



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA**

**ESTUDIOS FISIOLÓGICOS INTEGRALES CON
HONGOS DE IMPORTANCIA FORESTAL: ACCIÓN
XILOFÁGICA Y COMPORTAMIENTO EN
CULTIVO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L Ó G A

P R E S E N T A :

MARIA ELENA RUIZ RODRIGUEZ



Los Reyes Iztacala

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

Deseo expresar mi agradecimiento y reconocimiento a mi director de tesis M. en C. Luis M. Pinzón Picaseño, por haberme brindado la oportunidad de explorar y conocer su amplio campo de investigación y por todo el apoyo y paciencia recibida para finalizar esta etapa (gracias).

Agradezco las facilidades otorgadas por el Laboratorio de Biodeterioro y Preservación de Productos Forestales, Departamento de Botánica, Instituto de Biología, UNAM para la realización de este estudio.

*Mi más sincero agradecimiento a mis padres:
Rafael y Cecilia*

*A mis hermanos: Rafael, Yolanda, Laura,
Alfredo, Patricia y Cecilia.*

A mis amigos (as).

A mis compañeras de Laboratorio.

*Y a todas aquellas personas que influyeron para
el desarrollo de este trabajo.*

Finalmente, agradezco al Jurado Dictaminador:

Biól. Ma. Guadalupe Oliva Torres

Biól. Irene Frutis Molina

M. en C. Luis M. Pinzón Picaseño

Biól. Gloria Garduño Solonzano

Biól. Jacobo Martínez Marcial

por sus revisiones y sugerencias para el trabajo.

Así mismo, agradezco a la *Biól. Irene Frutis Molina* el trabajo realizado para confirmar la identificación de las fructificaciones de los hongos de estudio.

CONTENIDO

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
2.1. Conceptos Generales.	3
2.1.1. Los Bosques.	3
2.1.2. Los Enemigos del Bosque.	5
2.1.3. Los Hongos Xilófagos o causantes de Pudrición.	8
2.1.4. Degradación Enzimática de la Madera.	15
2.1.4.1. Degradación de la Celulosa.	15
2.1.4.2. Degradación de la Lignina.	16
2.1.5. Conceptos de Biodeterioro, Biodegradación, Saprofitismo, Parasitismo, Enfermedad y Patología Forestal.	17
2.1.6. Detección, Diagnóstico, Evaluación y Control de Problemas de Pudriciones en Patología Forestal.	19
2.1.7. Las Pruebas de Laboratorio como Apoyo a la Patología Forestal.	22
2.1.8. Los Postulados de Koch.	25
2.2. Antecedentes	26
2.2.1. Sistemática e Importancia de los Hongos <i>Fomitopsis pinicola</i> y <i>Heterobasidion annosum</i> .	26
2.2.2. Estudios Sobre Pudriciones en Arboles en México.	30
2.2.3. Estudios Sobre Hongos Biodeterioradores de la Madera en México.	34
2.2.4. Problemas de Pudrición del Duramen en Oyameles en el Parque Nacional Nevado de Toluca.	36
2.3. Objetivos y Finalidades.	40

3. MATERIALES Y METODOS	41
3.1. Aislamiento de las Cepas.	41
3.2. Obtención de Suficiente Inóculo.	44
3.3. Pruebas para Determinar el Tipo de Pudrición de las Cepas.	45
3.3.1. Método de Bavendamm del Cultivo en Malta Agar con Acidos Gálico y Tánico.	46
3.3.2. Método de Cultivo de Aserrín de Badcock.	47
3.3.3. Método de Cultivo en Malta Agar con Aserrín-Guayacol	48
3.4. Observación de las Características de los Micelios en Cultivo.	49
3.5. Prueba para Evaluar la Agresividad de las Cepas.	52
4. RESULTADOS Y DISCUSION	58
4.1. Determinación del Tipo de Pudrición.	58
4.2. Descripción de las Características de los Micelios en Cultivo.	67
4.3. Evaluación de la Agresividad.	125
4.4. Conclusiones y consideraciones finales.	141
5. LITERATURA CITADA	144

1. RESUMEN

El presente trabajo comprende una serie de estudios cuya integración contribuye al conocimiento de dos especies de hongos xilófagos de importancia forestal: *Fomitopsis pinicola* (Sw. ex Fr.) P. Karst. y *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. En la introducción, se expone panorámicamente la importancia y problemática actual de los bosques, especificando el efecto que causan los hongos xilófagos en los árboles y algunos aspectos relevantes de su fisiología. Son revisados y actualizados los conceptos biológicos relacionados con la pudrición de la madera en árboles en pie y se propone una metodología sistemática para su estudio, en las fases de: detección, diagnóstico, evaluación y control. Se establece la conveniencia de las pruebas de laboratorio como apoyo a estos estudios y su afinidad teórico-práctica con los postulados de Koch.

Los antecedentes del trabajo incluyen la sistemática e importancia de las dos especies de hongos. También son analizados los estudios realizados en México sobre pudriciones en árboles y sobre hongos biodeterioradores de la madera en general. La alta incidencia de pudrición del duramen en oyameles (*Abies religiosa* (H.B.K.) Schl. et Cham.) del Ejido "Loma Alta" del Nevado de Toluca, motivó la estructuración del presente proyecto cuyos objetivos fueron: explorar la zona y seleccionar casos típicos de pudrición del duramen, aislar el micelio asociado a la madera o de fructificaciones de los hongos, probar y comparar tres diferentes técnicas de laboratorio para determinar el tipo de pudrición que causan los hongos, observar y describir las características de los micelios y evaluar la agresividad de los hongos hacia el duramen del oyamel.

Los resultados fueron consistentes al comprobar que 7 cepas de *F. pinicola* fueron causantes de pudrición morena y la cepa de *H. annosum* fue causante de pudrición blanca. La observación y descripción de las características de los micelios reveló que *H. annosum* es muy fácil de distinguir por sus conidióforos oedocéfaloideos con botrioblastosporas, mientras que *F. pinicola* es difícil de identificar por no presentar estructuras tan determinantes. Con respecto a agresividad, la población local de *F. pinicola* fue predominantemente de agresiva a altamente agresiva y el aislamiento de *H. annosum* fue ligeramente agresivo. Esto es indicativo de la importancia de estas especies como agentes degradadores y biodeterioradores de la madera.

La integración de varias técnicas para el estudio de los hongos causantes de pudrición en árboles, aporta información muy útil para el diagnóstico y evaluación de estos agentes biodeterioradores.

2. INTRODUCCION
2.1. Conceptos Generales
2.1.1. Los Bosques

Los bosques son comunidades muy complejas puesto que son considerados como una estructura dinámica con una dependencia recíproca y directa de todos los componentes abióticos y bióticos.

La importancia del uso racional de este recurso, que cubre una tercera parte de la superficie continental, se torna evidente, ya que los bosques son indispensables para la existencia y bienestar de la vida humana, por ejemplo:

- Contribuyen proporcionando una atmósfera favorable de oxígeno.
- Mantienen la humedad que hay en la atmósfera y en el suelo.
- Forman una capa del suelo orgánico, producido por las hojas de los árboles y la madera en descomposición.
- Protegen las vertientes, evitando la erosión del suelo.
- Sirven de hábitat y dan alimento a los animales silvestres.
- Proveen de beneficios económicos al hombre, con productos como: madera, corteza, exudados, extractivos e innumerables subproductos, como la celulosa.
- Y además, son aprovechados como fuente de esparcimiento y tranquilidad.

Sin embargo, la situación forestal actual se ve afectada directamente por la tala inmoderada, el desarrollo urbano, los incendios y el pastoreo no controlado, además del estado fitosanitario de los árboles, debido a que están sujetos a muchas plagas y enfermedades.

Los bosques del mundo, no sólo son los principales consumidores de anhídrido carbónico en la tierra, sino que también representan la principal reserva de carbono fijado biológicamente.

En la naturaleza, la biodegradación de la madera, es un proceso necesario y contínuo para mantener fértil el suelo, el reciclaje de elementos a la atmósfera y esto se lleva a cabo gracias a que los hongos son los principales degradadores de restos orgánicos de animales y vegetales muertos (Boyce, 1961; Hudson, 1972, 1986).

La cantidad de carbono que retorna a la atmósfera cada año, como resultado de la degradación microbiana de la celulosa, ha sido estimada en 85 millones de toneladas por año (Cowling, 1963, citado por Gilbertson 1974). Si la incorporación de carbono atmosférico en la madera, a través de la fotosíntesis, continuara mientras que la pudrición cesara, el bajo contenido de CO₂ en la atmósfera podría caer pronto a un nivel demasiado bajo para sostener la vida en el planeta (Hudson, 1986; Gilbertson, 1974).

No obstante, la deterioración de la madera por hongos, puede llegar a ser indeseable, cuando es atacada, estando en servicio o como producto forestal. Por ejemplo, en México y en el mundo, las pudriciones del duramen del tronco provocadas por hongos xilófagos tienen gran importancia económica.

2.1.2. Los Enemigos del Bosque

Los bosques, paradójicamente, son al mismo tiempo resistentes al impacto independiente de un gran número de agentes perjudiciales, y también susceptibles al efecto nocivo de unos cuantos de estos agentes combinados. A estos agentes, bien podría denominárseles enemigos del bosque, los cuales pueden ser clasificados dentro de dos grandes grupos: los agentes abióticos, es decir, de naturaleza física o química; y los agentes bióticos u organismos vivos, los causantes de plagas, enfermedades o biodeterioro. Los primeros, generalmente actúan sobre toda la comunidad, en cambio, los segundos son más selectivos sobre algunos individuos, aunque pueden extenderse rápidamente en algunas ocasiones.

El panorama expuesto a continuación, fue extraído de las obras de Boyce, 1961; Verduzco Gutiérrez, 1976; y De la I. de Bauer y Hernández Tejeda, 1986.

Entre los principales agentes abióticos, figuran los fenómenos meteorológicos drásticos, como las tormentas de lluvia y viento, las nevadas y heladas que causan fracturas de puntas, tallos y ramas o fisuras de corteza. Estos daños pueden ocurrir en muchos individuos, sobre todo de ciertas clases de edad. También la incidencia de rayos puede ser muy perjudicial en los árboles afectados, aunque éstos sean relativamente pocos. Los ciclos estacionales del clima, particularmente las sequías fuertes y prolongadas, también afectan al vigor del arbolado.

Como recientemente se ha divulgado con amplitud, la contaminación química del aire, el agua y el suelo, como efecto indirecto del hombre, altera el desarrollo del arbolado al dañar principalmente follaje y raíces.

Por último, los fuegos o incendios forestales, producto o no

de la intención humana, son los principales agentes destructores del bosque, por la magnitud y extensión de los daños que pueden causar.

Los agentes bióticos son más diversos y numerosos, por lo que su acción puede ser muy diferente e incluso variada, aunque generalmente está dirigida hacia individuos o grupos aislados de las comunidades. Estos agentes pueden ser de origen animal, vegetal o bien, hongos, bacterias y virus.

El hombre causa deterioros directos, por medio de actividades bien conocidas y divulgadas, como la tala inmoderada y clandestina; traumatismos causados por vehículos, máquinas y herramientas; el cinchado y el ocoteado; pero también, la extensión del desarrollo agrícola, urbano e industrial, es causa frecuente de la deforestación de muchas regiones.

El ganado y la fauna silvestre, en ciertas épocas del año, pueden causar trastornos por el ramoneo de plántulas, de follaje en individuos jóvenes y de la corteza de árboles más maduros. Algunos nemátodos constituyen plagas que atacan corteza, floema y raíces. Diversos insectos llegan a ser plagas muy nocivas, al actuar como defoliadores, descortezadores o barrenadores en varias zonas del fuste, y a la vez, muchos son transmisores de otros organismos causantes de enfermedades, como virus, bacterias, levaduras y hongos filamentosos; otros causan agallas e incluso las llamadas escobas de brujas, daño que también causan algunos ácaros.

Entre los agentes vegetales, figuran principalmente los diversos muérdagos o injertos, considerados hemiparásitos, que causan atrofia y deformación de ramas y troncos, entre éstas, algunos tipos de agallas y escobas de brujas. Algunas trepadoras y epífitas llegan a ser perjudiciales al causar estrangulamiento del tronco,

sobrepeso en las ramas o restricción de la iluminación que requiere el follaje, por sobrecrecimiento.

Los virus atacan principalmente el follaje, causando clorosis, necrosis o tumores, pero también llegan a causar agallas y escobas de brujas. Aunque algunas bacterias causan enfermedades en follaje, como manchas y necrosis, se les considera como los principales agentes inductores de la formación de agallas; también cabe resaltar los casos en que ciertas bacterias se desarrollan en el interior del tronco, provocando fermentaciones que se conocen como duramen negro o duramen húmedo.

Los hongos, constituyen otro importante conjunto de agentes bióticos causantes de daños en los árboles, la diversidad de los grupos de hongos es acorde con la variedad de problemas que causan, desde verdaderas enfermedades en los árboles, hasta la biodegradación y el biodeterioro de los productos forestales. Las royas se presentan en tallos, ramillas y conos; los tizones en hojas y ramillas, aunque algunas especies de este grupo causan pudriciones de raíz; los hongos causantes de manchados, se desarrollan en la albura o en el floema, causando a veces la oclusión de éste; otros hongos producen la muerte descendente y el marchitamiento; también hay hongos causantes de gangrenas, ampollas, agallas, y escobas de brujas. Los hongos xilófagos, atacan raíces, troncos e inclusive ramas, dañando preferentemente el duramen, o a veces, tanto la albura como el duramen. El presente trabajo trata específicamente de hongos causantes de la pudrición del duramen.

2.1.3. Los Hongos Xilófagos o Causantes de Pudrición

Los hongos xilófagos o causantes de pudrición son aquellos capaces de alimentarse de las sustancias que constituye la pared celular de los elementos de la madera, y causar alguno de los principales tipos de pudrición, de acuerdo al mecanismo enzimático que posean, causando alteraciones severas en las propiedades físico-mecánicas de la madera.

Dentro de los hongos xilófagos de importancia forestal, la familia de los poliporáceos juega el papel de mayor relevancia en la pudrición de la madera (Overholts, 1953). Los principales géneros, tanto por su acción xilófaga como por su incidencia son: *Polyporus*, *Trametes*, *Fomes*, *Ganoderma*, *Heterobasidion*, *Fomitopsis*, *Daedalea*, todos ellos citados sobre madera de árboles muertos o vivos (Lowe, 1957; Cartwright y Findlay, 1958; Guzmán, 1963, 1977, 1978).

Las características fisiológicas y requerimientos de los hongos para su crecimiento, varían enormemente de un grupo a otro (Cartwright y Findlay, 1958; Tsoumis, 1968). Sin embargo, existe concordancia dentro de sus requerimientos principales: alimento, oxígeno, humedad, temperatura, pH y otros.

Los hongos que producen pudrición del duramen, se alimentan a través de las paredes de sus hifas por absorción. Al segregar enzimas extracelulares que pueden degradar las paredes celulares de la madera, ricas principalmente en celulosa, hemicelulosas y lignina. Estas sustancias son convertidas en formas más simples por medio de hidrólisis y oxidoreducciones para que los hongos se nutran y obtengan energía.

En el crecimiento y desarrollo de los hongos causantes del de-

terio, debe de existir un balance entre la humedad y el aire. Se reconoce que el contenido de humedad denominado como punto de saturación de la fibra, entre el rango de 25-30 %, es el mínimo requerido para la mayoría de los hongos xilófagos, pues si el contenido de humedad está por debajo del 20%, el crecimiento de los hongos se ve inhibido, debido a que falta el agua como medio de difusión de las exoenzimas. Por el contrario, si el contenido de humedad en la madera es muy alto, los espacios intra e intercelulares de la madera están completamente saturados de agua, y por ausencia de aire, la actividad del hongo se detiene. La condición más favorable para el crecimiento de los hongos en la madera, parece ser cuando las paredes están embebidas o cubiertas con una película de agua, en la cual la libre difusión de las enzimas puede llevarse a cabo en el sustrato, dejando suficientes espacios de aire en las cavidades celulares para que el intercambio de gases se efectúe (Cartwright y Findlay, 1958).

La temperatura favorable para la mayoría de los hongos xilófagos se encuentra entre el rango de 24-32°C, pero puede variar de acuerdo con la especie. Temperaturas abajo del mínimo o arriba de los límites máximos pueden no matar al hongo, pero sí retardar o detener su actividad (Findlay, 1967).

El rango de pH óptimo para los hongos xilófagos está ubicado con valores medianamente ácidos (4.5-5.5). Los hongos de pudrición morena causan mayor acidificación en el sustrato que los hongos de pudrición blanca (Cartwright y Findlay, 1958; Findlay, 1967; Hennigsson, 1965; Kollman y Coté, 1968).

Un método de clasificación de los hongos degradadores de la madera se basa en la actividad enzimática que éstos posean, en los cambios de coloración y consistencia inducida en la madera y su forma de penetrar a través de las paredes celulares. Así, son reconocidas la pudrición suave, la pudrición morena y la pudrición blanca (Cartwright y Findlay, 1958; Cowling, 1961; Hunt y Garrat, 1962; Kollman y Coté, 1968; Findlay, 1975) que deben ser consideradas como los tipos básicos de pudrición.

La pudrición suave (*soft rot*), es causada por algunos ascomicetes y hongos imperfectos, los cuales descomponen la celulosa y hemicelulosas que se localizan en el espesor de la capa S₂ de la pared celular secundaria, formando cavidades romboidales orientadas helicoidalmente, paralelas a las microfibrillas de la celulosa. Este deterioro se encuentra en zonas superficiales expuestas a alta humedad y temperatura, aunque puede presentarse en madera de gimnospermas es más común que ataque a las angiospermas (Savory, 1954; Levy, 1965).

La pudrición morena (*brown rot*), es causada por hongos basidiomicetes que degradan la celulosa y hemicelulosas de la madera, dejando a la lignina más o menos intacta. Los hongos inducen en la madera rajaduras transversales y longitudinales a través del grano lo que le da un aspecto cúbico a la madera podrida. En un estado avanzado de la pudrición, la madera adquiere un color oscuro y puede ser desmenuzable con los dedos. Las hifas pueden penetrar transversalmente a la pared celular a través de las puntaduras o produciendo perforaciones, estas hifas liberan enzimas, las cuales se difunden desde el lumen celular. Primero atacan los carbohidratos en la capa S₂, después la S₁ y finalmente la S₃.

Ocurre principalmente en la madera de gimnospermas (Cowling, 1961; Wilcox, 1968, 1970; Panshin y De Zeeuw, 1970).

La pudrición blanca (*white rot*), es causada por hongos basidio micetes que degradan la celulosa, hemicelulosas y lignina. En estados iniciales del deterioro, hay una decoloración de la ma dera hacia un tono pálido, a veces con la formación de cavidades alveolares o bolsas, y en estado de degradación avanzada, el mate rial es reducido a una masa esponjosa de aspecto fibroso con alta pérdida de peso. Una indicación clara de que exista pudrición de este tipo, es la presencia de estrechas líneas o zonas oscuras a través o sobre la superficie de la madera. En este tipo de ataque, las hifas penetran hacia los elementos de la madera a través de las punteaduras, producen una erosión gradual de todos los constituyentes de la pared celular desde el lumen exterior, la primera capa atacada es la S₃ seguida progresivamente por las otras dos capas. Estos hongos atacan principalmente a angiospermas (Cowling, 1961; Wilcox, 1968, 1970; Panshin y De Zeeuw, 1970).

La pudrición de la madera en árboles vivos o muertos puede ser causada por una o varias especies de hongos, y dependiendo de la zona del hospedero atacada, hablando topográficamente, hay varios subtipos de pudrición, como: pudrición de la raíz, pudrición del tocón y raíz, y pudrición de la parte superior del fuste o copa (Findlay, 1967; Agrios, 1986).

La pudrición de raíz (*root rot*), se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, afectando a muchos árboles forestales, frutales y de ornato. Un ejemplo de esta pudrición es la causada por *Heterobasidium annosum* (Fr.) Bref., la propagación del hongo al árbol sano es a través de rizomorfos o por el contacto directo de raíces muertas o enfermas (Boyce, 1961; Findlay, 1967).

La pudrición de la base del tronco (*butt rot*), muestra con mayor frecuencia gran severidad de ataque en la mayoría de las especies de coníferas que en las angiospermas, ésta pudrición se establece cuando los hongos penetran por medio de la herida de una rama o cicatriz provocada por el fuego, o algún otro agente exterior, y bajo condiciones favorables, las esporas del hongo germinan y crecen degradando estructural y químicamente a la madera, por ejemplo: *Polyporus schweinitzii* Fr. (Boyce, 1961).

La pudrición de la copa (*top rot*), ocurre principalmente en las coníferas, las esporas de los hongos penetran a través de las heridas o lesiones provocadas por el hombre al podar las copas de los árboles, o bien por factores meteorológicos, como las heridas hechas por tempestades, heladas, etc., por ejemplo: *Fomes pini* (Thore) Lloyd, (Boyce, 1961; Findlay, 1967).

Otra manera de clasificar a las pudriciones, es desde un punto de vista de requerimientos ambientales, es decir, hablando ecológicamente, así se designan dos subtipos de pudrición morena: la pudrición seca (*dry rot*), producida por *Serpula (Merulius) lacrymans* (Wulf.) Fr., es un subtipo de pudrición típicamente cúbica (morena), en un estado de pudrición avanzado, la superficie de la madera puede estar seca y romperse en forma de piezas de ladrillo; puede ocurrir en la madera con bajos contenidos de humedad, pero gracias a los rizomorfos que presentan estos organismos pueden llegar a aprovisionarse desde zonas húmedas alejadas, o aprovechar esporádicas filtraciones de agua. En tanto que, la pudrición húmeda (*wet rot*), producida por *Coniophora cerebella* Pers., es un subtipo de pudrición también morena en donde la madera, en un estado avanzado de degradación adquiere un color oscuro opaco, y en condiciones de alta humedad obtiene una consistencia blanda facilitando el raspado con la uña (Findlay, 1967).

A partir de los principales tipos de pudrición, por su aspecto, consistencia y sintomatología, Boyce (1961) distingue solamente un subtipo de pudrición morena, que es la cúbica y corresponde a la llamada pudrición seca; y para la pudrición blanca, señala que hay cuatro subtipos, que son: *pudrición esponjosa*, *pudrición en bolsas*, *pudrición en bandas o láminas* y *pudrición fibrosa*. Mientras que Manion (1981), separa a la pudrición morena en tres subtipos: *cúbica*, *en bolsas (alveolada)* y *fibrosa* y a la pudrición blanca en dos subtipos: *fibrosa* y *en bolsas (alveolada)*.

De lo anteriormente explicado se desprende que existen diferentes criterios para la clasificación de los tipos y subtipos de pudrición. Esto es la posible causa de que existan diversas confusiones en la literatura, especialmente ocurre en cuanto a la diferen-

ciación entre los tipos básicos y los que aquí son descritos como subtipos de pudrición.

2.1.4. Degradación Enzimática de la Madera

Si bien, no se conoce completamente el mecanismo bioquímico de la degradación de la madera, existen esquemas generales que incluyen un número de enzimas necesarias para que se lleve a cabo dicho proceso, éstos pueden desglosarse en dos temas: degradación de celulosa y degradación de lignina.

2.1.4.1. Degradación de la Celulosa

Aunque tanto los hongos de pudrición morena, como los de pudrición blanca degradan la celulosa, existen diferencias en los sistemas enzimáticos que utilizan.

Los hongos de pudrición morena presentan dos sistemas, uno protéico basado en enzimas celulolíticas extracelulares y uno no protéico de $H_2O_2 + Fe^{++}$. Este último sistema se encarga de iniciar el rompimiento de la molécula de celulosa en estado cristalino produciendo polímeros cortos de celulosa, los cuales son biodegradados por el sistema enzimático Cx-protéico que es una B-1-4 glucanasa, la cual cataliza la ruptura hidrolítica de dichas cadenas produciendo celobiosa. La celobiosa hidrolizada por la B-glucosidasa produce glucosa que penetra a las hifas del hongo y pasa a los ciclos metabólicos (Koenigs, 1972; Highley, 1980; Hudson, 1972, 1986).

Mientras que en los hongos de pudrición blanca, el sistema encargado de degradar a la celulosa es únicamente protéico. La enzima C_1 actúa sobre la molécula de celulosa rompiendo los puentes de hidrógeno y produciendo cadenas lineares de celulosa, las cuales son biodegradadas posteriormente por la enzima C_x de manera semejante a los hongos de pudrición morena (Highley, 1980; Manion, 1981).

2.1.4.2. Degradación de la Lignina

Los hongos de pudrición blanca además de degradar celulosa también degradan lignina. En el mecanismo de la degradación de la lignina interviene la acción de oxigenasas y deshidrogenasas extracelulares encargadas de efectuar demetilaciones, rompimiento de anillos bencénicos y oxidaciones, respectivamente, en los componentes de la lignina (Kirk, 1975). Hasta ahora, no ha sido aislada e identificada ninguna de las enzimas degradadoras de la lignina (Manion, 1981), por lo que su relación con la lacasa y la tirosinasa, que mencionan diversos autores, sólo se debe a coincidencia de actividad en cierto rango de sustratos (Fåhraeus, 1949; Higuchi y Kitamura, 1953; citados por Nobles, 1958).

2.1.5. Conceptos de Biodeterioro, Biodegradación, Saprofitismo, Parasitismo, Enfermedad y Patología Forestal

La interacción hongos xilófagos-madera, como fenómeno biológico, puede ser enfocada desde diversos puntos de vista, según cuándo, cómo y dónde ocurra esta interacción. Si la pudrición ocurre en madera extraída, durante su procesado, almacenamiento o uso, es decir considerada como material de valor económico con un enfoque antropocéntrico, al daño se le puede llamar apropiadamente *biodeterioro*. Si la pudrición ocurre en restos de madera no útiles para el hombre, como ramas caídas, tocones, etc., puede designarse al proceso desde un punto de vista naturalista, *biodegradación*, pues la descomposición aporta sustancias valiosas para la fertilidad del suelo forestal y a los ciclos de la biósfera (Seal y Eggins, 1981). En ambos casos por tratarse de materia orgánica inerte, a los hongos degradadores se les considera *saprófitos*, *saprobiontes* o más recientemente *saprótrofos*, considerando ésto como un tipo de vida. Cuando la pudrición ocurre en la madera de duramen o ramas muertas de un árbol vivo, el proceso aquí puede recibir una doble designación, *biodeterioro* si es considerado como la pérdida de un producto forestal (enfoque antropocéntrico), o *biodegradación* si se le enfoca como un proceso natural de descomposición de tejido necrótico. Sin embargo, como se verá más adelante, no sería correcto considerar a esta situación como enfermedad. En cambio, cuando el ataque de los hongos ocurre en tejidos vivos como cambium, floema o albura, aunque esta última sólo posee unas pocas células parenquimáticas vivas (Jane, 1970; Panshin y De Zeeuw, 1970), a esta interacción sí se le puede llamar apropiadamente *enfermedad*, *parasitismo* o *proceso patológico*.

Desde el punto de vista académico, es conveniente la aclaración de los conceptos antes mencionados, pues en la literatura

es frecuente encontrar confusiones y terminología incorrecta, como "*patología de productos forestales*", "*enfermedades del duramen*", etc., usados con la intención de presentar explicaciones más prácticas, o la ubicación más didáctica de temas y Problemas afines en los textos generales.

Además, existe otra causa, muchas veces es difícil establecer cuándo un hongo xilófago es *saprófito* y cuándo es *parásito*, pues algunas especies pueden vivir de una u otra manera. Así conviene ahora definir a los hongos *saprófitos* o *saprótrofos* como aquellos que colonizan de manera pasiva y se establecen en restos muertos de vegetales o animales, o que asimilan materiales orgánicos exudados o lixiviados de organismos vivos o muertos; mientras que los hongos *parásitos* son capaces de invadir tejidos vivos por mecanismos activos, siendo autosuficientes, o bien, con el recurso de un organismo vector desarrollado por evolución paralela o convergente (Hudson, 1972; Deverall, 1974), estos últimos caerían particularmente en la categoría de *necrótrofos*, pues después de causar una muerte más o menos rápida del hospedero, continúan utilizando los tejidos necrosados como sustrato (Dickinson y Lucas, 1987).

2.1.6. Detección, Diagnóstico, Evaluación y Control de Problemas de pudriciones en Patología Forestal

Los textos generales de patología forestal que incluyen problemas de pudrición de la madera en el bosque, a menudo señalan y dan una descripción de la "enfermedad", pero no siempre se indican con claridad las medidas o pasos que se deben tomar y seguir en el campo. La falta de información clara y precisa para este tipo de problemas, hace necesario el sugerir una metodología adecuada para el trabajo de campo, la cual consta de cuatro fases principales que son:

1. *Detección o reconocimiento de daños*, es el primer paso que se debe seguir, para encontrar y ubicar la presencia de pudriciones en árboles, troncos caídos y tocones. Consiste en llevar a cabo, una exploración e inspección visual cuidadosa, de los árboles aparentemente sanos, a nivel de raíz, tronco y ramas, con la intención de descubrir signos exteriores de ataque como ramas rotas, lesiones mecánicas, heridas y cicatrices producidas por el fuego, y localizar fructificaciones fúngicas emergentes en los árboles, troncos caídos y tocones.

Dos de las herramientas empleadas en el campo, para realizar una inspección de árboles con problemas de pudrición del duramen, son: un martillo o mazo para llevar a cabo un sondeo por percusión y el taladro tubular pressler. El sondeo se realiza golpeando el fuste del árbol a varios niveles de altura, cuando existe pudrición, el sonido es hueco y grave, y si el sonido es agudo y sólido indicaría que no hay pudrición. Pero, una manera más clara y segura de determinar si existe o no pudrición del duramen, es la obtención de muestras cilíndricas perpendiculares al eje del árbol, mediante la introducción del taladro pressler. Por ejemplo, un estado de pudrición avanzada podría detectarse mediante el olor, color, grado de humedad y reblandecimiento que presenta la muestra.

Ahora bien, si la pudrición se localiza a nivel de copa (top-rot), o raíz (root rot), lo que se deberá hacer es escalar a través del fuste del árbol, para llegar a la copa buscando ramas rotas, huecos o muñones que son las posibles vías de entrada y recolectar el cuerpo fructífero o muestras de madera que posiblemente contengan al agente causal, para su identificación posterior; y en el caso que se encuentre en raíz el problema, se debe llevar a cabo una excavación o remoción del suelo superficial, ahondando cuidadosamente, para descubrir daños y recolectar e identificar posteriormente el o los agentes causales.

2. *Diagnóstico*, es el segundo paso a seguir y consiste en determinar el tipo de pudrición presente y la identificación taxonómica de el agente o agentes causales. La determinación del tipo de pudrición, se realiza mediante la observación de características tales como aspecto, color y consistencia de la madera. Por ejemplo: la pudrición morena en un estado avanzado, se reconoce porque la madera adquiere un color oscuro, y un aspecto cúbico como carbonizado, y la pudrición blanca, se reconoce porque la madera adquiere un color pálido, hay pérdida de peso y su consistencia es esponjosa, además este tipo de pudrición se caracteriza por la presencia de líneas oscuras de trazo caprichoso (líneas zonales) sobre la superficie de la madera. En el caso de haber fructificaciones emergentes de raíz, tronco o ramas, éstas deben ser recolectadas y anotar sus características macroscópicas en fresco. Bajo circunstancias especiales, donde sólo se encuentre el micelio, pueden llevarse a cabo a partir de zonas de la madera con pudrición activa, aislamientos en medios de cultivo específicos, para identificar a los hongos presentes. Paralelo a la identificación de los hongos asociados a la pudrición, es posible rea

lizar pruebas de laboratorio con los aislamientos obtenidos para verificar su actividad xilófaga y así obtener un diagnóstico más completo y riguroso.

3. *Evaluación*, es otro paso importante que nos permite ubicar, y cuantificar, mediante el empleo de métodos de muestreo sistemático, la presencia de los daños o lesiones provocadas por la pudrición en una área determinada, para realizar una estimación de la magnitud del problema.

4. *Control*, es el último paso a seguir y consiste en señalar y tomar una serie de medidas oportunas, como un manejo silvícola adecuado, o con tratamientos químicos, físicos y biológicos. Por ejemplo: el control de los incendios forestales y el retiro de los árboles maduros, reduce las lesiones provocadas por el fuego y los focos de "infección" que pueden ser aprovechados por algunos organismos; el pastoreo controlado y la determinación de excluir zonas, evita la proliferación de daños causados por ramoneo en corteza y plántulas; el tratamiento químico de tocones abandonados; el retiro y eliminación de ramas, ramillas y pedacera producida por las podas y derribo de árboles; cuando existen cavidades grandes en ramas rotas, troncos y tocones se recurre a la cirugía de los árboles mediante una limpieza o saneamiento de las lesiones o heridas, las cavidades pueden ser rellenas con materiales con fungicidas como: arcilla, cemento, yeso, etc., para que no siga avanzando la lesión; la aspersion de esporas de hongos competitivos con el agente causal; y posiblemente también, un tratamiento fungicida sistemático al árbol.

2.1.7. Las Pruebas de Laboratorio como Apoyo a la Patología Forestal

El diagnóstico de los dos tipos principales de la pudrición (morena y blanca), realizado únicamente con base en las observaciones de campo, muchas veces es arriesgado, y, por lo tanto, poco confiable, ya que las características observadas pueden llegar a ser erráticas bajo circunstancias especiales como cuando una pudrición blanca pueda estar enmascarada por los efectos de fuego y la madera tener una apariencia morena y agrietamiento cúbico; o cuando el aspecto de una pudrición morena en madera poco densa puede ser afectada también por intemperismo o algún otro factor y entonces simular pudrición blanca.

Una medida para resolver confiablemente posibles dudas en el diagnóstico, es la de realizar sencillas pruebas fisiológicas de laboratorio con los hongos aislados para determinar el tipo de pudrición que causan.

La prueba más empleada en la determinación del tipo de pudrición es la que describió Bavendamm en 1928 (citado por Campbell, 1938; Davidson, Campbell y Blaisdell, 1938; Nobles, 1958). La prueba consiste en señalar la presencia de oxidasas extracelulares mediante un cambio de coloración en un medio de malta agar que contiene ácido tánico o gálico, identificando a los hongos de pudrición blanca cuando hay una reacción de coloración café oscuro y la ausencia de reacción indica que son hongos de pudrición morena. Davidson *et al.* (1938), utilizaron este método con 210 especies de hongos degradadores de la madera, de los cuales el 80% de los asociados con pudrición morena no dieron reacción y el 96% de los asociados con pudrición blanca sí la dieron. Estos resultados en sí mismos indican el grado de confiabilidad de esta prueba.

Otra prueba para distinguir el tipo de pudrición que causan los hongos xilófagos, fue descrita por Hudson (1972) y Carey

(1975), la cual se basa en un medio descrito por Badcock (1941), que consiste en aserrín enriquecido con harina de hueso y de maíz. Si el hongo induce un oscurecimiento gradual del aserrín, será causante de pudrición morena; si el hongo produce una coloración café en la zona de avance del micelio, seguida de una decoloración del aserrín, será causante de pudrición blanca. Este método también fue recomendado por Pinzón-Picaseño *et al.* (1982).

Boidin (1951), probó un número de sustratos oxidables por la lacasa y propuso un medio con guayacol para reemplazar al medio del ácido gálico en las pruebas para determinar el tipo de pudrición. Nobles (1965), propuso también un método que consiste en añadir unas gotas de solución alcohólica en resina de guayaco a colonias creciendo en malta agar, entonces una reacción de coloración azul en el medio indicaría que el hongo es causante de pudrición blanca y la ausencia de reacción indicaría que es un hongo causante de pudrición morena.

La identificación de los hongos asociados a la pudrición es crucial para el diagnóstico. No existe problema insoluble, cuando se cuenta con cuerpos fructíferos porque se recurre a una serie de normas taxonómicas muy conocidas para su identificación, pero bajo circunstancias especiales donde falta el cuerpo fructífero o cuando se presentan diferentes colonias miceliales en un mismo árbol y se sospecha que no todas corresponden a la especie de la fructificación, se debe hacer uso de sus características culturales para identificarlas. Esto consiste en aislar y cultivar el micelio en un medio específico, donde se describe con detalle las características macroscópicas y microscópicas del micelio de los hongos xilófagos, para lo cual, un método de laboratorio muy confiable es el de Nobles (1965).

La identificación de uno o varios hongos asociados a la pudrición, no siempre es suficiente para considerarlos como agentes etiológicos de la misma, o ser causantes del problema en grado similar, por lo que un aspecto muy importante para el diagnóstico confiable consiste en efectuar una evaluación del grado de agresividad de los hongos hacia el sustrato, en función de tiempo. Para este fin, se puede utilizar la técnica de suelo-bloque, recomendada por Pinzón-Picaseño *et al.* (1982), contribuyendo así al conocimiento de la fisiología de los hongos y por otra parte, a la evaluación biológica y posiblemente también al control del problema, porque permite apreciar el potencial deteriorador de los hongos y ayudar en parte a solucionar una gran duda que surge en el inspector de los daños: ¿qué tan antiguo o reciente es este problema?. Es importante destacar que este tipo de pruebas, aunque no de manera idéntica, siguen con bastante fidelidad los Postulados de Koch, sobre la etiología de las enfermedades, que a continuación se transcriben.

2.1.8 Postulados de Koch

La aplicación rigurosa del método científico para el esclarecimiento de las causas o etiología de las enfermedades parasitarias, se debe al alemán Roberto Koch, quien en 1883 publicó sus famosos postulados, que originalmente fueron tres, pero en 1905, el norteamericano E. F. Smith añadió un cuarto postulado. Aunque las referencias originales son muy difíciles de conseguir actualmente, estas reglas fundamentales son prácticamente obligatorias en todo texto de patología (Deverall, 1974; Roberts y Boothroyd, 1975; Agrios, 1986; Dickinson y Lucas, 1987), aunque con diversas versiones como la que sigue:

1. Un organismo, para ser considerado sospechoso de ser el agente causal de una enfermedad determinada, debe estar asociado constantemente a ella.
2. Este organismo debe ser aislado del tejido enfermo y proliferar en cultivo puro.
3. Al ser inoculado nuevamente en hospederos susceptibles, deben aparecer los síntomas de la enfermedad original.
4. Deberá ser el mismo organismo el que sea reaislado de los hospederos inoculados experimentalmente.

Así, regresando a la temática de metodología del capítulo anterior, las pruebas para determinar el tipo de pudrición y evaluar cuantitativamente la actividad (agresividad) de los hongos xilófagos aislados permiten comprobar la aparición de los "síntomas de la enfermedad original". Eggins y Allsopp (1975), también coinciden en que muchos aspectos metodológicos en biodeterioro de materiales siguen los postulados de Koch.

2.2. Antecedentes

2.2.1. Sistemática e Importancia de los hongos *Fomitopsis pinicola* y *Heterobasidion annosum*.

La ubicación de las dos especies de hongos, objeto de este trabajo, es poco problemática, pues la mayoría de los autores coinciden con la clasificación. A continuación se exponen las versiones de prominentes autores:

Según Pegler (1973):

División: Eumycota
Subdivisión: Basidiomycotina
Clase : Hymenomyces
Subclase : Holobasidiomycetidae
Orden : Aphyllophorales
Familia : Polyporaceae

Según Alexopoulos y Mims (1979):

División: Amastigomycota
Subdivisión: Basidiomycotina
Clase : Basidiomycetes
Subclase : Holobasidiomycetidae
Orden : Aphyllophorales
Familia : Polyporaceae

En cambio, su nomenclatura es más compleja, debida a los cambios de nombres y conceptos genéricos, las diversas combinaciones propuestas y el desacuerdo existente entre notorios taxónomos acerca de la validez de las autorías, según sus puntos de vista sobre los ejemplares tipo, las publicaciones originales y los artículos y recomendaciones del Código Internacional de Nomenclatura Botánica. Un análisis de las diversas corrientes existentes, representadas por Lowe (1957), Domanski *et al.* (1973), Donk (1974) y Gilbertson y Ryvarden (1986), permiten exponer los aspectos más importantes de la nomenclatura de las dos especies, de una manera sumaria como sigue:

Nombre válido:

Fomitopsis pinicola (Sw. ex Fr.) P. Karst.

Krit. Finl. Basidsv. p. 306. 1889.

Sinonimia:

Boletus pinicola Swartz, Kongl. Svenska Vetensk. Akad. Handl. p. 88. 1810.

Polyporus pinicola (Swartz) Fries, Syst. Myc. 1: 372. 1821. (Basiónimo).

Fomes pinicola (Swartz ex Fries) Cooke, Grevillea 14: 17. 1885.

Placodes pinicola (Swartz ex Fries) Patouillard, Hym. Eur. p. 139. 1887.

Nombre válido:

Heterobasidion annosum (Fr.) Bref.

Unters. Gesamtg. Mykol. 8: 154. 1888.

Sinonimia:

Polyporus annosus Fries, Syst. Mycol. 1: 373. 1821. (Basiónimo).

Fomitopsis annosa (Fries) P. Karsten, Rev. Mycol. 3 (9): 18. 1881.

Fomes annosus (Fries) Cooke, Grevillea 14: 20. 1885.

Placodes annosus (Fries) Quélet, Flora mycol. Fr. p. 396. 1888.

En cuanto a la importancia de estas especies, existe una enorme cantidad de información dispersa en la literatura, por lo que aquí sólo se incluyen unos breves comentarios.

Fomitopsis pinicola es una especie de amplia distribución, tanto en América como en Europa por todo el hemisferio norte (Lowe, 1957), encontrándose frecuentemente en árboles vivos y muertos en pie, sobre troncos caídos, tocones y pedacería de madera, tanto de especies angiospermas como gimnospermas, aunque es más común en estas últimas, con excepción del género *Pinus*, en el que no es tan común (Mounce, 1929; Overholts, 1953; Cartwright y Findlay, 1958; Boyce, 1961).

Este hongo, causa una pudrición morena del duramen en árboles vivos, aunque más tarde al morir el árbol (por diversas causas) y secarse gradualmente, puede atacar también a la albura. En ma dera de gimnospermas, ya sea aserrada o cualquier residuo, el hongo ataca similarmente tanto a la albura como al duramen (Cartwright y Findlay, 1958; Boyce, 1961).

Mounce (1929), considera que esta especie es de hábitos saprofiticos, pues aún cuando puede desarrollarse y fructificar en árboles vivos, no es capaz de atacar a los tejidos vivos del árbol, como sí lo hace *Heterobasidium annosum*. Bajo conceptos más modernos, como los expuestos por Cooke (1977), sobre la biología de los hongos simbióticos, este hongo debería ser considerado como "simbionte neutro facultativo". O también, de acuerdo con los conceptos enunciados en el presente trabajo, este hongo sería biodeteriorador si ataca arbolado sujeto a explotación forestal, o biodegradador si ataca residuos no utilizables de madera.

En México, la especie mencionada ha sido localizada hasta ahora en las siguientes entidades federativas: Coahuila, D.F., Durango, Guerrero, Hidalgo, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Tlaxcala y Veracruz (Guzmán, 1963; De la Campa Jerez, 1966; Galván Villanueva, 1976). Sin embargo, es muy posible que su distribución geográfica en nuestro país, sea mucho más amplia.

Heterobasidium annosum. Está ampliamente distribuido en Europa, Centro y Norte de América, Australia y áreas montañosas de la India. A menudo se puede alimentar saprofiticamente, de árboles muertos, tocones y trozas de entresaca de coníferas, aunque también puede considerarse una especie de hábitos parasíticos atacando los tejidos vivos y causando pudrición tanto en albura como en duramen en las raíces y bases de los troncos de la ma-

yorfa de las coníferas. Es un agente causal importante en la pudrición del duramen en coníferas en Europa. El tipo de pudrición que causa este hongo es blanca alveolada (Cartwrigth y Findlay, 1958; Boyce, 1961; Dickinson y Lucas, 1987).

De acuerdo a los conceptos de Cooke (1977), este hongo es un "simbionte antagonfstico facultativo" por tener la capacidad de vivir tanto saprofiticamente, como parasíticamente, en este último caso, actuando como un organismo necrotrófico. Conceptualmente, también esta especie puede ser considerada biodegradadora si ataca a madera no utilizable, como tocones, raíces y pedacerfa; o biodeterioradora, si ataca arbolado sujeto a explotación, aunque podría añadirse que aún su ataque en arbolado no sujeto a explotación sería un proceso biodeteriorante, pues la muerte desaprovechada de cualquier árbol individual tiene efecto deletéreo para el hombre.

En México esta especie ha sido localizada en las siguientes entidades federativas: D.F., Hidalgo, México, Michoacán, Morelos, Tlaxcala y Veracruz (Guzmán, 1963; De la Campa Jerez, 1966; Holroy y Barrett, 1966; y Sánchez Ramfrez, 1980).

2.2.2. Estudios Sobre Pudriciones en Arboles en México

El reconocimiento de los organismos que atacan a los árboles en el bosque, es relativamente antiguo en México. Por ejemplo, ya en 1930, Gándara, basado en sus propias observaciones y experiencias, presentó una serie de comentarios sobre daños causados por organismos vegetales, como muérdagos, epífitas, amates, matapalos, incluyendo líquenes y, particularmente hongos. Entre los hongos que consideró más perjudiciales a los árboles, menciona a *Heterobasidion annosum* (citado como *Polyporus annosus* Fries) en los pinos.

Desafortunadamente, a pesar de la importancia económica y ecológica que implican, es poca la información que existe para México sobre pudriciones de la madera en árboles, es decir, desde un punto de vista patológico forestal. Pero además, es problemático que algunos de los pocos trabajos realizados contienen errores teóricos y metodológicos, por lo que se considera oportuno el discutir con amplitud estos antecedentes en el presente trabajo.

Posiblemente el estudio formal más antiguo relacionado al tema del presente trabajo, es el de Holroyd y Barrett (1966), quienes estudiaron algunos problemas de patología forestal en bosques de oyamel y de pinos en la zona del Cofre de Perote, Veracruz, describiendo a *Fomes pinicola* como causante de la descomposición rápida de madera caída y del "quebrantamiento del fuste" en árboles vivos, aunque no con frecuencia. Consideraron que su vía de entrada más común en árboles vivos era por heridas de fuego, aunque ocasionalmente, la "infección" estuvo asociada a insectos barrenadores. Estos autores estimaron que el abundante desarrollo y producción de esporas de este hongo, proporcionan una fuente potencial continua de "infección" en los árboles a través de las heri-

das, pero que con medidas sanitarias simples (no especificadas) y control de fuegos, se podría prevenir en mucho este problema. Con respecto a *Fomes annosus*, los autores citados mencionan que lo encontraron en pinos caídos y en pié, causando en estos últimos una considerable pérdida de incremento diametral y algo de pudrición en la base del tronco. Por no haber encontrado fructificaciones de este hongo en la área, dedujeron que su distribución era limitada, pero que serían necesarias algunas medidas profilácticas (otra vez no especificadas), y, por la importancia mundial de esta especie, sería deseable mayor investigación. Finalmente, estos autores encontraron que *Fomes roseus* estaba presente en tocones altos de *Pinus rudis*, lo cual representa un riesgo potencial en la explotación maderera, pues esta especie tiene la capacidad de continuar su desarrollo en madera procesada, como postes u otras estructuras.

Más recientemente, Sánchez Ramírez (1980), realizó un estudio en los bosques de la Meseta Tarasca en Michoacán, con el fin de conocer cuáles eran los hongos "destructores de la madera y patógenos" más comunes, qué afinidad tenían las especies de hongos con los tipos de bosque y cuáles eran los causantes de enfermedades en la región. Entre las especies encontradas incluyó a *Fomes annosus* y *F. pinicola*, a los que consideró como causantes de enfermedades. Este trabajo adolece de muchos errores y deficiencias, tanto en conceptos biológicos básicos como semánticos y metodológicos. Por ejemplo, aunque no se define en el trabajo el concepto de enfermedad o patogenicidad que es manejado, el autor expresa que la ubicación de un hongo en o sobre un árbol vivo, es concluyente de su condición de parásito, lo cual es un concepto obsoleto. Por otra parte, en la introducción se incluye una descripción incorrecta de las pudriciones morena y blanca, por los constituyentes degra

datos y una clasificación confusa de cuatro tipos de pudrición, por mezclar en la misma jerarquía tanto los tipos básicos de pudrición (morena y blanca), como subtipos o variedades de pudrición, como la cúbica (morena) y la fibrosa (blanca); en parte esto se debió a que el autor mencionado copió íntegramente tal información del libro de García Rollán (1976) quien incurrió en estos errores. En cuanto a semántica, el llamar "destructores" a los hongos xilófagos, es incorrecto según la conocida "Ley de la conservación de la materia y energía" de Lavoisier, pues estos organismos son degradadores o deterioradores de la madera, lamentablemente, este error es muy común en la literatura tanto en lengua inglesa como española. En cuanto a metodología, en el trabajo analizado, se hace una comparación inequitativa, y por lo tanto tendenciosa, de la distribución de las especies de hongos entre los diferentes tipos de bosque, llegándose a la conclusión de que se observó mayor diversidad de especies en bosques de pino-encino y menor en los de pino, cuando fueron muestreadas 25 localidades de los primeros y sólo cinco de los últimos. Sin embargo, este trabajo aporta información con respecto a la distribución de los hongos lignícolas en los tipos de bosque estudiados y su afinidad con la madera de los géneros principales de árboles forestales de la zona estudiada.

Por la misma época, Martínez Barrera y Sánchez Ramírez (1980), realizaron un estudio sobre *Fomes annosus* como agente causal de la pudrición de la raíz de los pinos. Aunque este trabajo parece ser amplio y detallado, su presentación y estructuración generan muchas dudas en el lector, pues su metodología es tan poco descriptiva y dispersa que resulta confusa; y en cuanto a resultados, éstos son presentados de una manera general y con interpretaciones forzadas, careciendo de una exposición clara y objetiva previa, por lo que la concordancia entre métodos y resultados no pue

de desglosarse, e inclusive, algunos de los aspectos de los métodos son omitidos en los resultados. En realidad, el trabajo discutido consistió en corroborar que algunas de las características de la enfermedad y de la biología de *F. annosus*, ya bien conocidas y ampliamente divulgadas en la literatura mundial, aparentemente son ciertas para la zona de estudio. Sin embargo, este trabajo sí contribuye con información sobre la presencia del hongo, algunos efectos que causa y especies de pino que ataca en la zona estudiada. Además, es justo aclarar que la realización de este tipo de trabajos "de comprobación", no es estéril, porque contribuye a la formación de patólogos forestales a través de la propia experiencia.

2.2.3. Estudios sobre Hongos Biodeterioradores de la Madera en México

Hasta el momento, la información con respecto a hongos deterioradores de la madera en México, es relativamente escasa. López Guerrero (1979), trabajó con 20 cepas de hongos xilófagos de procedencia extranjera, determinando el tipo de pudrición que causan, su agresividad hacia dos tipos de madera según dos métodos diferentes, y su tolerancia a la creosota, como preservador comercial de la madera. Con el mismo enfoque y metodología, Véliz Avila (1982) y Hernández Jiménez (1984), caracterizaron cepas mexicanas de procedencia tropical aisladas en la Estación de Biología tropical "Los Tuxtlas", Veracruz.

Con el fin de divulgar ampliamente los métodos empleados en los trabajos anteriores, Pinzón-Picaseño *et al.* (1982), describieron cuatro técnicas de laboratorio para la caracterización de hongos xilófagos, desde el punto de vista de su actividad como organismos degradadores de la madera, destacando lo sencilla y confiable que es esa metodología para el estudio de dichos organismos.

Con un enfoque muy diferente, pero en cierta forma relacionado a este tema por tratarse de fenología, Sarmiento y Vázquez Evia (1984), publicaron datos sobre la aparición de fructificaciones de algunos hongos xilófagos sobre estacas de 25 maderas tropicales, durante 10 meses de observación, en un ensayo de campo en una zona cálido-húmeda, aunque no fue señalada la antigüedad o tiempo de exposición de las estacas en el suelo, dato esencial para este tipo de información.

Por su parte, Pinzón-Picaseño y Martínez Marcial (1987), evaluaron la agresividad de dos cepas de *Pycnoporus sanguineus*, de muy diferente procedencia geográfica, hacia la madera de tres especies tropicales mexicanas, encontrando diferencias notables en

su actividad. Y finalmente, Pereyra Venegas (1988), realizó también una prueba de laboratorio para determinar el tipo de pudrición que causan y evaluar la agresividad hacia cuatro maderas comerciales, de ocho cepas de hongos xilófagos aislados en una zona de clima templado, según los métodos recomendados por Pinzón-Picaseño *et al.* (1982), sin embargo, para la evaluación de la agresividad, este autor no utilizó el mismo tamaño de bloques de prueba ni la misma capacidad en los frascos de cultivo, por lo que sus resultados no pueden ser evaluados adecuadamente con la escala de agresividad del método original.

Los estudios para la descripción e identificación de micelios de hongos xilófagos, son más escasos. Obregón Arceo y Echenique-Manrique (1974), aislaron e identificaron tres especies de hongos xilófagos habitando en postes de madera en servicio de la Comisión Federal de Electricidad, utilizando el método de Nobles (1965); y Herrera Campos (1985), describió las características culturales del micelio de dos especies de poliporáceos xilófagos, incluyendo a *Fomitopsis (Fomes) pinicola*, aunando datos sobre el tipo de pudrición, agresividad y daños micromorfológicos en madera de pino y liquidámbar.

2.2.4 Problemas de Pudrición del Duramen en Oyameles del Parque Nacional Nevado de Toluca

La primera noción acerca de la existencia de graves problemas de pudrición del duramen en oyameles en el Parque Nacional Nevado de Toluca, se debió a una comunicación personal del Biól. René López Barajas, investigador de la Sección de Protección Forestal del Estado de México (SARH), quien solicitó la colaboración del Laboratorio de Biodeterioro y Preservación de Productos Forestales del Instituto de Biología (UNAM), para el estudio de este problema (ver figs. 1 y 2).

Las visitas realizadas a la localidad permitieron apreciar en apariencia la incidencia de los problemas comunes y generales a la mayor parte de los bosques de zonas templadas del país. El problema principal de la zona lo constituyen las quemadas e incendios frecuentes, ya sean intencionales o accidentales. En los sotobosques y claros anexos, son quemados los pastos viejos intencionalmente para mejorar la calidad y cantidad de pastos nuevos, que son aprovechados para el pastoreo; mientras que los incendios accidentales son causados por descargas eléctricas, efecto lenticular de vidrios rotos o descuido de excursionistas. El fuego causa heridas o lesiones en la base del tronco, ramas y copas bajas, ocasionando vías de entrada hacia la albura dañada y el duramen para la colonización por hongos xilófagos que se dispersan por esporas o fragmentos de micelio.

Otros factores que contribuyen a la colonización del duramen por los hongos xilófagos, son los traumatismos ocasionados al arbolado joven, como rozaduras de los árboles en pie durante la derriba de árboles cercanos, daños con maquinaria agrícola o paso de vehículos, o bien, traumatismo manual, como ocoteado, el cinchado, marcaje o simples hachazos ociosos. El ramoneo del ganado, también contribuye al traumatismo.

Figura 1. Tronco de oyamel joven en pie con pudrición del duramen muy evidente.

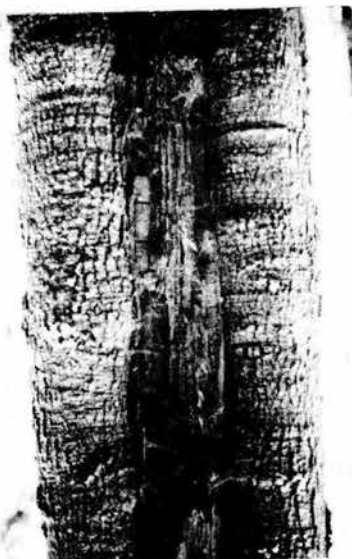


Figura 2. Corte transversal de tronco de oyamel maduro que muestra pudrición morena del duramen en estado muy avanzado con pérdida total de la porción central.

Por supuesto, también la derriba clandestina con su consecuente abandono de tocones y pedacerfa, o las podas irresponsables de las puntas para árboles navideños, o de ramas para la leña y de fustes jóvenes para la construcción rural.

Finalmente, la falta de manejo y explotación adecuada, que no elimina el arbolado sobremaduro conveniente para la explotación, hace que éste sea un obstáculo para la regeneración de nuevo arbolado, el cual, además por presentar mayor desarrollo de pudrición con producción de fructificaciones de los hongos, permite la continuidad y dispersión del problema.

Aunque en esta zona se han realizado diversos estudios, sólo ha habido dos trabajos relacionados con el tema de la presente contribución. Colón Tellez (1987), realizó un estudio florístico y ecológico de los macromicetos del Parque Nacional Nevado de Toluca, registrando un total de 209 especies, de las cuales 58 fueron lignícolas, pero sin detallar su ubicación en árboles vivos ni su posible papel como causantes de problemas en el arbolado. Entre las especies registradas, el autor incluye a *Fomitopsis pinicola*, aunque no en la localidad de Loma alta, pero *Heterobasidion annosum* no está registrado.

El segundo trabajo es el de López Barajas (1987), quién realizó una evaluación de la incidencia de pudrición del duramen en oyamel, causados por *F. pinicola*, en individuos y clases de edad, según un método de muestreo de cuadrantes con punto central en transectos. Diseñó un método analítico para estimar la altura de la pudrición en el duramen del árbol con base en la altura de las evidencias externas, como lesiones o heridas y cicatrices a lo largo del fuste, una exploración por percusión del tronco y un muestreo con taladro pressler. Encontró que el 58 % de los oyamales muestreados presentaron evidencias de pudrición del duramen

y que a una edad mayor de 60 años, los árboles son más susceptibles al ataque de los hongos. También, propuso la forma de predecir el volumen de madera podrida de acuerdo a la tarifa de volumen para cada región, dato útil para el aprovechamiento forestal. Finalmente, este autor recomendó el control de incendios forestales; un manejo silvícola adecuado para el mantenimiento de una masa forestal joven y robusta, con base en la extracción de árboles dañados, maduros y sobremaduros; y la prevención de la dispersión del hongo por tratamiento de tocones y raíces con bórax y el estudio de la posible utilización de fungicidas.

Este último estudio, constituye el antecedente directo del presente trabajo, pues con base a los resultados obtenidos, fue visualizado el tipo de información que a continuación sería importante obtener, por lo que fueron planteados los objetivos que a continuación son enunciados.

2.3. Objetivos y Finalidades.

1. Explorar la zona más afectada, seleccionar un caso representativo de daños típicos, y aislar cepas a partir de fructificaciones de los hongos causales y de madera afectada.
2. Determinar el tipo de pudrición que causan los aislamientos viables por medio de varias técnicas de laboratorio.
3. Hacer una evaluación comparativa de la confiabilidad de las diversas técnicas empleadas para la determinación del tipo de pudrición.
4. Caracterizar el micelio aislado tanto de fructificaciones como madera y confrotar su identificación.
5. Evaluar *in vitro* la agresividad de los aislamientos sobre madera de oyamel (*Abies religiosa* (H.B.K.) Schl. et Cham.).

La finalidad de este trabajo, consiste en contribuir, por una parte, al conocimiento de la fisiología de los hongos que provocan el problema de pudrición del duramen en el arbolado de la localidad, y por otra parte, a considerar la importancia biológica y económica que tienen estos organismos en el ecosistema y en la explotación y manejo del recurso forestal.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Aislamiento de las Cepas.

Las 8 cepas utilizadas en este trabajo (Tabla 1) fueron aisladas a partir del contexto de fructificaciones recolectadas en árboles de *Abies religiosa* (H.B.K.) Schl. et Cham. (oyamel) vivos, del tronco de árboles previamente derribados, y de tocones con la madera afectada, en el Ejido "Loma Alta", ubicado en el Parque Nacional Nevado de Toluca en la parte SE del municipio de Zinacantepec, Estado de México (Fig. 3).

Esta zona se encuentra situada entre las coordenadas geográficas 19° 00' 04" y 19° 17' 15" latitud norte y 99° 37' 29" y 99° 56' 30" longitud oeste y una altitud de 3,358 msnm (según Nava, Macías y Villas, 1936, citado por Colón Tellez, 1987).

El clima según la clasificación de Köppen modificado por García es C (w₂) (w) big, o sea, un clima templado subhúmedo, el más húmedo de los templados subhúmedos, con lluvias en verano, verano fresco largo, isotermal tipo ganges (mes más caliente antes de junio). (Comisión del Territorio Nacional y Planeación, 1970).

La zona está rodeada de lomeríos y colinas redondeadas y un gran número de barrancas y cañadas. (Vela Gálvez *et al.*, 1976).

Se han reconocido 4 tipos de vegetación: bosque de encino y aile a los 2,700 msnm; bosque de *Pinus pseudostrobus*, *Pinus ayacahuite*, *Pinus montezumae* y *Pinus rudis* a 2,700-3,300 msnm; bosque de oyamel en regiones húmedas de 2,800-3,500 msnm; y bosque de *Pinus hartwegii* de 3,300-3,900 msnm (Guzmán-Huerta, 1958).

Para el aislamiento de las cepas, se utilizó Benomyl-Agar un medio de cultivo recomendado por Levy (1976). La composición y

TABLA 1. PROCEDENCIA E IDENTIFICACION DE LAS CEPAS AISLADAS DE ARBOLES DE ABIES RELIGIOSA (H.B.K.) SCHL. ET CHAM., CON PROBLEMAS DE PUDRICION EN EL EJIDO "LOMA ALTA", PARQUE NACIONAL NEVADO DE TOLUCA, ESTADO DE MEXICO.

No. DE CEPA	PROCEDENCIA DEL AISLAMIENTO	IDENTIFICACION
NT-1	Arbol 1. Fructificación grande, árbol en pie	F. PINICOLA
NT-2	Arbol 1. Fructificación chica, árbol en pie	F. PINICOLA
NT-3	Arbol 1. Parte central del duramen, árbol en pie	F. PINICOLA
NT-5	Arbol 2. Parte externa de la albura, árbol derribado	H. ANNOSUM
NT-6a	Arbol 3. Fructificación mediana, tronco caído	F. PINICOLA
NT-6b	Arbol 3. Fructificación mediana, tronco caído	F. PINICOLA
NT-6c	Arbol 3. Fructificación chica, tronco caído	F. PINICOLA
NT-7	Arbol 4. Fructificación grande, tocón	F. PINICOLA

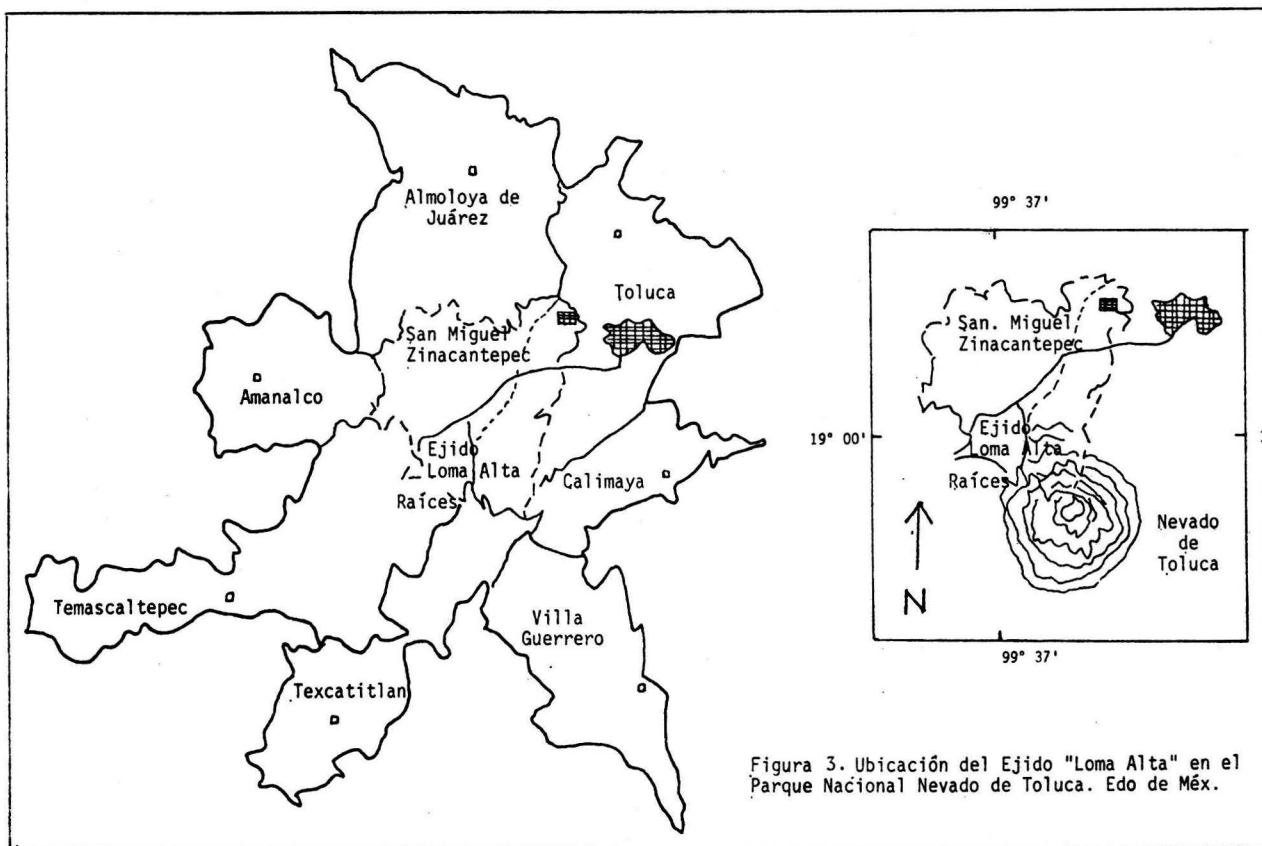


Figura 3. Ubicación del Ejido "Loma Alta" en el Parque Nacional Nevado de Toluca. Edo de Méx.

preparación del medio fueron como sigue:

Benomyl-Agar

Extracto de malta	20.0	g
Agar	15.0	g
Benomyl	0.008	g
Fenol	0.05	g
Agua destilada	1000.0	ml

El extracto de malta, el agar y el agua fueron preparados en porciones de medio litro, en matraces erlenmeyer de 1000ml. Estas porciones fueron esterilizadas en autoclave a 15 lb/pul² de presión durante 20 minutos. Después de un enfriamiento parcial, fueron añadidos el benomyl (fungicida) y el fenol en una suspensión en 2 ml de etanol al 50%. El medio ya listo fue vaciado en frascos pastilleros previamente esterilizados, agregándoles 10 ml a cada uno. Los frascos permanecieron tres días en incubación, como prueba de esterilidad y una vez transcurrido este tiempo, fueron inoculados con pequeños fragmentos del contexto de las fructificaciones encontradas, o con astillas obtenidas de alguna zona interna de la madera de tocones y troncos afectados. Todo este manejo fue realizado en una campana microbiológica con flujo laminar de aire estéril.

Con los 8 aislamientos viables que fueron obtenidos, se efectuaron pruebas fisiológicas de laboratorio para determinar: tipo de pudrición, caracterización e identificación de micelios y pruebas de agresividad hacia la madera.

3.2 Obtención de Suficiente Inóculo.

Previo al desarrollo de cada técnica, fue llevada a cabo una

fase de obtención de suficiente inóculo, con el propósito de que el micelio de todas las colonias se encuentre en estado de crecimiento abundante y homogéneo y de la misma edad. Para esta fase, fue empleado el medio de malta agar según la concentración Difco, cuya composición y preparación se describe a continuación:

Malta-Agar (Concentración Difco)

Extracto de malta	30.0 g
Agar	15.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

Los ingredientes fueron pesados, medidos y vaciados a matraces de 1 l (500 ml/matraz), con tapaderas de rosca (aflojada 1/4 de vuelta) y fueron esterilizados a 15 lb/pul² de presión, durante 20 minutos. Posteriormente, el medio fue vaciado en cajas petri esterilizadas, fueron éstas incubadas en cámaras de humedad (cajas tipo camisera de plástico de 36 x 26 x 15 cm con un soporte en reja y agua destilada en el fondo), durante tres días a 26°C y en obscuridad, para probar la esterilidad del medio y cajas.

Más tarde, las cajas petri fueron inoculadas e incubadas con los 8 aislamientos durante 14 días, bajo las mismas condiciones. El vaciado e inoculación fueron realizados en campana microbiológica con flujo laminar de aire estéril. Concluido el período de incubación, el micelio estuvo listo para la inoculación de las pruebas correspondientes. Este proceso fue llevado a cabo independientemente para cada tipo de prueba.

3.3. Pruebas para Determinar el Tipo de Pudrición de las Cepas.

Para asegurar una determinación confiable del tipo de pudrición que causan los aislamientos obtenidos, fueron utilizados tres

métodos diferentes, el método de Bavendamm, el método de Badcock, y un método recientemente desarrollado como modificación al método de Nobles.

3.3.1. Método de Bavendamm del Cultivo en Malta Agar con Acidos Gálico y Tánico.

Este método fue publicado por Bavendamm en 1928 el artículo original es difícil de obtener pero descripciones del mismo han sido aportadas por Campbell (1938), Davidson, Campbell y Blaisdell (1938), Nobles (1958) y Ulloa y Hanlin (1978). La composición y preparación del medio de cultivo utilizado en el presente trabajo se describen a continuación:

Acido Tánico (o Gálico) Agar	
Extracto de malta	15.0 g
Agar	20.0 g
Acido tánico (o gálico)	5.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

El extracto de malta y el agar fueron preparados en un matraz erlenmeyer con 850 ml de agua destilada por un lado, y el ácido tánico/gálico fue disuelto en 150 ml de agua destilada en otro matraz. Ambos matraces fueron esterilizados por separado en autoclave a 121°C y 15 lb/pul² de presión, durante 20 minutos. aunque según algunos de los autores mencionados, la solución del ácido no debe esterilizarse. Cuando aún estaban calientes ambas partes, fueron mezcladas, antes de ser vaciado el medio a caja petri. Una vez solidificado el medio, las cajas petri fueron incubadas durante tres días, como prueba de esterilidad, entonces, fueron inoculadas con sacabocados de los 8 aislamientos incubados durante 14 días en la fase de obtención previa del inóculo suficiente. Se utilizaron 4 repeticiones por ácido y aislamiento, y se emplearon 2 cajas

para los testigos, una caja fue inoculada con un hongo de referencia de pudrición blanca (*Coriolus versicolor* FPRL-28a), y la otra caja fue inoculada con un hongo de pudrición morena (*Fomitopsis pinicola* FPRL-98) y como control se utilizó una caja con cada uno de los ácidos pero sin inocular. Posteriormente, fueron incubados durante 7 días a 26°C y oscuridad. Las lecturas fueron tomadas al séptimo día. La reacción considerada positiva para pudrición blanca fue cuando se presentó una zona de color ámbar a café oscuro alrededor del inóculo, ocasionada por la difusión de oxidasas extracelulares producidas por el hongo y la consecuente oxidación de los ácidos, y la ausencia de reacción indicó un tipo de pudrición morena.

3.3.2. Método del Cultivo de Aserrín de Badcock.

Para este método fue utilizado el medio de aserrín recomendado inicialmente por Badcock (1941), para el cultivo viable y vigoroso de cepas de hongos xilófagos, pero empleado aquí en su forma modificada, como lo describen Carey (1975), Hudson (1972), y Pinzón-Picaseño *et al.* (1982).

La composición y preparación del medio de cultivo fue de la siguiente manera:

Aserrín de pino	1000.0 g
Harina de maíz	30.0 g
Harina de hueso	20.0 g
Agua destilada	(La necesaria)

El aserrín fue secado al aire y tamizado en una malla de 2 mm. Después, fueron mezclados el aserrín y las harinas, agregando agua hasta obtener una pasta que formara fácilmente "terrones". El medio de aserrín fue entonces vaciado en tubos de cultivo de 30 x 300 mm, sin comprimir demasiado, hasta un nivel tal que quedarán

2 cm libres antes de la boca del tubo. Los tubos fueron tapados con algodón y esterilizados en autoclave a 121°C y 15 lb/pul² de presión, durante una hora. Posteriormente, fueron inoculados utilizando bloques de cultivo (uno por cada tubo) de 1 cm² del micelio previamente desarrollado durante 14 días, obtenidos con sacabocados aseptizados con alcohol 96° y flameados, a la misma distancia radial en la periferia de las colonias. Se utilizaron dos tubos por cada aislamiento y como testigos fueron empleados tres tubos extras, uno inoculado con un hongo de referencia de pudrición blanca, (*Coriolus versicolor* FPRL-28a), otro con un hongo de pudrición morena (*Fomitopsis pinicola* FPRL-98) y otro tubo con aserrín no inoculado.

Los tubos fueron incubados a 26°C y obscuridad durante 4 semanas, inclinados sobre soportes dentro de cajas de plástico tipo camisera con agua destilada en el fondo para proporcionar una alta humedad relativa.

Las observaciones (o lecturas) fueron realizadas en dos ocasiones a la cuarta y séptima semana de incubación. El criterio para determinar el tipo de pudrición, se basó en el aspecto y coloración del aserrín producidos por el micelio, un aclaramiento en el aserrín indicaría que el hongo causa pudrición morena, mientras que un oscurecimiento del aserrín indicaría pudrición blanca.

3.3.3 Método del Cultivo en Malta Agar con Aserrín-Guayacol

Este método desarrollado por Ruiz Rodríguez y Pinzón-Picaseño (1986), consistió en una modificación del recomendado por Nobles (1958), sustituyendo a la resina de guayaco por un derivado de ésta, que es el guayacol, esencia empleada en farmacología y fácil de adquirir en droguerías. La composición del medio y su preparación fue como sigue:

Extracto de malta	20.0 g
Agar	15.0 g
Aserrín de oyamel	4.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

El aserrín de madera de oyamel fue tamizado en una malla No. 40 (0.42 mm), secado al aire y esterilizado junto con los demás ingredientes del medio en autoclave, a 121°C y 15 lb/pul² de presión, durante 20 minutos. Luego, el medio fue vertido a cajas petri. Estas, fueron incubadas por tres días, como prueba de esterilidad, y luego, inoculadas con sacabocados asepsizado con alcohol 96° y flameado, utilizando el micelio de los 8 aislamientos desarrollados durante 14 días. Después, fueron incubadas a 26°C, alta humedad relativa y obscuridad en cajas de plástico, durante 21 días. Al término de este período, se le agregaron a las 5 repeticiones de cada cultivo, de 2 a 3 gotas de guayacol puro. La reacción fue considerada positiva para pudrición blanca al formarse una tinción de magenta a violada, y la ausencia de esta reacción fue indicadora de que el hongo era causante de pudrición morena.

3.4. Observación de las Características de los Micelios en Cultivo.

Para lograr una descripción, lo más adecuada posible, de las características morfológicas del micelio en cultivo, de los ocho aislamientos viables, fue seguido el método-clave de Nobles (19-65). Este método consistió en cultivar a los hongos de acuerdo con un procedimiento normalizado para disminuir la variabilidad del desarrollo. La composición y preparación del medio de cultivo, como lo recomienda la autora mencionada fue de la siguiente manera:

Extracto de malta	20.0 g
Agar	15.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

Los ingredientes fueron colocados en matraces erlenmeyer de 1000 ml, en porciones de medio litro. Después, el medio fue esterilizado en autoclave a 121°C y 15 lb/pul² de presión, durante 20 minutos y vaciado en cajas petri de 100 x 20 mm, en porciones de 15 ml. Toda la manipulación del vaciado e inoculación fue llevada a cabo en una campana microbiológica con flujo laminar de aire es téril. Para probar la esterilidad del medio y las cajas petri, és tas fueron incubadas durante tres días a temperatura ambiente y oscuridad en cajas camiseras sin provisión extra de humedad, y posteriormente fueron inoculadas.

Las cepas fueron resembradas e incubadas previamente en cajas petri con medio de la misma composición, durante 14 días a temperatura ambiente y oscuridad en la fase de obtención del inóculo suficiente. Al cabo de este lapso, se tomaron inóculos de 7 mm de diámetro a partir de la misma distancia radial de las colonias con un sacabocados asepticado en alcohol 96° y flameado, y cada uno fue colocado sobre el medio, cerca del borde en las cajas petri, utilizando dos cajas por cada aislamiento, para cada lectura programada, más un margen de seguridad de tres cajas anexas, todas inoculadas de la misma forma.

El crecimiento micelial fue observado y descrito semanalmente, durante 6 semanas. Fueron observadas características macroscópicas de la colonia como: textura del micelio, grado de crecimiento radial, margen de la colonia, color de las hifas y del micelio, cambio de color inducido en el agar y tendencia a fructificar.

CUADRO 1. TIPO DE TEXTURAS DE LA MATA MICELIAL EN PLACAS DE MALTA AGAR
(TOMADO DE NOBLES, 1965).

Lanosa. ** <i>Woolly</i> . Micelio compuesto de hifas muy largas o grupo de hifas, algo entretreídas para formar una superficie semejante a una tela de lana de textura suave.
Algodonosa. ** <i>Cottony</i> . Micelio erecto bastante largo (3-5 mm) dispersado en todas direcciones.
Flocosa. * <i>Floccose</i> . Micelio consistente de pequeños mechones sobre el agar, o bien, un micelio parcialmente algodonoso a lanoso agregado en pequeños mechones erectos.
Plumosa. ** <i>Plumose</i> . Micelio con hifas cortas o largas agrupadas en mechones que salen de un eje central, con aspecto de plumas o abanico.
Aterciopelada. ** <i>Velvety</i> . Micelio que se organiza en una capa densa de hifas erectas, formando una pelusa como terciopelo.
Afelpada. * <i>Plushlike</i> . Textura similar a la aterciopelada, pero el micelio forma una pelusa más gruesa.
Fieltrosa. ** <i>Felty</i> . Mata compuesta de micelio algodonoso o lanoso que se ha llegado a entrelazar compactamente formando una superficie parecida al fieltro.
Subfieltrosa. ** <i>Subfelty</i> . Micelio apresado al agar formando una cubierta delgada, a menudo apenas visible.
Vellosa. ** <i>Downy</i> . Micelio con hifas finas cortas, frecuentemente erectas, esparcidas sobre la superficie del agar produciendo una mata delgada y translúcida.
Farinácea. * <i>Farinaceous</i> . Micelio con una superficie de aspecto harinoso o pulverulento.
Costrosa. * <i>Crustose</i> . Micelio muy denso y compacto formando costras generalmente de colores oscuros.
Gamuzada. * <i>Chamoislike</i> . Micelio liso compacto con el aspecto de gamuza fina.
Sedosa. ** <i>Silky</i> . Micelio con hifas paralelas largas o en grupos poco densos, más o menos postradas, con el aspecto de la seda peinada.
Lagunosa. * <i>Lacunose</i> . Superficie del micelio con hoyos, huecos o depresiones.

* Descripción original en la clave de Nobles (1965).

** Descripción original de Harsh y Long y adoptada por Nobles (1965).

Para las dos primeras características se utilizaron las clasificaciones señaladas en los cuadros 1 y 2.

Las características microscópicas fueron observadas a partir de preparaciones frescas de los cultivos, tomadas de tres zonas de la colonia como se muestra en la Fig. 4. Estas preparaciones fueron montadas en KOH al 5%, teñidas con floxina al 1% y ocasionalmente con azul de picroanilina, para observarlas al microscopio, tomando en cuenta: tipo de hifas y su tipo de septación, la presencia de estructuras especiales formadas por la diferenciación de hifas y la presencia de esporas secundarias o asexuales. La identificación de las estructuras fue llevada a cabo comparando lo observado al microscopio con las figuras de la clave de Nobles (1965). Los datos de las características, fueron registrados en un formato de observaciones periódicas de los cultivos, correspondiendo un número de código colocado entre paréntesis para cada una de éstas, de acuerdo con la clave, señalando con una interrogación cuando había dudas. Por otra parte, algunas características que no están codificadas en la clave fueron registradas como sin número (s/n). También se consideró la presencia de cristales.

Semanalmente, junto con las observaciones, fueron tomadas fotografías para las características tanto macroscópicas como microscópicas y a falta de éstas, fueron elaborados esquemas numerados con su lámina correspondiente.

3.5. Prueba para Evaluar la Agresividad de las Cepas.

El conocer la potencialidad de las especies para biodegradar madera, permite estimar su posible impacto en la naturaleza y por

CUADRO 2. GRADO DE CRECIMIENTO DEL MICELIO EN PLACAS INOCULADAS EN LA ORILLA Y OBSERVADAS DURANTE 6 SEMANAS.

Grado de Crecimiento	Tiempo en que es cubierta la placa
Rápido	1-2 semanas
Moderado	3-4 semanas
Lento	5-6 semanas
Muy lento	No cubierta en 6 semanas

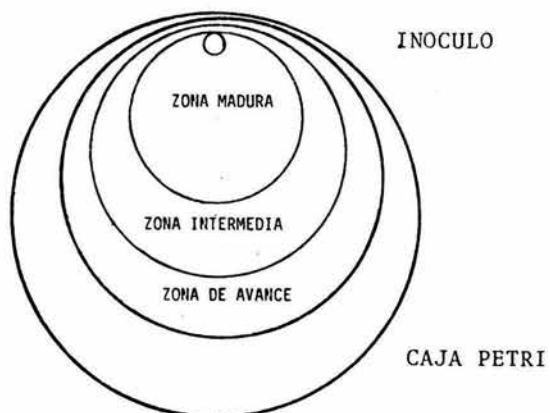


Figura 4. Placa inoculada en Malta Agar señalando las tres zonas de muestreo, para determinar las características microscópicas del micelio.

lo tanto su importancia económica. La manifestación de esta potencialidad ha sido denominada capacidad o habilidad de producir pudrición. Mientras que en un concepto formal, la agresividad de los hongos xilófagos hacia la madera, puede ser definida como un parámetro del potencial fisiológico de los sistemas enzimáticos involucrados en la degradación de la madera en función del tiempo, y un método empleado para este fin es el método suelo-bloque.

Esta técnica es una modificación a partir de un método rutinario del Princes Risborough Laboratory (Reino Unido), difiriendo en el tipo de madera, el suelo, el tamaño de los frascos de cultivo y el número de bloques por frasco. Esta técnica fue recomendada por Pinzón-Picaseño *et al.* (1982).

Para el desarrollo de este método, inicialmente fue obtenido suficiente inóculo, desarrollado durante 14 días. Luego, fueron preparadas las cámaras de pudrición, utilizando frascos tipo conserva de 235 ml de capacidad, con tapadera de rosca sin empaque. Para obtener 130% de la capacidad de retención de humedad, se agregaron 49 ml de agua destilada y 110 g de suelo, la mitad de la capacidad del frasco (118 ml) y se cuidó de nivelar su superficie. El volumen de los frascos, tipo de suelo, cantidad y contenido de humedad del mismo cumplen así con las normas ASTM D 1413-61 y D 2017-63 (American Society for Testing and Materials, 1967) y AWWA M 10-71 (American Wood Preservers' Association, 1971), cuyas especificaciones son: suelo franco-arenoso, con capacidad de retención de agua entre 20-40%, pH de 5-7 y cuyo volumen normalizado (118 cm³), es decir, la mitad de la capacidad del frasco, no debe pesar menos de 90 g. El suelo utilizado fue recolectado cerca del volcán Xitle en la sierra del Ajusco, D.F., a 3000 msnm, del horizonte 0-20.

El suelo fue secado al aire, homogeneizado y tamizado con malla No. 10, fue franco arenoso, con una capacidad de retención de agua de 39.3%, un pH de 5.7, y el volumen normalizado (118 cm^3) tuvo un peso de 98.8 g.

Los bloques de madera fueron cortados a partir de una sola tabla, aserrada en plano tangencial, de duramen de oyamel, obtenida de una empresa maderera de la región. La tabla fue primero cepillada hasta 10 mm de grosor; de ésta, fueron cortadas 10 tiras longitudinales de 5 mm de grueso; de cada tira se obtuvieron 10 bloques de 30 mm de largo. Al preparar los bloques de esta forma, se reduce mucho el riesgo de heterogeneidad en la madera. Los bloques, de $30 \times 10 \times 5 \text{ mm}$, fueron mezclados al azar y seleccionados de la misma manera para cada serie de repeticiones. Entonces, fueron rotulados con lápiz (1-100), colocados en charolas de malla de aluminio y luego secados en horno a 105°C durante 24 hrs.

Después, los bloques fueron dejados a enfriar en un desecador con sílica gel (para evitar rehidratación de los bloques) durante 30 minutos. Luego, cada bloque fue pesado en una balanza analítica con aproximación de 0.0001 g, para obtener el peso inicial anhidro (P_i). Después, fueron colocados por pares en los frascos, sellados en el suelo, de modo que la superficie superior de los bloques estuviera a nivel de la superficie del suelo. Los frascos fueron cerrados, aflojando a un cuarto de vuelta las tapas, para esterilizarlos en autoclave a 121°C y 15 lb/pul^2 , durante 60 minutos.

Una vez esterilizadas las cámaras de pudrición, los bloques de madera fueron inoculados con el micelio previamente desarrollado durante 14 días en la respectiva fase de obtención de suficiente

inóculo. El inóculo de 1 cm^2 , fue extraído del cultivo previo con sacabocados asepticado en alcohol y flameado, colocando una parte sobre el bloque y la otra sobre la superficie del suelo. Fueron empleadas 10 repeticiones de bloque para cada cepa, es decir, 5 cámaras de pudrición.

Las cámaras de pudrición fueron colocadas en cajas de plástico tipo camisera, con agua destilada en el fondo para proporcionar alta humedad relativa y fueron incubadas en un cuarto a 26°C y obscuridad. La fase de exposición al ataque de los hongos fue de 6 semanas. Transcurrido este tiempo, los bloques fueron extraídos individualmente de sus cultivos, cepillados cuidadosamente para eliminar el micelio superficial, e inmediatamente fueron pesados para obtener su peso húmedo (P_h). Finalmente, fueron secados y pesados de manera similar a la fase inicial, para obtener el peso anhidro final (P_f).

Una vez obtenidos los pesos (P_i , P_h y P_f) fue calculado porcentualmente el contenido de humedad de los bloques al final del ensayo y fue calculada la pérdida de peso en porcentaje sufrida por los bloques, debida al ataque de los hongos. Los valores de pérdida de peso fueron promediados y convertidos a términos significativos de categorías de agresividad, según una escala establecida en la tabla 6. Para obtener en valores porcentuales los datos anteriores fueron empleadas las siguientes relaciones:

$$\text{Contenido de humedad} = \frac{P_h - P_f}{P_f} \times 100$$

$$\text{Pérdida de peso} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

P_i = Peso anhidro inicial

P_h = Peso hidratado al final de la prueba

P_f = Peso anhidro final

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Determinación del Tipo de Pudrición.

La tabla 2 contiene los resultados obtenidos con los métodos de Bavendamm, de Badcock y aserrín-guayacol, para determinar el tipo de pudrición de los hongos aislados de *Abies religiosa* u oya mel del Ejido "Loma Alta" del Parque Nacional Nevado de Toluca, Zinacantepec, Estado de México (ver también figs. 5-8).

Como puede apreciarse en la mencionada tabla 2, de las 8 cepas viables de hongos estudiados con estos métodos, resultó que 7 de ellas (NT-1, NT-2, NT-3, NT-6a, NT-6b, NT-6c y NT-7), identificadas como *F. pinicola*, dieron reacción negativa (-), por lo tanto, fueron consideradas como causantes de pudrición morena, es decir, hongos capaces de metabolizar exclusivamente holocelulosa (celulosa + hemicelulosas); y sólo una cepa (NT-5), la cual fue identificada como *H. annosum*, provocó una reacción claramente positiva (+) de pudrición blanca, o sea, que se trata de un hongo capaz de metabolizar tanto a la holocelulosa como a la lignina. Comparando los datos de la tabla 2 con los de la tabla 1, es interesante resaltar que el único hongo causante de pudrición blanca, fue también el único aislado de albura de los árboles investigados. Estos resultados de reacciones positivas y negativas, coincidieron en todas las repeticiones de los diferentes aislamientos, con los tres métodos diferentes, con excepción de algunas repeticiones de las cepas NT-1 y NT-3 marcadas como dudosas (?) en el método de Bavendamm y el aislamiento NT-2 en el método de Badcock. Las cepas utilizadas como testigos de referencia, dieron reacciones concordantes conforme a lo esperado, *Fomitopsis pinicola* FPRL-98, dio reacción de pudrición morena y *Coriolus versicolor* FPRL-28a, mostró reacción de pudrición blanca.

TABLA 2. RESULTADOS DE LAS OBSERVACIONES REALIZADAS CON LOS TRES METODOS EMPLEADOS, PARA DETERMINAR EL TIPO DE PUDRICION DE LAS 8 CEPAS AISLADAS DE ARBOLES DE ABIES RELIGIOSA (H.B.K.) SCHL. ET CHAM., EN EL PARQUE NACIONAL NEVADO DE TOLUCA, ESTADO DE MEXICO.

CEPA	NOMBRE DEL HONGO	PROCEDENCIA DEL AISLAMIENTO (ARBOLES 1-4)	PRUEBA DE BAVENDAMM		PRUEBA DE BADCOCK b REPETICIONES	PRUEBA DE ASERRIN/ GUAYACOL c REPETICIONES	TIPO DE PUDRICION
			a	a			
NT-1	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw. ex Fr.) P. Karst.	1 Fructificación	? ?	- - - - -	- -	- - - - -	MORENA
NT-2	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw. ex Fr.) P. Karst.	1 Fructificación	- - - - -	- - - - -	? ?	- - - - -	MORENA
NT-3	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw. ex Fr.) P. Karst.	1 Duramen	? ?	- - - - -	- -	- - - - -	MORENA
NT-5	<i>Heterobasidion annosum</i> (Fr.) Bref.	2 Albura	+ + + +	+ + + +	+ +	+ + + + +	BLANCA
NT-6a	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw. ex Fr.) P. Karst.	3 Fructificación	- - - - -	- - - - -	- -	- - - - -	MORENA
NT-6b	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw. ex Fr.) P. Karst.	3 Fructificación	- - - - -	- - - - -	- -	- - - - -	MORENA
NT-6c	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw. ex Fr.) P. Karst.	3 Fructificación	- - - - -	- - - - -	- -	- - - - -	MORENA
NT-7	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw. ex Fr.) P. Karst.	4 Fructificación	- - - - -	- - - - -	- -	- - - - -	MORENA
TESTIGOS:							
FPRL-98	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw. ex Fr.) P. Karst.	EXTRANJERA	- - - - -	- - - - -	- -	- - - - -	MORENA
FPRL-28a	<i>Coriolus versicolor</i> (L. ex Fr.) Quéf.	EXTRANJERA	+ + + +	+ + + +	+ +	+ + + + +	BLANCA

a: (+)= Reacción de color ámbar a café obscuro; (-)= Ausencia de reacción; (?)= Reacción dudosa.

b: (+)= Oscurecimiento del aserrín, pudrición blanca; (-)= Aclaramiento del aserrín, pudrición morena; (?)= Dudosa.

c: (+)= Reacción de coloración magenta a violada; (-)= Ausencia de reacción.

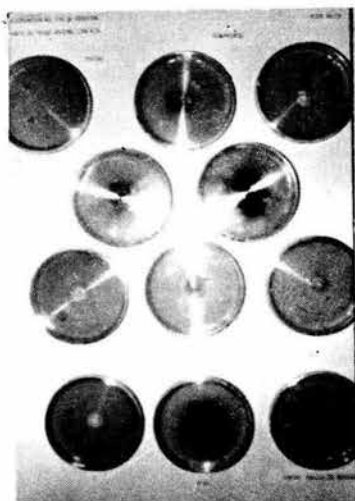


Figura 5. Reacciones de los diferentes aislamientos al de terminar tipo de pudrición en malta agar con ácido gálico (prueba de Bavendamm) a los 7 días de incubación.

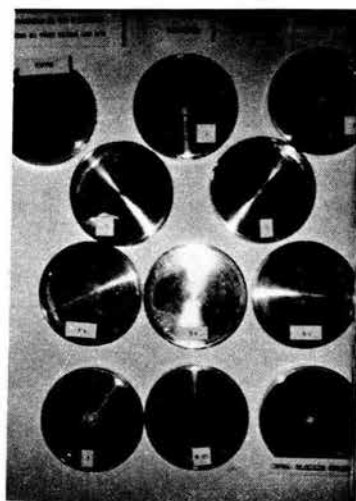


Figura 6. Reacciones de los diferentes aislamientos al de terminar tipo de pudrición en malta agar con ácido tánico (prueba de Bavendamm) a los 7 días de incubación.



Figura 7. Aspecto de los diferentes aislamientos cultivados en aserrín de pino (fórmula de Badcock) para determinar tipo de pudrición, a las 7 semanas de incubación.

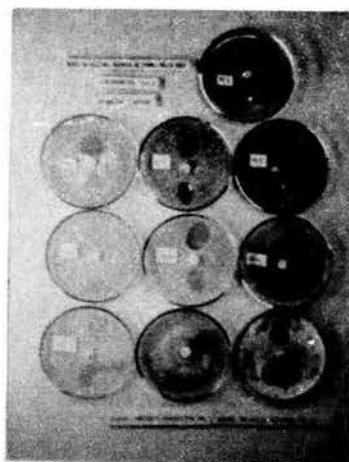


Figura 8. Reacciones producidas por guayacol en los diferentes aislamientos cultivados en malta agar con 0.4 % de aserrín de oyamel (prueba de aserrín-guayacol) durante 2 semanas.

Con la técnica de Bavendamm, que consistió en la utilización de ácidos gálico y tánico en malta agar, los resultados fueron obtenidos a partir de observaciones realizadas a los 7 días, con 4 repeticiones para cada caso, de los 8 aislamientos a probar, más las cepas testigo (ver tabla 2). Una ausencia de reacción (-), indicó qué hongos eran causantes de pudrición morena, como se determinó para los aislamientos: NT-2, NT-6a, NT-6c y NT-7, identificados como *F. pinicola*, así como la cepa testigo FPRL-98, de la misma especie. En cambio, los aislamientos NT-1 y NT-3, fueron considerados bajo este método como de reacción errática o dudosa (?), pues en algunas de sus repeticiones, fue observada una leve reacción de coloración que bien podría corresponder a una pudrición blanca, pero otras repeticiones tuvieron reacción negativa, indicando una pudrición morena para estas cepas, condición que más tarde se pudo confirmar con los otros dos métodos empleados para el mismo fin. Por otro lado, con este método resultó siempre positiva (+) la reacción de pudrición blanca para el aislamiento NT-5, identificado como *H. annosum* y para la cepa testigo (*Coriolus versicolor* FPRL-28a), lo cual se determinó al presentarse una zona de color ámbar a café oscuro en el medio alrededor del inóculo, ocasionada por la producción de oxidasas extracelulares del hongo. En la realización de esta técnica, fueron esterilizados los ácidos en solución, por separado del medio, y posteriormente las porciones fueron mezcladas. Esta variante fue descrita por Campbell (1938), pero según Davison, Campbell y Blaisdell (1938), Nobles (1958) y Ulloa y Hanlin (1978), los ácidos no se deben de esterilizar sino sólo disolver en una porción de agua del medio, esterilizada aparte. Sin embargo, se pudo comprobar que la esterilización de los ácidos en parte del agua, por separado del resto del medio, no provoca alteración perceptible de éstos, ni desnaturalización del malta agar al mezclarse, ni alteraciones en la reacción de coloración para determinar el tipo de pudrición.

Para la técnica de aserrín de Badcock, bajo las condiciones del presente estudio, la reacción de pudrición blanca (+), se caracterizó por un oscurecimiento moreno a rojizo del medio: y la pudrición morena (-), por el aclaramiento del aserrín. Así, sólo el aislamiento NT-5 (*H. annosum*) y la cepa testigo (*Coriolus versicolor* FPRL-28a) resultaron ser positivos en todas las observaciones, como organismos causantes de pudrición blanca, porque el medio de aserrín manifestaba oscurecimiento moreno en la zona colonizada por el micelio, en las observaciones realizadas a las 4 y 7 semanas, siendo las reacciones más intensas a las 7 semanas. La cepa NT-2 provocó un ligero oscurecimiento rojizo en el medio, por lo que la reacción marcada en la tabla 2 es dudosa (?), mientras que el resto de los aislamientos identificados como *F. pinicola*, así como la cepa testigo FPRL-98, fueron causantes de pudrición morena, por la producción de una decoloración del substrato en toda la zona colonizada por el micelio tanto a las 4 como a las 7 semanas, siendo la reacción más clara a las 7 semanas. Para llevar a cabo esta técnica, se utilizó aserrín de pino, substituyendo al de abeto o haya de la técnica original (Badcock, 1941; Carey, 1975; y Hudson, 1972, aclaró que para esta prueba puede ser usado aserrín de gimnospermas o de angiospermas, según el origen del aislamiento), lo cual pudo influir en las características de las reacciones, pues la descripción de la reacción de pudrición blanca, en la técnica original, se indica como aquella en la que el aserrín presenta un color café intenso, formado alrededor de la zona de avance del micelio, seguido de una decoloración del aserrín en las zonas más cercanas al inóculo, en tanto que la pudrición morena, se identifica cuando en el medio de aserrín se presenta un oscurecimiento gradual (Hudson, 1972; Carey, 1975). Sin embargo, reacciones de coloración similares a las observadas en el presente trabajo, para determinar a los dos tipos de pudrición, también fueron señaladas por López Guerrero (1979), para ce

pas de procedencia extranjera, por Véliz Avila (1982) y Hernández Jiménez (1984), aunque estos últimos estudios fueron con hongos - de procedencia tropical.

La prueba de aserrín-guayacol en malta agar, desarrollada por Ruiz Rodríguez y Pinzón Picaseño (1986), dio resultados comparables a los de las otras técnicas, aunque aparentemente más confiables que con los métodos de Bavendamm y de Badcock, pues no hubo casos de reacción errática. La tabla 2 indica que los aislamientos identificados como *F. pinicola*, así como la cepa testigo correspondiente (*F. pinicola* FPRL-98), mostraron reacciones negativas, mientras que el aislamiento NT-5 (*H. annosum*) y la cepa testigo de pudrición blanca (*Coriolus versicolor* FPRL-28a), mostraron reacción positiva, siendo tomadas las lecturas a las 3 semanas.

Esta técnica fue empleada en sustitución de la descrita por Nobles (1958), debido a que en México es muy difícil de obtener la resina de guayaco pura. En la técnica original, la autora utilizó la resina (marca Fisher) de guayaco o guayacán (obtenida de manera industrial principalmente de *Guaiacum sanctum* L. y *G. officinale* L. Fam. Zygophyllaceae), diluyendo 0.5 g en 30 ml de alcohol 95°, de esta solución, añadía 2 a 3 gotas sobre el micelio de hongos incubados durante tres semanas en malta agar. La reacción positiva de pudrición blanca consistía en la aparición de una coloración azul en pocos minutos, mientras que una ausencia de reacción (reacción negativa), indicaría que se trata de un hongo de pudrición morena.

En lugar de la resina de guayacán, en el presente trabajo fue utilizado un derivado de esta resina, que es el guayacol. El guayacol se obtiene por destilación seca de la resina de guayacán, o por la síntesis, a partir de o-nitrofenol, por la metilación parcial de la pirocatequina, o a través de los diazo-derivados de la o-anisidina. Este producto, se presenta en forma de cris

tales blancos a ligeramente amarillos, o más comunmente, como un líquido aceitoso (esencia) muy refringente, de olor característico. El líquido se vuelve ambarino con el paso del tiempo, por exposición al aire y la luz. El guayacol es poco soluble en agua, soluble en alcohol, éter y cloroformo; con cloruro de hierro III, da una coloración azul propia del grupo fenólico. El guayacol se usa para la obtención de vainillina; en medicina, como estimulante y diaforético en caso de reuma y gota, y en infecciones crónicas de las vías respiratorias, como expectorante y antiséptico (Bovant, 1888; Barceló, 1979; Niembro Rocas, 1986).

Como en este trabajo se utilizaría un derivado, en vez de la resina de guayaco original, se consideró esperable una reacción menos intensa en el guayacol, por lo que se pensó en utilizar un medio conteniendo aserrín de oyamel, en la suposición de que la presencia de madera estimularía más la producción del sistema enzimático degradador de la lignina (oxidasas extracelulares), incrementando así las posibilidades de obtener reacciones intensas y confiables.

Las reacciones positivas se presentaron en un tiempo de 30 a 60 minutos, como zonas de coloración morada a violada en el micelio y el medio inmediato, y solamente el aislamiento NT-5 (*H. annosum*) y la cepa testigo (*Coriolus versicolor* FPRL-28a), reaccionaron positivamente con esta prueba, mientras que los otros aislamientos (*F. pinicola*) y la cepa testigo (*F. pinicola* FPRL-98), no reaccionaron.

Un análisis comparativo de los tres métodos utilizados para determinar el tipo de pudrición de los aislamientos, es pertinente a continuación. En primer lugar, debe mencionarse que con excepción de los tres casos que dieron reacción errática, aislamientos NT-1 y NT-3 con la prueba de Bavendamm, y el aislamiento NT-2 con la prueba de Badcock, los resultados obtenidos fueron similares,

por lo que este análisis recae mayormente en los aspectos prácticos.

La prueba de Bavendamm, cuando produce reacciones positivas, - éstas son tan fuertes y definidas que aún para un observador no - experimentado, son fáciles de interpretar, por lo que no es muy - necesario el empleo de cepas testigo (representantes de cada tipo de pudrición) ni testigos sin inocular, no teniendo que aumentar - así el trabajo y materiales. El tiempo requerido para esta prueba es corto (1 semana), y el método es casi tan sencillo como preparar dos medios de cultivo normales. Sus inconvenientes consisten en la ausencia de una reacción propia para determinar pudrición morena, la ocasional ocurrencia de reacciones positivas erráticas (lo cual puede ser grave), y el alto costo de los reactivos utilizados (ácido gálico y ácido tánico).

La prueba de Badcock es muy económica en sus ingredientes y sencilla en su preparación por tratarse de un solo medio, pero so bre todo, es muy confiable por utilizar como substrato madera y porque cada tipo de pudrición es determinado por su propia reacción y no sólo por ausencia de una reacción positiva. Sin embargo, como ya fue mencionado, las características de las reacciones pueden variar según el aserrín que se emplee, o estas reacciones pueden no ser suficientemente claras para el ojo no entrenado, e incluso ser dudosas, como ocurrió en el presente estudio, por lo que es muy recomendable que para su utilización sean incluidas cepas tes tigo bien comprobadas, de cada tipo de pudrición, así como testigos no inoculados. Esto sirve, tanto para comparar la forma en que se presenta cada reacción, como para detectar los cambios sutiles que pudieran ocurrir en el aserrín, por efecto de los hongos o del manejo (humectación, esterilización). Sin embargo, esto complica la técnica, por tener que manejar más cepas y testigos. Otra desventaja de esta prueba se debe a su ma-

por duración (4 a 7 semanas), con respecto a los otros métodos.

La prueba de aserrín-guayacol en malta agar, parece ser prometedora por la consistencia de los resultados obtenidos en este trabajo, aunque todavía hace falta probarla con muchos otros hongos. En cuanto a costo y factibilidad, es muy recomendable porque el guayacol es bastante económico y fácil de adquirir en droguerías, aún en pequeñas poblaciones. Con esta técnica, tampoco es muy necesario el uso de cepas testigo y testigos no inoculados, aunque sería recomendable el uso de las primeras por la escasa experiencia que se tiene con este tipo de reactivo. Con respecto al tiempo requerido (3 semanas), esta prueba queda en un nivel casi intermedio entre la de Bavendamm y la de Badcock. Sin embargo, es relativamente más complicada de realizar, por la preparación del aserrín para el medio de cultivo. La principal desventaja de este método consiste en que tampoco produce una reacción propia para pudrición morena.

Deben de agregarse finalmente dos puntos, el primero concierne a que, en general, los resultados de las pruebas que no proporcionan una reacción distintiva para determinar pudrición morena, deben interpretarse con precaución, pues una reacción negativa puede significar, o bien que el hongo cause pudrición morena, o bien que la prueba no es adecuada para el hongo. Y el segundo punto, consiste en recomendar que para una determinación confiable y definitiva del tipo de pudrición que causan aislamientos poco conocidos de hongos xilófagos, deben emplearse varios métodos diferentes.

4.2. Descripción de las Características de los Micelios en Cultivo.

Los resultados de esta parte del trabajo, están contenidos de manera abreviada en las tablas 3 (para caracteres codificados) y 4 (para caracteres no codificados) del método de Nobles (1965) aplicado al estudio de los aislamientos de *F. pinicola* y *H. annosum* del Nevado de Toluca y un aislamiento de *F. pinicola* de procedencia extranjera (Francia).

La descripción detallada de las características culturales del micelio de los hongos estudiados, se presenta a continuación, para cada aislamiento, en un formato acorde con la agrupación y secuencia original del método de Nobles (1965). En estas descripciones, los números codificados de las características, se incluyen entre paréntesis, los caracteres no codificados se expresan s/n, los símbolos † indican presencia/ausencia irregular de la característica, el símbolo ? indica observación dudosa de características. En algunos casos (NT-5, NT-6a, NT-6b y NT-6c) fueron tomadas medidas de diámetro de las hifas, solamente para dar una indicación de lo referido como ancho y angosto. Los esquemas (o dibujos) de las láminas, fueron trazados libremente (sin aparato alguno) a partir de campos observados a 500 aumentos, por lo que no fue factible establecer una escala.

TABLA 3. CODIFICACION DE LAS CARACTERISTICAS CULTURALES SEGUN LA CLAVE DE NOBLES (1965) DE LOS AISLAMIEN-
 TOS DE *FOMITOPSIS PINICOLA* DEL NEVADO DE TOLUCA*, *FOMITOPSIS PINICOLA* DE PROCEDENCIA EXTRANJE-
 RA** Y *HETEROBASIDIUM ANNOSUM**** DEL NEVADO DE TOLUCA.

AISLAMIEN- TOS	CARACTERES CODIFICADOS
NT-1*	1. 3. 6. 8. 9. 11. 13. 15. 17? . 22. 34. 35. 36. 38. 44. 50. 55.
NT-2*	1. 3. 5. 6. 9. 11. 12. 15. 17. 33±. 34. 35. 36. 38. 46. 50. 55.
NT-3*	1. 3. 6. 8. 9. 11. 17. 21. 34. 35. 36. 38. 45. 50. 55.
NT-5***	2. 6. 11. 33. 34. 36. 38. 44. 53. 55.
NT-6a*	1. 3. 9. 11. 15. 21. 22. 33±. 34. 35. 36. 38. 44. 50. 55.
NT-6b*	1. 3. 5. 6. 8. 9. 10. 11. 15. 17. 24? . 34. 35. 36. 38. 44. 50. 55.
NT-6c*	1. 3. 5. 8. 9. 10. 11. 15. 17. 22. 34. 35. 36. 38. 44. 50. 55.
NT-7*	1. 3. 5. 8. 9. 10. 11. 15. 17. 34. 35. 36. 38. 44. 50. 55.
FPRL-98**	1. 3. 6. 9. 10. 11. 15. 21. 22. 34. 36. 38. 44. 50.
F. PINICOLA	
(Nobles, 1965)	1. 3. 8. 32. 34±. 36. 38. 43-46. 54. 55. 59.
(Herrera Campos, 1985)	1. 3. 8. 22. 32±. 34. 36. 40? 44-46. 50. 55.
F. ANNOSUS	
(Nobles, 1965)	2. 5±. 6. 7. 10±. 11±. 33. 36. 37. 38. 42. 47±. 50. 53. 54±. 55.

Aislamiento: FOMITOPSIS PINICOLA NT-1 (Nevado de Toluca, Méx.)

Características: 1. 3. 6. 8. 9. 11. 13. 15. 17? . 22. 34. 35. 36.
38. 44. 50. 55.

Ilustraciones: Lámina I; Placa 1, fotos 1-3.

Tipo de pudrición.- Produce reacción negativa en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín guayaquil, por lo tanto es causante de pudrición morena (1).

Septación de hifas.- Hifas consistentemente nodoso septadas, angostas y anchas de pared delgada (3), presentes en la zona de avance e intermedia (Lám. I.1.). Hifas simple septadas (6) en la zona de avance (Lám. I.2.).

Estructuras especiales formadas por diferenciación de hifas.- Fibrohifas (8) presentes en la zona intermedia. Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas (9) en la zona intermedia (Lám. I.3.). Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares (11) presentes en la zona de avance e intermedia (Lám. I.4., foto 2.). Cistidios (13) observados en la zona de avance. Gloeocistidios (15) observados en la zona de avance e intermedia (Lám. I.5.). Aparentemente, setas presentes (17?) en el micelio aéreo (Lám. I.6.). Hifas en forma de nudo o bulbillo (22) en la zona madura (Lám. I.7.). Hifas onduladas con aspecto de tirabuzón (s/n), ilustradas en la lámina I.8.

Conidios, clamidosporas y oidios.- Clamidosporas abundantes durante las primeras semanas (34) en la zona intermedia y madura (Lám. I.9., foto 3.). Presencia de oidios (35) a las seis semanas (Lám. I.10.).

Color de hifas y micelio.- Hifas hialinas y micelio blanco (36).

Cambios de color en el agar.- No produce cambios de color en el reverso del agar (38).

Grado de crecimiento.- El micelio cubre la superficie del medio en menos de cuatro semanas (44), crecimiento moderado (foto 1.).

Fructificación en cultivo.- No ocurrió fructificación durante el período de incubación (s/n).

Olor del cultivo.- Olor dulce parecido a frutas (50).

Substrato.- Fructificación sobre madera de gimnospermas (55).

Intenfertilidad.- No estudiada.

Características no codificadas.- Textura del micelio variable, fieltrosa, algodonosa-plumosa a algodonosa (foto 1.). El pH fue de 2.5 a las tres semanas y a las seis semanas bajó a 2.0. Cristales rómbicos presentes en el cuarto período de observación (Lám. I.11.). Exudados observados a las dos semanas.

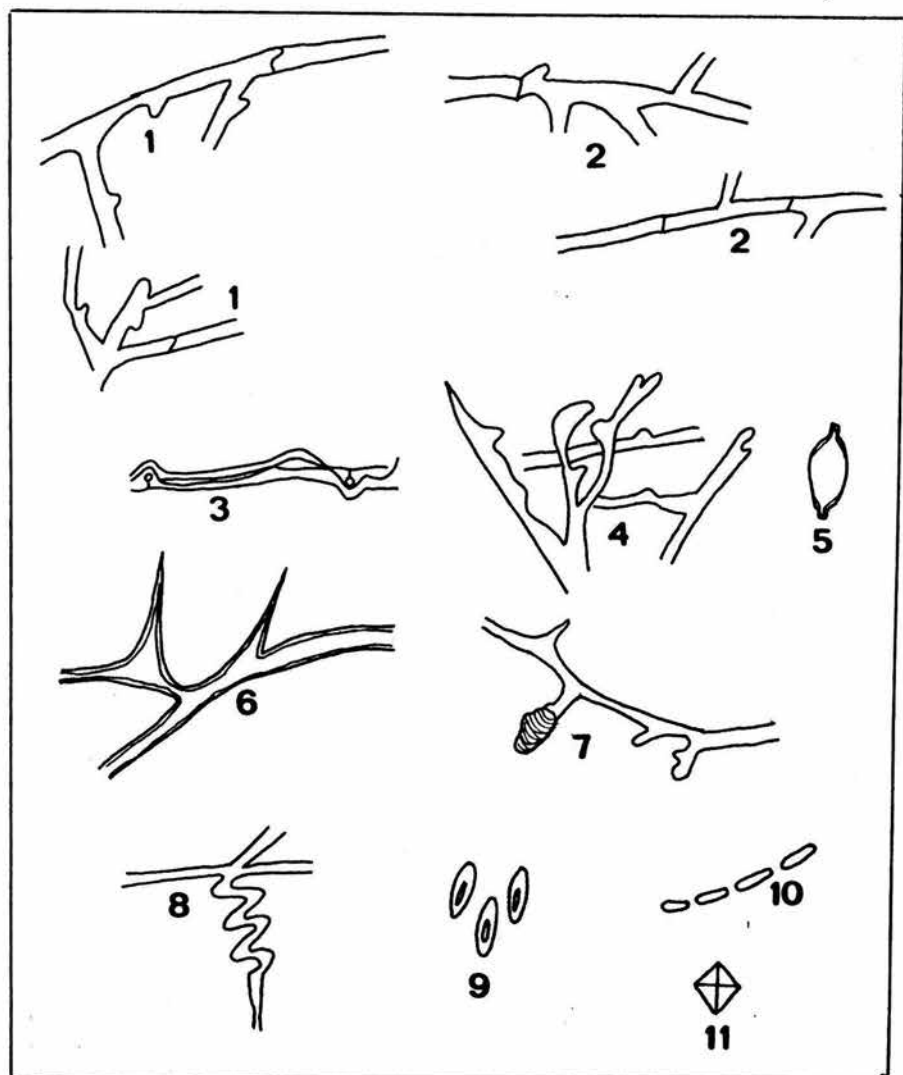


Lámina 1. *Fomitopsis pinicola* (NT-1). Características microscópicas del micelio en cultivo: 1. Hifas consistentemente nodoso septadas. 2. Hifas simples septadas. 3. Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas. 4. Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares. 5. Gloeocistidios. 6. Setas. 7. Hifas en forma de nudo o bulbillo. 8. Hifas onduladas. 9. Clamidosporas. 10. Oidios. 11. Cristales rómbicos.

PLACA 1. Fotografías 1-6. Características microscópicas del micelio en cultivo de los aislamientos (NT-1 y NT-2) de *F. pinicola* del Nevado de Toluca.

NT-1 Foto 1. Crecimiento del micelio a las cuatro semanas de incubación.

Foto 2. Hifas con numerosas ramas cortas e irregulares en la zona de avance, (500X.)*

Foto 3. Presencia de clamidosporas en la zona madura, 500X.

NT-2 Foto 4. Crecimiento del micelio a las cuatro semanas de incubación.

Foto 5. Hifas nodoso septadas en la zona de avance, 500X.

Foto 6. Presencia de fibúlas en las hifas nodoso-septadas en la zona intermedia.

* Nota: Los aumentos indicados se refieren a los de la óptica del microscopio no a la amplificación de la fotografía.

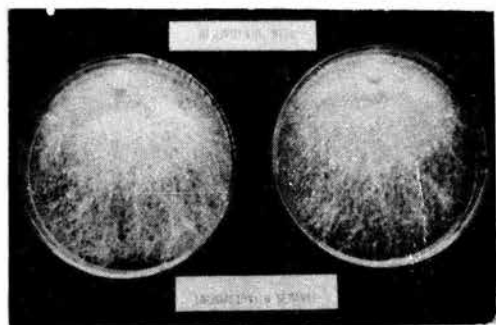


Foto 1.

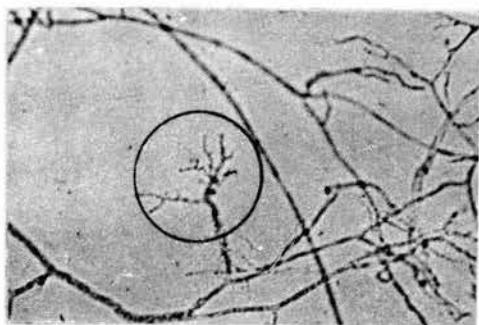


Foto 2.

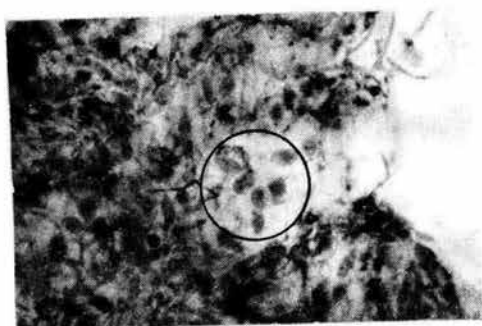


Foto 3.

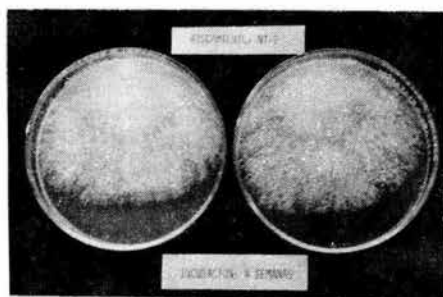


Foto 4.

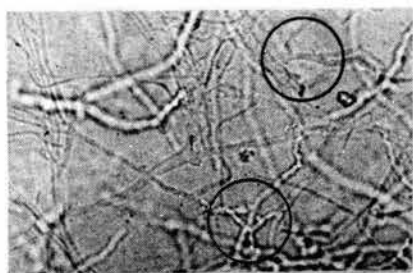


Foto 5.



Foto 6.

Aislamiento: FOMITOPSIS PINICOLA NT-2 (Nevado de Toluca, Méx.)

Características: 1. 3. 5. 6. 9. 11. 12. 15. 17. 33 ±. 34. 35. 36.
38. 46. 50. 55.

Ilustraciones: Lámina II; Placas 1-2, fotos 4-9.

Tipo de pudrición.- Produce reacción negativa en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayacol, por lo tanto es causante de pudrición morena (1).

Septación de hifas.- Hifas consistentemente nodoso septadas (3); unas largas, angostas y de pared delgada (Lám. II.1., foto 5.); otras son cortas, anchas y de pared gruesa; ambas predominantes en la zona de avance y las primeras también en la zona intermedia. Hifas angostas, de pared delgada, con ocasionales conexiones en grapa múltiples (5), como se puede ver en la Lám. II.2., foto 6., pero más bien consistentemente simple septadas (6), predominantes en la zona intermedia a madura (Lám. II.3.).

Estructuras especiales formadas por diferenciación de hifas.- Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas (9) en la zona de avance (Lám. II.4.). Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares (11) en la zona intermedia (Lám. II.5.). Hifas con numerosas ramas retorcidas e incrustadas (12) en la zona de avance (Lám. II.6.). Gloeocistidios (15) en la zona madura (Lám. II.7., foto 7.). Setas presentes en el micelio aéreo (17) en la zona intermedia.

Conidios, clamidosporas y oidios.- Conidios ocasionalmente presentes (33 ±) en la zona intermedia. Clamidosporas inmaduras (34) en la zona intermedia (Lám. II.8., fotos 8-9.) y oidios presentes (35).

Color de hifas y micelio.- Hifas hialinas y micelio blanco (36).

Cambios de color en el agar.- No produce cambio de color en el reverso del agar (38).

Grado de crecimiento.- El micelio cubre la superficie del medio antes de las seis semanas (46), crecimiento lento.

Fructificación en cultivo.- No ocurrió fructificación durante el período de incubación (s/n).

Olor del cultivo.- Olor dulce parecido a frutas (50).

Substrato.- Fructificación sobre madera de gimnospermas (55).

Intenfertilidad.- No estudiada.

Características no codificadas.- Textura del micelio variable, de subfieltrosa a fieltrosa a farinácea-fieltrosa (foto 4.). El pH fue de 2.5 a las tres semanas y aumentó a 3.0 a las seis semanas. Cristales rómbicos presentes en el cuarto período de observación (Lám. II.9.). Exudados ausentes en el período de observación.

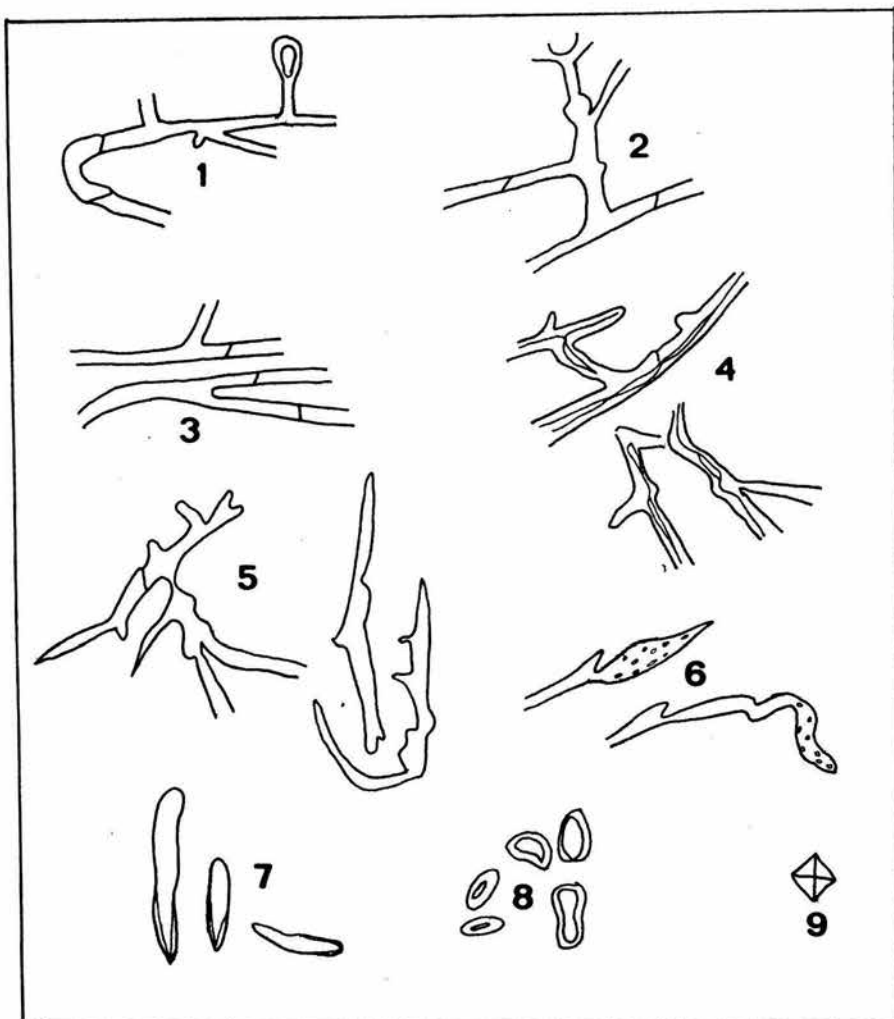


Lámina II. *Fomitopsis pinicola* (NT-2). Características microscópicas del micelio en cultivo: 1. Hifas consistentemente nodoso septadas. 2. Hifas nodoso septadas con conexiones en grapa múltiple. 3. Hifas simple septadas. 4. Hifas nodoso septada de paredes irregularmente engrosadas. 5. Hifas con ramas cortas recurvadas e irregulares. 6. Apices de hifas con numerosas ramas cortas retorcidas e incrustadas. 7. Gloeocistidios. 8. Clamidosporas. 9. Cristales rómbicos.

Aislamiento: FOMITOPSIS PINICOLA NT-3 (Nevado de Toluca, Méx.)
Características: 1. 3. 6. 8. 9. 11. 17. 21. 34. 35. 36. 38. 45. 50. 55.
Ilustraciones: Lámina III; Placa 2, fotos 10-12.

Tipo de pudrición.- Produce reacción negativa en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayacol, por lo tanto es causante de pudrición morena (1).

Septación de hifas.- Hifas consistentemente nodoso septadas de pared delgada (3). Hifas simple septadas de pared delgada (6). Ambas en la zona de avance (Lám. III.1., foto 11.; Lám. III.2., respectivamente). Hifas de pared gruesa (s/n) en la zona madura.

Estructuras especiales formadas por diferenciación de hifas.- Fibrohifas (8) presentes en la zona intermedia (Lám. III.3.). Hifas nodoso septadas de pared irregularmente engrosadas (9) en la zona de avance. Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas o "chipotes" (11) en la zona intermedia (Lám. III.4.). Setas (17) presentes en el micelio aéreo de la zona de avance y zona intermedia (Lám. III.5.). Hifas con masas resinosas adheridas a la pared (21) en la zona intermedia (Lám. III.6., foto 12.). Hifas onduladas o con aspecto de tirabuzón (s/n) en la zona madura (Lám. III.7.).

Conidios, clamidosporas y oidios.- Clamidosporas (34) presentes en la zona de avance y la zona intermedia a partir de la tercera semana (Lám. III.8.). Oidios observados en la zona de avance e intermedia a partir de la tercera semana (35).

Color de hifas y micelio.- Hifas hialinas y micelio blanco (36).

Cambios de color en el agar.- No produce cambios de color en el reverso del agar (38).

Grado de crecimiento.- El micelio cubre la superficie del medio en cinco semanas (45), crecimiento lento.

Fructificación en cultivo.- No ocurrió fructificación durante el período de incubación (s/n).

Olor del cultivo.- Olor dulce parecido a frutas (50).

Substrato.- Aislado de la madera de gimnospermas (55).

Intenfertilidad.- No estudiada.

Características no codificadas.- Textura del micelio casi uniforme de algodonosa a algodonosa-plumosa (foto 10.). El pH fue de 2.5 a las tres semanas y a las seis semanas bajó a 2.0. Cristales rómbicos presentes en el segundo período de observación (Lám. III.9.). Exudados presentes en la segunda y tercera semana de observación.

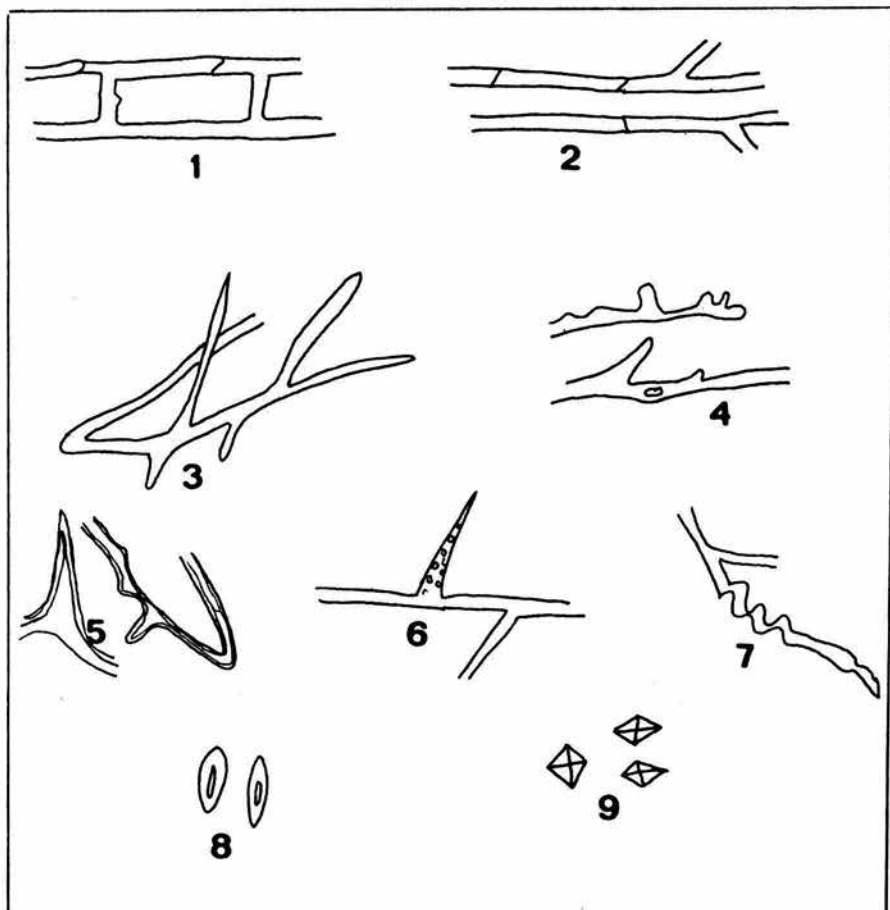


Lámina III. *Fomitopsis pinicola* (NT-3). Características microscópicas del micelio en cultivo: 1. Hifas nodoso septadas. 2. Hifas simple septadas. 3. Fibrohifas. 4. Hifas con ramas cortas recurvadas e irregulares. 5. Setas. 6. Hifas con masas resinosas adheridas a la pared. 7. Hifas onduladas. 8. Clamidosporas. 9. Cristales rómbicos.

PLACA 2. Fotografías 7-12. Características microscópicas del micelio en cultivo de los aislamientos (NT-2 y NT-3) de *F. pinicola* del Nevado de Toluca.

NT-2 Foto 7. Gloeocistidios en la zona madura, 500X.

Foto 8. Estado inmaduro de clamidosporas en la zona intermedia.

Foto 9. Clamidosporas presentes en la zona intermedia, 500X.

NT-3 Foto 10. Crecimiento del micelio a las dos semanas de incubación.

Foto 11. Hifas nodoso-septadas en la zona intermedia, 500X.

Foto 12. Hifas con masas resinosas adheridas a la pared en la zona madura.

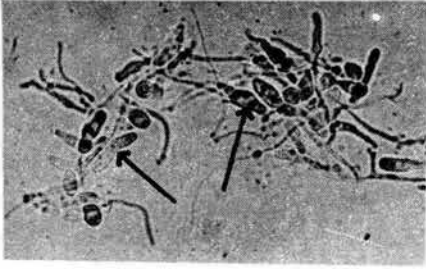


Foto 7.



Foto 8.

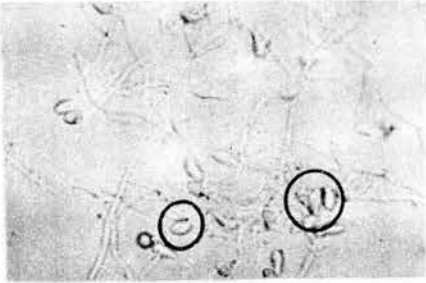


Foto 9.

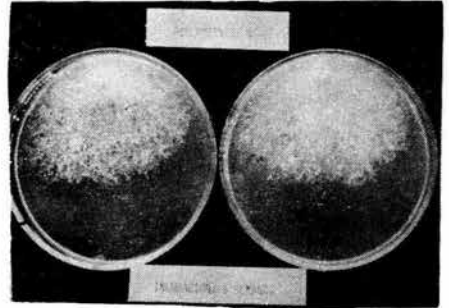


Foto 10.

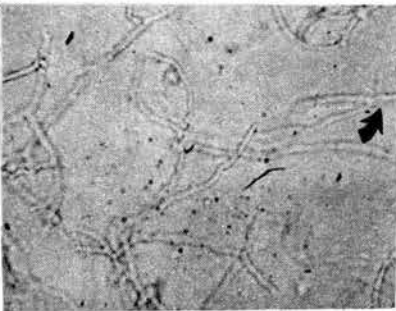


Foto 11.

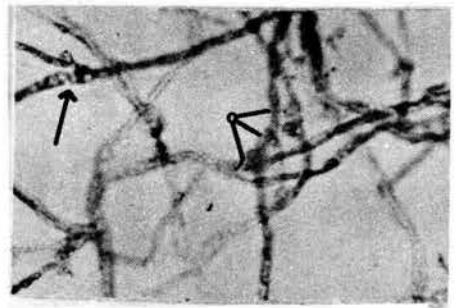


Foto 12.

Aislamiento: *HETEROBASIDIUM ANNOSUM* NT-5 (Nevado de Toluca, Méx.)

Características: 2. 6. 11. 33. 34. 36. 38. 44. 53. 55.

Ilustraciones: Lámina IV; Placa 3, fotos 13-16.

Tipo de pudrición.- Produce reacción positiva en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayacol, por lo tanto es causante de pudrición blanca (2).

Septación de hifas.- Hifas angostas y de pared delgada (1.25-2.5 μ m diám.) y anchas y gruesas (3.8-5.8 μ m diám.), todas simples septadas (6) en la zona de avance (Lám. IV. 1 y 2., respectivamente; foto 14.).

Estructuras especiales formadas por diferenciación de hifas.- Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares (11) en la zona madura (Lám. IV.3.). Hifas con paredes irregulares, pero simple septadas (s/n) en la zona de avance y en la zona madura (Lám. IV.4.).

Conidios, clamidosporas y oidios.- Presenta conidios, tipo botrioblastosporas (33) en conidióforos oedocefaloides en la zona intermedia (Lám. IV.5., fotos 15-16.). Presenta clamidosporas terminales (34) en la zona madura (Lám. IV.6.).

Colon de hifas y micelio.- Hifas hialinas y micelio blanco (36).

Cambios de color en el agar.- No produce cambios de color en el reverso del agar (38).

Grado de crecimiento.- El micelio cubre la superficie del medio antes de la cuarta semana (44), crecimiento moderado.

Fructificación en cultivo.- No ocurrió fructificación durante el período de incubación (S/n).

Olor del cultivo.- Olor notable pero no definido (53).

Substrato.- Aislado de madera de gimnospermas (55).

Intenfertilidad.- No estudiada.

Características no codificadas. - Textura del micelio variable de farinácea-subfieltrosa a farinácea, flocosa (foto 13.). El pH fue de 5.0 a la tercera semana y a la cuarta semana bajó a 4.0. Cristales y exudados ausentes en todas las observaciones.

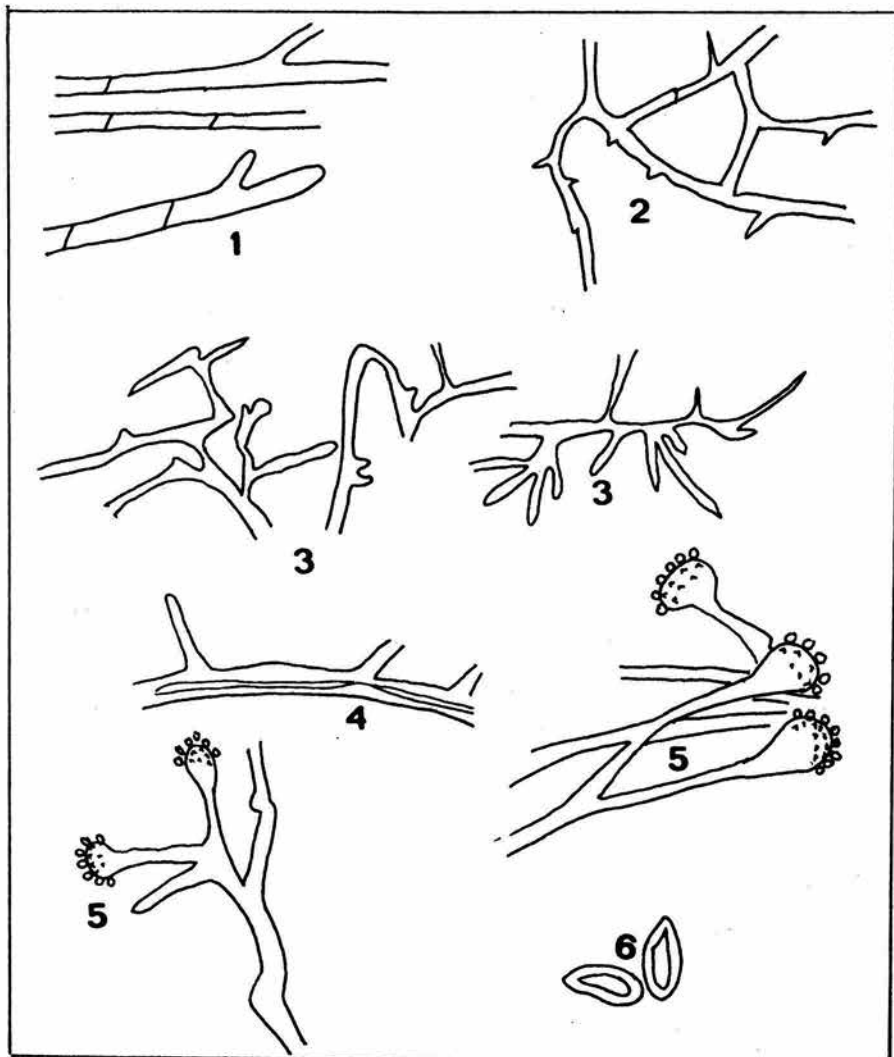


Lámina IV. *Heterobasidion annosum* (NT-5). Características microscópicas del micelio en cultivo: 1-2. Hifas anchas y angostas de pared gruesa y delgada simple septadas. 3. Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares. 4. Hifas simple septadas con paredes irregulares. 5. Conidióforo con conidios. 6. Clamidosporas.

PLACA 3. Fotografías 13-19. Características microscópicas del micelio en cultivo del aislamiento (NT-5) *H. annosum* y (NT-6a) *F. pinicola* del Nevado de Toluca.

NT-5 *Foto 13.* Crecimiento del micelio a las tres semanas de incubación.

Foto 14. Hifas simple septadas de pared delgada y gruesa en la zona de avance, 500X.

Foto 15. Conidios tipo botrioblastosporas en la zona madura, 500X.

Foto 16. Conidióforos odocefaloides en la zona madura, 500X.

NT-6a *Foto 17.* Crecimiento del micelio a las cinco semanas de incubación.

Foto 18. Hifas nodoso-septadas de pared delgada, 500X.

Foto 19. Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares en la zona de avance, 500X.

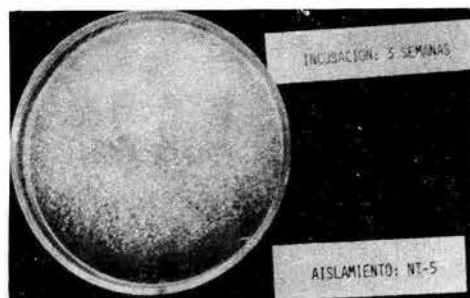


Foto 13.

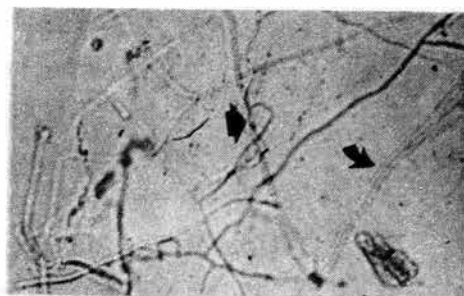


Foto 14.

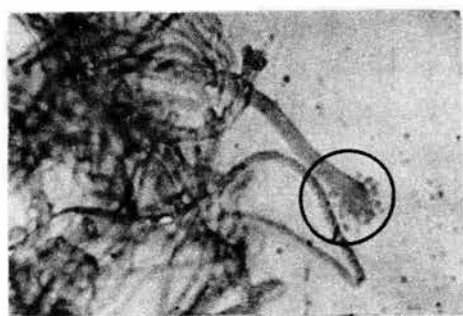


Foto 15.

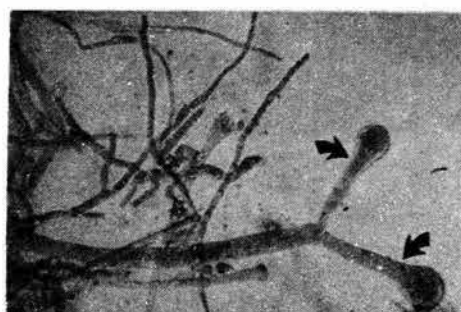


Foto 16.



Foto 17.



Foto 18.

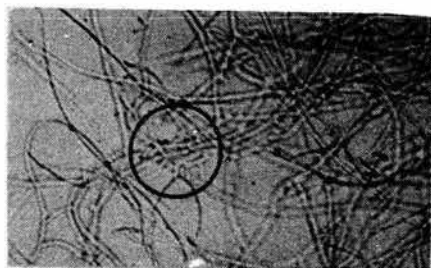


Foto 19.

Aislamiento: FOMITOPSIS PINICOLA NT-6a (Nevado de Toluca, Méx.)
Características: 1. 3. 9. 11. 15. 21. 22. 33 ±. 34. 35. 36. 38. 44.
50. 55.

Ilustraciones: Lámina V; Placas 3-4, fotos 17-22.

Tipo de pudrición.- Produce reacción negativa en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayacol, por lo tanto es causante de pudrición morena (1).

Septación de hifas.- Hifas consistentemente nodoso septadas (3), unas angostas y de pared delgada (0.95-1.9 um diám.) y otras cortas y anchas (2.5-2.85 um diám.), las primeras en la zona de avance y madura y las últimas en la zona intermedia (Lám. V.1., foto 18.). Hifas simple septadas de pared gruesa (2.3-3.45 um diám.) en la zona madura (s/n), ilustradas en la lámina V.2.

Estructuras especiales formadas por diferenciación de hifas.- Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas (9) en la zona de avance e intermedia (Lám. V.3.). Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares (11) en la zona de avance e intermedia (Lám. V.4., foto 19.). Gloeocistidios (15) presentes en la zona madura. (Lám. V.5., foto 20.). Hifas con masas resinosas adheridas a las paredes (21) observadas en la zona intermedia (foto 21.). Hifas en forma de nudo o bulbillo (22) presentes en la zona madura. Hifas onduladas con aspecto de tirabuzón (s/n) en la zona intermedia (Lám. V.6., foto 22.).

Conidios, clamidosporas y oidios.- Conidios ocasionalmente presentes (33 ±) en la zona madura. Clamidosporas intercalares (34) en la zona madura (Lám. V.7.). Y oidios presentes (35) también en la zona madura (Lám. V.8.).

Colon de las hifas y micelio.- Hifas hialinas y micelio blanco (36).

Cambios de color en el agar.- No produce cambios de color en el reverso del agar (38).

Grado de crecimiento.- El micelio cubre la superficie del medio antes de la cuarta semana (44), crecimiento moderado.

Fructificación en cultivo.- No ocurrió fructificación durante el período de incubación (s/n).

Olor del cultivo.- Olor dulce parecido a frutas (50).

Substrato.- Fructificación sobre madera de gimnospermas (55).

Interfertilidad.- No estudiada.

Características no codificadas.- Textura del micelio de flocosa a algodonosa a algodonosa-lanosa (foto 17.). El pH fue de 2.0, tanto a las tres como a las seis semanas. Cristales rómbicos presentes en la cuarta semana (Lám. V.9.). Exudados presentes en la segunda y tercer semana.

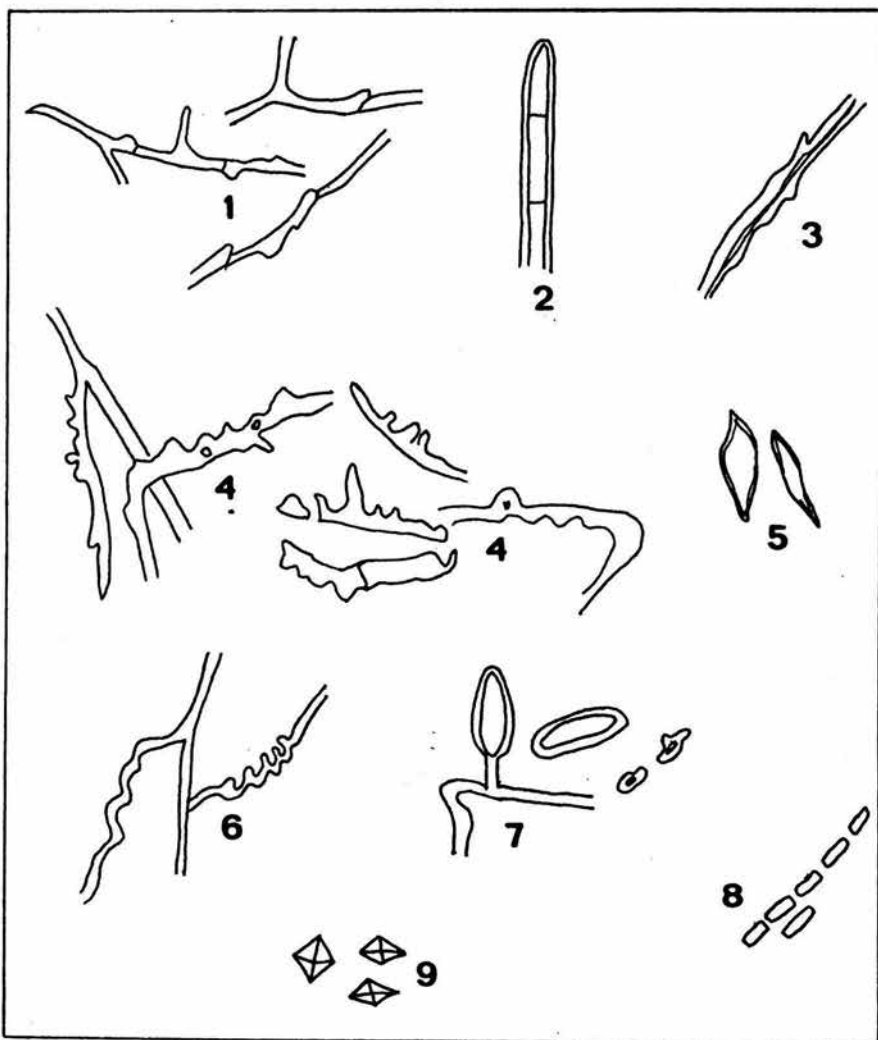


Lámina V. *Fomitopsis pinicola* (NT-6a). Características microscópicas del micelio en cultivo: 1. Hifas nodoso septadas. 2. Hifas simple septadas. 3. Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas. 4. Hifas de ramas cortas recurvadas e irregulares. 5. Gloeocistidios. 6. Hifas onduladas. 7. Clamidosporas. 8. Oidios. 9. Cristales rómbicos.

Aislamiento: FOMITOPSIS PINICOLA NT-6b (Nevado de Toluca, Méx.)
Características: 1. 3. 5. 6. 8. 9. 10. 11. 15. 17. 24? . 34. 35. 36.
38. 44. 50. 55.

Ilustraciones: Lámina VI; Placas 4-5, fotos 23-28.

Tipo de pudrición.- Produce reacción negativa en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayacol, por lo tanto es causante de pudrición morena (1).

Septación de hifas.- Hifas consistentemente nodoso septadas (3), angostas (0.95-2.6 um diám.) de pared delgada (Lám. VI.1., foto 24). Hifas de pared delgada con ocasionales conexiones en grapa múltiple aunque generalmente simple septadas predominantes en la zona de avance (5). Hifas de pared delgada largas y angostas (0.65-1.9 um diám.), simple septadas (6) en la zona madura (Lám. VI.2.).

Estructuras especiales formadas por diferenciación de hifas.- Fibrohifas (8) presentes en las tres zonas muestreadas (foto 25.). Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas (9) en la zona madura. Hifas diferenciadas en forma de células cuticulares (10) en la zona madura (Lám. VI:3.). Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares (11) en la zona intermedia (Lám. VI.4.). Gloeocistidios (15) observados en la zona madura (Lám. VI.5.). Setas presentes en el micelio aéreo (17) en la zona madura (Lám. VI.6.). Hifas aparentemente con paredes algo engrosadas y con lumenes vacíos (24?) en la zona intermedia (Lám. VI.7., foto 26.). Hifas onduladas con aspecto de tirabuzón (s/n) en la zona intermedia (Lám. VI.8.).

Conidios, clamidosporas y oidios.- Clamidosporas presentes en abundancia (34) en la zona intermedia y madura (Lám. VI.7 y 9., foto 28.). Oidios (35) presentes en la zona madura (foto 27.).

Color de hifas y micelio.- Hifas hialinas y micelio blanco (36).

Cambios de color en el agar.- No produce cambios de color en el reverso del agar (38).

Grado de crecimiento.- El micelio cubre la superficie del me dio en cuatro semanas (44), crecimiento moderado (foto 23.).

Fructificación en cultivo.- No ocurrió fructificación durante el período de incubación (s/n).

Olor del cultivo.- Olor dulce parecido a frutas (50).

Substrato.- Fructificación sobre madera de gimnospermas (55).

Interfertilidad.- No estudiada.

Características no codificadas.- Textura del micelio variable, de fieltrosa a flocosa a lanosa (foto 23.). El pH fue de 2.0 tanto a las tres semanas como a las seis semanas. Cristales rómicos presentes en la segunda semana de observación (Lám. VI.9.). Exuda dos observados a las dos y a las cinco semanas.

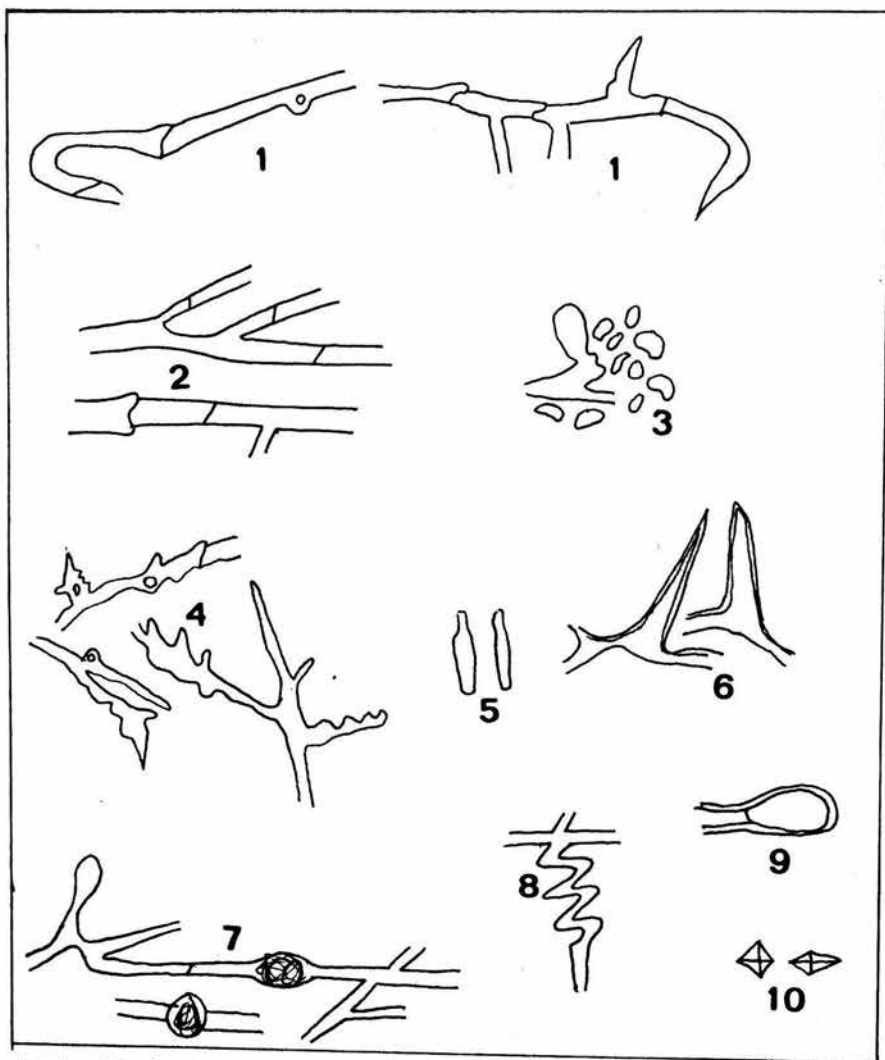


Lámina VI. *Fomitopsis pinicola* (NT-6b). Características microscópicas del micelio en cultivo: 1. Hifas consistentemente nodoso septadas. 2. Hifas simple septadas. 3. Hifas en forma de células cuticulares. 4. Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares. 5. Gloeocistidios. 6. Setas. 7. Hifas con paredes engrosadas y lumen vacíos. 8. Hifas onduladas. 9. Clamidosporas. 10. Cristales rómbicos.

PLACA 4. Fotografías 20-26. Características microscópicas del micelio en cultivo de los aislamientos (NT-6a y NT-6b) de *F. pinicola* del Nevado de Toluca.

NT-6a Foto 20. Gloeocistidios presentes en la zona intermedia, 500X.

Foto 21. Hifas con masas resinosas adheridas a la pared en la zona madura, 500X.

Foto 22. Hifas ondulantes con aspecto de tirabuzón en la zona madura, 500X.

NT-6b Foto 23. Crecimiento del micelio a las cuatro semanas de incubación.

Foto 24. Hifas nodoso-septadas de pared irregularmente engrosada en la zona madura, 500X.

Foto 25. Fibrohifas presentes en la zona intermedia, 500X.

Foto 26. Hifas nodoso-septadas de pared irregularmente engrosadas y refractarias, 500X.

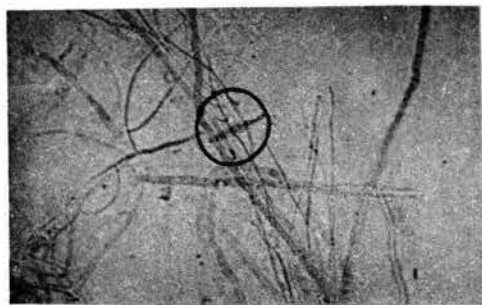


Foto 20.

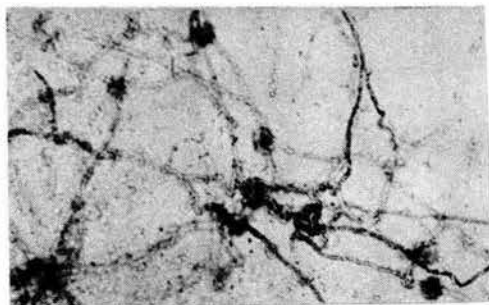


Foto 21.

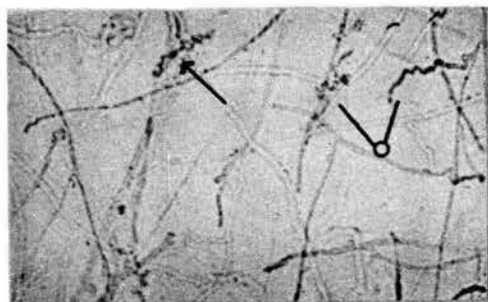


Foto 22.

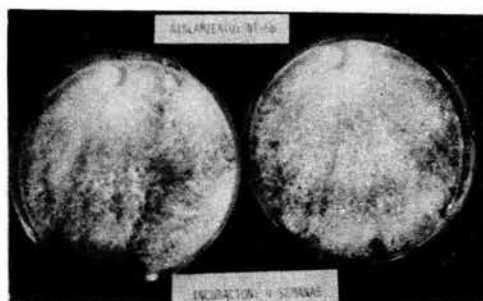


Foto 23.

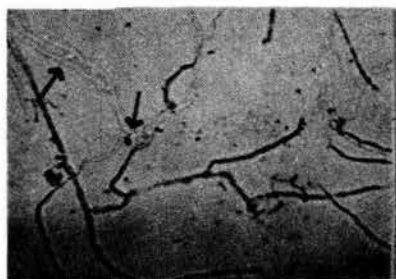


Foto 24.

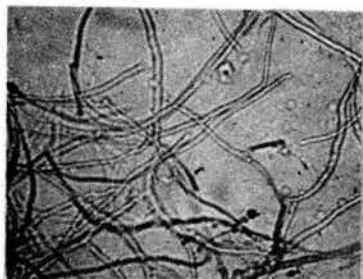


Foto 25.

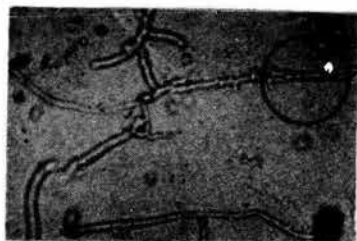


Foto 26.

Aislamiento: *FOMITOPSIS PINICOLA* NT-6c (Nevado de Toluca, Méx.)

Características: 1. 3. 5. 8. 9. 10. 11. 15. 17. 22. 34. 35. 36. 38.
44. 50. 55.

Ilustraciones: Lámina VII; Placa 5, fotos 29-31.

Tipo de pudrición.- Produce reacción negativa en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayaquil, por lo tanto es causante de pudrición morena (1).

Septación de hifas.- Hifas de pared delgada, nodoso septadas angostas (0.95-1.9 μ m diám.) (3) en la zona de avance e intermedia (Lám. VII.1.). Hifas de pared delgada con ocasionales conexiones en grapa múltiples, aunque generalmente simple septadas (5) en la zona intermedia (Lám. VII.2.).

Estructuras especiales formadas por diferenciación de hifas.- Fibrohifas (8) presentes en la zona intermedia (Lám. VII.3.). Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas (9) observadas en la zona de avance y madura (Lám. VII.4.). Hifas en forma de células cuticulares (10) en la zona intermedia (foto 30.). Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares (11) en la zona intermedia (Lám. VII.5.). Gloecistidios presentes (15) en la zona intermedia y madura (Lám. VII.6.). Setas presentes en el micelio aéreo (17) observadas en la zona madura (Lám. VII.7.). Hifas en forma de nudillo o bulbillo (22) en la zona madura (foto 31.). Hifas onduladas con aspecto de tirabuzón (s/n) en la zona intermedia (Lám. VII.8.).

Conidios, clamidosporas y oidios.- Clamidosporas (34) presentes en la zona intermedia (Lám. VII.9.). Oidios presentes (35).

Color de hifas y micelio.- Hifas hialinas y micelio blanco (36).

Cambios de color en el agar.- No produce cambios de color en el reverso del agar (38).

Grado de crecimiento.- El micelio cubre la superficie del medio antes de las cuatro semanas (44), crecimiento moderado.

Fructificación en cultivo.- No ocurrió fructificación durante el período de incubación (s/n).

Olor del cultivo.- Olor dulce parecido a frutas (50).

Substrato.- Fructificación sobre madera de gimnospermas (55).

Intenfertilidad.- No estudiada.

Características no codificadas.- Textura del micelio poco variable de afelpada-flocosa a subfieltrosa a afelpada (foto 29.). El pH fue de 2.0 a las tres semanas, aumentando a 2.5 a las seis semanas. Cristales observados a las cuatro semanas (Lám. VII.10.). Exudados presentes en el segundo período de observación.

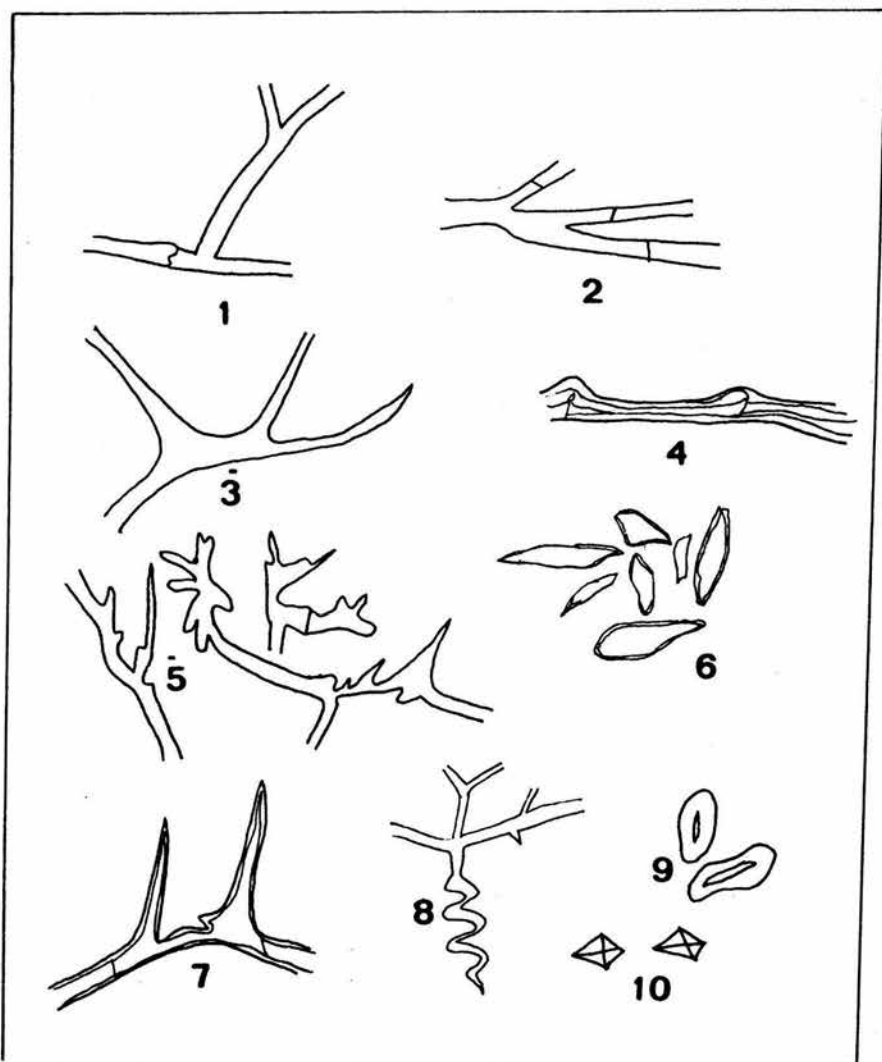


Lámina VII. *Fomitopsis pinicola* (NT-6c). Características microscópicas del micelio en cultivo: 1. Hifas de pared delgada nodoso septada. 2. Hifas simple septadas. 3. Fibrohifas. 4. Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas. 5. Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares. 6. Gloeocistidios. 7. Setas. 8. Hifas onduladas. 9. Clamidosporas. 10. Cristales rómbicos.

Aislamiento: FOMITOPSIS PINICOLA NT-7 (Nevado de Toluca, Méx.)

Características: 1. 3. 5. 8. 9. 10. 11. 15. 17. 34. 35. 36. 38. 44. 50.
55.

Ilustraciones: Lámina VIII; Placas 5-6, fotos 32-34.

Tipo de pudrición.- Produce reacción negativa en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayacol, por lo tanto es causante de pudrición morena (1).

Septación de hifas.- Hifas largas y angostas de pared delgada y cortas y anchas de pared gruesa, ambas nodoso septadas (3) en la zona de avance (Lám. VIII. 1y2., foto 33.). Hifas de pared delgada con ocasionales conexiones en grapa múltiples, aunque generalmente simple septadas (5) presentes en la zona de avance e intermedia (Lám. VIII.3.).

Estructuras especiales formadas por diferenciación de hifas.- Fibrohifas (8) presentes en la zona madura. Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas (9) en la zona intermedia y madura (Lám. VIII.4.). Hifas diferenciadas en forma de células cuticulares (10) en la zona intermedia (foto 34.). Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares (11) presentes en la zona de avance e intermedia (Lám. VIII.5.). Gloeocistidios (15) observados en la zona madura (Lám. VIII.6.). Setas presentes en el micelio aéreo (17) de la zona de avance (Lám. VIII.7.). Hifas onduladas con aspecto de tirabuzón (s/n), en la zona madura (Lám. VIII.8.).

Conidios, clamidosporas y oidios.- Clamidosporas presentes en las tres zonas muestreadas (34). Oidios presentes en la zona intermedia y madura (35).

Colon de hifas y micelio.- Hifas hialinas y micelio blanco (36).

Cambios de color en el agar.- No produce cambios de color en el reverso del agar (38).

Grado de crecimiento.- El micelio cubre la superficie del medio antes de las cuatro semanas (44), crecimiento moderado.

Fructificación en cultivo.- No ocurrió fructificación durante el período de incubación (s/n).

Olor del cultivo.- Olor dulce parecido a frutas (50).

Substrato.- Fructificación sobre madera de gimnospermas (55).

Intenfertilidad.- No estudiada.

Características no codificadas.- Textura del micelio variable de fieltrosa a flocosa-farinácea a flocosa (foto 32.). El pH fue constante de 2.0 a las tres y seis semanas. Cristales rombohedricos observados a las cuatro semanas (Lám. VIII.9.). Exudados presentes a las dos y cinco semanas de incubación.

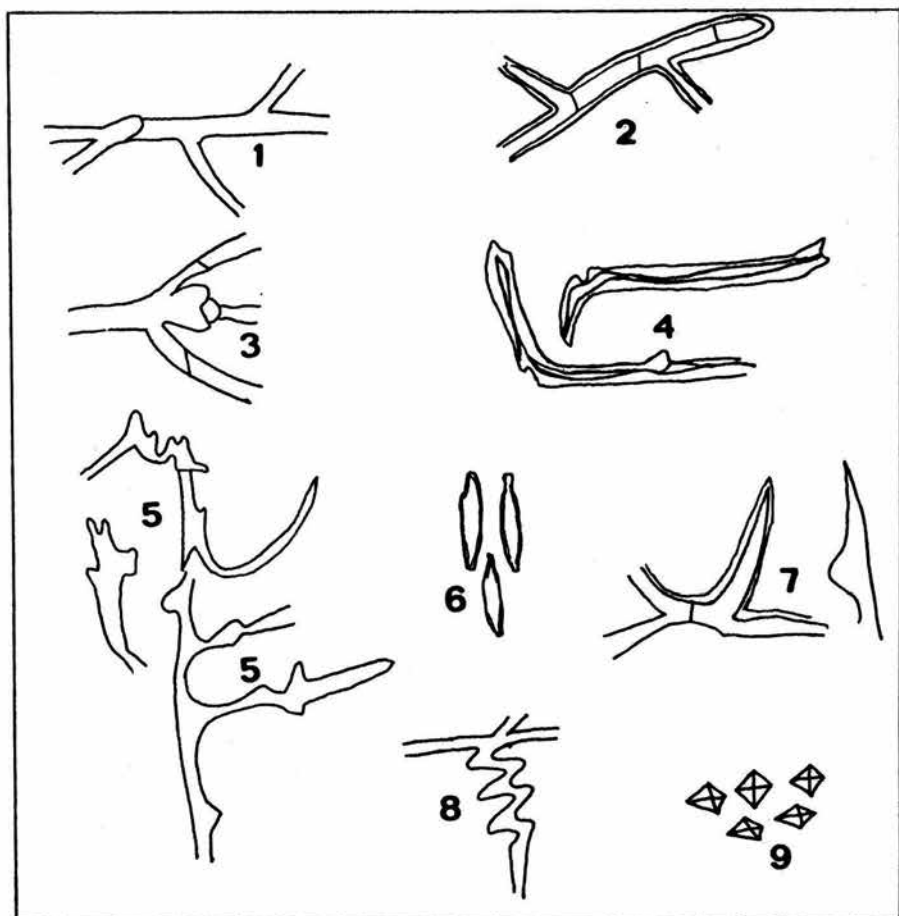


Lámina VIII. *Fomitopsis pinicola* (NT-7). Características microscópicas del micelio en cultivo: 1-2. Hifas de pared delgada y pared gruesa nodoso septada. 3. Hifas simple septadas. 4. Hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas. 5. Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares. 6. Gloeocistidios. 7. Setas. 8. Hifas onduladas. 9. Cristales rómbicos.

PLACA 5. Fotografías 27-32. Características microscópicas del micelio en cultivo de los aislamientos (NT-6b, NT-6c y NT-7) de *F. pinicola* del Nevado de Toluca.

NT-6b Foto 27. Oidios presentes en la zona madura, 500X.

Foto 28. Clamidosporas presentes en la zona madura, 500X.

NT-6c Foto 29. Crecimiento del micelio a las tres semanas de incubación.

Foto 30. Hifas en forma de células cuticulares en la zona intermedia, 500X.

Foto 31. Hifas en forma de nudillo o bulbillo en la zona madura, 500X.

NT-7 Foto 32. Crecimiento del micelio a las cinco semanas de incubación.

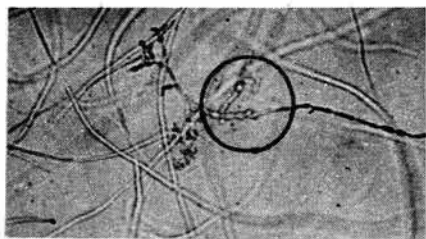


Foto 27.



Foto 28.

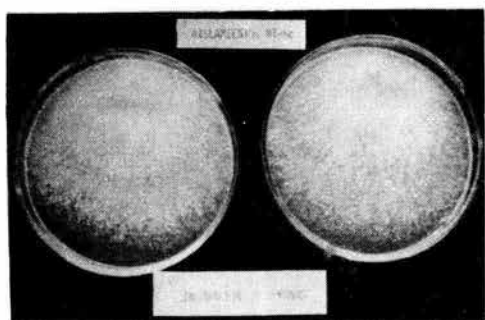


Foto 29.

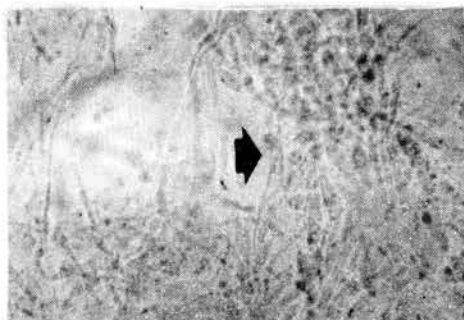


Foto 30.

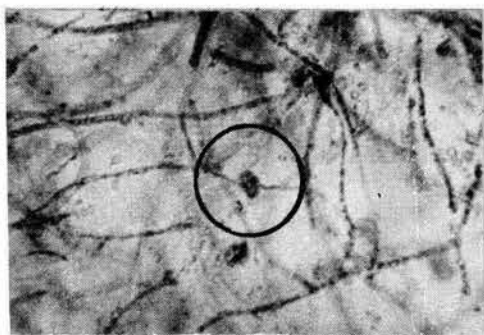


Foto 31.

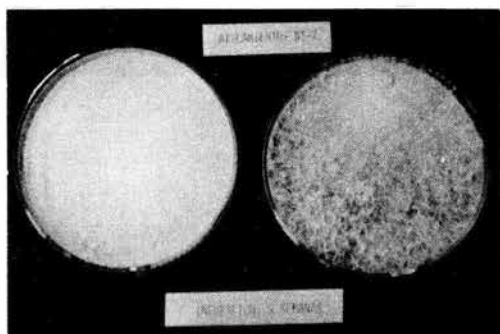


Foto 32.

Aislamiento: FOMITOPSIS PINICOLA FPRL-98 (Procedencia: Francia)
Características: 1. 3. 6. 9. 10. 11. 15. 21. 22. 34. 36. 38. 44. 50.
Ilustraciones: Lámina IX; Placa 6, fotos 35-38.

Tipo de pudrición.- Produce reacción negativa en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayacol, por lo tanto es causante de pudrición morena (1).

Septación de hifas.- Hifas de pared delgada nodoso septadas (3), ilustradas en la lámina IX.1. y foto 36. Hifas simple septadas (6), esquematizadas en Lámina IX.2. Ambos tipos observados en la zona de avance.

Estructuras especiales formadas por la diferenciación de hifas.- Hifas diferenciadas en forma nodoso septadas con paredes gruesas e irregulares (9) observadas en la zona intermedia. Hifas diferenciadas en forma de células cuticulares (10), presentes en la zona intermedia (foto 37.). Hifas con numerosas ramas cortas recurvadas e irregulares (11), observadas en la zona intermedia. Gloecistidios (15) presentes en la zona madura (Lám. IX.3.). Hifas con masas resinosas adheridas a las paredes (21) presentes en la zona madura. Hifas en forma de nudo o bulbillo (22), observadas en la zona madura (Lám. IX. 4, foto 38.).

Conidios, clamidosporas y oidios.- Clamidosporas presentes (34) en la zona intermedia (Lám. IX.5.).

Color de hifas y micelio.- Hifas hialinas y micelio blanco (36).

Cambios de color en el agar.- No produce cambios de color en el reverso del agar (38).

Grado de crecimiento.- El micelio cubre la superficie del medio antes de las cuatro semanas (44), crecimiento moderado.

Fructificación en cultivo.- No ocurrió fructificación durante el período de incubación (s/n).

Olor del cultivo.- Olor dulce parecido a frutas (50).

Substrato.- Desconocido.

Interfertilidad.- No estudiada.

Características no codificadas.- La textura del micelio fue uniformemente algodonosa en todas las observaciones (foto 35.). El pH no fue registrado para esta cepa. Se detectó la presencia de cristales a las cinco semanas de incubación (Lám. IX.6.). Exudados observados a las seis semanas.

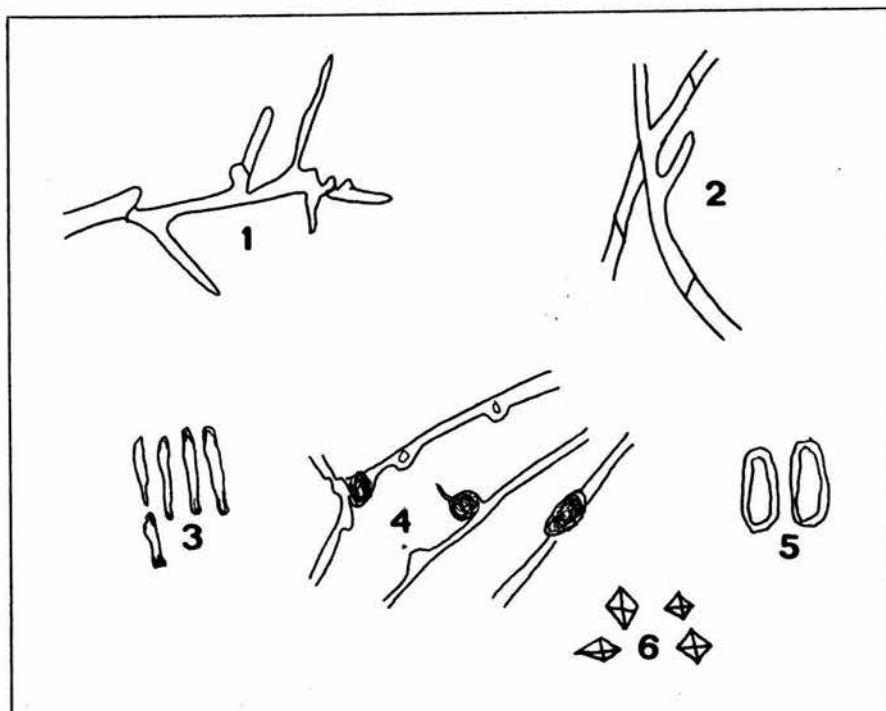


Lámina IX. *Fomitopsis pinicola* (FPRL-98). Características microscópicas del micelio en cultivo: 1. Hifas de pared delgada nodoso septadas. 2. Hifas simple septadas. 3. Gloeocistidios. 4. Hifas en forma de nudo o bulbillo. 5. Clamidosporas. 6. Cristales rómbicos.

- PLACA 6. Fotografías 33-38. Características microscópicas del micelio en cultivo de los aislamientos (NT-7 y FPRL-98) de *F. pinicola* del Nevado de Toluca y procedencia extranjera (Francia).
- NT-7 *Foto 33.* Hifas nodosas y simple septadas en la zona de avance, 500X.
- Foto 34.* Hifas diferenciadas en forma de células cuticulares, 500X.
- FPRL-98 *Foto 35.* Crecimiento del micelio a las cinco semanas de incubación.
- Foto 36.* Hifas nodoso-septadas en la zona intermedia, 500X.
- Foto 37.* Hifas en forma de células cuticulares, 500X.
- Foto 38.* Hifas en forma de nudo o bulbillo, 500X.

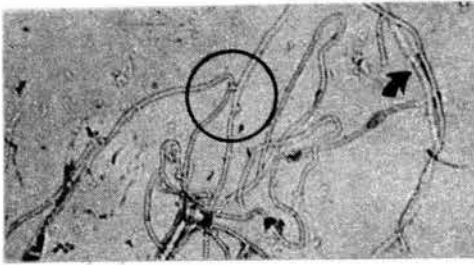


Foto 33.

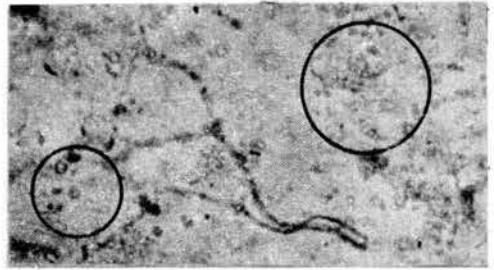


Foto 34.

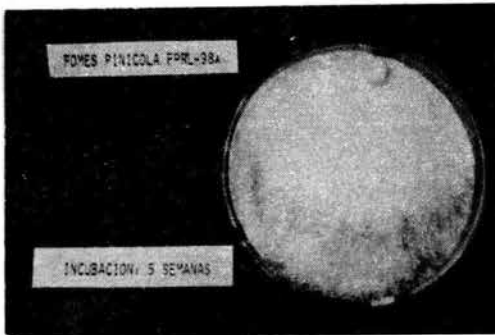


Foto 35.

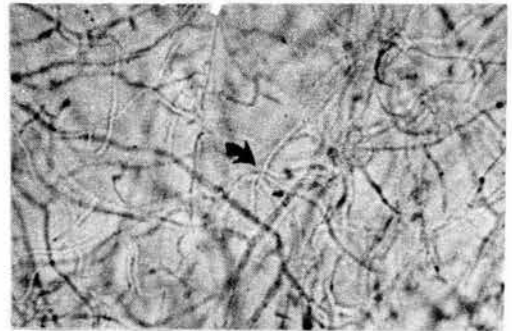


Foto 36.

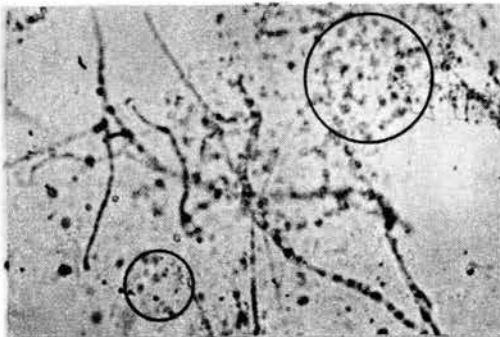


Foto 37.

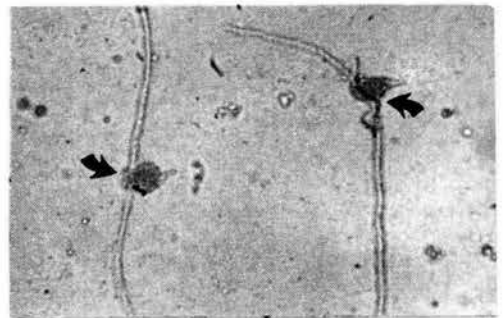


Foto 38.

A continuación, se integran y resumen los resultados de las observaciones periódicas de las características culturales codificadas del micelio de los siete aislamientos de *F. pinicola* Y uno de *H. annosum*, del Nevado de Toluca. Se incluyen además, las características de un aislamiento de *F. pinicola* de procedencia extranjera, estudiado simultáneamente a los anteriores, así como las características observadas por Nobles (1965) para ambas especies de hongos, y las de Herrera Campos (1985) sobre *F. pinicola* del Desierto de los Leones, D. F., para fines de comparación. Las características culturales, tanto observadas en el presente estudio, como descritas en los trabajos citados, están contenidas de manera codificada en la tabla 3 y desglosadas a continuación.

F. PINICOLA (Aislamientos: NT-1, NT-2, NT-3, NT-6a, NT-6b, NT-6c y NT-7 del Nevado de Toluca)

Conjuntando la suma de las observaciones realizadas en los siete aislamientos, se obtienen en total los siguientes caracteres: 1. 3. 5[±]. 6[±]. 8[±]. 9. 10[±]. 11. 12[±]. 13[±]. 15[±]. 17[±]. 21[±]. 22[±]. 24?. 33[±]. 34. 35. 36. 38. 44-46. 50. 55.

Este hongo presentó reacción negativa (-) en las pruebas de oxidasas extracelulares en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayacol (1). El micelio de la colonia está constituido por tres tipos de hifas. En la zona de avance, se observó una frecuencia mayor de hifas nodoso septadas (3); de hifas de pared delgada con escasas conexiones en grapa o fíbulas (5[±]); y algunas veces hifas dispersas simple septadas (6[±]); estas últimas en la zona intermedia y madura. Presencia abundante de fibro hifas (8[±]) en la zona de avance, e hifas nodoso septadas de paredes irregularmente engrosadas (9). De las tres zonas muestreadas, sólo se observaron en la zona madura, hifas en forma de células cuticulares (10[±]). Y, de manera más clara y constante, se mani-

festaron tanto en la zona intermedia como en la zona madura, hifas con numerosas ramas cortas y recurvadas (11). Sin embargo, en la zona madura, la colonia en cultivo constaba de hifas con numerosas ramas retorcidas e incrustadas ($12\pm$), algunos cistidios ($13\pm$), y la presencia abundante de gloeocistidios ($15\pm$). En la zona intermedia del micelio aéreo se presentaron setas ($17\pm$). Mientras que, las zonas de avance y madura presentaron hifas con masas resinosas adheridas a la pared ($21\pm$); y únicamente en la zona madura, se distinguieron hifas en forma de nudo o bulbillo ($22\pm$). Aparentemente, hifas de paredes gruesas, lumen vacío y ramas perpendiculares (24?). Presencia ocasional de conidios ($33\pm$). En las tres zonas muestreadas, se presentaron clamidosporas (34) y oidios (35). Las matas miceliales eran siempre de color blanco y las hifas hialinas (36). No hubo cambios en la coloración del medio en el reverso de la caja (38). Presentó un crecimiento moderado a lento (44-46). Olor fragante dulce, como a frutas (50). No fructificó ni antes ni al final de las seis semanas (s/n). Hongo asociado con pudrición en madera de gimnospermas (55).

F. PINICOLA (Cepa FPRL-98. Procedencia extranjera, Francia)
Caracteres: 1. 3. 6. 9. 10. 11. 15. 21. 22. 34. 36. 38. 44. 50.

Este hongo presentó una reacción negativa (-) en las pruebas de oxidasas extracelulares en medios con ácido gálico, ácido tánico y aserrín-guayacol (1). El micelio presentó dos tipos de hifas, unas de forma nodoso septadas (3) en la zona de avance, y las otras de aspecto simple septadas en la zona intermedia (6). Además, presentó de una manera diferenciada, hifas irregularmente engrosadas (9) y aparentemente células cuticulares (10). En la zona intermedia, se observó una frecuencia mayor de hifas con numerosas ramas cortas y recurvadas (11) que en la zona madura. Hubo mayor abundancia de gloeocistidios en la zona madura que en

la zona intermedia (15). Sólo en la zona de avance pudieron observarse hifas con masas resinosas adheridas a la pared (21). Hifas en forma de nudo o bulbillo (22) se presentaron en la zona intermedia. Se observaron clamidosporas (34) tanto en la zona de avance como en la zona intermedia. Las matas miceliales fueron de color blanco y las hifas hialinas (36). No hubo cambios de color apreciables en el reverso del medio (38). El grado de crecimiento fue moderado (44) y se apreció un olor a frutas en el micelio (50).

F. PINICOLA (Descrita por Nobles, 1965, como *Fomes*)

Caracteres: 1. 3. 8. 32. 34 \pm . 36. 38. 43-46. 54. 55. 59.

Este hongo presentó una reacción negativa (-), en las pruebas de oxidasas extracelulares en medios con ácido gálico o ácido tánico (1). El micelio presenta hifas de apariencia delgada rectas consistentemente nodoso septadas (3). Numerosas fibrohifas (8). Ausencia de conidios y oidios (32). Presencia de clamidosporas variable (34 \pm) ya que, en algunos aislamientos son numerosas y en otros son raras o están ausentes. Las matas miceliales fueron blancas y las hifas hialinas (36). No hubo cambios de color apreciable en el reverso del medio (38). Crecimiento de moderado a lento (43-46). Asociado a pudrición en madera de angiospermas (54), pero también puede encontrarse habitando madera de gimnospermas (55). presenta un tipo de interfertilidad heterotálica bipolar (59).

F. PINICOLA (Descrita por Herrera Campos, 1985, como *Fomes*:
cepa del Desierto de los Leones, D. F.)

Caracteres: 1. 3. 8. 22. 32 \pm . 34. 36. 38. 40?. 44-46. 50. 55.

Este hongo presentó una reacción negativa (-), en las pruebas de oxidasa extracelular en medio con ácido tánico (1), aunque algunas respuestas fueron erráticas en medio

con ácido gálico. El micelio presentó hifas nodoso septadas de pared delgada (3). Escasas fibrohifas (8). Bulbillos o nudos de hifas mencionadas (22), aunque sin señalar este número de código. Ausencia de conidios, clamidosporas y oidios (32[±]), sin embargo de manera contradictoria se señala también la presencia de clamidosporas (34). Las matas miceliales fueron de color blanco translúcido (36). No produjo cambios de color en el reverso del agar (38) pero comenta que en "dos aislamientos" (se refiere a repeticiones) parecía haber aclaramiento (40?). El micelio cubrió la superficie del medio en 4-6 semanas, crecimiento de moderado a lento (44-46). Olor del cultivo fragante a frutas (50). Hongo asociado con pudrición morena en madera de gimnospermas (55).

Textura micelial variable, subfieltrosa, afelpada-algodonosa, algodonosa-lanosa, algodonosa y farinácea. El pH del medio varió con el tiempo, de 3.0 en las tres primeras semanas, 2.5 a la cuarta semana y de 3.0 en la quinta y sexta semana de incubación. Presencia de numerosos cristales polihédricos. Pequeñas gotas de exudados en la periferia de la colonia en los cultivos.

H. ANNOSUM (Fr.) Bref. (Aislamiento NT-5 del Nevado de Toluca)
Caracteres: 2. 6. 11. 33. 34. 36. 38. 44. 53. 55.

Esta cepa observó una reacción (+) en las pruebas de oxidasas extracelulares, en medios con ácido gálico y ácido tánico (2). Micelio constituido de hifas angostas, de pared delgada y simple septadas en la zona de avance (6). En la zona intermedia se presentaron hifas con numerosas ramas cortas, recurvadas e irre-

gulares (11). Presentó conidios en la zona intermedia y madura (33) del tipo botrioblastosporas en conidióforos odocefaloides, y clamidosporas terminales (34). Hifas hialinas y mata blanca o pálida (36). No produce cambios de color en el reverso del medio (38). El crecimiento del micelio fue de un grado moderado (44). No fructificó ni antes ni al final de las seis semanas del período de incubación (s/n). Las colonias del micelio presentaron un olor notable pero no definido (53). Asociado a pudrición en madera de gimnospermas (55).

H. ANNOSUM (Fr.) Bref. (Descrito por Nobles, 1965, como *Fomes annosum*)

Caracteres: 2. 5 \pm . 6. 7. 10 \pm . 11 \pm . 33. 36. 37. 38. 42. 47 \pm . 50. 53. 54 \pm . 55.

Las cepas de *F. annosum* descritas por Nobles (1965), observaron reacciones positivas (+) en las pruebas de oxidasas extracelulares (2). El micelio presentó dos tipos de hifas; por un lado, casos con hifas de pared delgada simple septadas, ocasionalmente con una o múltiples fibúlas (5 \pm); y por otro lado, muchos casos con hifas de aspecto simple septadas (6). También mostraron un tipo de hifas no diferenciadas de pared delgada (7). Algunos aislamientos presentaron hifas en forma de células cuticulares (10 \pm), hifas en forma de ramas cortas, recurvadas o con nódulos de pared gruesa formando plecténquima (11 \pm). Presentaron conidios en conidióforos odocefaloides (33). Las matas miceliales principalmente blancas (36) o con zonas de color amarillo miel (37). No produjo cambios de color en el reverso del medio (38). El crecimiento de unos micelios fue rápido, cubriendo la superficie de la caja antes de dos semanas (42), y otros fueron muy lentos, no cubriendo en seis semanas la caja (47 \pm). Se distinguieron dos tipos de olor en los cultivos, uno fragante a frutas (50)

y el otro muy fuerte y notable pero no definido (53). Raramente asociado a pudrición en madera de angiospermas (54[±]) y más frecuentemente asociado con pudrición en madera de gimnospermas (55).

A partir del resumen de las características culturales expuestas previamente, es posible realizar a continuación varias comparaciones de los resultados obtenidos y confrontarlos con la literatura más pertinente, utilizando los códigos de características sólo como guía de la secuencia, sin la simbología acompañante.

Tanto los micelios de *F. pinicola* del Nevado de Toluca como de la cepa extranjera estudiados en este trabajo, presentaron hifas de pared delgada nodoso septadas (3); pero en cinco aislamientos del Nevado de Toluca, hubo también hifas simple septadas (6) en la zona de avance; mientras que Nobles (1965) y Herrera Campos (1985), observaron para esta especie sólo hifas nodoso septadas (3). La presencia de fibrohifas (8), se registró tanto en los micelios de cinco cepas del Nevado de Toluca como en las cepas que describen Nobles (*op. cit.*) y Herrera Campos (*op. cit.*), sin embargo, esta característica no la presentó la cepa extranjera. En cambio, en las cepas del Nevado de toluca y en la extranjera, se observaron hifas con paredes irregularmente engrosadas y refractarias (9), característica que no señalan Nobles (*op. cit.*) ni Herrera Campos (*op. cit.*) para esta especie. La presencia de células cuticulares (10) fue registrada en la zona madura de tres aislamientos del Nevado de Toluca y en la cepa extranjera, pero no en la descripción de Nobles (*op. cit.*) ni en la de Herrera Campos (*op. cit.*). Hifas con numerosas ramas cortas y recurvadas (11) fueron observadas en las zonas intermedia y madura en todos los aislamientos del Nevado de Toluca y

en la zona madura del aislamiento extranjero, pero no fueron descritas por las dos autoras mencionadas. Sólo en una cepa del Nevado de Toluca fueron detectadas hifas en forma de ramas retorcidas e incrustadas (12), ambas autoras tampoco las mencionan. La presencia de cistidios (13) ocurrió sólo en un aislamiento del Nevado de Toluca y tampoco las autoras citadas la incluyen en sus descripciones. En las cepas del Nevado de Toluca (con excepción de una) y en la extranjera, fueron observados gloeocistidios (15) en la zona madura, carácter no mencionado por ambas autoras. Hifas con masas resinosas adheridas a la pared (21) se observaron en la zona de avance en dos cepas del Nevado de Toluca y en la extranjera, pero no fueron observadas por Nobles (*op. cit.*) ni por Herrera Campos (*op. cit.*). Hifas en forma de nudo o bulbillo (22) detectadas en la zona madura de la colonia en tres aislamientos del Nevado de Toluca y en la zona intermedia de la cepa extranjera, no aparecen en la descripción de Nobles (*op. cit.*), pero Herrera Campos (*op. cit.*) sí las menciona, aunque no incluyó el número de código. En un aislamiento del Nevado de Toluca, aparentemente hubo hifas de paredes gruesas, lúmenes vacíos y ramas perpendiculares (24), carácter no descrito por las autoras citadas. La presencia de conidios fue registrada en dos cepas del Nevado de Toluca (33), pero no fue observada por estas autoras. Fueron observadas clamidosporas (34) en las tres zonas de los cultivos del Nevado de Toluca y en las zonas de avance e intermedia de la cepa extranjera, fue una característica muy común, sin embargo, Nobles (*op. cit.*) consideró su presencia dudosa o variable según los aislamientos, por lo que registró también el carácter codificado (32, ausencia); Herrera campos (*op. cit.*) observó clamidosporas (34), pero también señaló su ausencia

con el código (32), incurriendo en contradicción, puesto que sólo estudio una cepa. Fueron observados conidios (35) en siete cepas del Nevado de Toluca, pero no en la cepa extranjera ni en las de Nobles (*op. cit.*) y Herrera Campos (*op. cit.*).

Finalmente, todas las cepas de *F. pinicola*, las del Nevado de Toluca, la extranjera y las descritas por Nobles (*op. cit.*) y Herrera Campos (*op. cit.*), coincidieron en presentar hifas hialinas y micelios blancos (36), sin producir cambios de color en el medio (38), con la excepción comentada de esta última autora. Las cepas del Nevado de Toluca, la extranjera y la descrita por Herrera Campos (*op. cit.*), cubrieron las cajas petri en un período de cuatro a seis semanas (44-46), mientras que las de Nobles (*op. cit.*) lo hicieron en la tercera y sexta semana (43-46). En los aislamientos del Nevado de Toluca, el del extranjero y el de Herrera Campos (*op. cit.*), se detectó un olor fragante a frutas (50), pero Nobles (1965) no describió ningún olor notable. Las cepas aisladas en México estuvieron asociadas a pudrición morena en madera de gimnospermas (55), de la cepa extranjera estudiada no se cuenta con este dato, y Nobles (*op. cit.*) encontró esta especie asociada a pudrición morena tanto en madera de angiospermas (54) como de gimnospermas (55).

Una comparación similar a la anterior, se incluye a continuación para el aislamiento de *H. annosum* del Nevado de Toluca y las cepas de Canadá y Europa que describió Nobles (*op. cit.*) pero bajo el nombre de *Fomes annosus* (ver tabla 3).

Ambos micelios de *H. annosum* coincidieron en presentar hifas simple septadas (6), aunque Nobles (*op. cit.*) describió para algunas de sus cepas hifas simple septadas con ocasionales fíbulas simples o múltiples (5). Hifas no diferenciadas de pared delgada (7) y ocasionalmente hifas en forma de células cuticulares (10) fueron ob

servadas por Nobles (*op. cit.*), pero no detectadas en la cepa aquí estudiada. Hifas con numerosas ramas cortas, recurvadas e irregulares (11) fueron observadas en la zona madura de la cepa nacional, para Nobles (*op. cit.*) esta característica fue variable. La observación de conidios (33) del tipo botrioblastosporas en conidióforos oedocefaloideos, fue común en ambos estudios. Sólo en la cepa nacional de *H. annosum* se pudieron observar clamidosporas terminales (34) en la zona intermedia y madura. En ambos trabajos, la coloración de los micelios observados fue principalmente blanca (36), pero las cepas que describió Nobles (*op. cit.*) también presentaron un color amarillo miel (37). En los dos estudios, las colonias no presentaron cambios de color en el agar (38). En las cepas que describió Nobles (*op. cit.*), el grado de crecimiento del micelio fue rápido (42) en la mayoría de los casos y muy lento en unos pocos (47), mientras que en la cepa nacional fue moderado (44). Nobles (*op. cit.*) distinguió dos tipos de olor en sus cepas, uno fragante a frutas (50) y otro fuerte y notable pero no definido (53), esta última característica coincide con la cepa del Nevado de Toluca. La cepa estudiada aquí fue aislada de madera de gimnospermas (55), pero según Nobles (*op. cit.*) esta especie también puede ocurrir en madera de angiospermas (54).

Finalmente, se analizan a continuación las características observadas para las dos especies de hongos, *F. pinicola* y *H. annosum* del Nevado de Toluca, en cuanto a los caracteres codificados de la clave.

Una diferencia marcada, radica en el resultado de las pruebas de oxidasas extracelulares. Así, se observó que todas las cepas de *F. pinicola* respondieron negativamente, mientras que el aislamiento de *H. annosum* respondió positivamente.

Con respecto a las características microscópicas del micelio de ambos hongos, se observó una diferencia notable en la forma y tipo de sus hifas. Los aislamientos de *F. pinicola*, presentaron tanto hifas nodoso septadas como hifas simple septadas. Mientras que el aislamiento de *H. annosum* sólo incluye hifas simple septadas. Otra característica que presentan cinco de los aislamientos de *F. pinicola*, son las fibrohifas, observadas también por Fritz (1923) en esta especie, característica que no presenta el aislamiento de *H. annosum*. Sin embargo, ambas especies coinciden en presentar hifas con numerosas ramas cortas y recurvadas. Una característica muy importante y de valor diagnóstico muy confiable para el micelio de *H. annosum* es la presencia de conidióforos en forma oedocéfaloide produciendo conidios tipo botrioblastosporas mientras que en *F. pinicola*, cuando llega a presentar conidios, éstos no se observan diferenciados.

Aunque ambas especies producen clamidosporas en cultivo, se distinguen entre sí por su posición y su forma, ya que en *F. pinicola* son intercalares y pueden ser subglobosas, o bien, elipsoidales, mientras que en *H. annosum* son terminales y siempre subglobosas.

Otra característica microscópica observada durante este trabajo, aunque no considerada por Nobles (1965), y por lo tanto no codificada, se presentó en seis aislamientos nacionales de *F. pinicola*: hifas ondulantes con aspecto de tirabuzón. Herrera Campos (1985) tampoco describió este tipo de hifas. Se sugiere incorporar la presencia de hifas ondulantes entre los caracteres codificados de la clave para esta especie, por lo constante de su observación.

Por otro lado, los resultados de las observaciones periódicas realizadas con respecto a otras características culturales no codificadas en la clave de Nobles (1965), como textura de la colonia (ver cuadro 1), pH del medio, presencia de cristales y exudados están contenidos en la tabla 4.

En esta tabla, puede apreciarse que la textura del micelio en los aislamientos de *F. pinicola*, fue variable: fieltrosa, algodonosa, flocosa y farinácea principalmente. La textura del aislamiento de *H. annosum* también fue variable, pero en menor grado, pues en las primeras semanas se observó farinácea y durante la última semana presentó textura flocosa.

Para *F. pinicola*, Nobles (1948, 1965), describió texturas algodonosa y algodonosa-lanosa con zonas apesadas, subfieltrosas o farináceas; y Herrera Campos (1985), observó texturas subfieltrosa con borlitas aisladas, felpuda-algodonosa, algodonosa-lanosa y farinácea. Para *H. annosum*, Nobles (1948, 1965) apreció texturas vellosa a flocosa-algodonosa, fieltrosa con superficies farináceas y con zonas apesadas, compactas y de textura costrosa. Las descripciones de estas autoras coinciden bastante con lo observado en este trabajo, para las dos especies, excepto en la textura costrosa de *H. annosum*.

Con respecto al pH, se puede observar que en los aislamientos de *F. pinicola*, durante la tercera semana fue registrado un pH de 2.5 y de 2; y durante la sexta semana, en que se realizó el segundo registro, en tres casos se mantuvo el mismo valor, en dos aumentó y en los dos restantes bajó un poco. Para la cepa extranjera no fue registrado el pH. Para el aislamiento *H. annosum* fue registrado un pH de 5 a la tercera semana y de 4 a la quinta semana. En síntesis, el pH del medio fue menos ácido en el aislamiento causante de pudrición blanca.

TABLA 4. CARACTERÍSTICAS CULTURALES NO CODIFICADAS EN LA CLAVE DE HOBLES (1965) EN LOS AISLAMIENOS DE FONTOPSIS PINICOLA DEL HEVADO DE TOLUCA*, F. PINICOLA DE PROCEDENCIA EXTRANJERA** Y HETEROBASIDIUM AMOSUM*** DEL HEVADO DE TOLUCA. OBSERVACIONES A PARTIR DE DOS COLONIAS INDEPENDIENTES POR CEPA EN UN PERIODO DE SEIS SEMANAS.

AISLAMIENTO		PERIODO DE OBSERVACION					
		1	2	3	4	5	6
HT-1*	TEXTURA	FIELTROSA	ALGODONOSA-PLUMOSA	FIELTROSA	FIELTROSA	ALGODONOSA	ALGODONOSA
	pH	-	-	2.5	-	-	2.0
	CRISTALES EXUDADOS	AUSENTES	AUSENTES PRESENTES	AUSENTES	PRESENTES	AUSENTES	AUSENTES
HT-2*	TEXTURA	SUBFIELTROSA	FIELTROSA	SUBFIELTROSA	FIELTROSA	FARINACEA-FIELTROSA	FAR-FIEL.
	pH	-	-	2.5	-	-	3.0
	CRISTALES EXUDADOS	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES	PRESENTES	AUSENTES	AUSENTES
HT-3*	TEXTURA	ALGODONOSA	ALGODONOSA	ALGODONOSA	ALGODONOSA	ALGODONOSA-PLUMOSA	-
	pH	-	-	2.5	-	-	2.0
	CRISTALES EXUDADOS	AUSENTES	PRESENTES	PRESENTES	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES
HT-5***	TEXTURA	FARIN-SUBFIELTROSA	FARINACEA	FARINACEA	FARINACEA	FLOCOSA	-
	pH	-	-	5.0	-	4.0	-
	CRISTALES EXUDADOS	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES
HT-6a*	TEXTURA	FLOCOSA	ALGODONOSA	FLOCOSA	ALGODONOSA-LANOSA	FLOCOSA	FLOCOSA
	pH	-	-	2.0	-	-	2.0
	CRISTALES EXUDADOS	AUSENTES	AUSENTES PRESENTES	AUSENTES PRESENTES	PRESENTES	AUSENTES	AUSENTES
HT-6b*	TEXTURA	FIELTROSA	FIELTROSA	FLOCOSA	FLOCOSA	FLOCOSA	LANOSA
	pH	-	-	2.0	-	-	2.0
	CRISTALES EXUDADOS	AUSENTES	PRESENTES	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES
HT-6c*	TEXTURA	AFELPADA-FLOCOSA	AFEL-FLOC.	AFELPADA-FLOCOSA	SUBFIELTROSA	AFEL-FLOCOSA	AFELPADA
	pH	-	-	2.0	-	-	2.5
	CRISTALES EXUDADOS	AUSENTES	AUSENTES PRESENTES	AUSENTES	PRESENTES	AUSENTES	AUSENTES
HT-7*	TEXTURA	FIELTROSA	FLOCOSA	FLOCOSA	FLOCOSA	FLOCOSA-FARINACEA	FLOCOSA
	pH	-	-	2.0	-	-	2.0
	CRISTALES EXUDADOS	AUSENTES	AUSENTES PRESENTES	AUSENTES	PRESENTES	AUSENTES	AUSENTES
FPRL-98**	TEXTURA	-	-	ALGODONOSA	ALGODONOSA	ALGODONOSA	ALGODONOSA
	pH	-	-	NO REGISTRADO	-	-	NO REGISTRADO
	CRISTALES EXUDADOS	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES	AUSENTES	PRESENTES	AUSENTES

Nobles (1948, 1965), no incluyó lecturas de pH en la descripción de sus aislamientos, por lo que no es posible comparar resultados, pero Herrera Campos (1985) realizó observaciones regulares para *F. pinicola*, encontrando pH 3, 2.5 y 3, a las semanas 1-3, 4 y 5-6, respectivamente, valores muy cercanos a los aquí obtenidos. La diferencia en valores de pH del medio entre las dos especies de hongos estudiados, sugiere que este tipo de observaciones pueda ser útil para la identificación, por lo que se recomienda tomarlo en cuenta para trabajos similares.

También, se pudieron observar cristales de forma rómbica (ver fig. 2) en todos los aislamientos de *F. pinicola*, algunas veces fueron observados en la segunda semana y otras veces en la cuarta semana; en la cepa extranjera fueron observados en la quinta semana. Sin embargo, esta característica nunca estuvo presente en *H. annosum*.

Nobles (1948) detectó la presencia de numerosos cristales octaédricos (rómbicos) en los cultivos de *F. pinicola*, pero no los menciona para *H. annosum*. Herrera Campos (1985) encontró también numerosos cristales poliédricos en cultivos de *F. pinicola*. Así, la presencia de cristales parece ser típica de *F. pinicola* y un recurso más para su diagnóstico.

Gotitas relativamente abundantes de exudados, fueron observados por lo menos en una ocasión sobre el micelio de cada uno de los aislamientos de *F. pinicola* incluyendo la cepa extranjera, excepto en la cepa NT-2. En la cepa única de *H. annosum*, no fueron observados exudados.

En los trabajos de Nobles (1948, 1965), no hay alusión a la presencia de exudados en los aislamientos de las dos especies estudiadas aquí. En cambio, Herrera Campos (1985) sí describe pequeñas gotas de exudados abundantes, cerca de la zona de avance de la colonia en *F. pinicola*. Este carácter también podría ser distintivo de esta especie.

El análisis comparativo de los resultados obtenidos y su confrontación con los de las autoras citadas, revela cierta variabilidad en las características culturales de los aislamientos de las dos especies estudiadas. En el caso de *F. pinicola*, esto ocurrió tanto en aislamientos de la misma localidad como en cepas de muy diferentes procedencias. Debido a que los hongos, en general, son organismos típicamente variables en su morfología, esta variabilidad en sus caracteres culturales fue menor a lo esperado.

En este punto, conviene recordar que todas las claves taxonómicas con base en caracteres morfológico-anatómicos, presentan la misma problemática. El taxónomo interesado en estudios florísticos, recolecta el material de su zona de estudio, lo identifica con ayuda de claves elaboradas en otras regiones para los grupos de su incumbencia, coteja sus observaciones con ejemplares de herbario (identificados de manera similar por especialistas), y finalmente, describe sus especímenes y elabora sus propias claves de identificación para el material de la zona estudiada, discutiendo diferencias y similitudes. De este modo, la mayoría de las claves de identificación son regionales.

Así, el método-clave de Nobles (1965) debe ser entendido como un proceso que se inicia con la recolección de fructificaciones de hongos xilófagos que son identificadas de la manera usual, de éstas son obtenidos los aislamientos que deben ser cultivados y descritos por sus características codificadas y no codificadas, y esta labor deberá incluir el mayor número posible de ejemplares y cepas, para obtener representatividad y conocer mejor sus límites de variabilidad. Bajo estas condiciones, ya descritas un buen número de especies, se estará en posibilidad de identificar confiablemente micelios aislados directamente de la madera.

Lograr esta meta es particularmente importante para el diagnóstico adecuado de los hongos causantes de pudriciones en árboles en pie o de estructuras y construcciones de madera, situaciones en las que no es común disponer de fructificaciones de los hongos, sino hasta fases muy avanzadas de la pudrición, cuando ya es demasiado tarde para evitar pérdidas graves.

Por último, como poco se ha divulgado del uso práctico de la clave de Nobles (1965), conviene explicar que normalmente es utilizada como un archivo de tarjetas perforadas para selección mecánica manual, por medio de una aguja larga que se introduce en las perforaciones del paquete alineado. Para el Laboratorio de Biodeterioro y Preservación de Productos Forestales, Instituto de Biología, UNAM, el M. en C. Luis M. Pinzón Picaseño diseñó un juego de tarjetas, traducido y adaptado del método original, impreso por la compañía Royal McBee.

Estas tarjetas, de 8 X 5 pulgadas, tienen perforaciones cerradas a lo largo de sus cuatro márgenes, a cada una de éstas corresponde un carácter codificado, espacios extras para nuevas incorporaciones e índices alfabéticos para nombres genéricos y específicos (figs. 9 y 10).

Cada tarjeta es, al mismo tiempo, parte de la clave y una descripción de cada una de las especies contenidas en el archivo. Las perforaciones correspondientes a los caracteres observados para la especie (o el aislamiento problema), son abiertas con una perforadora especial que elimina el borde. Las perforaciones de los caracteres no observados quedan intactas (cerradas). Para la identificación de un aislamiento problema (lo cual sólo es posible si la tarjeta de tal especie está incluida en el sistema), la aguja es introducida en cada perforación de características observadas (perforaciones abiertas) y son descartados los casos de perforaciones cerradas (caracteres no observados), quedando al final una o pocas tarjetas. Si queda una sola tarjeta, la identificación es directa; si quedan varias, se recurre entonces a los caracteres no codificados, que por no contar con perforaciones específicas, normalmente son anotados en el reverso de la tarjeta. Como no es necesario seguir una secuencia fija de caracteres, a este tipo de claves se les designa "de opción múltiple".

Las figuras 9 y 10 son copias de las tarjetas preparadas para las dos especies estudiadas en este trabajo.

4.3. Evaluación de la Agresividad.

Los resultados obtenidos de los bloques de madera (duramen) de oyamel, expuestos durante 6 semanas al ataque de 9 aislamientos con el método de ensayo suelo-bloque, se presentan en la tabla 5, éstos son: los valores porcentuales de peso perdido de todas las observaciones individuales o repeticiones, también los promedios, desviaciones típicas y límites de rango (valor inferior-valor superior) de la serie experimental de cada aislamiento ensayado; así como datos similares sobre el contenido de humedad de los bloques al final del periodo de incubación, algunas vistas de los cultivos se muestran en las figs. 11-14.

Antes de analizar en detalle estos resultados, es conveniente discutir algunos fundamentos del método y evaluación utilizados.

Para evaluaciones de agresividad, normalmente se utiliza madera de albura, que es más susceptible a la pudrición, pues en estos ensayos se debe favorecer que los hongos xilófagos desarrollen su máximo potencial. No obstante, en este trabajo se eligió madera de duramen para seguir con más rigor los postulados de Koch, ya que las dos especies de hongos en estudio están entre las principales causantes de pudrición del duramen en árboles en pie. Los bloques fueron extraídos de una sola tabla cortada en plano tangencial, con el fin de utilizar el menor número posible de anillos de crecimiento y los más cercanos entre sí. Esta es la forma más recomendable para reducir en lo posible que las características de la madera: anatómicas (como tipo y tamaño de células), químicas (como concentración de extractivos) y físicas (como densidad), puedan diferir, cosa que ocurriría si se emplearan diferentes tablas o una tabla cortada radialmente, pues estas pruebas deben realizarse con el material y las condiciones más homogéneas posibles.

Evaluar la actividad xilófaga de los hongos según la pérdida de peso que causan en bloques de madera, es la técnica más sencilla, precisa y confiable, porque se mide la masa de madera metabolizada por el micelio. Aún así, en ésta y cualquier otra

Tabla 5. Valores porcentuales de peso perdido y contenido de humedad en bloques de madera de oyamel (*Abies religiosa*) expuestos al ataque de los hongos, según el método Suelo-bloque semienterrado. Incubación, 6 semanas a 26 C, alta humedad relativa y obscuridad.

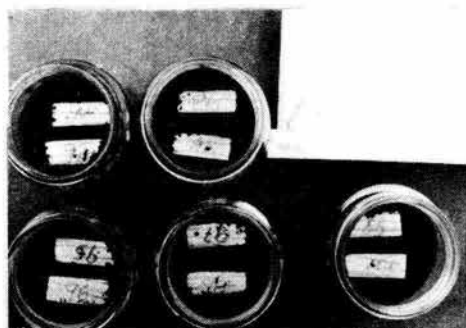
AISLAMIENTO Y CONCEPTO		OBSERVACIONES										S	RANGO	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			\bar{X}
F. PINICOLA NT-1	PP ¹	1.48	0.55	20.72	31.95	23.70	18.13	0.75	1.49	1.29	1.42	10.14	12.10	0.55 - 31.95
	CH ²	95.39	81.45	209.60	265.38	205.60	211.33	95.58	108.53	91.22	88.23	145.03	69.02	81.43 - 265.38
F. PINICOLA NT-2	PP ¹	20.04	22.05	25.28	32.00	32.09	34.19	21.27	16.67	25.01	35.60	26.42	6.60	16.67 - 35.60
	CH ²	168.20	188.39	195.62	205.49	172.24	178.85	161.54	169.04	182.24	157.08	177.86	15.31	157.08 - 205.42
F. PINICOLA NT-3	PP ¹	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
	CH ²	183.98	223.53	200.86	167.65	201.76	164.44	166.96	157.36	199.25	133.35	179.91	26.75	133.35 - 223.53
H. ANNOSUM NT-5	PP ¹	0.49	0.58	1.14	0.13	1.56	0.70	1.11	0.66	1.05	0.82	0.82	0.40	0.13 - 1.56
	CH ²	81.25	85.78	102.91	83.02	105.24	76.33	76.58	82.26	91.97	80.59	86.59	10.24	76.33 - 105.24
F. PINICOLA NT-6a	PP ¹	14.95	25.22	12.37	13.03	24.16	20.38	26.96	21.22	28.95	14.83	20.20	6.08	12.37 - 28.95
	CH ²	221.63	186.52	138.29	163.71	247.69	223.17	219.29	193.89	196.49	174.50	196.51	32.55	138.29 - 247.69
F. PINICOLA NT-6b	PP ¹	21.45	22.91	35.47	24.64	27.98	28.50	11.21	7.63	19.63	21.08	22.05	8.13	7.68 - 35.47
	CH ²	204.19	195.15	174.84	202.40	185.91	192.33	219.65	213.61	205.29	182.66	197.60	14.06	174.84 - 219.65
F. PINICOLA NT-6c	PP ¹	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
	CH ²	190.95	217.50	80.01	71.69	195.04	158.67	162.74	213.48	174.19	172.50	163.67	50.31	71.69 - 217.50
F. PINICOLA NT-7	PP ¹	35.94	38.45	27.81	27.74	34.24	27.55	27.41	27.89	28.30	29.73	30.50	4.11	27.41 - 38.45
	CH ²	163.92	193.61	216.57	217.35	196.52	149.91	181.22	182.42	181.09	181.46	186.40	20.96	149.91 - 217.35
F P R L - 98	PP ¹	16.15	22.09	10.12	2.60	4.40	27.27	1.53	9.23	8.89	1.03	10.32	8.95	1.03 - 27.27
	CH ²	194.61	198.66	197.10	128.53	123.23	178.38	65.27	116.84	86.09	62.31	135.10	54.15	62.31 - 198.66
T E S T I G O S	PP ¹	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 ²	69.65	71.48	70.80	83.49	88.18	74.84	82.41	69.31	84.49	68.83	76.34	7.46	68.83 - 88.18

1= Peso perdido de los bloques expuestos al ataque del hongo

2= Contenido de humedad de los bloques al final de la prueba.



Figuras 11-14. Vistas de los cultivos suelo-bloque de la prueba de agresividad hacia duramen de oyamel al final de las 6 semanas de incubación: 11 (arriba izquierda), aislamiento *H. annosum* NT-5; 12 (arriba derecha), aislamiento *F. pinicola* NT-6a; 13, (abajo izquierda), cepa extranjera *F. pinicola* FPRL-98; 14 (abajo derecha), testigos.



técnica de ensayo, ocurre algún grado de "error experimental". Las fuentes de error en este método están relacionadas principalmente con el pesado. La madera es un material muy higroscópico, y en condición anhidra (como después de los secados inicial y final) adsorbe rápidamente humedad del aire, por lo que del tiempo empleado para pesar cada bloque depende la cantidad de humedad que se incorpore a su peso, así que diferencias en el tiempo en que se pesa un mismo bloque deshidratado repetidamente, causan diferencias en las lecturas. Por el mismo fenómeno, diferencias en la humedad relativa del aire circundante al momento de obtener los pesos inicial y final, también contribuyen a variar las lecturas. El manejo de los bloques de madera (secado, esterilización, manipulación) puede causar astillamiento y separación de pequeños fragmentos, aumentando la pérdida de peso; mientras que partículas de suelo absorbidas por la madera o exuberante biomasa de hifas desarrolladas en el interior de los bloques, ocasionan incrementos de peso.

La suma resultante de todas estas alteraciones de peso, no debidas al ataque real de los hongos, puede ser detectada en los bloques testigo (ya sea como incremento o como pérdida de peso) y en los bloques de prueba en casos de actividad fúngica ligera (pero solamente cuando el error causa incremento en el peso final); exceptuando estos, tales errores son enmascarados por la pérdida de peso causada por los hongos.

Sobre magnitud y aceptabilidad del error experimental, se tiene de referencia que en ensayos parecidos al aquí realizado, como los especificados por la norma ASTM D-2017-63 para resistencia natural de la madera al ataque de hongos xilófagos (American Society for Testing and Materials, 1967), se establece que si en los bloques testigo se presentan variaciones inferiores al 5%, éstas sean consideradas insignificantes y aceptables; variaciones entre 5 y 10% son aceptables sólo utilizándolas como "factores de corrección", sumándolas o restándolas a los porcentajes de peso perdido de los bloques de prueba, para obtener "valores ajustados"; y finalmente, desviaciones supe-

riores al 10% no son aceptables, invalidando la prueba. Aunque este sistema parece adecuado, se considera aquí que usar tales "factores de corrección" sólo puede ser útil en caso de errores sistemáticos y constantes. Errores de este tipo son debidos a la técnica de ensayo, por lo que se pueden predecir, siendo entonces preferible corregir la metodología. En cambio, el "verdadero error experimental" puede ocurrir en los bloques testigo y no en los de prueba, o viceversa, no es constante ni sistemático para todas las series experimentales sino aleatorio, como se puede apreciar en los datos de dos trabajos anteriores sobre agresividad de hongos xilófagos (Véliz Avila, 1982; Hernández Jiménez, 1984), por lo que "ajustar" los valores resultantes puede ser más erróneo que no hacerlo. En el presente ensayo, los bloques testigo sufrieron una pérdida de peso promedio de 1.24%, con un rango de 0.70-1.59%. Esta magnitud de error es pequeña, ya que en ensayos similares de agresividad de hongos xilófagos, Pinzón-Picaseño y Véliz Avila (1984) afirman que es común y aceptable encontrar variaciones de pesos finales de $\pm 3\%$. Extrapolando con la norma mencionada, estos valores serían insignificantes y aunque los resultados de *H. annosum* fueron muy cercanos a los testigos ($\bar{X} = 0.82\%$, rango = 0.13-1.56%), no puede considerarse como un factor constante y sistemático porque es imposible saber si se trata o no de una coincidencia.

Para analizar la variabilidad u homogeneidad de las pérdidas de peso de los bloques de prueba de la tabla 5, se realizó un análisis estadístico de varianza completamente aleatorio (ANDEVA, ver cuadro 3). Este análisis confirmó la existencia de variabilidad entre las medias obtenidas para cada aislamiento, e indicó que esta variabilidad es mayor al menos entre un par de estas medias. En adición, un análisis comparativo múltiple de medias de Student con un valor de significancia $V = 0.01$ (cuadro omitido por su extensión), señaló que esta variabilidad de los promedios no es significativa entre los aislamientos más distantes de *F. pinicola*, el NT-7 (29.67) y la cepa extranjera FPRL-98 (20.11); en cambio, el promedio de *H. annosum* sí difiere significativamente del resto de los demás (9.5),

CUADRO 3. ANALISIS DE VARIABILIDAD (ANDEVA) DE LA PERDIDA DE PESO EN PROMEDIO CAUSADA POR 7 AISLAMIENTOS DE *FOMITOPSIS PINICOLA* Y 1 AISLAMIENTO DE *HETEROBASIDIUM ANNOSUM*, AISLADOS DE *ABIES RELIGIOSA* DEL PARQUE NACIONAL NEVADO DE TOLUCA.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F°	F $\alpha^{.05}$
TRATAMIENTOS	8	28080.814	3120.0904	22.43	2.02
ERROR	81	11263.09	139.0545		
TOTAL	89	3943.904			

lo que indica un comportamiento diferente en la agresividad desarrollada por cada especie de hongo.

En cuanto al contenido de humedad en los bloques, determinado al final de su exposición al ataque de los hongos, los resultados de la tabla 5 indican que, en general, con valores grandes de peso perdido (PP) coinciden muy altos contenidos de humedad (CH), si bien estos últimos varían en un rango bastante amplio, como en el hongo NT-1, la observación 4 (PP= 31.95%; CH= 265.38%); en el aislamiento NT-2, el caso 4 (PP= 32.00%; CH= 205.49%); en la cepa NT-3, la repetición 3 (PP= 25.41%; CH= 200.86%); en el hongo NT-6a, la observación 5 (PP= 24.16%; CH= 247.69%); en el aislamiento NT-6b, el caso 6 (PP= 28.50%; CH= 192.33%); en la cepa NT-6c, la repetición 8 (PP= 28.20%; CH= 213.48%); en el aislamiento NT-7, la observación 2 (PP= 38.45%; CH= 193.61%); y en la cepa FPRL-98, el caso 2 (PP= 22.09%; CH= 198.66%). Recíprocamente, con valores pequeños de peso perdido coinciden relativamente bajos contenidos de humedad, por ejemplo: en el aislamiento NT-1, el caso 2 (PP= 0.55%; CH= 81.43%); en la cepa NT-5, la repetición 4 (PP= 0.13%; CH= 83.02%); en el aislamiento NT-6c, el caso 4 (PP= 5.47%; CH= 71.69%); y en la cepa FPRL-98, la observación 10 (PP= 1.03%; CH= 62.31%). Pueden observarse algunos casos con apariencia de excepciones, por ejemplo en la cepa NT-6b, la repetición 3 corresponde a la de mayor pérdida de peso (35.47%) con el menor contenido de humedad (174.84%) de la serie, mientras que las observaciones 7 y 8 (PP= 11.21%; CH= 219.65%; y, PP= 7.68%; CH= 213.61%, respectivamente) presentaron los menores valores de peso perdido y más altos contenidos de humedad; sin embargo, en el primer caso el contenido de humedad no es muy bajo y en los dos últimos no es mucho mayor. De aquí que los contenidos de humedad realmente bajos serían de 100% o menores, como ocurrió en la mayor parte de las observaciones de la cepa NT-5. En cambio, una verdadera excepción a esta relación ocurrió en la repetición 10 del aislamiento NT-3 (PP= 5.96%; CH= 133.35%), con una pérdida de peso baja y un contenido de humedad relativamente alto.

Aunque comunmente los resultados de las pruebas de agresividad son vertidos a gráficas de barras con los promedios como datos principales, en este trabajo se prefirió describir a cada uno de los aislamientos, tomando en cuenta promedios, modas, rangos y desviaciones típicas de los porcentajes de peso perdido, tratando de interpretar su significado biológico y complementando esto con un análisis comparativo de la actividad de todos los aislamientos.

Para la interpretación de los valores contenidos en la tabla 5, la tabla 6 presenta un sistema de clasificación que permite convertir los porcentajes de peso perdido, causado por los hongos en los bloques de madera, a categorías de agresividad. Este sistema, diseñado por L. M. Pinzón Picasaño (com. pers.), fue aplicado por primera vez en la tesis de López Guerrero (1979) y su utilidad se deriva de que, como no es posible obtener los mismos valores de peso perdido en ensayos repetidos de idéntica manera, es preferible disponer de intervalos de clase de cierta amplitud, permitiendo agrupar y manejar valores más o menos cercanos entre sí; estos intervalos representan niveles o categorías de agresividad que de manera autoexplicativa ubican la importancia de los valores de cualquier magnitud, aún careciendo de experiencia. Otra consecuencia importante de esta conversión, se debe a que implica transformar una variable continua (los valores porcentuales) a una variable discreta (las categorías), por lo que otros parámetros como moda o distribución pueden adquirir mayor relevancia.

En la tabla 7, los datos de la tabla 5 se encuentran convertidos y organizados para mostrar la distribución y frecuencia de los valores promedio e individuales de las repeticiones, así como de los valores inferior y superior del rango, para cada aislamiento, en sus correspondientes categorías de agresividad. Además, para interpretar mejor los resultados, los datos de las tablas 5 a 7 fueron resumidos y agrupados en un orden decreciente de valores (promedios, modas, valores superiores e inferiores, magnitud de rango y desviación típica), en la

TABLA 6. CLASIFICACION DE LOS VALORES DE PESO PERDIDO EN CATEGORIAS DE AGRESIVIDAD.

PROMEDIO DEL % DE PESO PERDIDO	CATEGORIA DE AGRESIVIDAD	CLAVE
< - 5	Ligeramente agresivo	A
6 - 15	Moderadamente agresivo	B
16 - 25	Agresivo	C
26 - <	Altamente agresivo	D

NOTA. Los valores de los límites superiores en cada categoría son consideradas dentro de la misma categoría.

TABLA 7. DISTRIBUCION Y FRECUENCIA DE LOS VALORES INDIVIDUALES DE LAS OBSERVACIONES (REPETICIONES) EN LAS CATEGORIAS DE AGRESIVIDAD CORRESPONDIENTES.¹

Aislamiento	Promedio	Ligeramente	Moderadamente	Agresivo	Altamente	R a n g o	
		agresivo A	agresivo B	C	agresivo D	Inferior	Superior
NT-1	B	<u>X 6</u>		X 3	X 1	A	D
NT-2	D			<u>X 6</u>	X 4	C	D
NT-3	C*	X 1	X 3	<u>X 6*</u>		A	C
NT-5	A*	<u>X 10*</u>				A	A
NT-6a	C*	<u>X 4</u>		<u>X 4*</u>	X 2	B	D
NT-6b	C*		X 2	<u>X 5*</u>	X 3	B	D
NT-6c	C*	X 1	X 1	<u>X 5*</u>	X 3	A	D
NT-7	D*				<u>X 10*</u>	D	D
FPRL-98	B	<u>X 4</u>	X 3	X 2	X 1	A	D

1. Los valores subrayados corresponden a las modas por frecuencia.

* Coincide la moda de distribución con la categoría del promedio.

TABLA 8. POSICION DE LOS AISLAMIENTOS ENSAYADOS EN PRUEBA DE AGRESIVIDAD EN ORDEN DECRECIENTE DE ACTIVIDAD ¹, SEGUN VARIOS CRITERIOS DE AGRUPACION.

OR.	POR \bar{X} % PP	CAT	POR CATEG. DE MODA		POR VALOR % SUPERIOR (INDIVIDUAL)		POR VALOR % INFERIOR (INDIVIDUAL)		POR MAGNITUD DE RANGO (R= SUPERIOR-INFERIOR)		POR S
1°	NT-7 30.50	D	NT-7	D X 10	NT-7 38.45	D	NT-7 27.41	D	NT-1 31.45	A - D	NT-1 12.10
2°	NT-2 26.42	D	NT-2	C X 6	NT-2 35.60	D	NT-2 16.67	C	NT-6b 27.79	B - D	FPRL-98 8.95
3°	NT-6b 22.05	C	NT-3	C X 6	NT-6b 35.47	D	NT-6a 12.37	B	FPRL-98 26.24	A - D	NT-6c 8.70
4°	NT-6c 21.90	C	NT-6b	C X 5	NT-1 31.95	D	NT-6b 7.68	B	NT-6c 25.98	A - D	NT-6b 8.13
5°	NT-6a 20.20	C	NT-6c	C X 5	NT-6c 31.45	D	NT-3 5.96	A	NT-3 19.45	A - C	NT-2 6.60
6°	NT-3 16.58	C	NT-6a	B X 4 A X 4	NT-6a 28.95	D	NT-6c 5.47	A	NT-2 18.93	C - D	NT-6a 6.08
7°	FPRL-98 10.32	B	FPRL-98	A X 4	FPRL-98 27.27	D	FPRL-98 1.03	A	NT-6a 16.58	A - D	NT-3 4.85
8°	NT-1 10.14	B	NT-1	A X 6	NT-3 25.41	C	NT-1 0.55	A	NT-7 11.04	D	NT-7 4.11
9°	NT-5 0.82	A	NT-5	A X 10	NT-5 1.56	A	NT-5 0.13	A	NT-5 1.43	A	NT-5 0.40

1. A = Ligeramente agresivo, B = Moderadamente agresivo, C = Agresivo, D = Altamente agresivo.

tabla 8, sirviendo así para ubicar en forma comparativa el lugar relativo que ocuparían los diferentes aislamientos, según su actividad y variabilidad de comportamiento. Con el apoyo de estas tablas, particularmente las dos últimas, a continuación se describe la actividad xilófaga de los diversos aislamientos de *F. pinicola* y la cepa única de *H. anoplum*.

FOMITOPSIS PINICOLA NT-1 (Nevado de Toluca, Méx.).- Este aislamiento fue en promedio moderadamente agresivo (\bar{X} PP= 10.14%= B), aunque con mayor frecuencia se comportó como ligeramente agresivo (moda= A X 6) y en un solo caso llegó a ser altamente agresivo (PP= 31.95%= D), de modo que su actividad fue muy variable, de ligeramente agresivo a altamente agresivo (rango PP= 0.55%-31.95%= A-D), siendo por magnitud de rango (R= 31.45%) y desviación típica (\sqrt{S} = 12.10) el más variable de esta prueba. Tomando en cuenta el promedio y la moda de categorías de agresividad, así como el valor individual inferior de peso perdido causado, este aislamiento se ubicó en el 8° lugar, siendo el menos activo de los aislamientos de esta especie; pero, según el valor individual superior de peso perdido, ocupó un lugar intermedio (4°).

FOMITOPSIS PINICOLA NT-2 (Nevado de Toluca).- Este hongo fue altamente agresivo según el promedio de peso perdido causado (26.42%= D), pero de acuerdo con la mayoría de los valores individuales fue agresivo (moda= C X 6) y en los cuatro casos restantes fue altamente agresivo; así que su rango de actividad fue poco variable en cuanto a categorías, de agresivo a altamente agresivo (rango= 16.67-35.60%= C-D); aunque por magnitud de rango y desviación típica, se le atribuye una variabilidad intermedia en la que ocupa respectivamente los lugares 6° y 5°. Considerando varios datos, como promedio, moda, valor mayor y valor menor, este hongo fue el 2° en orden decreciente de actividad sobre el duramen de oyamel.

FOMITOPSIS PINICOLA NT-3 (Nevado de Toluca, Méx.).- Esta cepa fue en promedio agresiva hacia el duramen de oyamel (\bar{X} = 16.58%= C), categoría en la que coincidieron la mayoría de las repeticiones (moda= C X 6), siendo por lo tanto la más representativa, si bien actuó en un rango de ligeramente agresiva a agresiva (PP= 5.96%-25.41%= A-C), incluyendo un caso de moderada agresividad. La posición de esta cepa en la escala comparativa de orden decreciente fue variable, según los datos de actividad que se utilicen: el promedio la ubicó en el 6° lugar; por moda, estaría en el lugar 3°; por valor individual superior correspondió al penúltimo sitio (8°); y el valor individual inferior fue intermedio (5° lugar). En cuanto a variabilidad de actividad, la magnitud del rango (R= 19.45%) ubicó a esta cepa en un punto intermedio (5° lugar); mientras que la desviación típica la clasificó entre las tres de menor variabilidad (7° lugar).

FOMITOPSIS PINICOLA NT-6a (Nevado de Toluca, Méx.).- Este aislamiento fue en promedio agresivo (\bar{X} = 20.20%= C). Presentó una distribución de valores individuales en dos modas, ligeramente agresivo (moda= A X 4) y agresivo (moda= C X 4), ésta última coincide con el promedio, por lo que tal categoría podría ser la más representativa. Hubo dos casos individuales que llegaron a ser altamente agresivos, de manera que su rango de actividad fue de ligeramente agresivo a altamente agresivo. Estableciendo el orden relativo de actividad de este aislamiento en relación con los demás estudiados, el promedio de peso perdido lo ubicó en el 5° sitio en orden decreciente; por sus modas y el valor superior individual, ocupó el 6° lugar; y el valor individual inferior de esta cepa fue relativamente alto correspondiendo al 3er lugar. Por magnitud de rango, este aislamiento se ubicó entre los tres menos variables (7° lugar), y su desviación típica lo situó en el 6° lugar, indicando ambos una variabilidad de actividad relativamente baja.

FOMITOPSIS PINICOLA NT-6b (Nevado de Toluca, Méx.).- Este hongo fue en promedio agresivo (\bar{X} = 22.05%= C), categoría en la que coincidió el mayor agrupamiento de valores (moda= C X 5), siendo la más representativa. El rango de actividad de este hongo fue de moderadamente agresivo a altamente agresivo. Agrupando en orden decreciente y comparativo los resultados de esta prueba, la actividad de este hongo lo ubicó en el 3er lugar según el promedio y el valor individual superior; en el 4° lugar de acuerdo con la moda y el valor individual inferior. La magnitud del rango y desviación típica indicaron una variabilidad alta en la actividad de este hongo (2° y 4° lugar, respectivamente), aunque sus valores quedaron distribuidos en sólo tres de las cuatro categorías de agresividad establecidas, esto se debe a que los intervalos de las categorías no son todos equivalentes.

FOMITOPSIS PINICOLA NT-6c (Nevado de Toluca, Méx.).- Este aislamiento fue clasificado como agresivo, tanto por promedio (\bar{X} = 21.90%= C) como por moda (C X 5), siendo ésta la categoría más representativa, y con un rango de actividad de ligeramente agresivo a altamente agresivo. La ubicación relativa de este hongo frente a los otros, en orden decreciente de actividad, fue: en el 4° lugar, según el promedio; en el 5° o intermedio lugar, según la moda y distribución de valores en las diferentes categorías, y también tomando en cuenta el valor individual superior; por el valor individual inferior ocupó el 6° lugar. La variabilidad de su actividad fue considerable, quedando ubicado en el 4° lugar por su magnitud de rango; y por su desviación típica, en el 3er lugar.

FOMITOPSIS PINICOLA NT-7 (Nevado de Toluca, Méx.).- Este hongo fue el más activo de los ensayados en esta prueba, resultando altamente agresivo en todas las observaciones individuales, por lo que los valores obtenidos: promedio (\bar{X} = 30.50%= D), moda (D X 10), valor superior (38.45%= D) e inferior (27.41%= D) y rango, quedaron clasificados en esta categoría. La magnitud del rango y la desviación típica indicaron muy baja variabilidad en la actividad de este aislamiento, ocupando el penúltimo (8°) lugar.

De las descripciones anteriores y de la distribución de las observaciones en las categorías de la tabla 7, se puede concluir que los aislamientos de *F. pinicola* del Nevado de Toluca causaron pérdidas de peso en los bloques de duramen de oyamel que correspondieron en su mayor parte a las categorías de agresivo (C X 29 casos) y altamente agresivo (D X 23 casos), por lo que éstas serían las categorías de agresividad más representativas de la población local de cepas de esta especie, ensayadas hasta el momento, mientras que en las categorías de ligeramente agresivo (A X 12) y moderadamente agresivo (B X 6) hubo mucho menos casos.

La única información bibliográfica disponible acerca de la actividad de *F. pinicola* proviene de Herrera Campos (1985), quien con el mismo método suelo-bloque estimó la capacidad para degradar madera de un aislamiento del Desierto de los Leones, D. F.. Sus resultados (no publicados en detalle) revelan que tal cepa fue, tanto por promedios como por modas, moderadamente agresiva (B) hacia albura de pino y agresiva (C) hacia albura de liquidámbar. Los datos aportados por ambos trabajos evidencian la importancia que tiene este hongo como agente degradador o biodeteriorador de la madera.

FOMITOPSIS PINICOLA FPRL-98 (Procedencia extranjera, Francia).-- Esta cepa fue clasificada como moderadamente agresiva, con base en el promedio de peso perdido causado en esta prueba (\bar{X} = 10.32%= B); no obstante, fue ligeramente agresiva con mayor frecuencia (moda= A X 4), por lo que la representatividad de la moda sería estadísticamente más aceptable que el promedio; mientras que en rango fue de ligeramente agresiva a altamente agresiva. En la escala comparativa de actividad, ocupó el 7° lugar en orden decreciente, tomando en cuenta promedio, moda y valores individuales superior e inferior. En cuanto a variabilidad de su actividad, ésta fue alta, pues por magnitud de rango ocupó el 3er lugar y por desviación típica el 2° sitio.

La capacidad de producir pudrición de esta misma cepa (FPRL-98) fue evaluada por López Guerrero (1979) con el apoyo exclusivo de promedios (los datos de modas fueron obtenidos de sus registros particulares), encontrando que fue tanto en promedio como por moda altamente agresiva hacia la albura de pino según dos métodos, malta agar-bloque y suelo bloque; también fue altamente agresiva hacia la albura de liquidámbar (por promedio y moda) con el método malta agar-bloque, pero en el ensayo suelo-bloque hubo resultados discrepantes: en promedio fue moderadamente agresiva, la moda la ubica como ligeramente agresiva (A X 7), pero quizá éstos son datos dudosos, y hubo dos casos en la categoría de altamente agresiva que parecen más confiables. Sintetizando los resultados de estos dos trabajos, se puede decir que esta cepa extranjera de *F. pinicola* ha demostrado ser más agresiva hacia la albura de pino y liquidámbar que hacia el duramen de oyamel. Si se compara la actividad de esta cepa con la de los aislamientos del Nevado de Toluca, también resulta ser menos agresiva hacia el duramen de oyamel.

HETEROBASIDION ANNOSUM NT-5 (Nevado de Toluca, Méx.).- El único aislamiento de esta especie incluido en el presente estudio, actuó como ligeramente agresivo en todas las repeticiones, es decir, que a esta categoría correspondieron el promedio de peso perdido causado (\bar{X} = 0.82%= A), la moda (A X 10), el valor superior (PP= 1.56%= A), el valor inferior (PP= 0.13%= A) y el rango (A-A), siendo el caso menos activo del ensayo. Este aislamiento evidenció la actividad menos variable de toda la prueba, tanto por magnitud de rango como por desviación típica.

La actividad mínima de esta cepa del Nevado de Toluca, no parece haber sido anormal ni dudosa, se trata en realidad de un hongo poco agresivo, de lo cual se tiene como antecedente que Cartwright y Findlay (1958) mencionan que bajo condiciones de laboratorio, esta especie actúa lentamente en bloques pequeños de pino y haya, causando pérdidas de peso de apenas 10% en 16 semanas (plazo mayor en 10 semanas al de esta prueba), aunque no especifican las cepas ni los métodos empleados. A pesar de no ser muy agresivo, este hongo tiene importancia mundial por ser uno de los principales patógenos de las raíces de las coníferas. Al parecer, este hongo no es abundante porque no fue detectado en un estudio micoflorístico de la zona (Colón Tellez, 1987), sin embargo, 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.

4.4. Conclusiones y consideraciones finales

Durante la realización de este trabajo, tanto fue recabada información bibliográfica como fueron obtenidos datos originales por observaciones y pruebas de laboratorio; con base en todo esto, las aportaciones resultantes están resumidas en los siguientes puntos:

- El estudio de los hongos deterioradores de la madera, particularmente aquellos que atacan árboles vivos, ha recibido poca atención en México.
- Los problemas de pudrición del duramen en los oyameles del Ejido "Loma Alta" del Nevado de Toluca, son causados por *F. pinicola*, un hongo saprótrofo (o simbiote neutro facultativo); mientras que en la madera de albura de oyamel, se encontró a otra especie, *H. annosum*, un hongo patógeno facultativo de tipo necrótrofo (o simbiote antagonístico facultativo).
- El proceso de la pudrición del duramen en árboles no debe ser evaluado únicamente con base en su magnitud visual, sino complementando con la estimación del potencial de actividad de los agentes biodeterioradores, para percibir su dinámica.
- Para la identificación y diagnóstico riguroso del agente causal, es un requisito fundamental aislar el micelio de la madera afectada y comprobar su actividad xilófaga.
- Con los métodos de Bavendamm, aserrín de Badcock y aserrín-guayacol, todos los aislamientos de *F. pinicola* fueron determinados como causantes de pudrición morena mientras que el aislamiento de *H. annosum* dio reacción positiva de pudrición blanca.
- Los tres métodos usados para determinar el tipo de pudrición de los aislamientos, aportaron resultados similares. El nuevo método aserrín-guayacol mostró ser práctico, confiable y de

fácil interpretación. Aún así, se recomienda que para determinaciones fidedignas se recurra a más de un método.

- El método de Nobles (1965) basado en la descripción de las características del micelio en cultivo, demostró su utilidad para la identificación de micelios aislados de madera.

-Las características anotadas para los dos hongos estudiados permitirán la identificación confiable de otras cepas de estas especies aisladas de la misma procedencia.

- La población local de aislamientos de *F. pinicola* ensayados con una variante de método tipo suelo-bloque, fue predominantemente de agresiva a altamente agresiva, mientras que el aislamiento de *H. annosum* fue ligeramente agresivo, hacia la madera de duramen de oyamel.

- El aislamiento de los presuntos agentes causales del biodeterioro, la determinación del tipo de pudrición que causan y la evaluación de su agresividad hacia la madera, constituyen una aplicación teórico-práctica de los postulados de R. Koch, tanto si se enfoca esta temática dentro de la patología forestal como si se le reconoce en el campo del biodeterioro de materiales.

Por último, la experiencia adquirida motivó al planteamiento de algunas ideas acerca de la forma en que se podría continuar la investigación a partir de este trabajo.

- Como en el presente trabajo se constató la utilidad de aplicar algunos de los métodos usados en biodeterioro de la madera, para el estudio integrado de hongos que atacan arbolado, se recomienda ampliamente desarrollar proyectos similares para el estudio de problemas de pudrición causados por diversos hongos en especies forestales importantes del país.

- Aunque se dispone de cierta información sobre la distribución o incidencia de *F. pinicola* y *H. annosum* en México, hacen falta más estudios, especialmente de tipo cuantitativo, que permitan evaluar con mayor exactitud la magnitud de los problemas que causan en nuestros bosques.

- Sería valioso continuar estudiando estas dos especies de hongos en otras zonas de su distribución, empleando la misma metodología, para recabar información más completa y comparar resultados.

- Por la importancia económico-forestal de estas dos especies de hongos, es prioritario seleccionar y divulgar métodos silviculturales que permitan su control, por lo menos en las zonas con mayor incidencia, como: prohibición de fuegos prescritos para el manejo de pastizales en zonas arboladas y la prevención de fuegos accidentales; aclareo en las partes de arbolado muy hacinado, aprovechamiento sistemático del arbolado sobremaduro en buen estado, eliminación del arbolado evidentemente deteriorado; eliminación mecánica o tratamiento (químico o biológico) de tocones y pedacería; control de pastoreo con la selección de parcelas apropiadas para ello; y, por supuesto, reforestación del oyamel.

- Finalmente, también hace falta realizar mucha investigación sobre métodos químicos para el control de estos hongos. Poco o nada se ha tomado en cuenta la utilización de fungicidas comerciales. Esta importante posibilidad deberá primero ser explorada mediante estudios toxicométricos *in vitro*, para seleccionar a los productos más promisorios.

5. LITERATURA CITADA

- AGRIOS, N. G., 1986. *Fitopatología*. Limusa. México, D. F., 756 p.
- ALEXOPOULOS, C. J. y C. W. MIMS, 1979. *Introductory mycology*. 3 ed. Wiley. Nueva York, 632 p.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 1967. Standard method for accelerated laboratory test of natural decay resistance of woods. ASTM D 1413-61. *ASTM Book of standards. Part 16. Structural sandwich constructions, wood, adhesives*. American Society for Testing and Materials. Filadelfia. pp. 682-689.
- AMERICAN WOOD-PRESERVER'S ASSOCIATION, 1971. Revised standard method of testing wood preservatives by laboratory soil-block cultures. AWPA D M-10-71. *Proceedings of the American Wood-Preserver's Association* 67: 75-82.
- BADCOCK, E. C., 1941. New methods for the cultivation of wood-rotting fungi. *Trans, Br. mycol. Soc.* 25: 200-205.
- BARCELO, J. R., 1979. *Diccionario terminológico de química*. Alhambra. Madrid, 773 p.
- BOIDIN, J., 1951. Recherche de la tyrosinase et de la laccase chez les Basidiomycètes en culture pure. Milieux différentiels. Intérêt systématique. *Revue. de Mycologie* 16(3): 173-197.
- BOVANT, E., 1888. *Nuevo diccionario de química*. Esparsa. Barcelona, pp. 719-720.
- BOYCE, J. S., 1961. *Forest pathology*. Mc. Graw-Hill. Nueva York, 572 p.
- CAMPBELL, W. A., 1938. The cultural characteristics of the species of *Fomes*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 65(1): 31-69.

- CAREY, J. K., 1975. Isolation and characterization of wood-inhabiting fungi. In: LOVELOCK, D. C. y R. S. GILBERT (Eds.). *Microbial aspects of the deterioration of materials*. Academic Press. Londres, pp. 23-38.
- CARTWRIGHT, K. St. G. y W. P. K. FINDLAY, 1958. *Decay of timber and its prevention*. Her Majesty's Stationery Office. Londres, 332 p.
- COLON TELLEZ, L., 1987. *Estudio florístico ecológico de los hongos (macromicetos) en el Parque Nacional Nevado de Toluca*. Tesis Profesional de Biólogo. ENEP-Iztacala, UNAM. Los Reyes Iztacala, 88 p.
- COMISION DEL TERRITORIO NACIONAL Y PLANEACION, 1970. *Cartas de climas 14 Q-V Escala 1: 500,000*. Secretaría de la Presidencia. Dirección de Planeación, Comisión del Territorio Nacional. México, D.F.
- COOKE, R., 1977. *The biology of symbiotic fungi*. Wiley. Chichester, 282 p.
- COWLING, E. B., 1961. Comparative biochemistry of the decay of sap wood by white-rot and brow-rot fungi. *USDA. For. Ser. Forest Products Laboratory Technical Bulletin 1258*. 79 p.
- DAVIDSON, R. W., W. A. CAMPBELL y D. J. BLAISDELL, 1938. Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. *Journal of Agricultural Research* 57(9): 683-695.
- DE LA CAMPA JEREZ, S., 1966. *Contribución al conocimiento de las especies mexicanas del género Fomes (Fungi, Basidiomycetae, Polyporaceae)*. Tesis Profesional de Biólogo. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. México, D.F., 83 p.

- DE LA I. DE BAUER, M. de L. y T. HERNANDEZ TEJEDA. 1986. *Contaminación una amenaza para la vegetación en México*. Colegio de Postgraduados, Centro de Fitopatología. Chapingo, 84 p.
- DEVERALL, B. J., 1974. *Fungal parasitism*. Arnold. Londres, 57 p.
- DICKINSON, C. H. y J. A. LUCAS, 1987. *Patología vegetal y patógenos de plantas*. Limusa. México, D.F., 312 p.
- DOMANSKI, S., H. ORTOS y A. SKIRGIETTO, 1973. *Fungi: Polyporaceae II (Pileate)*. Varsovia, 332 p.
- DONK, M. A., 1974. *Check list of European polypores*. North-Holland Publish. Amsterdam, 469 p.
- EGGINS, H. O. W. y D. ALLSOPP, 1975. Biodeterioration and biodegradation by fungi. In: SMITH, J. E. y D. R. BERRY (Eds.). *The filamentous fungi. Vol. 1. Industrial Mycology*. Arnold. Londres, pp. 300-319.
- FINDLAY, W. P. K., 1967. *Timber pest and disease*. Pergamon Press. Oxford, 280 p.
- FINDLAY, W. P. K., 1975. *Timber: properties and uses*. Crosby Lockwood Stalpes. Londres, 224 p.
- GANDARA, G., 1930. Consideraciones generales acerca del estado que guardan nuestros bosques con relación a sus plagas debidas a parásitos vegetales. *Rev. Méx. For.* 8: 192-195.
- GALVAN VILLANUEVA, R., 1976. *Estudio sobre hongos del grupo de los políporáceos del Estado de Morelos*. Tesis Profesional de Biólogo. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. México, D.F., 111 p.
- GARCIA ROLLAN, M., 1976. *Hongos de la madera (Basidiomicetos)*. Ministerio de Agricultura. Madrid, 243 p.

- GILBERTSON, R. L., 1974. *Fungi that decay Ponderosa pine*. University of Arizona Press. Tucson, 197 p.
- GILBERTSON, R. L y L. RYVARDEN, 1986. *North American Polypores*. Fungiflora. Oslo, 433 p.
- GUZMAN-HUERTA, G., 1958. El habitat de *Psilocybe muliercula* Singer & Smith (-*Ps. wassonni* Heim.), agaricáceo alucinógeno mexicano. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 19(1-4): 215-229.
- GUZMAN, G., 1963. Frecuencia y distribución de algunos basidiomicetos lignícolas importantes en México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* 12(1-4): 23-41. .
- GUZMAN, G., 1977. *Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera*. Limusa. México. D.F., 450 p.
- GUZMAN, G., 1978. *Hongos*. Limusa. México, D.F., 194 p.
- HENNINGSSON, B., 1965. Physiology and decay activity of the birch conk fungus *Polyporus betulinus* (Bull.) Fr. *Studia. Forestalia. Suecica.* 34: 1-77.
- HERNANDEZ JIMENEZ, J., 1984. *Tipo de pudrición, agresividad y tolerancia a la creosota de algunos hongos xilófagos*. Tesis Profesional de Biólogo. ENEP-Iztacala, UNAM. Los Reyes Iztacala, 49 p.
- HERRERA CAMPOS, M. A., 1985. *Estudios in vitro del micelio de y la pudrición ocasionada por dos poliporáceos xilófagos: Fomes pini cola y Polyporus versicolor*. Tesis Profesional de Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F., 94 p.
- HIGHLEY, T. L., 1980. Degradation of cellulose by *Poria placenta* in the presence of compounds that affect hydrogen peroxide. *Material und Organismen* 15(2): 81-90.

- HOLROYD, J. D. S. y D. K. BARRETT, 1966. The Oxford University expedition to Mexico 1965. *Oxford Exploration Club Bulletin* 14(3): 12.
- HUDSON, H. J., 1972. *Fungal saprophytism*. Arnold. Londres, 67 p.
- HUDSON, H. J., 1986. *Fungal biology*. Arnold. Londres, 298 p.
- HUNT, G. M. y G. A. GARRAT, 1962. *Preservación de la madera*. Salvat. Barcelona, 486 p.
- JANE, F. W., 1970. *The structure of wood*. Black. Londres, 478 p.
- KIRK, T. K., 1975. Chemistry of lignin degradation of wood-destroying fungi: In: LIESE, W. (Ed.). *Biological transformation of wood by microorganisms*. Springer-Verlag. Berlín, 203 p.
- KOENIGS, J. W., 1972. Production of extracellular hydrogen peroxide and peroxidase by wood-rotting fungi. *Phytopathology* 62: 100-110.
- KOLLMAN, F. P. y W. A. COTE Jr., 1968. *Principles of wood science and technology Vol. 1. Solid Wood*. Springer-Verlag. Berlín, 592 p.
- LEVY, J. F., 1965. The soft rot fungi: their mode of action and significance in the degradation of wood. In: PRESTON, R. D. (Ed.). *Advances in botanical research. Vol. 2*. Academic Press. Londres, 382 p.
- LEVY, J. F., 1976. Isolation and identification of the fungal flora in treated wood. *The International Research Group on Wood Preservation Document*. No. IRG/WP/144. 5 p.

- LOPEZ 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 Profesional de Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F., 35 p.
- LOPEZ GUERRERO, M. T., 1979. *Caracterización de algunos cultivos de hongos causantes de la pudrición de la madera.* Tesis Profesional de Biólogo, Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F., 76 p.
- LOWE, J. L., 1957. *Polyporaceae of North America, The genus Fomes.* State University of Forestry, Syracuse University. Nueva York, 97 p.
- MANION, P. D., 1981. *Tree disease concepts.* Prentice-Hall. Englewood Cliffs, 97 p.
- MARTINEZ BARRERA R. y R. SANCHEZ RAMIREZ, 1980. Estudios etiológicos de *Fomes annosus* (Fr.) Cke. causante de la pudrición de raíz en pinos. *Ciencia Forestal* 5(26): 3-14.
- MOUNCE, I., 1929. Studies in forest pathology: the biology of *Fomes pinicola* (Sw.) Cooke. Canada. Department of Agriculture. Bulletin No. 111, n. 4., 56 p.
- NIEMBRO ROCAS, A., 1986. *Arboles y arbustos útiles de México.* Limusa. México, D.F., 206 p.
- NOBLES, M. K., 1948. Studies in forest pathology VI. Identification of cultures of wood-rotting fungi. *Canadian Journal of Research* 26 Section C. (3): 281-431.

- NOBLES, M. K., 1958. A rapid test for extracellular oxidase in cultures of wood-inhabiting hymenomycetes. *Canadian Journal of Botany* 36: 91-99.
- NOBLES, M. K., 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting hymenomycetes. *Canadian Journal of Botany* 43: 1097-1139.
- OBREGON-ARCEO, M. C. y R. ECHENIQUE-MANRIQUE., 1974. Identificación de hongos habitantes en postes de madera. *An. Inst. Biol. UNAM* 45, *Serie Botánica* (1): 11-20.
- OVERHOLTS, L. O., 1953. *Polyporaceae of the United States Alaska and Canada*. University of Michigan. Press. Ann Arbor, 446 p.
- PANSHIN, A. J. y C. DE ZEEUW, 1970. *Textbook of wood technology*. Vol. 1. Mc. Graw-Hill. Nueva York, 705 p.
- PEGLER, D. N., 1973. Aphylophorales IV: poroid families. In: AINSWORTH, G. C., F. K. SPARROW y A. S. SUSSMAN (Eds.). *The fungi, an advance treatise*. Vol. IVB. *A taxonomic review with keys: Basidiomycetes and lower fungi*. Academic Press. Nueva York, pp. 397-420.
- PEREYRA VENEGAS, J., 1988. *Prueba indicadora en laboratorio de tipo de pudrición y agresividad de algunos hongos xilófagos del Estado de México sobre cuatro maderas comerciales*. Tesis Profesional de Biólogo. ENEP-Iztacala, UNAM. Los Reyes Iztacala, 43 p.
- PINZON-PICASEÑO, L. M., M.T. LOPEZ GUERRERO, F. A. VELIZ AVILA y J. D. MARTINEZ MARCIAL, 1982. Métodos para el estudio de algunas características de los hongos xilófagos como organismos de gradadores de la madera. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 17: 147-157.

PINZON-PICASEÑO, L. M. y J. HERNANDEZ JIMENEZ, 1987. Tipo de pudrición y agresividad hacia la madera de pino y liquidámbar de algunos hongos xilófagos mexicanos. *An. Inst. Biol. UNAM*, 57 (1986) *Ser. Botánica* (No. Unico): 1-10.

PINZON-PICASEÑO, L. M. y J. D. MARTINEZ MARCIAL, 1987. Agresividad de dos cepas de *Pycnoporus sanguineus* (L. ex Fr.) Murr. hacia maderas tropicales mexicanas. *An. Inst. Biol. UNAM*, 54 (1983) *Ser. Botánica* (No. Unico): 233-240.

ROBERTS, D. A. y C. W. BOOTHROYD, 1975. *Fundamentals of plant pathology*. Freeman. San Francisco, 424 p.

RUIZ RODRIGUEZ, M.E. y L. M. PINZON-PICASEÑO, 1986. Ensayo de un nuevo método para determinar el tipo de pudrición que causan los hongos xilófagos de importancia forestal. *Resúmenes del Segundo Congreso Nacional de Micología*, Oaxtepec. Mor. P. 125.

SANCHEZ RAMIREZ, R., 1980. Macromicetos patógenos y destructores de la madera en los bosques de la meseta tarasca, Mich. *Ciencia Forestal* 5 (23): 3-19.

SARMIENTO, M. y E. VAZQUEZ EVIA, 1984. Incidencia de hongos xilófagos en estacas de especies forestales tropicales. *Ciencia Forestal* 9 (51): 39-50.

SAVORY, J. C., 1954. Breakdown of timber by ascomycetes and fungi imperfecti. *Ann. Appl. Biol.* 41(2): 336-347.

- SEAL, K. J. y H. O. W. EGGINS, 1981. The biodeterioration of materials. In: NORRIS, J. R. y M. H. RICHMOND (Eds.). *Essays in Applied Microbiology*. Wiley. Chichester, 380 p.
- TSOUMIS, G., 1968. *Wood as raw material*. Pergamon Press. Oxford, 267 p.
- ULLOA, M. y R. T. HANLIN, 1978. *Atlas de micología básica*. Ed. Concepto. México, D.F., 158 p.
- VELA GALVEZ, L., J. C. BOYAS DELGADO, A. HERNANDEZ REYNA, A. MANCERA OROZCO y A. RODRIGUEZ ANGELES, 1976. El Nevado de Toluca. *Ciencia Forestal* 1(4): 53-61.
- VELIZ AVILA, F. A., 1982. *Caracterización de 22 cepas de hongos basidiomicetos causantes de pudrición en la madera*. Tesis Profesional de Biólogo. ENEP-Iztacala, UNAM. Los Reyes Iztacala, 109 p.
- VERDUZCO GUTIERREZ, J., 1976. *Protección forestal*. Patena. México, D.F., 369 p.
- WILCOX, W. W., 1968. Changes in wood microstructure through progressive stages of decay. USDA. *For. Ser. Forest Products Laboratory Research Paper* No. 70. 45 p.
- WILCOX, W. W., 1970. Anatomical changes in wood cell walls attacked by fungi and bacteria. *The Botanical Review* 36(1): 1-26.