproductores surgen de una porción del talo continuando el resto del mismo con la ejecución de funciones somáticas (Alexopoulos y Mims, 1979).

Los miembros del reino Fungi tienen un modo de nutrición muy característico y altamente exitoso, en su mayoría son aerobios pero todos son heterótrofos, obtienen su energía a partir de la oxidación de compuestos sencillos del carbono tales como glucosa y maltosa, los cuales constituyen la principal fuente de este elemento. Así mismo, sintetizan sus aminoácidos y proteínas utilizando formas nitrogenadas tanto orgánicas como inorgánicas (principalmente  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3^-$ ) en presencia de minerales necesarios para su crecimiento P, K, Mg, S, B, Mn, Cu, Mo, Fe, y Zn (Robinson, 1979; Alexopoulos y Mims, 1979; Deacon, 1980; Margulis y Schwartz, 1982).

Aunque estos vivientes sean capaces de sintetizar sus aminoácidos, grasas y vitaminas, etc. Deacon (1980) considera que la heterotrofia los limita a un papel de descomponedores de uno u otro material. No obstante, distintos hongos tienen diferentes requerimientos nutricionales y de crecimiento, a sí, tenemos que existen hongos saprobios obligados, facultativos y parásitos obligados. En cual



quiera de estos casos, estos organismos no ingieren sus alimentos sino que los absorben, es decir, toman las sustancias nutritivas en solución, las cuales deben ser de un peso molecular más bien bajo para que puedan difundir a través de las paredes y membranas celulares; cuando se trata de moléculas muy complejas, éstas son degradadas a monómeros más sencillos a través de la acción de enzimas extracelulares secretadas por el hongo. Así pues, el sistema enzimático que cierto hongo posee determina en gran medida la habilidad del mismo para utilizar ciertos sustratos como nutrientes (Robinson, 1978; Alexopoulos y Mims, 1979).

Los hongos, comparados con otros organismos heterótrofos presentan una combinación de características muy particular -la secreción de diversas enzimas extracelulares y el crecimiento apical- que les permite penetrar cuerpos de material sólido de tal manera que son capaces de degradar sustratos como la madera.

Se ha inferido a partir del registro fósil que la actividad descomponedora de los hongos y en general su asociación con las plantas (fundamental para la transición de éstas al ambiente terrestre) data desde hace 200-300 millones de años (Bold *et al.*, 1980; Margulis y Schwartz, 1982). Estos organismos, junto con las bacterias y otros eucariontes heterótrofos, son los descomponedores de la biosfera y sus actividades son tan necesarias como las de los productores primarios para su existencia (Raven *et al.*, 1981).

La participación de los hongos en la destrucción de los tejidos vegetales es posibilitada por la capacidad que tienen de degradar la celulosa y la lignina. El grupo fúngico más importante involucrado

en la descomposición primaria de este material orgánico es de los poliporáceos.

## 2.1. FAMILIA POLYPORACEAE

Los miembros de esta familia, la más numerosa de los Aphyllophorales, fueron considerados por Overholtz (1953) como los basidiomicetos superiores. Se caracterizan por desarrollar un himenio tubulado en la parte interna del sorocarpo, dichos tubos están estratificados y en ellos se localizan típicamente los basidios, los cuales producen generalmente cuatro esporas. La dimensión y forma de los poros es variable, algunas veces trametoides, dedafoides, iripicoides y raramente laminares. El micelio vegetativo que da origen a la fructificación es dicariótico y el sistema hifal de la misma puede ser monomítico, dimítico o trimítico, con o sin fíbulas según la especie. Los detalles del ciclo vital de los poliporáceos aún no están bien entendidos para la mayoría de los géneros (Overholtz, 1953; Bakshi, 1971; Bold et al., 1973; Pegler, 1973; Smith y Smith, 1973; Alexopoulos y Mims, 1979).

Los basidiocarpos, unipileados o multipileados, son muy diversos, resupinados, efuso-reflejados, sésiles o estipitados y su consistencia puede ser carnosa, correosa o leñosa según el género y la especie.

Los poliporáceos son anuales o perenes, encontrándose en muchas ocasiones durante épocas del año en las que otros hongos no producen fructificaciones. Esta familia es lignícola, terrícola, humícola y algunos de ellos parásitos. Los poliporos lignícolas crecen tanto en árboles en pie como en troncos caídos o en madera como producto

comercial. El micelio se ramifica obteniendo los nutrientes a partir de la degradación de los componentes de las paredes celulares, lo cual conduce a la descomposición de la madera (Overholtz, 1953; Pegler, 1973).

Con respecto a los poliporáceos de hábitat lignícola, es difícil delimitar su actividad como saprofitismo obligado o parasitismo obligado cuando crecen en el árbol en pie, ya que algunos de ellos la extienden tanto a la albura como al duramen. Overholtz (1953) concluye que un hongo que limita su actividad al duramen de un árbol en pie es saprobio ya que esta parte se halla compuesta mayormente de células muertas. Sin embargo, reconoce que se presencia definitivamente causa al árbol un decremento en la resistencia mecánica y que un hongo que ataque la albura hasta cierto grado sí podrá causarle la muerte. No obstante, en este punto, habría que considerar que un árbol soporta la vida de otras comunidades orgánicas además de la fungal, por ejemplo bacterias, vegetales e insectos, entre otros y que en su muerte participarán todos ellos de una forma u otra.

Por otra parte, cabe aclarar que en este trabajo se considera la madera inerte, de ahí que el carácter que se le atribuye a los poliporáceos estudiados sea de saprobio.

Los poliporáceos como grupo degradan tanto árboles en pie como troncos caídos y productos comerciales derivados de la madera, lo cual llega a representar grandes pérdidas económicas y de materia prima potencial.

En varias ocasiones se presenta el problema de la ausencia

de fructificaciones en los diferentes casos de degradación de la madera, esto puede deberse a que no se reúnen las condiciones necesarias para que el hongo causante produzca esporocarpos o bien a que éstos son producidos a intervalos bastante prolongados como para encontrarse en cualquier época del año. En esta situación se hace necesario saber cuál es el organismo causal y si aún es capaz de provocar mayor deterioro, de ahí que, la identificación de éste por medio de las características que presenta el micelio sea de gran utilidad, ya que cada especie presenta un conjunto de rasgos que no se repiten enteramente en otras y que son esperables cuando son crecidas en condiciones experimentales. Se ha comprobado que este método para identificar a los hongos xilófagos ha proporcionado una serie de datos precisos de valor en fitopatología, acerca de su actividad y posibles mecanismos de prevención, lo cual justifica la importancia y la necesidad de realizar estudios micológicos que impliquen, además de la identificación y colección de los esporocarpos de los organismos causales, el aislamiento y la descripción de los cultivos respectivos (Overholtz, 1953; Nobles, 1948; 1965; Findlay, 1967), además los estudios correlativos sobre la morfología de los basidio-carpos y los caracteres de cultivo de dichos hongos son de valor potencial en el desarrollo de criterios de importancia taxonómica (Roy, 1981).

La importancia económica de los poliporáceos estriba en que del 100% de los hongos xilófagos, el 75% corresponden a miembros de este grupo, mismos que causan el 90% del deterioro total o par-

cial de la madera comercial (Overholtz, 1953).

El consumo de dióxido de carbono se realiza en diversos ambientes del planeta, terrestres y acuáticos, donde se lleva a cabo actividad fotoautótrofa y quimiolitotótrofa. En el ciclo biogeoquímico del carbono, los hongos y las bacterias participan como los principales descomponedores de la biósfera. Los primeros, y particularmente los polipófitos en los bosques, al degradar los carbohidratos estructurales y la lignina de la pared celular vegetal, producen  $\text{CO}_2$ , además de dejar disponibles elementos esenciales para otras actividades metabólicas lo que hace posible su reciclamiento, evidenciándose así la importancia ecológica de estos organismos.

## 2.2. ORIGEN, ESTRUCTURA Y COMPOSICION DE LA MADERA

En general, los principales productores de madera son las gimnospermas, en particular las coníferas, y las angiospermas o plantas con flores. Ambos grupos comparten características que evidencian su especialización estructural y funcional a través de la diferenciación externa en órganos y la interna en distintas categorías celulares, tejidos y sistemas (Essau, 1977; Raven *et al.*, 1981). Los principales sistemas tisulares de las plantas vasculares son : el tejido fundamental, el tejido dermal y el tejido vascular. Este último está conformado de dos clases de tejidos conductores: el floema y el xilema. El primero es el principal tejido conductor de los nutrientes además está involucrado en su almacenamiento, en la fotosíntesis y en la secreción y se encuentra relacionado espacialmente con el xilema cuya función más importante es la conducción de agua y sustancias en solución aunque también participa en el transporte y almacenamiento de sustancias nutritivas así como en el soporte mecánico del vegetal. (Bold *et al.*, 1980; Raven, *et al.* 1981).

En el desarrollo de la planta están involucrados de manera activa dos tipos de meristemas: apicales y laterales. Los meristemas apicales son responsables del aumento en longitud del vegetal y producen su crecimiento primario; mientras que los meristemas laterales -cambium vascular y cambium del corcho- participan en su incremento en grosor, produciendo el crecimiento secundario cuyo resultado es la formación del sistema vascular secundario. El cambium, localizado por debajo de la corteza, comienza su actividad generalmente al término de la diferenciación primaria, esta actividad consiste en la producción de células que se dividen hacia el interior del tron-

co para formar el xilema secundario o madera. A medida que el diámetro del árbol aumenta, las primeras células de xilema, localizadas en la parte central del mismo, mueren aunque siguen siendo elementos de soporte mecánico constituyendo lo que se conoce como duramen (Tsoumis, 1968; Essau, 1977; Bold et al., 1980; Raven et al., 1981), mientras que las células periféricas forman la zona conocida como albura. La proporción de estos dos componentes varía con la especie y edad del árbol así como con las condiciones medioambientales en que se desarrolle.

La formación del duramen implica la remoción de sustancias de reserva y la depositación de los residuos de las células parenquimatosas, los cuales dan origen a los extractivos que confieren el color oscuro característico del duramen. La producción de estas sustancias está asociada a la senectud y produce un patrón aproximado de la separación entre duramen y albura (Core et al., 1979).

La madera de las coníferas es más homogénea que la de las latifoliadas porque presenta un número menos variado de componentes celulares, está constituida principalmente por traqueidas y parénquima; mientras que en el segundo grupo encontramos parénquima, diversos tipos de fibras y elementos de vaso. Las traqueidas participan en la conducción pero principalmente en el sostén del vegetal; en las angiospermas, las fibras representan el factor que les confiere resistencia mecánica y los vasos son los elementos de conducción.

Las células conductivas de la madera -traqueidas y elementos de vaso- son células alargadas y agudas, con paredes secundarias y

punteaduras, ambas pierden el protoplasto durante la madurez. Las primeras están interconectadas a través de las punteaduras y, a diferencia de los elementos de vaso, no presentan perforaciones en la pared terminal ni forman series celulares longitudinales bien definidas como en el caso de los vasos de las latifoliadas (Wilcox, 1973; Foster y Gifford, 1974). Otro rasgo conspicuo de las gimnospermas es la presencia de canales resiníferos, los cuales pueden ser característicos de algún determinado grupo o formarse como resultado de daño ocasional al organismo vegetal.

La madera presenta tres ejes estructurales -axial, radial y tangencial- que definen tres planos, a saber: transversal, radial y tangencial, a lo largo de los que varían todas sus propiedades (Echenique, 1971). En el plano transversal se aprecian los anillos de crecimiento como círculos concéntricos, las traqueidas y/o los vasos en forma de poros, los radios se observan partiendo del centro a la perifeira, así como la separación entre la albura y el duramen. Una sección radial muestra anillos de crecimiento en una disposición lateral y los radios como vetas horizontales de contornos irregulares. Por último, los cortes hechos siguiendo el plano tangencial muestran los anillos de crecimiento como vetas cónicas entre las que se localizan los radios a manera de rayas verticales angostas (Echenique, 1971; FAHN, , 1974; Core et al., 1979).

A pesar de que los tipos celulares que constituyen la madera varían ampliamente en estructura y dimensión, comparten una semejanza con respecto a la ultraestructura de la pared celular. Esta consiste típicamente de una capa externa -pared primaria- y una pa-



red secundaria formada, a su vez, por tres capas:  $S_1$ ,  $S_2$  y  $S_3$  que se diferencian por la orientación de las microfibrillas de celulosa y entre las células se localiza una lámina media. En la capa  $S_1$  las microfibrillas están orientadas perpendicularmente al eje largo de la célula; en la capa  $S_2$ , la capa más densa, se orientan paralelamente al eje celular y en la  $S_3$  están arregladas de manera paralela a la  $S_1$ . En algunas especies se puede presentar una capa adicional en la superficie interna de la  $S_3$  compuesta por lignina y alguna proteína y se cree que resulta del depósito de los residuos protoplasmáticos de las células muertas (Wilcox, 1973; Core et al., 1979).

En conjunto, las paredes celulares que conforman la madera están constituidas por polímeros orgánicos (celulosa, hemicelulosa y lignina) y por componentes inorgánicos, aunque se encuentran también materiales no estructurales como el almidón, algunas sustancias péptidas y los extractivos tales como lignanos, terpenos, polifenoles, etc.

La celulosa, el principal componente estructural de la madera, es un polímero lineal formado por unidades de D-glucosa unidas por enlaces glucosídicos  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4), conteniendo de 7 000 a 10 000 residuos de glucosa por molécula. En las paredes celulares, las moléculas de este polisacárido están arregladas de manera lineal en las llamadas microfibrillas, las cuales se unen a través de numerosos puentes de hidrógeno (Kirk, 1973). Este polisacárido representa en la madera de angiospermas y gimnospermas del 40-50% del peso seco.

Las moléculas de hemicelulosa son heteropolímeros formados por

unidades de monosacáridos que no están arreglados linealmente, a diferencia de la celulosa y en conjunto tienen un peso molecular menor. Los residuos que, a través de enlaces glucosídicos, forman la hemicelulosa son: D-glucosa, D-manosa, L-arabinosa y D-xilosa en unión con ácido galactónico principalmente. En general, su proporción es de 17-24% en angiospermas y de 25-35 en gimnospermas (Kirk, 1973; Core *et al.*, 1979).

La lignina es un polímero rígido cuyas unidades principales son de oxifenilpropano y están ligadas por medio de enlaces arilglicerol- $\beta$ -ari-éter. En la pared celular el 70% de la lignina se localiza en las capas de la pared secundaria y el resto en la lámina media (Kirk, 1973). Representa el 18-25% del peso seco de la madera de angiospermas y el 25-35% en las gimnospermas.

Los extractivos o componentes secundarios no son elementos estructurales de la madera sino que son depositados en las paredes celulares y condicionan la durabilidad de la misma, constituyen del 1-3% de su peso seco (Fahn, 1974)

Las características macro y microestructurales del sistema tisular vascular y en particular del xilema secundario o madera le confieren propiedades tales como color, olor, sabor, textura, gravedad específica, higroscopía, propiedades acústicas y de aislamiento térmico, dureza y sobre todo resistencia mecánica, que hacen de la madera una materia prima importante a lo largo de la historia y para muy diversos usos, desde la elaboración de herramientas, armas y artesanías hasta en la industria de la construcción, en la industria química y la industria papelera, entre otros, sin embargo, además de sus cualidades, existen factores de carácter geográfico, socioeconómico y político que condicionan su uso.

## 2.3 DEGRADACION DE LA MADERA

### Agentes de deterioro

Debido a su composición química y a su estructura física, la madera está sujeta a degradación, ya sea en el árbol en pie o como producto comercial. Las causas de este deterioro pueden ser abióticas, como el uso mecánico, el intemperismo, el fuego, el secado y la acción de sustancias químicas. Los agentes biológicos implican el ataque de bacterias, hongos, insectos y organismos marinos. Estos biodegradadores son de gran importancia, no obstante, los mayores estragos y pérdidas son ocasionados por la actividad microbiana, comprendiendo bacterias y hongos, cuyos modos de degradación son agrupados, de acuerdo a la forma y severidad del ataque, en categorías descriptivas que pueden coincidir con divisiones taxonómicas. Así, tenemos cinco tipos de daños microbiológicos ocasionados a la madera, a saber: degradación bacteriana, enmohecimiento y manchado (Ascomicetos y Deuteromicetos), pudrición suave (Ascomicetos y Deuteromicetos) y pudrición verdadera (Basidiomicetos) (Scheffer, 1973; Wilcox, 1973).

### Deterioro micológico

El proceso de degradación de la madera implica una secuencia de colonización puramente ecológica durante la cual es llenado, en función de las condiciones medioambientales, un número variable de nichos ecológicos sin que se presente respuesta patológica alguna por tratarse de un material inerte (Levy, 1975). El mismo autor considera que el amplio espectro de microorganismos involucrados en esta colonización incluye diferentes tipos de bacterias -algunas de las cuales pueden ser sinérgicas o antagonistas a otros orga-

nismos-, mohos, hongos cromógenos, hongos que causan pudrición suave, hongos que ocasionan pudrición morena y aquéllos que son responsables de la pudrición blanca.

En cuanto a la sucesión fúngica varios autores coinciden en mencionar tres estadios principales: 1.- invasión de hongos saprobios primarios que se nutre de azúcares sencillos, 2.- crecimiento de hongos celulolíticos acompañados de hongos asociados o saprobios secundarios que metabolizan productos de la degradación de la celulosa y 3.- hongos lignolíticos también con la presencia de saprobios secundarios (KUHrik, 1975; Deacon, 1980; Hudson, 1980).

#### Requerimientos de crecimiento

El tipo de degradación de la madera depende considerablemente de las condiciones en las que ésta se encuentre, es decir deben reunirse un conjunto de factores que favorezcan el crecimiento y desarrollo de los organismos. En particular, dada la importancia de las alteraciones ocasionadas por agentes micológicos, enunciaremos a continuación los requerimientos fisiológicos más importantes de los hongos xilófagos:

- a) Fuente de infección
- b) Sustrato y nutrientes
- c) Humedad
- d) Oxígeno
- e) Temperatura
- f) pH

Cabe aclarar que existe una amplia variación en las necesidades fisiológicas y en la ecología de estos hongos, por lo que las gene-

alizaciones no absolutas, que en este trabajo se hacen están basadas en los datos encontrados en la literatura.

La fuente de infección puede estar representada por cualquier tipo de hongo xilófago dispersado por diversos medios, o por el contacto con madera afectada, es decir, ésta se transmite de manera análoga a los contagios, sin que esto quiera decir que es una enfermedad.

Aunque el sustrato de los organismos con los que estamos tratando sea la madera, algunos de ellos se hallan restringidos a determinadas especies, Cartwright y Findlay (1958) lo atribuyen principalmente a que existen hongos capaces de tolerar concentraciones de sustancia tóxicas del tejido vegetal y, por otra parte, a que encuentran en él condiciones particulares muy especiales para su desarrollo que no se presentan en la madera de otras especies

El contenido natural de nitrógeno de la madera, aunque bajo (0.01-0.03% del peso seco) es suficiente para el desarrollo de los hongos lignícolas, sin embargo, se ha comprobado que éste no puede ser utilizado en ausencia de vitamina B, pero la adición de formas nitrogenadas tanto orgánicas como inorgánicas acelera el proceso de descomposición (Kollman y Côté, 1968; Tsoumis, 1968).

Las especies de hongos varían en sus necesidades de humedad, estrechamente ligadas con los requerimientos de aereación, pero podemos considerar valores promedio. Si bien ningún hongo crece en ausencia de agua, una humedad que represente del 15-20% del peso seco de la madera será suficiente para que se establezca. Las condiciones se tornan más favorables cuando este porcentaje es incremen-

tado como resultado de la actividad respiratoria de los mismos hongos, hasta aproximarse al punto de saturación de la madera (30-35% del peso seco, según la especie) acelerándose su degradación. Así, las condiciones óptimas de humedad para el desarrollo de la actividad descomponedora de estos seres se alcanza cuando el agua representa un 35-50% del peso seco de la madera, etapa en que las células de la madera están embebidas en ella y una pequeña capa cubre la superficie más interna de la pared celular, facilitando la difusión de las enzimas y productos metabólicos fúngicos, quedando un espacio ocupado por el aire, de manera que pueda tener lugar el intercambio gaseoso durante la respiración. Cuando las células están totalmente saturadas de aguas, se acumulan grandes concentraciones de  $\text{CO}_2$  que retardan el crecimiento del hongo. A presiones parciales de  $\text{O}_2$  altamente insuficientes, los productos del metabolismo fungal serán alcohol y ácido oxálico y en ausencia de oxígeno no se producirá crecimiento alguno. Los Ascomicetos y Fungi Imperfecti son más tolerantes a condiciones extremas de humedad y de bajas presiones de  $\text{O}_2$ . Cabe agregar que, a porcentajes bajos de humedad, el hongo puede encontrarse en estado de latencia que le permita resistir las condiciones desfavorables, recuperando su actividad cuando éstas desaparezcan (Cartwright y Findlay, 1958; Kollman y Côté, 1968; Tsoumis, 1968; Panshin y De Zeeuw, 1970; Scheffer, 1973).

En cuanto a temperatura, los requerimientos de estos hongos son muy similares, casi iguales a los de las plantas en general, sin embargo, varían considerablemente entre las distintas especies fungales, oscilando en un rango mínimo de 2-4 C; siendo la tempera-



sa y/o lignina y por la forma de penetración hifal, pues ha sido observado que se introducen por las punteadura y/o perforan las paredes celulares, ya sea por medio de la acción de enzimas secretadas tanto en el ápice como en las superficies laterales de la hifas o mecánicamente a través de estructuras especializadas llamadas microhifas (Liese, 1970). Dentro de estos hongos, los basidiomicetos presentan diferencias importantes con respecto a los sistemas enzimáticos involucrados en la degradación de la madera, por lo que se conocen dos tipos de pudrición verdadera: pudrición morena y pudrición blanca; aunque Liese (1970) agrega una tercera pudrición simultánea.

En todos los casos, según este autor, las hifas exudan las ectoenzimas principalmente en el ápice. Se asume que la producción de estas enzimas está limitada a un período definido de crecimiento hifal. Una pérdida progresiva de sustancia durante el ataque fúngico requiere por lo tanto, un crecimiento hifal continuo aunque no un contacto íntimo entre la hifa y el sustrato, no sin dejar de considerar que para la difusión de éstas un factor limitante sería su peso molecular, lo cual se puede resolver cuando el hongo presenta estructuras especializadas como las microhifas que pueden penetrar aún más en el sustrato :

#### Pudrición morena

La madera afectada por pudrición morena adquiere un color café rojizo como resultado de la remoción preferencial de los carbohidratos estructurales sobre la lignina; tiende a agrietarse transversalmente al grano por lo que se presenta un característico pa-



trón de agrietamiento, al secarse se contrae longitudinalmente tornándose quebradiza y quedando reducida a una masa polvorienta.

La alteración microscópica consiste en un colapso de las paredes celulares cuyo grado varía grandemente entre cada una de las células y aún entre las diversas porciones de la pared, así, ha sido observado que su desintegración principia con la formación de cavidades en la capa  $S_2$  o con su destrucción total, mientras que la capa  $S_3$  se mantiene intacta. Esto significa que la destrucción del material de la pared celular es llevada a cabo rápidamente de manera irregular, explicándose así la apariencia cúbica de la madera alterada (Kollman y Côté, 1968; Wilcox, 1973). Por otra parte, Dircol (1978) menciona que también se presentan rupturas en la pared que provocan la dislocación o separación de las células a nivel de lámina media, observables tanto en el plano transversal como en el longitudinal, acompañados estos daños de la formación de hendiduras longitudinales en la pared.

Liese (1970) menciona que las hifas de estos hongos penetran a nivel de células de radio y se distribuyen hacia las traqueidas. Los toros de las punteaduras son muy sensibles a su ataque aunque también observa que atraviesan las paredes perforándolas y haciendo canales que conforme avanza el deterioro y se expande el crecimiento del micelio llegan a formar grandes aberturas entre las traqueidas o las fibras.

Los hongos que causan este tipo de pudrición metabolizan únicamente la fracción de polisacáridos estructurales, depolimerizándolos en moléculas solubles de bajo peso. En torno al rápido decre-

mento inicial de las cadenas de celulosa, se ha sugerido que éste puede ser debido a un proceso no enzimático o quizá a un sistema precelulolítico. Koenings (1972) y Highley (1980) (citados por Véliz Avila, 1982) mencionan que en la degradación de celulosa por estos hongos, en efecto intervienen dos sistemas combinados: el primero, un sistema inorgánico de  $H_2O_2 + Fe^{++}$  que inicia el rompimiento de las cadenas de celulosa cristalina en polímeros cortos sobre los que actúa un sistema enzimático conocido como Cx consistente en  $\beta(1 \rightarrow 4)$  glucanasas, desdoblándolos en unidades pequeñas de celobiosa que a su vez son hidrolizadas por las  $\beta$ -glucosidasas para producir glucosa la cual es incorporada al metabolismo del hongo

Aunque estos basidiomicetos no metabolizan la lignina, si alteran su conformación, y aumenta su solubilidad, introduciendo grupos polares al polímero, con el rompimiento de los enlaces entre éste y los carbohidratos estructurales y finalmente con su fragmentación (Kirk, 1973).

#### Pudrición blanca

Por otra parte, la madera que es atacada por pudrición blanca, sufre una decoloración como resultado de la remoción de los componentes estructurales, adquiriendo tonalidades blanquecinas o grisáceas principalmente, su textura es esponjosa y fibrosa, no presenta un agrietamiento conspicuo como en el caso anterior sino manchas blanquecinas y betas separadas por madera más o menos firme. La madera conserva su resistencia y su forma hasta estadios muy avanzados de deterioro, no así durante la pudrición morena, lo cual se

debe a la remoción gradual de los carbohidratos y la lignina (Panshin y De Zeeuw, 1970).

El efecto microscópico más importante es el adelgazamiento progresivo de la pared celular, empezando desde el lumen hacia la lámina media, desapareciendo en los primeros estadios de la invasión las capas  $S_3$  y  $S_2$  en contraste con la desaparición de la  $S_1$  y de la pared primaria la cual ocurre ya en estados muy avanzados de deterioro; sin embargo, la lámina media y los contornos celulares subsisten durante lapsos más prolongados debido a que la lignina, que la constituye en un 90%, es más resistente al ataque enzimático que la celulosa, lo cual explica la coherencia tisular que conserva la madera (Dírol, 1976).

Durante esta pudrición, los hongos responsables metabolizan a los polisacáridos estructurales y la lignina. Atendiendo a esto, son reconocidos dos tipos de hongos causantes de pudrición blanca: descomponedores simultáneos de carbohidratos y lignina y descomponedores preferenciales de lignina (Wilcox, 1973), aunque Liese (1970) considera estrictamente como hongos de pudrición blanca a aquellos que empiezan por metabolizar la lignina y las hemicelulosas y la celulosa hasta estadios posteriores de deterioro, considerando como causantes de pudrición simultánea a aquellos que degradan casi a la misma tasa la celulosa la hemicelulosa y la lignina. Estos hongos forman microhifas que perforan los tejidos y que penetran directamente a través de las paredes celulares y secretan enzimas que, al concentrarse principalmente en la zona apical, forman un área cónica de degradación que se extiende en canal y ata-

can preferencialmente a las angiospermas; sin embargo, a pesar que la diferencia principal entre este tipo de deterioro y la pudrición blanca reside en la acción enzimática no existe una clara distinción entre estos procesos. En ambos las hifas invaden el tejido a través de la células de radio, los vasos o atravesando horizontalmente las paredes celulares. Las perforaciones que hacen tienden a aumentar de diámetro progresivamente durante la descomposición llegando a formarse grandes aberturas entre las células, observándose además, en la pudrición simultánea, que las superficies atacadas presentan una erosión a manera de canales de ríos.

El sistema enzimático de degradación de la celulosa consiste de un componente  $C_1$  probablemente de naturaleza glucoproteica de  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) glucanasas y de  $\beta$  glucosidasas, cuya acción es igual a la de la pudrición morena.

En ambos casos, la degradación de la lignina es producida por oxigenasas y deshidrogenasas extracelulares que desmetilan y oxigenan los componentes de la lignina (Kirk, 1973).

Se ha encontrado una aparente preferencia de los basidiomicetos causantes de pudrición verdadera hacia ciertas maderas, incluso algunos de ellos se hallan bastante restringidos. De manera general ha sido establecido por Cowling (1961, citado por Kollman y Côté . . . , 1968) y reiterado por Liese (1970) que los hongos causantes de pudrición blanca están asociados más frecuentemente con la degradación de madera de angiospermas, mientras que los que provocan pudrición morena se relacionan con la degradación de gimnospermas.

### 3. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

Para entender el proceso de degradación biológica de la madera se requiere información sobre la colonización de este sustrato, el establecimiento y la interacción de los hongos causales con las células de la madera y la identificación confiable de estos organismos. Ahora bien, el entendimiento de dicho estudio se incrementa haciendo observaciones que lleven a la caracterización de los hongos xilófagos, y particularmente de los polipórficos, ya que el proceso de colonización de la madera implica una serie de nichos a ocuparse por cierto rango de especies donde cada una manifiesta diferentes reacciones fisioecológicas de importancia en la identificación de estos hongos como causantes de descomposición. Los caracteres morfológicos de los carpóforos y las diferentes pruebas macroquímicas practicadas a los mismos contribuyen a la identificación pero el problema de la ausencia de fructificaciones durante gran parte del año implica la necesidad de una metodología distinta para clasificar a estos organismos a partir de las características del micelio y de su actividad silofágica, de manera tal que permita colocarlos dentro de grupos de organismos con actividad fisioecológica similar.

El objetivo general de este trabajo es realizar una caracterización comparativa de dos especies de polipórficos xilófagos procedentes de regiones de clima templado, atendiendo fundamentalmente a su actividad degradadora, siendo una de ellas causante de pudrición morena y la otra de pudrición blanca.

De lo anterior se desprenden los siguientes objetivos particulares:

- Describir algunas características morfológicas -macroscópicas y microscópicas- y fisiológicas de los micelios de Fomes pinicola y de Polyporus versicolor desarrollados in vitro.

- Comparar los efectos macroscópicos y microscópicos que causan estos organismos en madera de pino y liquidámbar bajo condiciones de laboratorio.

- Estimar la capacidad que tienen estos hongos para degradar el sustrato en cuestión.

#### 4. METODOS Y MATERIALES

##### 4.1 Obtención de las muestras

El trabajo de campo consistió en la colecta y descripción de las fructificaciones y sustrato de Fomes pinicola y Polyporus versicolor en dos regiones de clima templado: el Parque Nacional "Desierto de los Leones", Cruz Blanca, D.F. y el Parque Nacional "Cerro Garnica", Municipio de Cd. Hidalgo Mich., a una altitud de 2290 msnm, correspondiente a una región de bosque de pino y oyamel.

##### 4.2 Aislamiento y Purificación.

Previamente al secado de los ejemplares colectados, se realizó el aislamiento del micelio de las especies problema a partir de una fracción del contexto de las fructificaciones; para tal efecto fue utilizado el medio Benomyl-agar selectivo para basidiomicetos cuya composición es la siguiente:

|                    |        |    |
|--------------------|--------|----|
| Extracto de malta  | 30.0   | g  |
| Agar               | 15.0   |    |
| Benomyl            | 0.008  |    |
| Fenol en cristales | 0.050  |    |
| Agua destilada     | 1000.0 | ml |

Pinzón-Picaseño et. al., 1982), posteriormente se llevó a cabo el secado del material colectado siguiendo los métodos convencionales.

En el laboratorio se realizó la purificación de los cultivos a través de repetidas resiembras para eliminar contaminantes bacterianos y lavaduriformes en Estreptomycina-agar y Rosa de Bengala-actidiona.

#### 4.3 Descripción de las características morfológicas y fisiológicas de los cultivos.

Una vez obtenido el estado axénico de los cultivos se procedió a su caracterización, para lo cual fue necesario primeramente obtener un inóculo inicial resembrando el micelio en Malta-agar al 12.5% (Nobles, 1965) incubando durante dos semanas a temperatura ambiente y en obscuridad. Al cabo de este lapso se tomó un inóculo de  $2-3\text{mm}^2$  y fue colocado periféricamente en cajas de petri de  $2.0 \times 10.0\text{cm}$  utilizándose 10 cajas por cada especie cuyos crecimientos miceliales fueron descritos semanalmente durante 6 semanas de incubación a temperatura ambiente y en obscuridad.

Las características coloniales consideradas fueron: forma, radio, margen, textura y topografía. La descripción de la morfología microscópica se hizo a partir de preparaciones frescas de los cultivos montadas en KOH al 5% y teñidas con floxina al 0.1% y de preparaciones fijas en lactofenol teñidas con azul algodón observadas en un microscopio fotónica Carl Zeiss modelo estándar anotándose el tipo de hifas, la septación, el diámetro de las mismas, presencia de estructuras especializadas como esporas asexuales, bulbillos, etc.

Por otra parte, las características fisiológicas que se registraron fueron: tasa de crecimiento expresada en el número de semanas que tarda el micelio en cubrir totalmente el agar, olor y color de los cultivos, cambios en el color del medio provocados por el crecimiento del hongo, presencia de oxidasas extracelulares la cual fue detectada cualitativamente mediante los métodos de Bavendam y el de



Badcock, descritos por Nobles (1948) y Véliz-Avila (1982). El primero consiste en inocular periféricamente cajas de petri con medios ácido gálico y ácido tánico-agar incubando durante tres semanas a temperatura ambiente y en obscuridad. En la segunda prueba el micelio se inoculó en tubos de cultivo de 2 x 20 cm con aserrín húmedo enriquecido con harina de hueso y harina de maíz y se incubó durante cuatro semanas en las mismas condiciones de temperatura y luminosidad.

#### Método de Bavendam

|                       |        |    |
|-----------------------|--------|----|
| Extracto de malta     | 15.0   | g  |
| Acido tánico (gálico) | 5.0    |    |
| Agar                  | 20.0   |    |
| Agua destilada        | 1000.0 | ml |

#### Método de Badcock

|                               |        |   |
|-------------------------------|--------|---|
| Aserrín de pino               | 1000.0 | g |
| Harina de maíz                | 30.0   |   |
| Harina de hueso               | 20.0   |   |
| Agua destilada (la necesaria) |        |   |

#### 4.4 Estimación de la capacidad de degradar la madera.

La estimación de la capacidad de degradación de los hongos y el daño ocasionado a madera de Pinus sp. y Liquidambar sp., se hizo empleando una modificación de la técnica suelo bloque descrita por Pinzón-Picaseño et al., (1982). En este método se utilizan como cámaras de pudrición frascos conserva de 235 ml de capacidad. Como medio de cultivo se utiliza suelo de bosque del horizonte U-20 colecta-

do en el volcán Xitle Sierra del Ajusco, D.F., 3000 msnm, bajo las especificaciones de la ASTM D 1413-61 y D2017 (American Society for Testing and Materials, 1967) y AWWA M 10-171 (American Wood Preservers Association, 1971), que consisten en: suelo franco arenoso, con capacidad de retención de agua entre 20 y 30%, pH 5 a 7 y volumen normalizado ( $118\text{cm}^3$ ) que pesa más de 90g y ocupa la mitad de la capacidad del frasco utilizado. Cada cámara de pudrición fue preparada de la siguiente manera: a un volumen de agua destilada calculado para obtener una capacidad de retención de agua del 130% se le agregó un volumen normalizado de suelo en el cual fueron sembrados un bloque de madera de pino y un bloque de madera de líquidámbar de 30 x 10 x 5 mm, a diferencia con lo descrito por Pinzón-Picaseño et al. (1982) quienes en cada cámara pusieron dos bloques de la misma madera. Los bloques fueron previamente sometidos a un proceso de secado durante 24 horas a  $105^\circ\text{C}$  para obtener su peso anhidro inicial. Las así preparadas fueron esterilizadas en autoclave durante 1 hora a 15 lb de presión después de lo cual se procedió a inocular cada bloque con  $1\text{ cm}^2$  de medio con el micelio de las especies estudiadas. Estos cultivos se incubaron durante seis semanas a temperatura ambiente y en obscuridad. Al cabo de este lapso cada bloque fue cepillado eliminando el micelio superficial y secado durante 24 horas a  $105^\circ\text{C}$ , finalmente se tomó el peso anhidro final de cada uno de ellos.

#### 4.5 Descripción de los daños morfológicos ocasionados in vitro a madera de Pinus sp y Liquidambar sp.

##### 4.5.1 Microscopía fotónica

Para describir y comparar la alteración morfológica que sufrió la madera a causa de la acción de estos poliporáceos, se hicieron cortes semifinos a lo largo de los tres planos estructurales con navaja de rasurar y se siguieron dos técnicas de tinción diferencial: safranina-verde rápido y safranina-azul de picronilina (Wilcox, 1964; Vilchis-Arqueta, 1983) y una técnica modificada por Vilchis-Arqueta (1983) para la observación de material disociado.

##### 4.5.2 Microscopía electrónica

a) Obtención de la muestra. Atendiendo a los resultados obtenidos en la prueba de suelo-bloque se escogieron con sus respectivos testigos, dos bloques de pino y liquidámbar que exhibieron un crecimiento micelial moderado. Tales bloques no fueron sometidos al proceso de secado final indicado en la técnica anteriormente mencionada para evitar que el micelio sufriera algún daño. Posteriormente se obtuvieron cubos debidamente orientados de 5mm de arista a partir de los bloques seleccionados.

b) Fijación. Los cubos con crecimiento micelial fueron fijados en una solución de glutaraldehído al 2,5% en una solución amortiguadora de fosfatos a un pH de 7,4 durante 1 hora.

c) Deshidratación. La deshidratación de las muestras se llevó a cabo en alcoholes graduales del 50 al 100% durante una hora en cada uno, con dos cambios en la última concentración

y finalmente en acetona al 100% durante una hora.

d) Secado. Las muestras fueron secadas a punto crítico con  $\text{CO}_2$  (31.1 C) y 1073 lb/pulg.<sup>2</sup> en una secadora Techniques CPA II.

e) Recubrimiento. Los especímenes fueron recubiertos con dos capas de material conductor, la primera de carbón (grafito) y la segunda de oro; para tal efecto se utilizó una evaporadora de vacío modelo JEOL JEE-4 B.

f) Una vez procesadas las muestras fueron observadas en un microscopio electrónico de barrido JEOL-JSM-35 a un kilovoltaje de 20 kv.

## 5. RESULTADOS

Fomes pinicola (Swartz ex Fries) Cooke

Fomitopsis pinicola (Swartz ex Fries) Karst

Polyporus pinicola (Swartz ex Fries)

Código: 1.3.8. (32).34.36.38.(44-46). 50.55

Cuerpo fructífero sésil, efuso reflejado; píleo convexo hacia el centro, 15.0 \* 21.0 x 3.8-10.0 x 0.5 - 1.6 cm, capa resinosa (7D8 a 10F, Methuen) café canela a café violáceo al margen; contexto pálido, cambia a café rojizo con KOH al 2.5%, leñosa; himenio poroides, color (4A3 a 5A2, Methuen) de crema a blanco naranja; poros circulares de 2 a 4 por mm, tubos 4 - 5 mm de longitud, estratificados (6D7 Methuen) café canela en KOH al 2.5%, esporas elípticas de 9.7 - 11.2 x 3.7 - 4.5  $\mu$ m; hifas hialinas.

Características de crecimiento. La tasa de crecimiento de este poliporáceo fue de lenta a moderadamente rápida ya que el micelio tardó en cubrir la caja de petri de 4 a 6 semanas (Figs. 1-3). Margen filamentosos a llanos, translúcido; la forma de las colonias fue de filamentosas a circulares; topografía apesada en la mayoría de los cultivos aunque en algunos tendió a ser un poco umbonada. Los tapetes miceliales eran color blanco-translúcido (36) cuya textura varió de subfieltrosa con borlitas aisladas, felpudo algodonosa a algodonosalanosa y farinácea. Aunque los tapetes no presentaron una densidad homogénea la apariencia general fue uniforme. Todos los cultivos pre-exudados en forma de pequeñas gotas que abundaban hacia la periferia de la colonia aunque no precisamente en el margen. El reverso del agar no sufrió cambio alguno (38) en la mayoría de los aislamientos, no

obstante dos de ellos parecían haberlo aclarado. Olor predominantemente fragante (50). El pH del medio fue de 3.0 durante las tres primeras semanas, 2.5 la cuarta y nuevamente 3.0 las dos últimas. El crecimiento en ácido gálico fue mayor en que ácido tánico alcanzando hasta 9,5 cm de diámetro con respecto a 4.8 cm en el segundo medio; la respuesta obtenida en cada uno de estos medios fue distinta, en ácido tánico la reacción fue clara y constantemente negativa (1), es decir no hubo formación de zonas de difusión indicando por tanto la ausencia de oxidasas extracelulares, pero en ácido gálico se presentaron respuestas erráticas, negativas y positivas en estas últimas el inóculo tenía una apariencia carbonizada. Por otra parte, en la prueba de Badcock, *F. pinicola* exhibió una respuesta característica de pudrición morena, el aserrín sufrió un aclaramiento conspicuo, el crecimiento del micelio, aunque fue abundante no cubrió más de 2/3 partes del tubo de cultivo evidenciándose por lo tanto la acción del hongo en la parte colonizada con respecto al área no invadida.

Características hifales. Zona de avance. Numerosas hifas nodosas, hialinas, tortuosas, de paredes delgadas (3)  $\mu$ m contenido, algunas presentaron pequeñas protuberancias, diámetro (0.8) 1.6-4.0 (6.0)  $\mu$ m. Escasas hifas fibrosas (8) 1.6-3.6 (4.8)  $\mu$ m de diámetro, fueron más escasas en las partes viejas del tapete (Fig.4). Micelio aéreo. Hifas nodosas semejantes a las descritas para la zona de avance. Hifas fibrosas muy abundantes (0.8) 1.2-2.3 (4.0)  $\mu$ m, gruesas y refráctiles, aseptadas, sin ramificaciones, algunas con pequeñas protuberancias, lumen no apreciable, extremos agudos y algunos

bulbillos o nudos de hifas. Numerosas clamisporas (34) libres de tres formas.  $6.4-9.6 \times 7.2-6.0 \mu m$ ;  $8.0-11.2 \times 4.0-6.4 \mu m$ ;  $13.6-19.1 (28.7) \times 3.2-5.2 (9.6) \mu m$  (Fig. 5). Micelio sumergido. Hifas nodosas semejantes a las anteriormente descritas  $0.8-6.4 \mu m$  de diámetro. Hifas fibrosas como las del micelio aéreo  $2.0-3.2 \mu m$  de diámetro. Numerosos cristales polihédricos de  $4.0-6.0 \times 8.5-5.6 \mu m$  (Fig. 6).

Ninguno de los cultivos fructificó.

Se encontró creciendo en gimnosperma. (55).

Descripción de los daños ocasionados a la madera de pino.

Fomes pinicola presentó una capacidad moderada de degradación de las maderas ensayadas, encontrándose que ocasionó una pérdida de peso promedio de 20.75% a los bloques de pino.

En cuanto a los daños macroscópicos observados fueron:

Cambio de coloración de los bloques. La madera adquirió un tono café rojizo y aspecto quemado, se deformaron los contornos de los bloques y presentaban pequeñas perforaciones a lo largo de los tres planos estructurales.

Cambios estructurales microscópicos

Las observaciones microscópicas realizadas revelaron la presencia de hifas hialinas, nodoso septadas tanto gruesas como delgadas, de paredes delgadas, poco ramificadas o con ramificaciones pequeñas; en porciones arregladas en "telaraña" que observada a mayor aumento reveló la presencia de microhifas; filamentos con pequeñas protuberancias y posibles esporas asuales; asociados al micelio de este hongo también se detectaron escasos cristales romboidales (Fig. 7, 8).

En general la mayor abundancia de hifas se detectó en el plano

radial; de los radios se destruyeron menormente hacia las traqueidas atravesando punteaduras de campo de cruce, aeroladas o bien perforando las paredes celulares; dichos filamentos cruzan las traqueidas de lado a lado y se extienden longitudinalmente pegadas a la pared (Fig.8,9).

En cuanto a los daños estructurales, en el plano radial se evidenciaron la separación intertraqueal, fisuras radiales longitudinales y fisuras en las traqueidas a lo largo de varias direcciones; perforaciones en las paredes celulares, agrandamiento y deformación de punteaduras areoladas y simples, grietas a partir de punteaduras pinoides y posibles canales de erosión, se apreció la degradación del parénquima radial y algunas cavidades en ojal (Fig.8-12)

Por otra parte, en el plano tangencial se observó el mismo tipo de hifas descrito anteriormente aunque en menor cantidad. Las ramificaciones de estos filamentos pasan a través de las punteaduras areoladas de traqueidas adyacentes penetrando por el torus o bien haciendo canales de erosión conforme avanzan (Fig.13 ). Se evidenció la alteración de las células de los canales resiníferos, perforaciones, fisuras y la degradación integral del parénquima radial (Figs. 14-16).

Finalmente en el plano transversal además del mismo tipo de hifas se observó claramente la dislocación intertraqueal, la deformación de las traqueidas, el paso de las hifas a través de perforaciones y fisuración. No se observó el colapso de las traqueidas (Fig. 17 ).



Descripción de los daños ocasionados a la madera de liquidámbar.

F. pinicola también presentó una capacidad moderada de degradación para esta madera, la pérdida de peso promedio fue de 14.03%, menor en un 6.70 % que la causada a los bloques de pino, lo cual hace pensar en una preferencia del poliporáceo por la madera de éste último.

En general el micelio observado fue el mismo que se describió para el caso del pino: nodoso, hialino, con pequeñas protuberancias, paredes delgadas, extremos en gancho, ramificaciones pequeñas, esporas asexuales y cristales además de nudos de hifas, sin embargo en algunas preparaciones se encontraron escasas hifas de micromicetos.

El micelio no fue tan abundante como en las secciones de pino, aunque si se observaron filamentos en las fibras y elementos de vaso que se distribuían desde los radios evidenciándose mecanismos de penetración similares, es decir se notó el paso del hongo a través de las diferentes clases de punteaduras, de las platinas de perforación de los vasos o de perforaciones hechas por el hongo en las paredes (Figs. 18-22).

Con respecto a los daños ocasionados éstos no difieren en general de los que se presentaron en madera de pino, a saber: agrandamiento de punteaduras simples y areoladas, alteración de las platinas de perforación, fisuración longitudinal de las paredes de las fibras, dislocación y desarreglo de las mismas, destrucción de radios aunque en menor grado que en pino. Se observaron cavidades en ojal, grietas perpendiculares al eje de las fibras (Figs.19 y 22). En esta madera, a diferencia del caso anterior, si se observó claramente en el plano transversal el colapso y la ruptura de las mismas. (Figs. 23,24).

Polyporus versicolor (L. ex Fries).

Coriolus versicolor (L. ex Fr.) Quél.

Trametes versicolor (L. ex Fr.)

Código: 2.3.8.11.(32).34.36.40.42.51.54.

Basidiocarpo sésil a efuso reflejado, imbricado coriáceo en fresco, rígido y flexible al secar, marccente, pfelo 1.8-6.8 x 1.5-3.3. cm > 1mm, color variable en zonas concéntricas, del centro a la periferia (8F2, 6F5, 5D3 a 5C3, Methuen) café negrusco, naranja-café, café obscuro a café grisáceo; sedoso viloso a velutinoso; contexto blanco menos de 1mm de grosor; himenio blanquecino en fresco y ( 5A3, Methuen) naranja pálido al secar; tubos hasta 1mm de longitud, poros regulares, de paredes delgadas, enteros, de 6-8 por mm; esporas elípticas 4.0-6.0 x 1.5-2.0  $\mu\text{m}$  ; hifas de 3.0-4.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, hialinas.

Características de crecimiento. Tasa de crecimiento promedio rápida, cubriendo el agar en dos semanas (42) levantándose el micelio por el borde de la caja de petri (Fig.25-27). Margen filamentosos a llano, translúcido, en algunas regiones elevado. Las colonias eran circulares a filamentosas, topografía predominantemente apresada, en algunos cultivos tendían a formarse pequeñas pilas de micelio aéreo. Los tapetes eran de color blanco (36) y la textura variaba a lo largo del período de incubación de subfieltrosa y suave farinácea a fieltrosa-algodonosa y aterciopelada con papilas, pocos cultivos presentaron una textura lacunosa y gotas de exudados abundantes en las partes más viejas y densas del tapete micelial. El reverso del agar cambió a un color blanco (40) después de la tercera semana de creci

miento del hongo. Olor húmedo a inodoro (51). El pH del medio fue de 4.5-5.0 durante las dos primeras semanas, de 4.5-4.0 las dos siguientes, de 4.0 para la quinta y finalmente 4.5 para la sexta semana. En general, el crecimiento micelial no fue uniforme, ya que los cultivos presentaban regiones de mayor densidad y tendían a formar zonas concéntricas de crecimiento. En ácido gálico y ácido tánico se formaron zonas de difusión oscuras, indicando en ambos medios que se trató de un polipofaceo que producía oxidasa extracelular (2) y que por lo tanto causaba pudrición blanca, sin embargo, el crecimiento presentó algunas diferencias atendiendo al medio. En el primero no hubo crecimiento alguno, el inóculo tenía la apariencia de estar carbonizado y en el segundo, es decir en ácido tánico, el crecimiento del organismo alcanzó 8.3 cm de diámetro. En la prueba de Badcock P. versicolor respondió positivamente ocasionando que el aserrín adquiriera un color rojizo oscuro, el crecimiento fue muy abundante, cubriendo la longitud total del tubo de cultivo.

Características hifales. Zona de avance. Hifas nodosas, hialinas, fíbulas muy frecuentes, paredes delgadas (3), algunas sin contenido (0.8) 1.2-3.6 (4. 4.)  $\mu\text{m}$  de diámetro, pocas presentaron ganchos o protuberancias. Hifas fibrosas (8), paredes gruesas y refráctiles, engrosamientos irregulares y extremos redondeados, lumen apreciable sólo en algunas porciones (1.2) 1.6-2.8 (3.0)  $\mu\text{m}$  de diámetro. Escasa clamidosporas (34) libres y terminales (Fig. 28). Micelio aéreo. Hifas fibrosas con pequeñas protuberancias, semejantes a las de la zona de avance, con paredes irregulares y gruesas refráctiles. Esporas asexua

les de pared no muy gruesa, poco refringentes, libres 6.4-12.8 x . 4.8-7.2 $\mu$ m , terminales 6.4-13.2 x 0.8-2.4 $\mu$ m (Fig.29 ). Micelio sumergido. Hifas nodosas semejantes a las de la zona de avance (Fig. 30).

Ningún cultivo fructificó.

Colectado asociado a angiosperma (54).

#### Descripción de los daños ocasionados a la madera de pino.

En lo que respecta a la capacidad de P. versicolor para degradar la madera, los resultados muestran que ocasionó una pérdida de peso promedio de 1.37% a los bloques de pino.

Por otra parte, la apariencia de los bloques cambió después del tratamiento con el hongo, adquiriendo un ligero tono oscuro pero ningún tipo de deformación.

Cambios estructurales microscópicos.

En los cortes semifinos de esta madera fue observado en menor abundancia un micelio nodoso, hialino, con presencia de hifas delgadas, arregladas en "telaraña" evidenciándose la presencia de microhifas, bulbillos y posibles esporas asexuales (Fig.31).

Los filamentos penetraron en los diferentes elementos celulares -parénquima y traqueidas- a través de punteaduras y cruzando la pared, por perforaciones, de lado a lado (Figs. 32-34).

En el plano radial se observaron como daños estructurales los siguientes: agrandamiento de punteaduras, fisuración longitudinal, perforaciones irregulares. Se apreciaron también unas formas de erosión de la pared que parecen moldes del cauce de un río (Fig.35 ).

Por otro lado, en el plano tangencial se observó la destrucción

de los radios por hifas que se distribuían longitudinalmente atravesando las paredes o pasando por las punteaduras areoladas, mismas que sufrían agrandamiento y deformación, así como las del campo de cruce. Se observaron también fisuras y perforaciones en las traqueidas (Figs. 36-39).

Finalmente en el plano transversal se evidenció el adelgazamiento de la pared de las traqueidas y las aberturas de las mismas (Figs. 40).

Descripción de los daños ocasionados a la madera de liquidámbar.

P. versicolor causó a los bloques de liquidámbar una pérdida de peso promedio de 20.06%, 18.69% más que a los bloques de pino, esto se interpretó como una marcada selectividad del hongo por la madera de la angiosperma.

Se observó un micelio hialino, nodoso de filamentos delgados y gruesos con microhifas, colonizando ampliamente el plano radial de donde se distribuía longitudinalmente, notándose mayor abundancias en los elementos de vaso más próximos a los radios y en general en las fibras las hifas eran muy escasas o ausentes.

Las hifas se distribuyeron longitudinalmente y en todas las secciones pasando por las punteaduras del campo de cruce y atravesando las paredes de los radios y fibras (Figs. 41, 42).

En el plano radial se apreció evidentemente la degradación de las células de parénquima, perforaciones en fibras y vasos y fisuras radiales y cavidades en ojal asociadas a hifas (Figs. 42-44). Por otra parte en pocas secciones se observaron escasas hifas de micromicetos.

En los cortes tangenciales se apreció el mismo tipo de micelio y los mismos mecanismos de penetración, así pues se observó el paso del hongo a través de las platinas de perforación, de punteaduras y perforaciones (Fig.42 ). En cuanto a ls alteraciones estructurales resultaron evidentes la destrucción de los radios, fisuras longitudinales y perforaciones en restos de parénquima y vasos así como la producción de canales de erosión en fibras (Figs. 45-48).

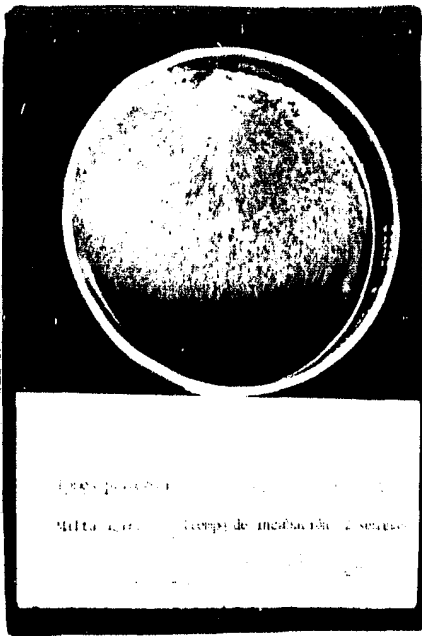


Fig. 1

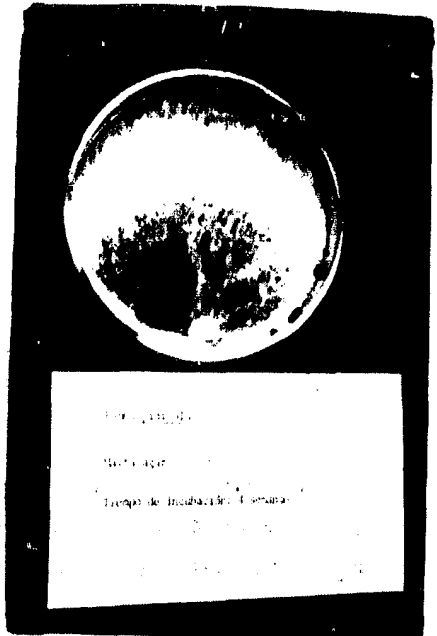


Fig. 2

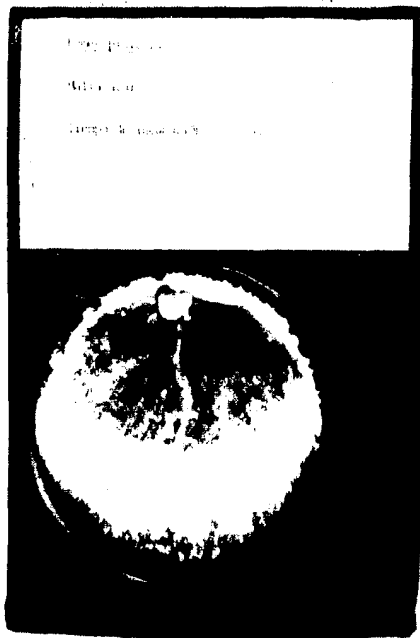


Fig. 3



Fig. 7



Fig. 8





Fig. 9

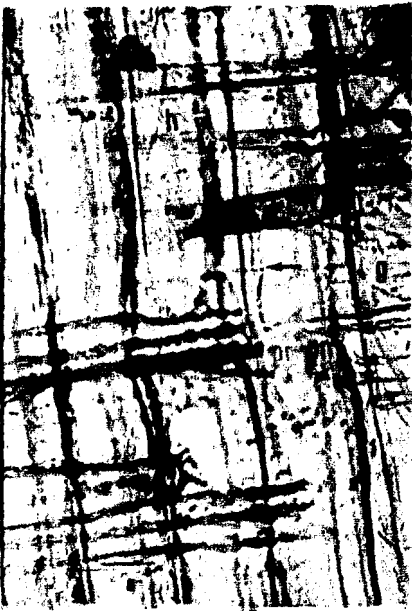


Fig. 10



Fig. 11



Fig. 12

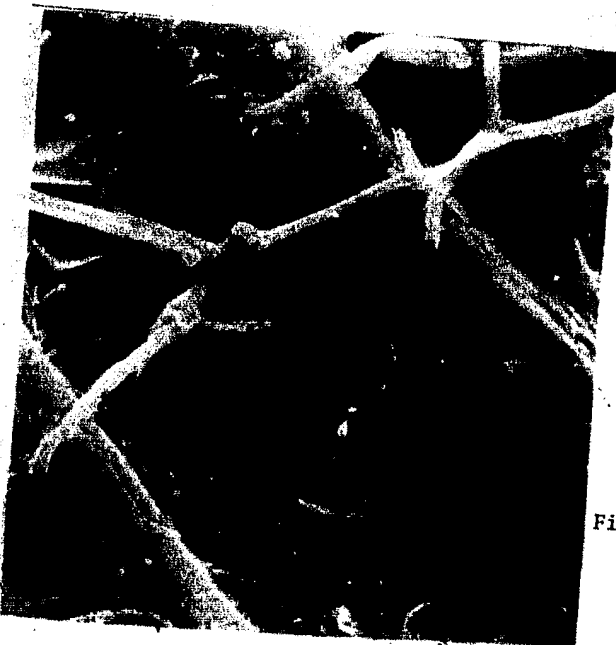
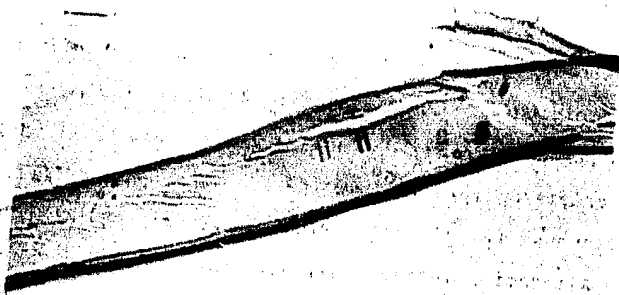


Fig. 13

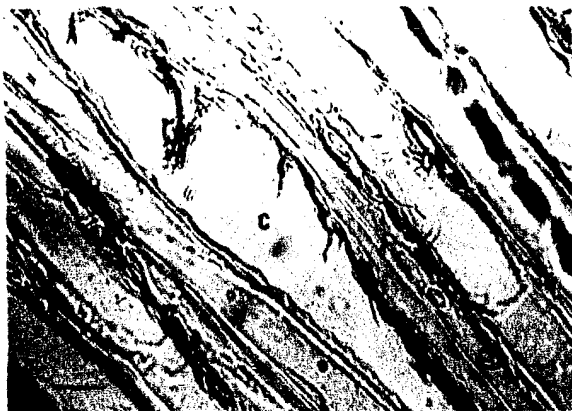


Fig. 14



Fig. 15



Fig. 16

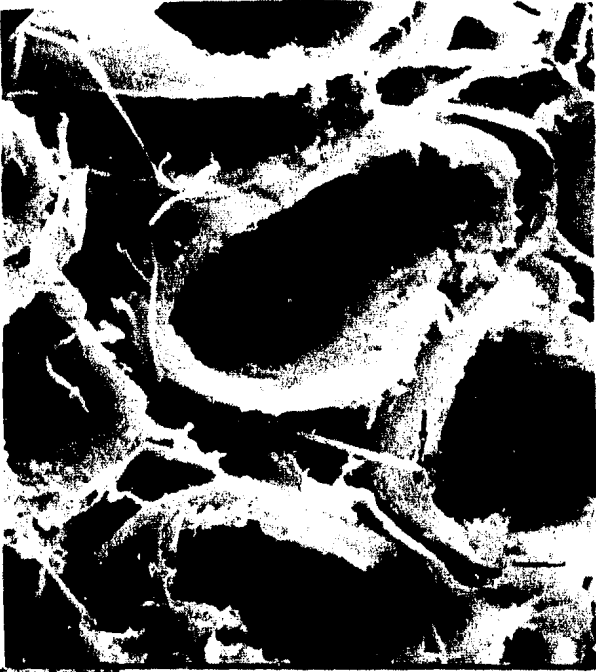


Fig. 17



Fig. 18

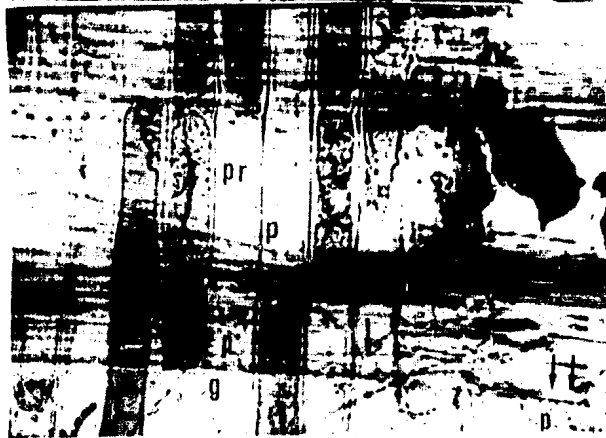


Fig. 19

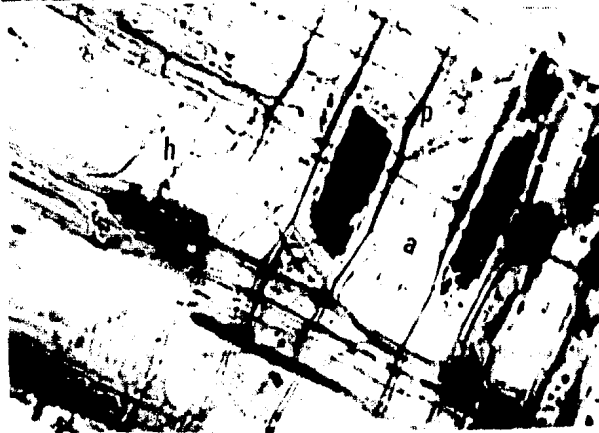


Fig. 20



Fig. 21



Fig. 22

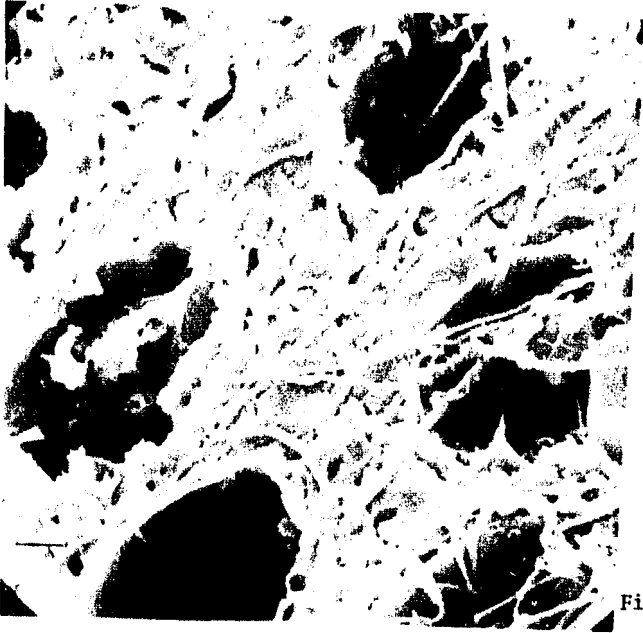


Fig. 23

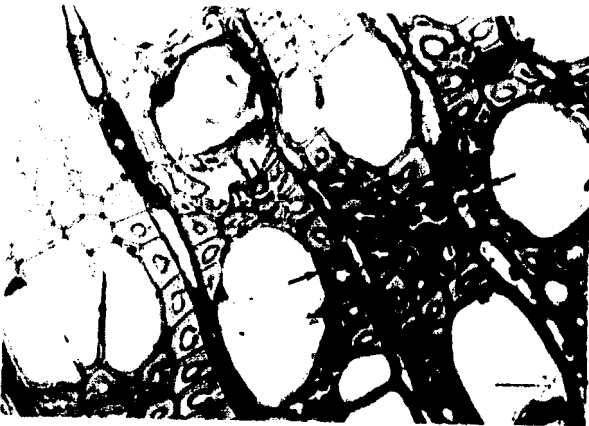


Fig. 24

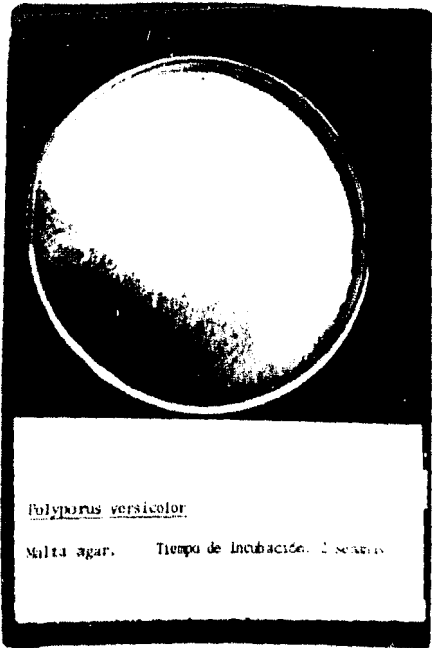


Fig. 25

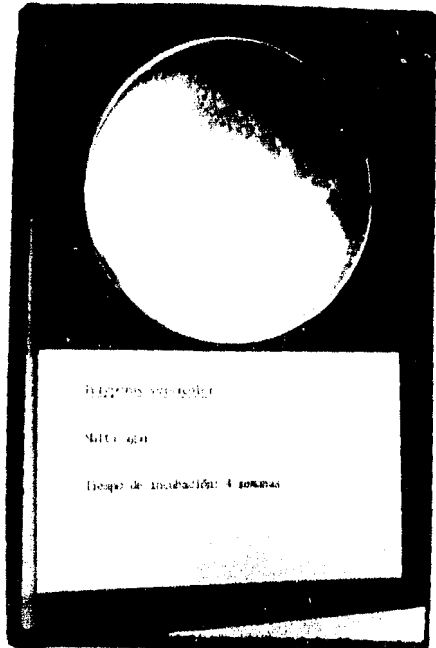


Fig. 26

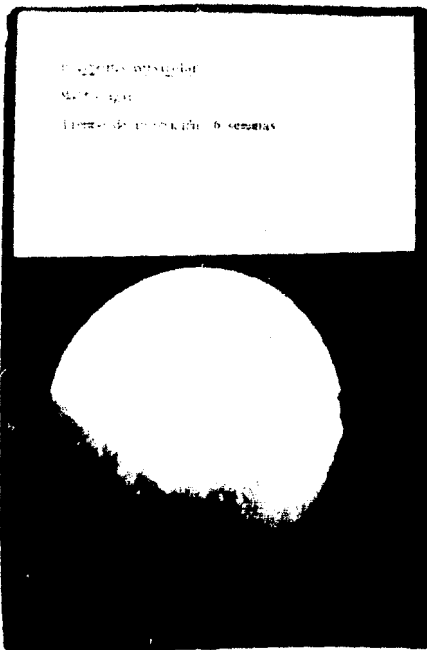


Fig. 27



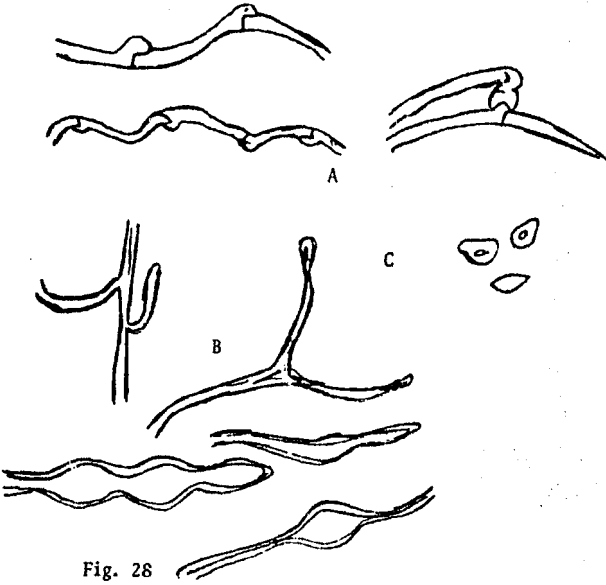


Fig. 28

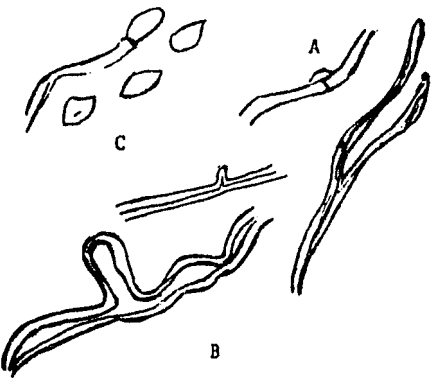


Fig. 29

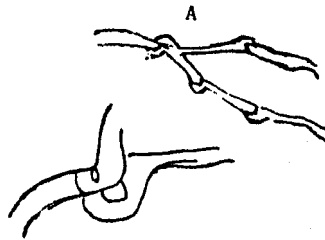


Fig. 30



Fig. 31



Fig. 32

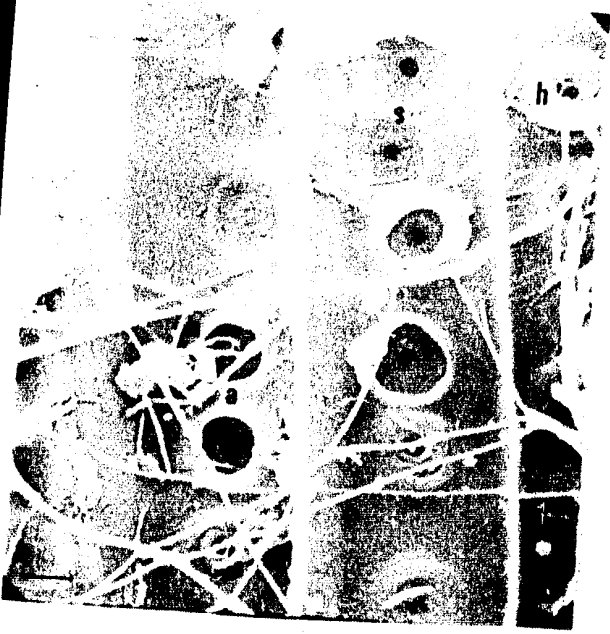


Fig. 33

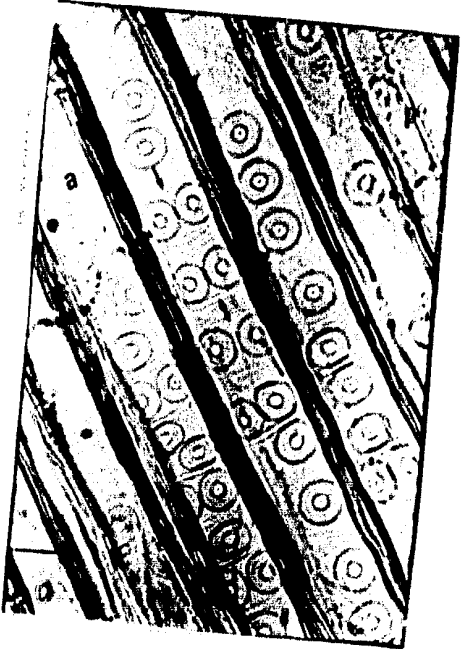


Fig. 34



Fig. 35



Fig. 36



Fig. 37



Fig. 38



Fig. 40



Fig. 39



Fig. 41 †



Fig. 42



Fig. 43

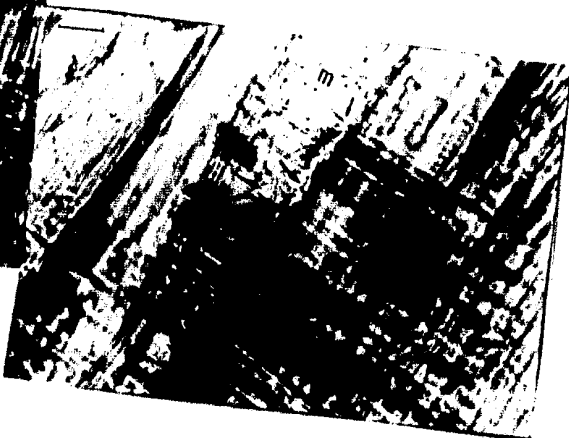


Fig. 44



Fig. 45

Fig. 47

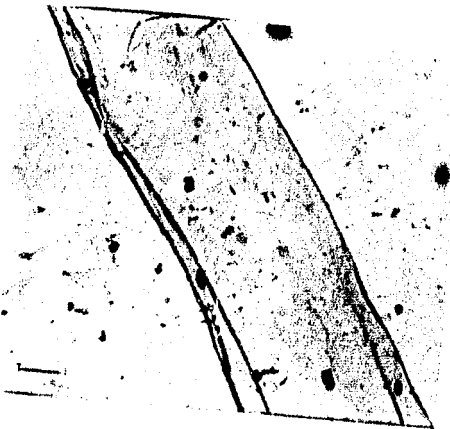


Fig. 46

Fig. 48



## 6. DISCUSION

En cuanto a la metodología empleada cabe decir primeramente que es de suma importancia el trabajo microbiológico, aquel que está directamente involucrado con el aislamiento y purificación de los micelios a caracterizar.

Particularizando ya en las pruebas empleadas para la caracterización, con el método de Bavendam se presentó la dificultad de las contaminaciones de los cultivos por especies ajenas a este estudio tales como Aspergillus sp. y Penicillium sp. entre otras lo cual provocó que esta prueba tuviera que ser repetida en varias ocasiones, sin embargo al no disponer de los recursos necesario para implementar otro método para detectar oxidasa, particularmente el empleo de guayacol, la prueba de Bavendam sigue siendo de suma utilidad y fidelidad.

El método de Badcock, para determinar tipo de pudrición aunque también ofrece riesgos de contaminación, en este trabajo no se tuvo tal problema, sin embargo tiene dos inconvenientes con respecto al método anterior y son primeramente que el tiempo necesario para obtener una respuesta se requiere un lapso de cuatro semanas de incubación como mínimo con respecto a las dos semanas que se necesitan como mínimo en la prueba anteriormente descrita. El otro inconveniente estriba en que se favorecen confusiones al referirse a los resultados ya que las reacciones de cambio de color son inversas a las que se dan en la naturaleza, es decir pudrición blanca implica un oscurecimiento del aserrín y la pudrición morena un aclaramiento. No obstante dicha prueba es de utilidad para ratificar los resultados obtenidos con el método de Bavendam.

Con respecto al método suelo-bloque, se implementó una modificación en la cual los tipos de madera se encontraban en contacto con el hongo al mismo tiempo de tal manera que si éste presentaba selectividad por alguna de ellas fuera detectada por las diferencias de peso que ocasionara a cada una de ellas. Se puede decir que este objetivo se logró, sin embargo, este método, como modelo de las condiciones naturales aún resulta muy pobre, entre otras cosas habría que considerar diferentes tipos de maderas presentes en el hábitat natural de los hongos y no sólo, como en este caso, algunas que son ampliamente conocidas y utilizadas en el país.

Finalmente, los dos tipos de microscopía utilizadas en la observación de la madera dañada resultaron ser complementarias entre sí ya que algunos daños estructurales o ciertas características morfológicas del micelio se notaron más claramente con uno de los dos métodos o bien era ratificada su presencia.

Con respecto a los resultados obtenidos, según Nobles (1965) las especies que tienen afinidades en las características de cultivo pueden ser organizadas en grupos naturales, sin embargo algunas especies presentan una variabilidad tal que resultan ubicadas en diversos lugares de su clave.

En el caso particular de Fomes pinicola, los cultivos aislados en el presente trabajo presentaron algunas diferencias con respecto a la descripción de dicha autora, concretamente en los siguientes puntos;

- El límite inferior del rango que reporta ella para el día-

métro de las hifas nodosas fue menor en aquéllas encontradas en los cultivos.

- La longitud y forma de las clamidosporas, ya que las encontradas en los cultivos trabajados medían  $1.0\mu$  más que las reportadas por Nobles (1965).

Las dimensiones que alcanzad las colonias cuando crecen en ácido gálico y tánico resultaron mayores que las descritas en la obra citada.

- Reacción variable en ácido gálico desde respuestas positivas, erráticas y negativas para F. pinicola. Aunque se ha comprobado que la producción de zonas de difusión en la prueba de Bavendam se debe a la oxidación de los ácidos por la acción de determinadas enzimas que sólo secretan los hongos capaces de degradar la lignina; F. pinicola exhibió una respuesta variable en ácido gálico.

El resto de los caracteres considerados si se insertan en el rango de variabilidad descrito por Nobles (1948; 1965), no obstante este hongo carece de caracteres de cultivo distintivos bien demarcados.

En cuanto a Polyporus versicolor es en los siguientes rasgos donde se notó una diferencia con respecto a la descripción de Nobles (1948; 1965):

- El olor de los cultivos es de húmedo a inodoro y no "a pescado".

- El crecimiento en ácido tánico alcanzó hasta 8.3 cm de diámetro y fue nulo en ácido gálico.

- El diámetro de las hifas nodosas y fibrosas fue menor que el

por lá autora mencionada.

- Las clamidosporas encontradas en los cultivos son mayores que las reportadas en las descripciones que sirvieron de base.

En el caso de esta especie se observó que dos caracteres que Nobles (1948) menciona como particulares, el olor y la dimensión de las clamidosporas, difieren considerablemente con lo observado en esta tesis.

A pesar de tratarse de dos especies de poliporáceos con diferente complemento enzimático, como se evidenció en las pruebas correspondientes, existe una semejanza en los mecanismos de penetración, la distribución y los daños generales ocasionados ambas maderas. Así pues, para el caso de pino, se observó que tanto F. pinicola como P. versicolor penetraron a través de punteaduras simples y areoladas así como a través de perforaciones que hacen en la pared de los elementos de la madera, las alteraciones que ambos hongos causan son las perforaciones ya mencionadas, fisuras radiales longitudinales y alrededor de las punteaduras, agrandamiento y deformación de las mismas y degradación del pañenquima radial y canales resiníferos.

Las diferencias que se apreciaron fueron que F. pinicola ocasionó una separación y dislocación intertraqueal que no se observó en el caso de P. versicolor.

En la madera de pino atacada por éste último se notaron rebordes en las paredes de las traqueidas que podrían ser interpretados como canales de erosión invertidos aunque la diferencia principal consistió en el adelgazamiento de la pared. Este tipo de erosión Liese (1970) los describe como "moldes del cause de un río" típicos

de pudrición simultánea.

En la madera de liquidámbar el fenómeno de degradación presentó las mismas características generales, con la diferencia de que se observaron cavidades en ojal más abundantes en el caso de P. versicolor, notándose además las platinas de perforación escaleriformes de los vasos como vías de distribución del micelio siendo éste menos abundante para el caso de F. pinicola en esta madera y lo contrario para P. versicolor el cual fue observado mayormente en los vasos.

En resumen, la diferencia tajante encontrada entre el ataque de Fomes pinicola y el de Polyporus versicolor fue la dislocación de los elementos axiales en pino y el colapso de los mismos en liquidámbar causados por el primero en contraste con el adelgazamiento y rebordes causados por el segundo.

Sin embargo, con respecto al trabajo de Wilcox (1968) se encontraron algunas diferencias. Este autor reporta que no observó producción de perforaciones en ninguna de las maderas durante la pudrición morena o que éstas fueron muy escasas. En contraste en este trabajo si se encontró que éste es un mecanismo de penetración ampliamente empleado por F. pinicola causante de este tipo de pudrición. También contrastando con lo que este autor reporta, se encontró que este hongo causó daños en los elementos de vaso tales como perforaciones, fisuras y daños a la platina de perforación así como a las células de parénquima las que presentaron agrandamiento de las punteaduras del campo de cruce y fisuras radiales, no obstante, también se registraron estos daños a nivel de fibras sobre todo la presencia de fisuras y el colapso de las paredes, en algunos casos si

se observó la disminución del lumen celular.

En pino, a diferencia de liquidámbar, no se notó el colapso de las paredes celulares de las traqueidas, los lúmenes eran amplios aunque si hubo separación y dislocación celular, lo cual no concuerda totalmente con lo mencionado por Wilcox (1968) quien observó colapso de las traqueidas de pino así como adelgazamiento de las mismas en el caso de pudrición morena por Poria monticola.

Los daños ocasionados por *P. versicolor* observados en este trabajo, concuerdan en general con lo que menciona dicho autor para las dos maderas, sólo habría que apuntar que atendiendo a la descripción de las diferentes pudriciones hecha por Liese (1970) podría pensarse que este hongo queda dentro de los causantes de pudrición simultánea porque además de las características descritas para estos hongos, se observó un tipo de erosión de la pared típico de este tipo de pudrición. Nilsson (1973) reporta también esta alteración característica pero observada en el lumen celular a diferencia del presente trabajo, en donde se observó en la superficie externa de la pared.

Con respecto al trabajo de Vilchis-Arqueta (1983) también se observó que las hifas eran más abundantes en los elementos de vaso que en las fibras para ambos hongos. En cuanto a los daños más comunes en fibras esta autora menciona en orden de ocurrencia los canales de erosión, las perforaciones y finalmente el agrandamiento de punteaduras en este punto existe una marcada diferencia con los datos obtenidos en esta tesis ya que se observó, a nivel de fibras, como daño más común el agrandamiento de las punteaduras que los ca-

nales de erosión.

A nivel de células de parénquima se coincidió con la observación del agrandamiento de punteaduras como el daño más frecuente, encontrando además una alta ocurrencia de fisuras radiales; aunque cabe anotar que el agrandamiento de punteaduras parece no ser significativo en cuanto a abundancia se refiere debido a que estas estructuras se localizan mayormente en este tipo de células.

Finalmente con respecto a los elementos de vaso el daño más frecuentemente observado fue la producción de perforaciones a diferencia con el trabajo citado en donde se encontró una mayor ocurrencia de canales de erosión en estas células. Se podría suponer que la escasez de canales de erosión se debe a que las hifas penetran transversalmente las paredes celulares y forman canales que se expanden conforme crece el micelio formándose así cavidades y fisuras de mayor tamaño que fueron observadas más frecuentemente.

## 7. CONCLUSIONES

El estudio de las características morfológicas de cultivo de los hongos xilófagos y sus caracteres fisiológicos especialmente los efectos sobre la madera así como el tipo de pudrición que causan ayuda a formular un sistema de clasificación de los poliporáceos que refleje sus relaciones naturales y su filogenia. Sin embargo habrá que considerar que la validez de tal sistema estará sujeta a que los caracteres de cultivo sean reconocidos también en los basidiocarpos.

Se observó una semejanza general entre los dos tipos de degradación ocasionada por *F. pinicola* y *P. versicolor*, sin embargo se puede concluir que los cambios estructurales que ocurren durante la degradación de la madera están determinados por varios factores, entre los cuales están el tipo de exoenzimas que secreta el descomponedor, los diferentes mecanismos que éste emplee para obtener los nutrientes a partir de este sustrato, como la formación de microhifas, las condiciones ambientales en las que se lleva a cabo el proceso, la ultraestructura de la madera, sus propiedades fisicoquímicas, la velocidad de descomposición de los componentes estructurales de las paredes celulares y la presencia de organismos secundarios que utilicen los subproductos de dicha descomposición.



## 8. RECOMENDACIONES

El estudio de la degradación biológica, particularmente micológica, de la madera es un campo muy amplio del cual esta tesis sólo representa una pequeña contribución, de ahí que se propongan una serie de trabajos encaminados a incrementar la información y el entendimiento de este fenómeno y que pueden ser realizados con los recursos con que cuentan las instituciones del país.

- Continuar la caracterización de las especies en cuestión , y en general, con estudios de interfertilidad a fin de incluir información acerca de las relaciones filogenéticas de las especies de hongos descomponedores de la madera, en este caso particular de poliporáceos.

-- Llevar a cabo estudios morfofisiológicos del micelio a la par que estudios de las fructificaciones con el fin de elaborar una clave basada lo más posible en características naturales de las especies.

- Elaborar colecciones de fructificaciones con sus cultivos respectivos.

- Realizar estudios microscópicos secuenciales a distintos tiempos del proceso de descomposición de la madera para entender mejor la colonización, el establecimiento y la interacción del hongo descomponedor con el sustrato.

## 9. REFERENCIAS

- ALEXOPOULOS, C.J. and Mims, C.W. 1979. Introductory Mycology, 3rd. ed.. John Wiley and Sons, New York.
- BAKSHI, B.K. 1971. Indian Polyporaceae. Indian Council of Agricultural Research. New Delhi.
- BOLD, H.C. 1973. Morphology of Plants. Harper & Row Publishers, New York.
- BOLD, H.C., Alexopoulos, C.J., and Delevoryas, T. 1980. Morphology of Plants and Fungi. 4th.ed. Harper & Row. New York.
- CARTWRIGHT, K. St.G. and Findlay, W.P.K. 1958. Decay of Timber and Its Prevention. 2nd. ed. Her Majesty's Stationery Office. London.
- CORE, H.A., Cote, W.A. and Day, A.C. 1979. Wood Structure and Identification. 2nd. ed. Syracuse University Press. New York.
- DEACON, J.W. 1980. Introduction to Modern Mycology. Blackwell Scientific Publications. London.
- DE LA PAZ PEREZ OLVERA, C. y Salinas Quinard, R. 1977. "Prueba rápida de laboratorio indicadora de resistencia a la pudrición de 2 especies de encino". Ciencia Forestal 2 (6): 3-19.
- DIROL, D. 1976. "Etude in vitro de la colonisation et de la dégradation structurale du bois de hêtre par Coriolus versicolor (L.) Quélet." Rev. de Mycologie, Tome 40.
- \_\_\_\_\_, 1978. "Etude in vitro de la colonisation et de la dégradation structurales du bois d'aulx de Pin sylvestre par la Mèrulle: Serpula lacrymans Schum ex Fr. S.F. Gray." Rev. de Mycologie, Tome 42
- ECHENIQUE M. R. 1971. Características de la Madera y su Uso en la Construcción. UNAM. México.
- ESSAU, R. 1977. Anatomy of Seed Plants. John Wiley and Sons. New York.

- FAHN, A. 1974. Anatomía Vegetal. 2a. ed. Blume. Madrid.
- FINDLAY, W.P.K. 1967. Timber Pests and Diseases. Pergamon Press. Oxford.
- FOSTER, A.S. and Gifford, E.M. 1974. Comparative Morphology of Vascular Plants. 2nd. ed. W.H. Freeman and Co., San Francisco.
- GARCIA CARMONA, G. 1948. Resistencia Relativa de Algunas Maderas Tropicales Mexicanas a los Hongos Xilófagos. Tesis profesional. Facultad de Química. UNAM.
- GOMEZ NAVA, M.S.R., Echenique Manrique, R. y Salinas Quinard, R. 1969. "Índices de laboratorio sobre resistencia de la madera a la pudrición en especies forestales mexicanas." Bol. Téc. Inst. Nac. Invest. For. 31. México.
- HERRERA RODRIGUEZ, J.A., GOMEZ NAVA, M.S. y Herrera Bailon. 1976. "Durabilidad natural de la madera de especies forestales mexicanas." Bol. Téc. Inst. Nac. Invest. For. 52. México.
- HUDSON, H.J. 1980. Fungal Saprophytism. Edward Arnold, Pub. London.
- HERNANDEZ JIMENEZ, J. 1984. Tipo de Pudrición, Agresividad y Tolerancia a la Creosota de algunos Hongos Xilófagos. Tesis profesional. Biología. ENEP Iztacala. UNAM. México.
- KARLIK, K.A. 1973. "Succession of microorganisms during wood decay". En Liese, W. (ed.): 1975 Biological Transformation of Wood by Microorganisms. Springer-Verlag. Berlin.
- KIRK, T.K. 1973. "The Chemistry and Biochemistry of Decay" En Nicholas D.A. (ed.). 1973. Wood Deterioration and Its Prevention by Preservative Treatments. Syracuse University Press. New York.

- KOLLMAN, F.P. and Cote, W.A. 1968. Principles of Wood Science and Technology. Vol. I. Solid Wood. Springer-Verlag. Berlin.
- LIESE, W. 1970. "Ultrastructural aspects of woody tissue desintegration." Ann. Rev. Phytoph. 8: 231-258.
- LEVY, J.F. 1975. "Colonisation of Wood by Fungi". En Liese, W. (Ed.). Biological Transformation of Wood by Microorganisms. Springer-Verlag. Berlin.
- LOPEZ GUERRERO, M.T. 1979. Caracterización de Algunos Cultivos de Hongos Causantes de Pudrición en la Madera. Tesis profesional. Biología. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- MARGULIS, L. and Schwartz, K.V. 1982. Five Kingdoms. An Illustrated Guide to the Phyla of Life on Earth. W.H. Freeman. San Francisco.
- MARTINEZ MARCIAL, J.D. 1983. Ensayo de Laboratorio sobre Agresividad de Hongos Xilófagos hacia Maderas Tropicales Mexicanas. Tesis profesional. Biología. ENEP. Iztacala. UNAM. México.
- Nilsson, T. 1973. "Studies on wood degradation and cellulolytic activity of microfungi." Forestalia Suecica Nr. 104.
- NOBLES, M.K. 1948. "Studies in forest pathology. V. Identification of cultures of wood-rotting fungi". Canad. J. Res. C., 26: 281-431
- \_\_\_\_\_ 1965. "Identification of cultures of wood-inhabiting hymenozetes." Canad. Journ. Bot. 43: 1097-1139.
- OBREGON ARCEO, M.C. y Echenique Manrique, R. 1974. "Identificación de hongos habitantes de ptes de madera". An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México. 45, Ser. Botánica (1): 11-20
- OVERHOLTZ, L.O. 1953. The Polyporaceae of the United States, Alaska and Canada. Ann. Arbor. London.

- PANSHIN, A.J. and De Zeeuw, C. 1970. Textbook of Wood Technology. Vol. I. McGraw-Hill. New York.
- PEGLER, D.N. 1973. "Aphylophorales IV. Poroid Families". En Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K. AND Sussman, A.S. The Fungi. An Advanced Treatise. Academic Press, New York.
- PEREZ MORALES, J.V., Pinzón-Picaseño, L.M. y Echenique Manrique, R. 1977. "Ensayo de laboratorio sobre resistencia natural de la madera de especies tropicales mexicanas al ataque de hongos xilófagos". Bol. Soc. Mex. Mic. 11: 99-107.
- PINZON-PICASEÑO, L.M., López-Guerrero, M.T., Véliz-Avila, F.A. y Martínez-Marcial, J.D. 1982. "Métodos para el estudio de algunas características de los hongos xilófagos como organismos degradadores de la madera". Bol. Soc. Mex. Mic. 17: 147-157.
- RAVEN. P.H., Evert, R.F. and Curtis, H. 1981. Biology of Plants. Worth Pub. Inc. New York.
- ROBINSON, P.M. 1979. Practical Fungi Physiology. John Wiley and Sons. New York.
- ROY, . 1981. "Studies on Indian Polyporaceae. VI. Morphological and Cultural Characteristics of *Irpex flavus* Klotzsch". Nova Hedwigia 34. Braunschwieg.
- SALINAS QUINARD, R. y Macías-Campos, M.G. 1979. "Técnicas anatómico-microscópicas para detectar microorganismos asociados con descortezadores (*Dendroctonus sp.*) productores de la "mancha azul". Ciencia Forestal. 4. (20). México.
- SCHEFFER, T.C. and Cowling, E.B. 1973. "Natural Resistance of Wood to Microbial Deterioration" En Nicholas, D.A. (ed.). Wood Deteriora-

tion and Its Prevention by Preservative Treatments. Vol I. Degradation Protection of Wood. Syracuse University Press. New York.

- SMITH, H. V. and Smith, A.H. 1973. How to Know the Non-guilled Fleahy Fungi. W.N.C. Brown Co., Pub. Iowa.
- TSOUNIS, G. 1968. Wood as a Raw Material. Pergamon Press. London.
- VELIZ AVILA, F.A. 1982. Caracterización de 22 Cepas de Hongos Basidiomicetos Causantes de Pudrición en la Madera. Tesis profesional. Biología. ENEP. Iztacala. UNAM. México.
- VILCHIS ARQUETA, M.B. 1983. Micromorfología de la Pudrición Causada por Hongos Xilófagos en Maderas Tropicales Deterioradas en Condiciones Naturales. Tesis profesional. Biología. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- WILCOX, W. 1964. "Some methods used in studying microbiological deterioration of wood". U.S.A. For. Serv. Forest Products Laboratory Research Note FPL-063.
- \_\_\_\_\_ 1968. "Changes in wood microstructure through progressive stages of decay". Forest Products Laboratory Service. U.S. Department of Agriculture.
- \_\_\_\_\_ 1973. "Degradation in relation to wood structure. En: Nicholas, D.A. (ed.). Wood Deterioration and Its Prevention by Preservative Treatments. Vol. I. Degradation and Protection of Wood. Syracuse University Press. New York.