UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGIA

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE HONGOS DE MADERAS TROPICALES TRATADAS CON PENTACLOROFENOL EN TURRIALBA

Tesis para optar el título de
Licenciatura en Biología con
Especialidad en Botánica

ELIZABETH LAVAGNI PORRAS

1982

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE HONGOS DE MADERAS TROPICALES TRATADAS CON PENTACLOROFENOL EN TURRIALBA

Tesis presentada en la Escuela de Biología

Aprobada:

M.Sc. Julieta Carranza V.	Directora de investigación
Dr. Luis Fournier O.	Miembro del Tribunal
M.Sc. José A. Sáenz R.	Miembro del Tribunal
Lic. Ma. Eugenia Herrera	Miembro del Tribunal
Lic. Maryssia Nassar C.	Miembro del Tribunal

1982

DEDICATORIA

A mis padres.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad de Costa Rica, particularmente al Laboratorio de Maderas de la U. de C. R.

Mi más sincero y especial agradecimiento a Julieta Carranza V., M. Sc., por su acertada dirección y revisión de este trabajo, por su estímulo, comprensión, apoyo y sabios consejos.

Al Dr. Luis Fournier O., por toda su valiosa ayuda al efectuar el análisis estadístico de los datos.

También al Sr. Alfredo Arauz por su cooperación. A mis amigas la Lic. Vilma Alfaro Murillo y Eva Mena, por todo su compañerismo durante la ejecución del presente trabajo.

A todas aquellas personas que de una u otra forma me ayudaron.

INDICE

	Página
INTRODUCCION	1
REVISION DE LITERATURA	4
MATERIALES Y METODOS	11
RESULTADOS	18
DISCUSION	42
CONCLUSIONES	47
RESUMEN	48
LITERATURA CITADA	49
APENDICE	55

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Frecuencia de aislamiento de los hongos presentes en maderas panameñas, sin tratamiento y con tratamiento de pentaclorofenol.....	19
2	Frecuencia y localización de los hongos aislados de muestras de maderas no tratadas y tratadas con pentaclorofenol....	20
3	Resistencia de algunas maderas panameñas al ataque de agentes bióticos y número total de hongos aislados de cada una de ellas.....	22
4	Dosis letal media para los hongos aislados, en diferentes concentraciones de pentaclorofenol y de sales de sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos..	25
5	Porcentaje de pérdida de peso de maderas atacadas por un basidiomicete y por hongos imperfectos.....	26

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Muestra de madera extraída con una broca de 5 mm. de diámetro, de un taladrador Pressler	12
2 A	Cámara de podredumbre para hongos basidiomycetes	16
B	Cámara de podredumbre para hongos imperfectos	17
3 A	Acumulación de hifas de T. viride en el lumen de los vasos. 10X y 40X	28
B	Hifas de Scytalidium lignicola en el lumen de los rayos parenquimatosos 40X	28
4 A	Micelio de S. lignicola	30
B	Observación de un cultivo en lámina de S. lignicola 40X	30
C	Crecimiento de S. lignicola en medio de agar-malta	30
5 A	Micelio de Paecilomyces variotii	31
B	Observación de un cultivo en lámina de P. variotii	31
C	Crecimiento de P. variotii en medio de agar-malta	31
6	Micelio de T. viride	32
7	Crecimiento radial de T. viride, P. variotii, S. lignicola, y del basidiomycete 137 en pentaclorofenol a la concentración de 0,01 ppm.	34

8	Crecimiento radial de T. viride, P. variotii, S. lignicola y del basidiomycete 137 en pentaclorofenol a la concentración de 0,01 ppm	35
9	Crecimiento radial de T. viride, P variotii, S. lignicola y del basidiomycete 137 en pentaclorofenol a la concentración de 0,05 ppm	36
10	Crecimiento radial de T. viride, P. variotii, S. lignicola y del basidiomycete 137 en pentaclorofenol a la concentración de 0,1 ppm	37
11	Crecimiento radial de T. viride, y S. lignicola, en pentaclorofenol a la concentración de 0,2 ppm	38
12	Crecimiento radial de T. viride, P. variotii y S. lignicola, en sales de sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniato, en la concentración de 0,005 ppm	39
13	Crecimiento radial de T. viride, P. variotii, S. lignicola, en sales de sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniato, en la concentración de 0,01 ppm	40
14	Crecimiento radial de T. viride, P. variotii, S. lignicola y del basidiomycete 137 en los medios usados como testigos	41

INTRODUCCION

La madera es de suma importancia económica, como recurso natural renovable, ya que tiene usos muy variados; entre ellos cabe mencionar: el aprovechamiento como combustible, la fabricación de papel a través de la degradación de la lignina, la obtención de suplementos alimenticios para animales y la producción de alcohol, además de su uso bien conocido en la construcción (Carranza, 1979).

A pesar de que la madera es un material muy resistente, presenta desventajas, entre las cuales se pueden citar: el tiempo relativamente corto de descomposición, la variación de sus dimensiones con los cambios ambientales y la rápida combustión cuando se seca (Panshin y DeZeeuw , 1970).

Varios organismos han sido comunicados como responsables de la descomposición de la madera, siendo los hongos los que más la afectan, ocasionando grandes pérdidas económicas. El proceso de descomposición de la madera ha sido considerado como un tipo de sucesión, estimándose a las bacterias como los agentes pioneros en la descomposición, seguidas luego por los hongos (Shigo, 1967). Cada uno de estos agentes contribuye por sí mismo a la transformación final del sustrato afectado, ya sea suprimiendo a los organismos que habían actuado previamente (actividad antagónica) o favoreciendo su desarrollo (activi

dad sinérgica) (Shigo, 1967; Tichy, 1975).

La degradación de la madera es llevada a cabo por segregación de enzimas que afectan la celulosa o la lignina, principales componentes de la pared celular, actuando sobre ambas a la vez (podredumbre simultánea), o por una degradación sucesiva (podredumbre blanca y parda) (Ananthanarayanan, 1979; Levy, 1964). Los efectos de estos hongos destructores de la madera se basan en la diferente difusión de las enzimas responsables de la descomposición, o en la distinta concentración de las enzimas liberadas (Levi, 1964).

En la naturaleza, los hongos viven y se reproducen en ambientes o medios que presentan condiciones óptimas de humedad y temperatura. En la madera, cuatro factores regulan su desarrollo: temperatura favorable, humedad, oxígeno y un sustrato apropiado para la obtención de su alimento (Ananthanarayanan, 1979).

El control de la podredumbre fúngica se ha basado en la alteración de alguno de los factores que favorecen el desarrollo de los hongos (Forest Prod. Lab., 1967), uno de los métodos utilizados es la impregnación de la madera con preservantes (Cendes, 1969; Hunt y Garratt, 1953; Intercambio de ideas y métodos, 1962; Pizano, 1952).

Entre los productos químicos que se han utilizado como preservantes de la madera están la creosota, el pentaclorofenol y sales como sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos

(Ananthanarayanan, 1979; Hunt y Garrat, 1953; Intercambio de ideas y métodos, 1962; Kaufert y Schmitz, 1937. La efectividad de estos preservantes depende de su toxicidad a los organismos que atacan la madera (Hunt y Garratt, 1953).

En Costa Rica se ha utilizado el pentaclorofenol en forma de pentaclorofenato de sodio para el tratamiento de postes de electricidad o telefónicos, así como en madera utilizada para setos.

Esta investigación tuvo los siguientes objetivos:

1.- Aislar e identificar los hongos que descomponen algunas maderas tratadas con pentaclorofenol.

2.- Determinar la capacidad descomponedora de los hongos aislados.

3.- Determinar si los hongos presentes en algunas maderas tratadas son los mismos presentes en algunas maderas no tratadas con pentaclorofenol.

4.- Determinar la capacidad de tolerancia de los hongos al pentaclorofenol.

El estudio se llevó a cabo en la localidad de Turrialba, en el "Cementerio" de maderas del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.

REVISION DE LITERATURA

Nicholas (1973) reconoce varios factores como responsables de la descomposición de la madera, los cuales agrupa en dos categorías: factores abióticos y factores bióticos.

Entre los factores abióticos se han incluido cambios de temperatura (± 200 °C); sustancias químicas (ácidos y bases fuertes, agentes oxidantes y solventes orgánicos); fuerzas mecánicas ejercidas sobre la madera y cambios ambientales (Ananthanarayanan, 1979; Nicholas, 1973; Scheffer y Eslyn, 1969; Wangaard, 1966).

Los factores bióticos son los mayores causantes de pérdidas en la madera, ya que en ellos se incluyen: bacterias, insectos, barrenadores marinos (moluscos y crustáceos) y hongos (Ananthanarayanan, 1979; Becker, s.f.; Nicholas, 1973; Rodríguez, 1976).

El deterioro causado por bacterias en la madera ha sido poco estudiado debido a la dificultad existente en la identificación de estos organismos (Greaves, 1971). Sin embargo, se ha podido comprobar que no afectan seriamente sus propiedades (Rossell, Abbot y Levy, 1971; Wilcox, 1970), causando únicamente un aumento en la porosidad o permeabilidad, ya que modifican la estructura de la celulosa de las paredes y destruyen las membranas de las placas cribosas punteadas, probablemente por enzimas pectinasas (Rossell, Abbot y Levy, 1971; Schmidt y Liese, 1976).

Las bacterias se pueden encontrar en todos los elementos de la madera, principalmente en las células de los rayos del parénquima y en los canales resiníferos (Rossell, Abbot y Levy, 1971; Wilcox, 1970), mostrando afinidad por la capa S_3 de las traqueidas (Wilcox, 1970).

Algunos autores consideran a las bacterias como los primeros colonizadores o pioneros en afectar las maderas tratadas con preservantes que se encuentran en contacto con el suelo, ya que se han adaptado para resistir el efecto tóxico de ciertas sustancias químicas, comúnmente utilizadas como preservantes (Line, 1977; Rossell, Abbot y Levy, 1971). Además, se ha observado que pueden ejercer un efecto positivo o negativo sobre otros organismos que comparten el mismo habitat (sinergismo o antagonismo) (Rossell, Abbot y Levy, 1971).

Se ha comunicado que el mejor método para contrarrestar la infección bacterial es por medio del uso de sustancias con actividad antibiótica (Hunt y Cobb, 1971; Rossell, Abbot y Levy, 1971).

De los agentes bióticos citados, los hongos son los que causan mayores daños en la madera.

Varias clasificaciones se han sugerido para el estudio de estos organismos causantes de podredumbre; una de ellas es la mencionada por Liese (1970), la cual agrupa a las podredumbres causadas por hongos en cuatro categorías, basándose en el constituyente químico de la pared, que utilizan:

1.- Podredumbre parda:

Este tipo de podredumbre la originan los hongos que producen las enzimas del complejo celulasa, capaces de degradar la celulosa a formas más simples. Asimismo, se ha encontrado que pueden utilizar la hemicelulosa, aunque no se sabe con exactitud qué tipo de enzimas llevan a cabo este proceso. La lignina es solo levemente alterada, quedando un residuo pardo que es el que le da el nombre a dicha podredumbre (Ananthanarayanan, 1979; Eslyn, Kirk y Effland, 1974; Levi, 1964; Nilsson, 1973, 1976; Wilcox, 1970).

2.- Podredumbre blanca:

Este otro tipo lo causan los hongos que sintetizan un complejo enzimático capaz de degradar la lignina, alterando de este modo la estructura celular; asimismo, la celulosa y la hemicelulosa son removidas eventualmente, quedando la madera con una apariencia blanquecina debido a la deposición de la celulosa (Ananthanarayanan, 1979; Eslyn, Kirk y Effland, 1974; Levi, 1964; Nilsson 1973, 1976; Wilcox, 1970).

3.- Podredumbre suave:

Este tipo se caracteriza por el ataque a las maderas con un alto contenido de humedad, descomponiendo la celulosa y en parte la hemicelulosa. La estructura de la lignina

en este caso no se ve afectada (Ananthanarayanan, 1979; Eslyn, Kirk y Effland, 1974; Levi, 1964; Nilsson, 1973, 1976; Wilcox, 1970).

4.- Podredumbre simultánea:

Difiere de la podredumbre blanca en que los componentes de la pared son degradados simultáneamente (Liese, 1970; Levi, 1964).

Liese (1970), no incluye en esta clasificación a los hongos que producen tinciones; los cuales se pueden comparar con los que producen podredumbre suave.

El efecto en las paredes se lleva a cabo por secreción de enzimas en el extremo de la hifa o por penetración mecánica, originándose erosiones o cavidades; este efecto se concentra en algunos casos en la capa S_2 que es la que presenta mayor acumulación de celulosa (Levy y Stevens, 1966), por el contrario, la capa S_3 debido a la gran acumulación de lignina es más resistente a la descomposición, tanto en maderas tratadas con preservantes como las que no lo han sido. Un signo de podredumbre causada por hongos es la pérdida de peso que experimenta la madera, llegando, en algunos casos de podredumbre blanca, hasta un 99% (Ananthanarayanan, 1979; Nilsson, 1973, 1976).

Para un crecimiento adecuado, los hongos requieren de ciertos factores como son: humedad, aireación, temperatura (alrededor de 25°C) y de un sustrato que no presente sustancias tóxicas y que le brinde los minerales necesarios para su crecimiento.

El control de la actividad fúngica generalmente es el resultado de privar a los hongos de una de esas condiciones esenciales (Ananthanarayanan, 1979; Forest Products Laboratory, 1967).

Para incrementar la durabilidad de la madera se han utilizado una serie de procesos físico-químicos o preservantes que la protegen contra la acción destructora de agentes bióticos y prolongan su período de vida útil. Entre los preservantes utilizados se pueden citar: los de tipo aceitoso (creosota), del tipo solvente orgánico (pentaclorofenol) y del tipo solubles en agua (sales como sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos) (Ananthanarayanan, 1979; CENDES, 1969; Hunt y Garratt, 1953; Intercambic de ideas y métodos, 1962; Pizano, 1952).

El pentaclorofenol es uno de los preservantes más utilizados ya que demuestra alta efectividad para combatir hongos e insectos. Es un compuesto químico cristalino formado por la reacción del cloro sobre el fenol. (Greaves, 1971; Hunt y Garratt, 1953; Intercambio de ideas y métodos, 1962; Stranks, 1976). El pentaclorofenol se usa comúnmente como pentaclorofenato de sodio, el cual se transforma en el interior de la madera en pentaclorofenol.

En zonas tropicales, se utilizan también las sales de arseniatos, ya que combinadas con sulfato de cobre y dicromato de sodio, son tóxicas a los hongos e insectos; formando compues-

tos de alta toxicidad y baja solubilidad en agua (Bravery, 1968; Hunt y Garratt, 1953; Levi, 1976).

Se ha observado que a pesar de la alta toxicidad de algunos preservantes, ciertos hongos, principalmente del grupo de imperfectos, son capaces de descomponerlos en formas menos tóxicas, por presentar gran tolerancia. En muchos casos, el preservante reduce la colonización de la madera por hongos pero no previene su acción totalmente (Bravery, 1968; Carranza, 1979; Christensen, Kaufert, Schmitz y Allison, 1942; Duncan y Lombard, 1975; Levi, 1976; Line, 1977). Los basidiomicetes, responsables de las podredumbres que causan mayores pérdidas, son menos tolerantes a los preservantes, pero pueden invadir la madera tratada después de que ha sido colonizada por imperfectos, ya que estos remueven las sustancias tóxicas, dejando de esta manera más asequible la madera a los organismos menos tolerantes a los preservantes. De los hongos imperfectos más comúnmente aislados se pueden mencionar: Paecilomyces variotii, que ha sido encontrado en maderas tratadas con creosota y, Trichoderma viride en maderas tratadas con pentaclorofenol, y con sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos (Stranks y Hulme, 1976). Algunos hongos de podredumbre parda han mostrado cierta tolerancia a preservantes de sales de cobre (Young, 1961).

Se ha considerado que la descomposición de la madera se lleva a cabo por la acción de los hongos y otros microorganis-

mos que actúan en sucesión en la madera, siendo este un proceso complejo. Cada uno de los organismos contribuye a la transformación final del sustrato: 1.- Inhibiendo el crecimiento de los individuos que habían atacado el sustrato anteriormente al agotar uno u otro nutriente, o, por producción de metabolitos tóxicos. 2.- Siendo influenciados por su actividad (micoparasitismo, antagonismo, sinergismo) (Eckstein, Dieter y Liese, 1970; Morton y Eggins, 1976). Los primeros invasores (imperfectos) no atacan la estructura de la madera, pero sí obtienen nutrientes de los contenidos celulares; siguiendo luego la invasión de la madera por hongos que sí producen cambios estructurales (Banerjee y Levy, 1971; Greaves, 1972; Shigo, 1967; Tichy, 1975).

Se ha observado actividad antagónica en ciertos organismos (Greaves, 1971, 1972; Morton y Eggins, 1976; Tichy, 1975), los cuales pueden ser utilizados como un medio de control biológico, ya que estos no causan podredumbre en la madera, sino que compiten por el sustrato con los hongos causantes de podredumbre, (Toole, 1971) y en algunas casos produciendo sustancias antibióticas en la madera (Lundborg y Unestann, 1980; Ricard, 1975; Ricard y Bollen, 1968; Ricard, Wilson y Bollen 1969; Salinas, 1974; Schmidt y Liese, 1976).

MATERIALES Y METODOS

Este trabajo de investigación se llevó a cabo en el Cementerio de Maderas del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, en Turrialba.

COLECTA DE ESTACAS

Se utilizaron estacas de diferentes maderas panameñas, algunas con tratamiento de pentaclorofenol y otros sin tratamiento (ver Cuadro No. 3). Estas fueron enterradas desde 1969, por el Laboratorio de Maderas de la Universidad de Costa Rica. Se seleccionaron aquellas estacas que mostraron a simple vista algún tipo de degradación ya fuera biótica o abiótica (González, 1974).

EXTRACCION DE LAS MUESTRAS

En el Cuadro No. 3 se puede observar el número de estacas que se tomó de cada especie.

Las estacas se llevaron al laboratorio y se tomaron tres muestras cilíndricas de cada una de ellas: una de la parte enterrada, otra a nivel del suelo y la última a unos 20 cm. del suelo. La extracción de las muestras se llevó a cabo con un taladrador Pressler utilizando una broca de 5 mm. de diámetro (Fig. # 1).

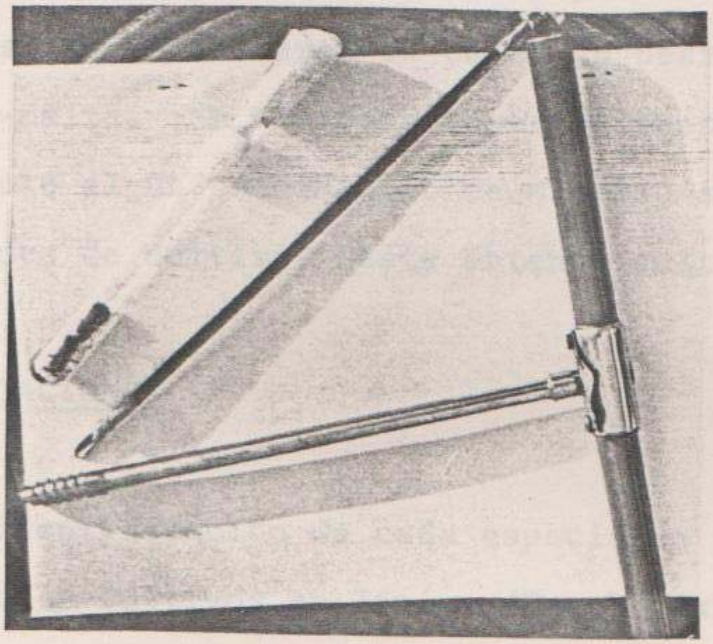


Figura # 1

Muestra de madera extraída con una broca de 5 mm. de diámetro, de un taladrador Pressler.

AISLAMIENTO DE LOS HONGOS

De cada muestra se hicieron cortes transversales para obtener fragmentos representativos de las partes externa, media e interna. Estas se colocaron en cajas de petri con medio estéril de agar-malta. Se hicieron observaciones cada dos días y cuando se notó algún crecimiento de micelio se transfirieron a medios frescos de cultivo, hasta obtener cultivos axénicos.

IDENTIFICACION

Para la identificación de cada especie se utilizaron claves específicas y cultivos en lámina (Taschdjian, 1954).

PRUEBAS DE TOLERANCIA A PRESERVANTES

Utilizando los hongos que se aislaron con mayor frecuencia, se realizaron pruebas de tolerancia con los siguientes preservantes, pentaclorofenol disuelto en diesel, y una mezcla de sulfato de cobre -dicromato de sodio y arseniatos-. Los medios se prepararon con agar-malta y se les trató con diferentes cantidades de pentaclorofenol o de las sales indicadas, hasta obtener concentraciones de 0,005 ppm - 0,01 ppm - 0,05 ppm - 0,1 ppm y 0,2 ppm. Se midió el crecimiento de los hongos en las diferentes concentraciones y se

compararon con los testigos (Carranza, 1979). (Fig. # 7-14).

PRUEBAS DE PODREDUMBRE

Se utilizaron dos tipos de cámaras:

a.- Cámaras de podredumbre para hongos basidiomicetes: Estas se prepararon con 20 botellas cuadradas de 19,7 cm. de largo y 4,5 cm. de ancho, conteniendo medio de agar-malta previamente esterilizado. Los medios se inocularon con los micelios característicos de basidiomicetes (presencia de fíbulas). Después de ocho días se introdujeron a las cámaras, muestras de madera sana (Pouteria sp.) previamente secadas al horno a temperatura de 70°C, las cuales posteriormente, se infiltraron con agua al vacío y se esterilizaron al vapor. Las cámaras se mantuvieron por un período de cuatro meses, observándolas semanalmente y anotando todos los tipos de contaminación detectados (American National Standard, 1978). Las cámaras se mantuvieron en una incubadora a temperatura de 28°C. (Fig. # 2A).

b.- Cámaras de podredumbre para hongos imperfectos y/o ascomicetes: En este tipo se utilizaron 20 botellas cuadradas de 19,7 cm. de largo por 4,5 cm. de ancho, con vermiculita previamente esterilizada para cada uno de los tres hongos utilizados. En este caso, los hongos obtenidos en cultivo puro se transfirieron a un medio líquido de caseinato de

sodio donde permanecieron 15 días a temperatura ambiente, luego se centrifugaron y se inocularon a las cámaras, en las cuales se habían colocado muestras de madera sana (Bombacopsis sessilis y Tetragastris sp.), previamente secadas al horno, y posteriormente infiltradas con agua al vacío, esterilizadas al vapor (Nilsson, 1973). Después de un mes a cada botella se le agregó nuevamente caseinato de sodio con micelio del hongo correspondiente. En los meses siguientes, se les añadió a cada botella 10 cc de agua destilada estéril, para mantener la humedad del medio. Las botellas permanecieron en una incubadora a una temperatura de 28°C. (Fig. # 2B).

Comparación de la pérdida de peso: Para esto las maderas que se utiizaron en los dos tipos de cámaras de podredumbre, se pesaron antes de ser atacadas y después de cuatro meses de permanecer en contacto con el hongo. Se empleó la siguiente fórmula para calcular la pérdida de peso:

$$\% \text{ pérdida de peso} = \frac{\left(\text{peso seco al horno original}\right) - \left(\text{peso seco al horno después de la podredumbre}\right)}{\text{peso seco al horno original}} \times 100$$

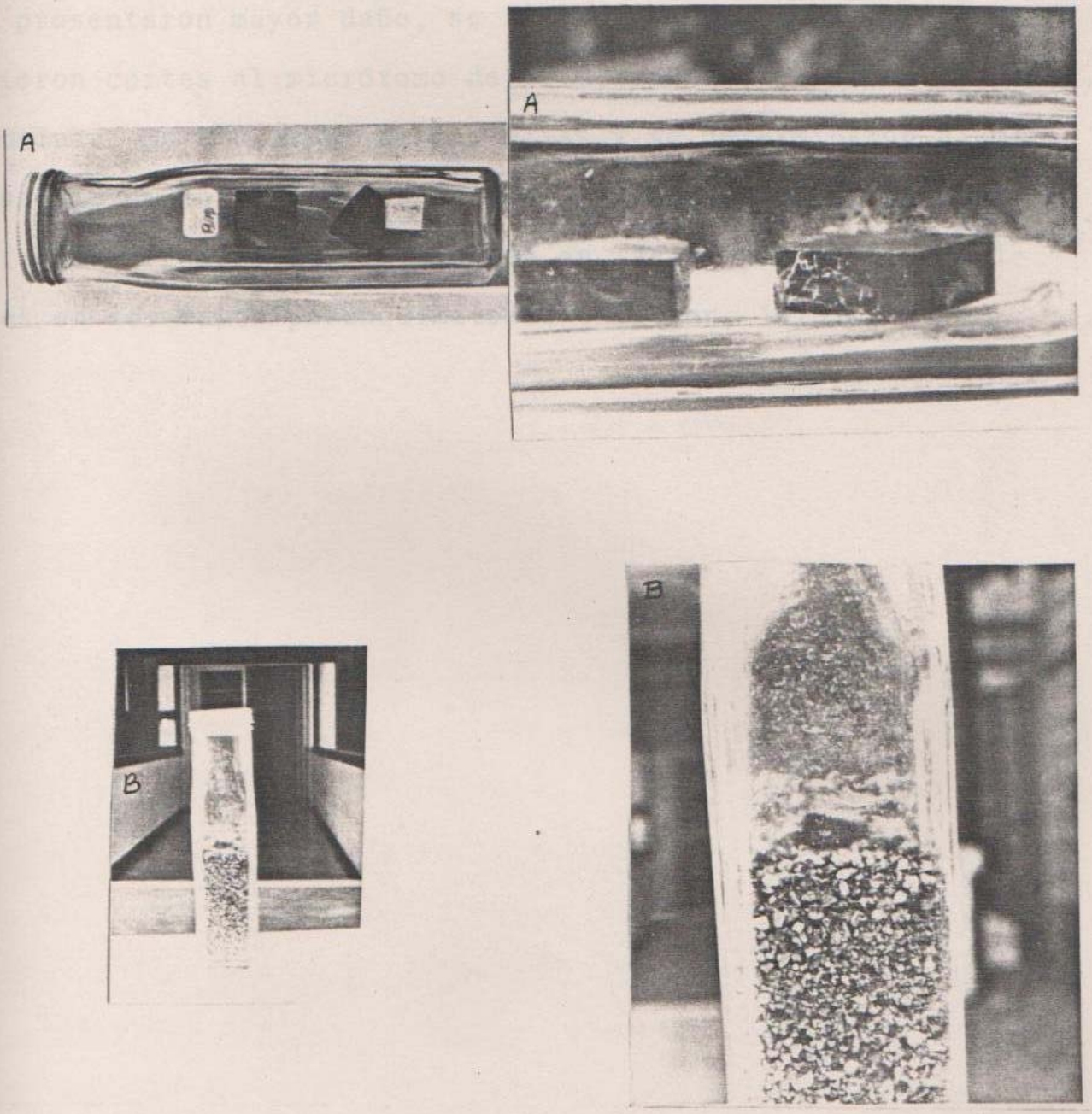


Fig. # 2 A. Cámara de podredumbre para hongos Basidiomycetes

B. Cámara de podredumbre para hongos Imperfectos

Para observaciones microscópicas, las muestras de madera que presentaron mayor daño, se fijaron en FAA. De estas se hicieron cortes al micrótomo de 10 u, y se colorearon con safranina. Se hicieron láminas fijas y se determinaron al microscopio de luz los daños causados a la madera por los hongos, como por ejemplo, la erosión en las paredes y las cavidades en los rayos parenquimatosos (Nilsson, 1973).

RESULTADOS

Se obtuvieron 43 aislamientos de hongos, pertenecientes a siete géneros diferentes, en once maderas tratadas con pentaclorofenol. De doce maderas sin tratamiento se obtuvieron 57 aislamientos de hongos pertenecientes a nueve géneros diferentes (Cuadro No. 1).

Los hongos aislados con mayor frecuencia, en maderas tratadas con pentaclorofenol, y en maderas sin tratamiento, fueron: Scytalidium lignicola, Trichoderma viride, Paecilomyces variotii y Fusarium sp.; además se obtuvieron dos basidiomycetes: Trametes corrugata y un basidiomicete no identificado, de maderas no tratadas (Cuadro No. 1).

La mayoría de los hongos aislados tanto en maderas sin tratamiento como en las tratadas con pentaclorofenol, se localizaron en la parte externa y media de las muestras; encontrándose en menor abundancia en la parte interna de ambas maderas. De los tres hongos aislados con mayor frecuencia Trichoderma viride se presentó más en la parte media; mientras que Paecilomyces variotti y Scytalidium lignicola se encontraron con mayor frecuencia en la parte externa. El basidiomicete se aisló de las tres partes de la madera (Cuadro No. 2).

Algunas de las maderas utilizadas en este ensayo, habían probado ser poco resistentes o muy poco resistentes a los diferentes agentes bióticos y abióticos, por lo que fueron tratadas con pentaclorofenol antes de ser expuestas (González, 1974).

Cuadro No. 1: Frecuencia de aislamiento de los hongos presentes en maderas panameñas, sin tratamiento y con tratamiento de pentaclorofenol

Género y/o Especie	Frecuencia* de aislamiento. Totales	Frecuencia en maderas tratadas con pentaclorofenol	Frecuencia en maderas no tratadas con pentaclorofenol
Trichoderma viride	21	9	12
Paecilomyces variotii	18	7	11
Scytalidium lignicola	20	10	10
Trametes corrugata	1	-	1
Basidiomicete 137	1	-	1
Fusarium sp.	15	7	8
Penicillium sp.	12	5	7
Rhizopus stolonifer	8	2	6
Aureobasidium pullulans	4	3	1
Total	100	43	57

* Frecuencia de aislamiento: número de veces que se aisló cada hongo en las maderas utilizadas.

Cuadro No. 2: Frecuencia y localización de los hongos aislados de muestras de maderas no tratadas y tratadas con pentaclorofenol

Hongo	Parte Externa Frecuencia Maderas		Parte Central Frecuencia Maderas		Parte Interna Frecuencia Maderas	
	Tratadas	No Tratadas	Tratadas	No Tratadas	Tratadas	No Tratadas
Trichoderma viride	6	12	8	11	6	8
Paecilomyces variotii	6	10	3	9	3	8
Scytalidium lignicola	10	10	9	9	7	7
Trametes corrugata	0	1	0	1	0	1
Basidiomycete 137	0	1	0	1	0	1
Fusarium sp.	4	7	4	7	3	1
Penicillium sp.	5	7	2	6	1	1
Rhizopus stolonifer	2	4	0	3	0	0
Aureobasidium pullulans	3	1	3	1	0	0
TOTAL	36	53	29	48	20	27

De ellas, se aisló un menor número de hongos; lo contrario ocurrió en dos de las maderas resistentes y no tratadas, aislándose un mayor número, incluyendo los dos basidiomicetes (Cuadro No. 3). En general se presentó una distribución de hongos parecida en ambos tipos de maderas.

El comportamiento de los cuatro hongos utilizados en las pruebas de tolerancia fue semejante en todos los casos:

a.- La concentración de 0,1 ppm de pentaclorofenol redujo el crecimiento de Trichoderma viride y de Scytalidium lignicola en un 50%.

b.- La concentración de 0,01 ppm de pentaclorofenol redujo el crecimiento de Paecilomyces variotii y del Basidiomicete 137 en un 50%. De los hongos imperfectos el más susceptible a concentraciones de pentaclorofenol fue Paecilomyces variotii (Fig. # 8-11).

c.- La concentración de 0,05 ppm, de pentaclorofenol inhibió el crecimiento de basidiomicete 137 (Fig. # 9) y la concentración de 0,005 ppm de pentaclorofenol favoreció su crecimiento; igual sucedió con esa misma concentración para Trichoderma viride, Paecilomyces variotii y Scytalidium lignicola (Fig. # 7).

En relación con el crecimiento de los hongos en medios conteniendo sales de sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos, se observó que una concentración de 0,05 ppm inhibió el crecimiento de Trichoderma viride, de Paecilomyces variotii y de Scytalidium lignicola. El basidiomicete 137

Cuadro No. 3: Resistencia de algunas maderas panameñas al ataque de agentes bióticos y número total de hongos aislados de cada una de ellas.

No. de Muestra	Nombre científico/ nombre común	Resistencia	Total hongos aislados
131 (no tratada)	(Enterolobium schomburghii) (Harino / Guanacaste macho)	Resistente	5
131 A (no tratada)	(Enterolobium schomburghii) (Harino / Guanacaste macho)	Resistente	6
131 W1.1 (no tratada)	(Enterolobium schomburghii) (Harino / Guanacaste macho)	Resistente	4
134 (no tratada)	(Tetragastris sp) (Ciruelo)	Resistente	5
137 (no tratada)	(Pouteria sp) (Níspero cuascudo / lechillo níspero chicle)	Resistente	6
138 (tratada)	(Prioria copaifera) (Cativo blanco)	Poco resistente	4
143 NE-3 (tratada)	(Prioria copaifera) (Cativo negro)	Poco resistente	3
158 W6 (tratada)	(Spondias mombin) (Jobo / Jobo jocote)	Muy poco resistente	3
163 (tratada)	(Bombacopsis sessilis) (Bongo macho / pochote o ceibo)	Poco resistente	5
167 (tratada)	(Dendropanax arboreus) (Nagua blanca / Zopilote)	Poco resistente	4
167 NE-2 (tratada)	(Dendropanax arboreus) (Nagua blanca / Zopilote)	Poco resistente	3
167 NE-4 (tratada)	(Dendropanax arboreus) (Nagua blanca / Zopilote)	Poco resistente	4

continúa .....

Continuación Cuadro No. 3

No. de Muestra	Nombre científico/ nombre común	Resistencia	Total hongos aislados
179 (tratada	(Dialyanthera sp) (Cebo)	Muy poco resistente	4
183 (no tratada)	(Symphonia globulifera) (Cerillo)	Resistente	5
194 (no tratada)	(Qualea cymulosa) (Gorgojo)	Resistente	4
194 W.1 (no tratada)	(Qualea cymulosa) (Gorgojo)	Resistente	3
194 NE-1 (no tratada)	(Qualea cymulosa) (Gorgojo)	Resistente	4
195 N3 (tratada)	(Chrysophyllum sp) (Plátano)	Poco resistente	4
195 NW1 (tratada)	(Chrysophyllum sp) (Plátano)	Poco resistente	3
195 S3 (tratada)	(Chrysophyllum sp) (Plátano)	Poco resistente	5
204 (no tratada)	(Trattinickia sp o Protium sp) (Caraño / Caraña / Carao amargo)	Moderadamente resistente	6
211 (no tratada)	(Inga - hayesii?) (Guabo)	Poco resistente	5
211 A (no tratada)	(Inga sp) (Guabo./ dulce guaba)	Poco resistente	6

fue inhibido en todas las concentraciones de las sales utilizadas. La concentración de 0,01 ppm reduce el crecimiento de Trichoderma viride, Paecilomyces variotii y Scytalidium lignicola en un 50% (Cuadro No. 4) (Cuadros Nos. 1-8 apéndice). (Fig. # 7-14).

Las pérdidas de peso en las maderas colocadas en las cámaras de podredumbre que se inocularon con el basidiomicete 137 oscilaron entre 4,65 g. y 10,29 g. En el caso de los hongos imperfectos, para Paecilomyces variotii, se obtuvieron pérdidas de peso de 5,34 g. hasta 14,28 g.; para Trichoderma viride de 13,40 g. hasta 53,50 g. y para Scytalidium lignicola 8,42 g. a 11,40 g. (Cuadro No.5) (Cuadros Nos. 9-12 apéndice).

Se llevó a cabo una comparación entre los pesos iniciales y los pesos finales de los trocitos de madera que fueron sometidos a la acción de varios hongos en cámaras de podredumbre. Esta comparación se hizo con base en una muestra aleatoria de diez trocitos de cada tratamiento y con la ayuda de una prueba de t de Student.

Dicha comparación mostró que hay un efecto altamente significativo de Scytalidium lignicola y Trichoderma viride sobre la madera de Bombacopsis sessilis, así como del basidiomicete sobre la madera de Pouteria sp. Sin embargo, se notó efecto significativo de Paecilomyces variotii sobre la madera de Tetragastris sp.

Al observar al microscopio de luz las láminas fijas preparadas con muestras de maderas afectadas, se pudo notar que

Cuadro No. 4: Dosis letal media para los hongos aislados, en diferentes concentraciones de pentaclorofenol y de sales de sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos.

Hongo	L_D 50	
	Concentraciones de pentaclorofenol en ppm	Concentraciones de las sales en ppm
Trichoderma viride	0,1	0,01
Paecilomyces variotii	0,01	0,01
Scytalidium lignicola	0,1	0,01
Basidiomycete 137	0,01	(no creció)

Cuadro No. 5: Porcentaje de pérdida de peso de maderas atacadas por un basidiomicete y por hongos imperfectos

Madera	Hongo	Promedio de pérdida de peso (en g .)
Pouteria sp (Níspero chicle)	Basidiomicete 137	5,64
Bombacopsis sessilis (Pochote o ceibo)	Scytalidium lignicola	6,53
Tetragastris sp (Ciruelo)	Paecilomyces variotii	8,94
Bombacopsis sessilis (Pochote o ceibo)	Trichoderma viride	44,50

en el caso de Paecilomyces variotii, las hifas se acumularon en el lumen de las traqueidas y se presentaba una leve erosión en las paredes. Trichoderma viride, se encontró abundantemente en el lumen de los vasos; no se observaron cavidades pero sí una fuerte erosión en las paredes (Fig. #3A) y Scytalidium lignicola presentaba una colonización abundante de los rayos parenquimatosos, pero no se notó erosión ni formación de cavidades. (Fig. #3B)

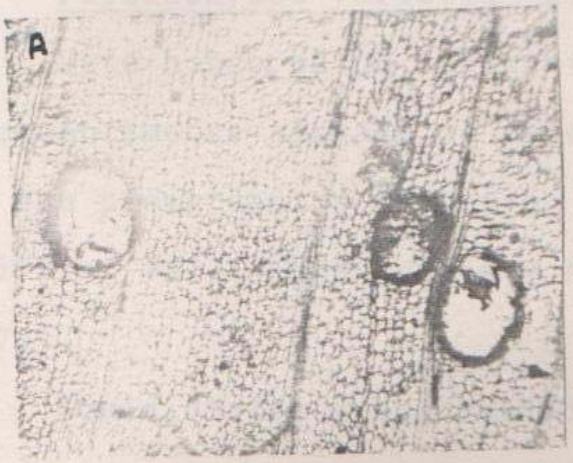
En el caso del basidiomicete se observaron hifas en los rayos parenquimatosos y una leve erosión en las paredes, por lo que puede considerarse una podredumbre en estado incipiente.

DESCRIPCION DE LOS HONGOS AISLADOS

1.- Scytalidium lignicola Pesante, 1957

Este hongo ha sido comunicado como un habitante muy común de la madera tanto de angiospermas como de gimnospermas, encontrándose también formando parte de la flora del suelo (Ellis, 1971; Nilsson, 1973; Henningsson y Nilsson, 1976).

Se caracteriza por la formación de colonias café negruzcas, micelio superficial o inmerso, hifas de pared lisa, hialinas o cafesuzcas, delgadas o gruesas con células abultadas distribuidas ocasionalmente, y con septos de pared gruesa café oscuro. Conidios café oscuros casi negros, producidos en cadena, simples, de pared delgada, sin septos o septados



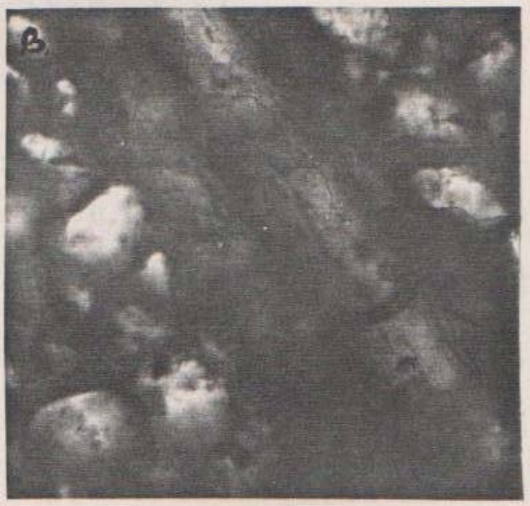


Fig. # 3 A. Acumulación de hifas de T. viride en el lumen de los vasos. 10X y 40X

B. Hifas de Scytalidium lignicola en el lumen de los rayos parenquimatosos. 40X.

(Fig. # 4) (Ellis, 1971).

2.- Paecilomyces variotii Bainer

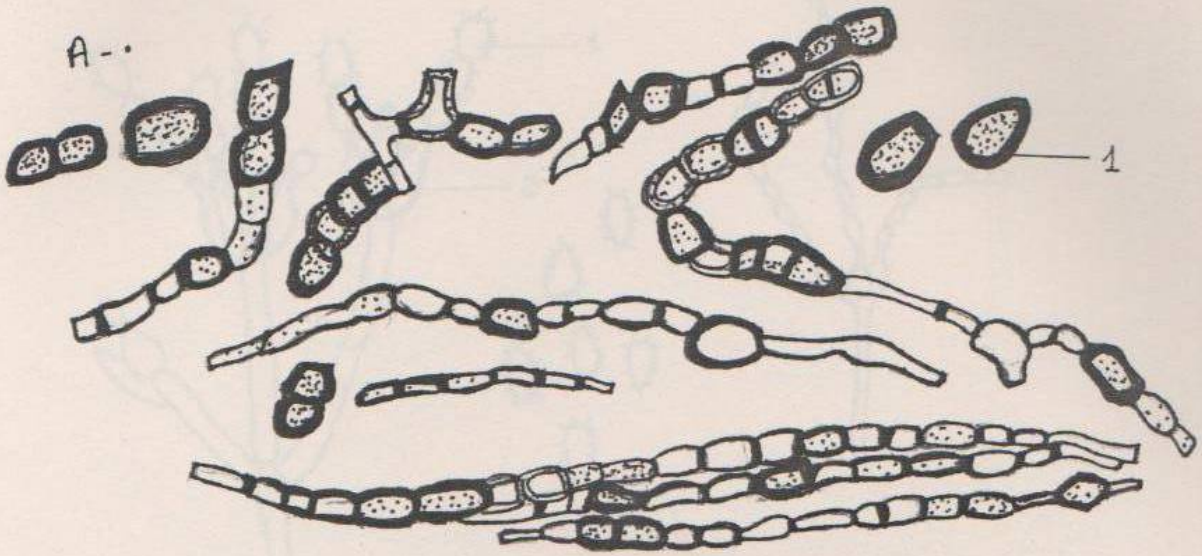
Este hongo es un habitante común del suelo, y ha sido frecuentemente aislado de madera tanto tratada como no tratada con preservantes (Banerjee y Levy, 1971; Greaves, 1971; Griffin, 1972; Henningsson y Nilsson, 1976; Morton y Eggins, 1976).

Conidióforos y sus ramificaciones más divergentes que en el género Penicillium; conidios (fialósporas) producidas en cadena unicelulares, ovoide o fusiformes, hialinos (Barnett y Hunter, 1972). (Fig. # 5).

3.- Trichoderma viride Pers.

Habitante común del suelo y de maderas (Banerjee y Levy, 1971; Barnett y Hunter, 1972; Butcher, 1968; Greaves, 1972; Griffin, 1972; Henningsson y Nilsson, 1976; Dwyer y Levy, 1976; Merrill y French, 1965; Nilsson, 1973; Savory, 1954.

Se caracteriza por conidióforos hialinos, ramificados, no verticilados, fiálides simples o en grupos; conidios (fialósporas) hialinas, unicelulares, ovoides, nacen en pequeños grupos terminales; se reconoce fácilmente por su rápido crecimiento y por los parches verdes que producen los conidios (Barnett y Hunter, 1972). (Fig. # 6).



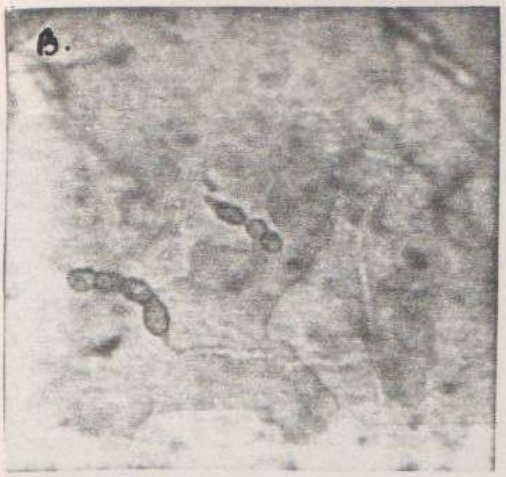


Fig. # 4 A. Micelio de S. lignicola
1. conidios

B. Observación de un cultivo en lámina de S. lignicola 40X

C. Crecimiento de S. lignicola en medio de agar-malta.

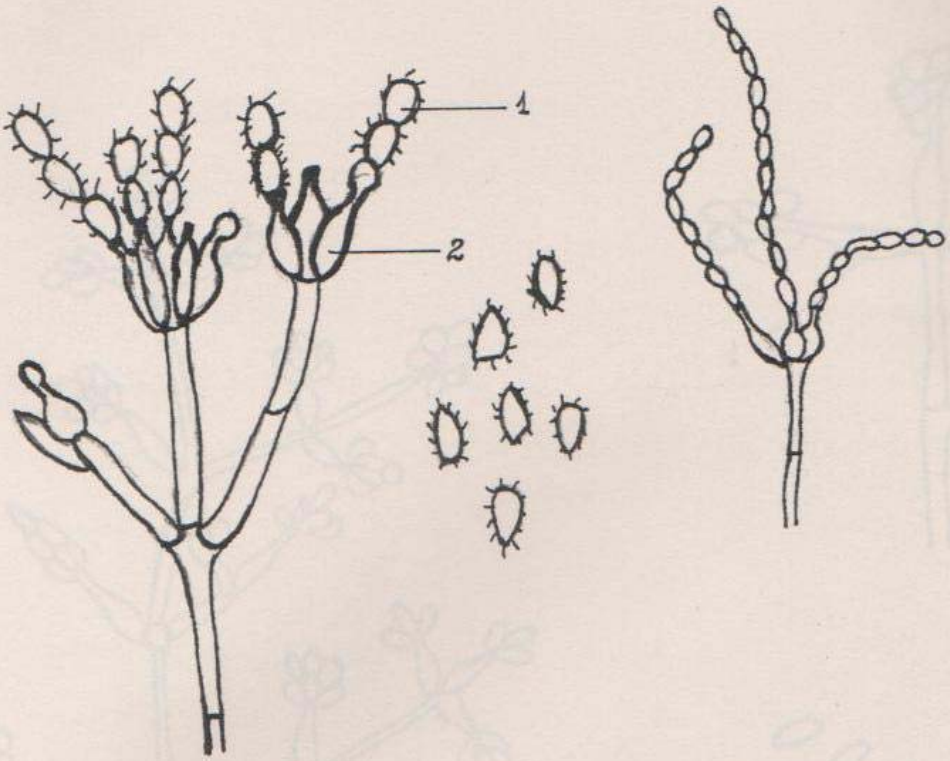


Fig. # 5 A. Micelio de Paecilomyces variotii
1. conidios 2. fiálides

B. Observación de un cultivo en lámina de P. variotii 40X

C. Crecimiento de P. variotii en medio de agar-malta.

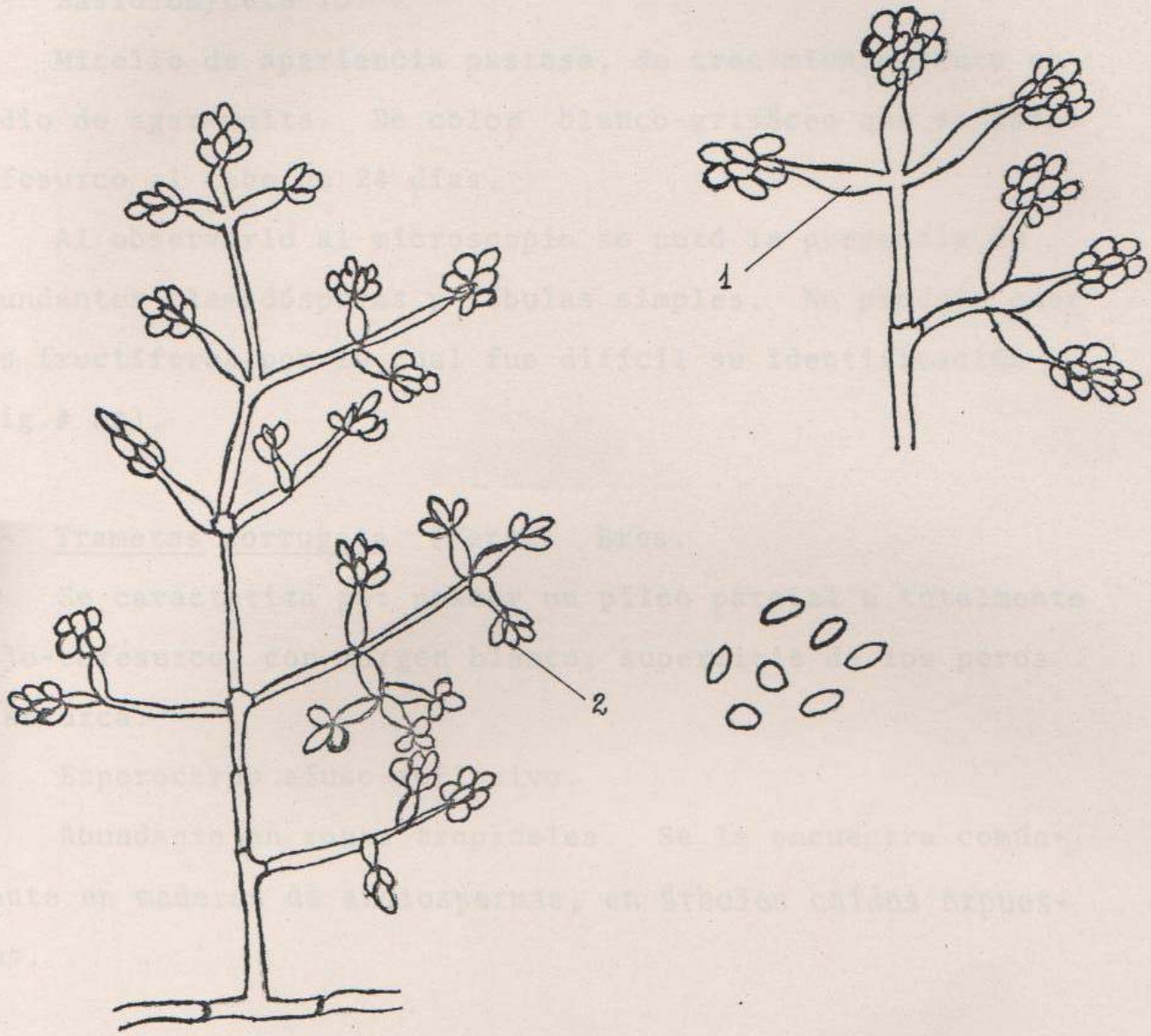


Fig. # 6. Micelio de T. viride

1. Fiálides

2. Conidios

4.- Basidiomycete 137

Micelio de apariencia pastosa, de crecimiento lento en medio de agar-malta. De color blanco-grisáceo que se torna cafesuzco al cabo de 24 días.

Al observarlo al microscopio se notó la presencia de abundantes clamidósporas y fíbulas simples. No produjo cuerpos fructíferos por lo cual fue difícil su identificación (Fig.# 6B).

5.- Trametes corrugata (Pers.) Bres.

Se caracteriza por poseer un píleo parcial o totalmente rojo-cafesuzco, con margen blanco, superficie de los poros blancuzca.

Esporocarpo efuso-reflexivo.

Abundante en zonas tropicales. Se le encuentra comúnmente en maderas de angiospermas, en árboles caídos expuestos.

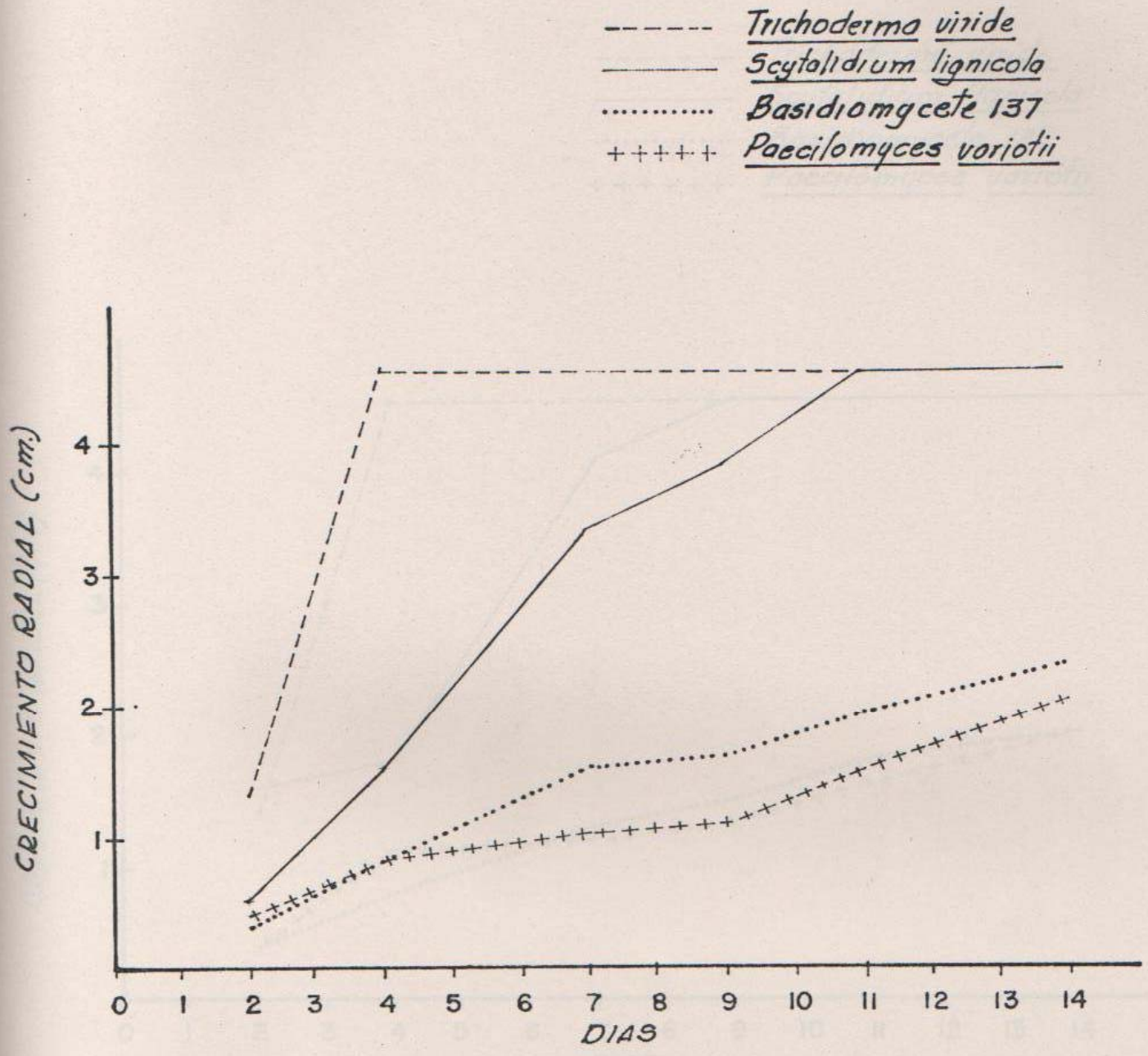


Fig #7 : CRECIMIENTO RADIAL DE *T. viride*, *P. variotii*, *S. lignicola* Y DEL Basidiomycete 137, EN PENTACLOROFENOL A LA CONCENTRACION DE 0,005 ppm.

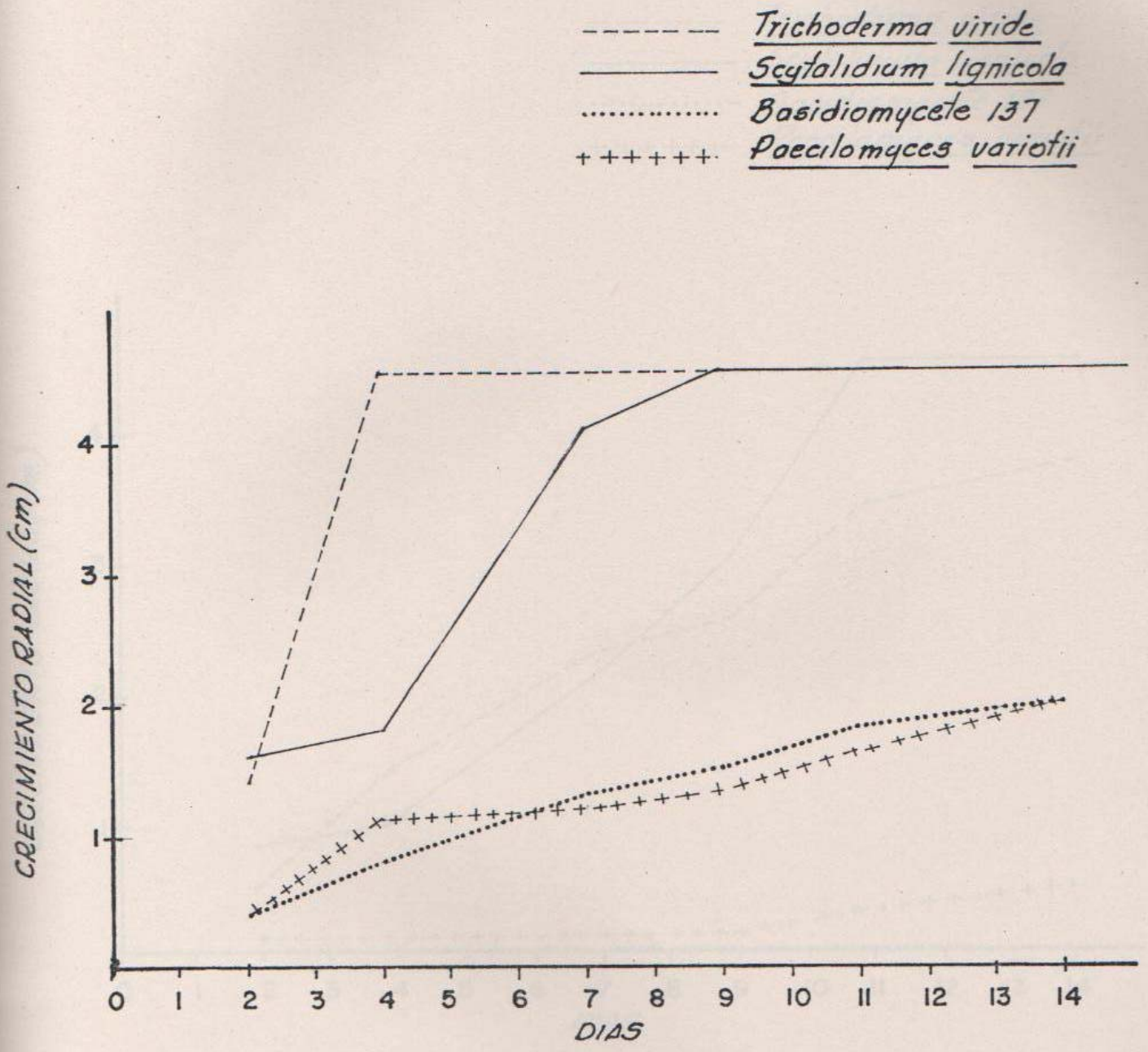


FIG. # 8 : CRECIMIENTO RADIAL DE *T. viride*, *P. variotii*, *S. lignicola* Y DEL Basidiomycete 137 EN PENTACLOROFENOL A LA CONCENTRACION DE 0,01 ppm.

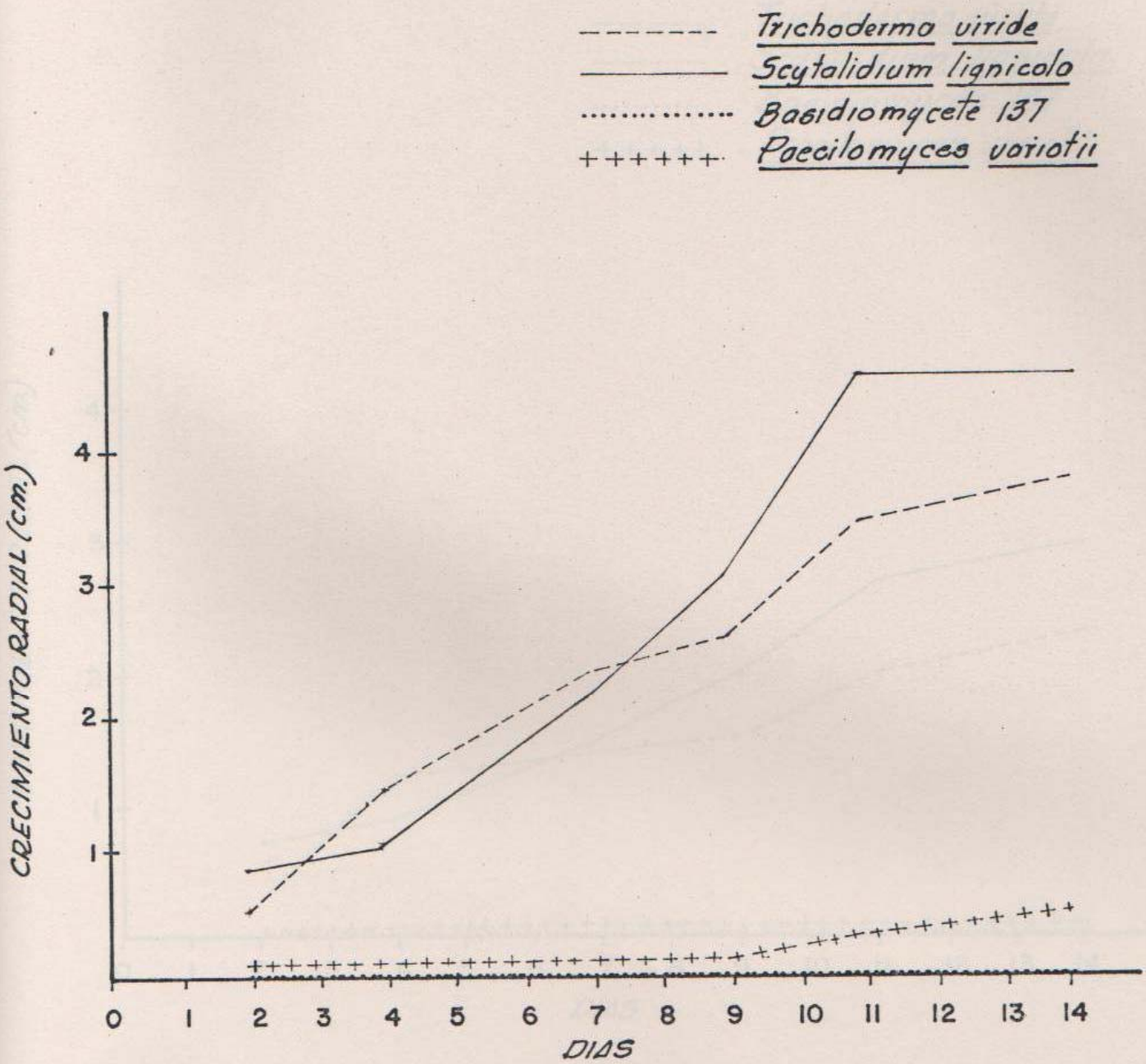


FIG # 9 : CRECIMIENTO RADIAL DE T. viride, P. variotii, S. lignicola Y DEL Basidiomycete 137 EN PENTACLOROFENOL A LA CONCENTRACION DE 0,05 ppm.

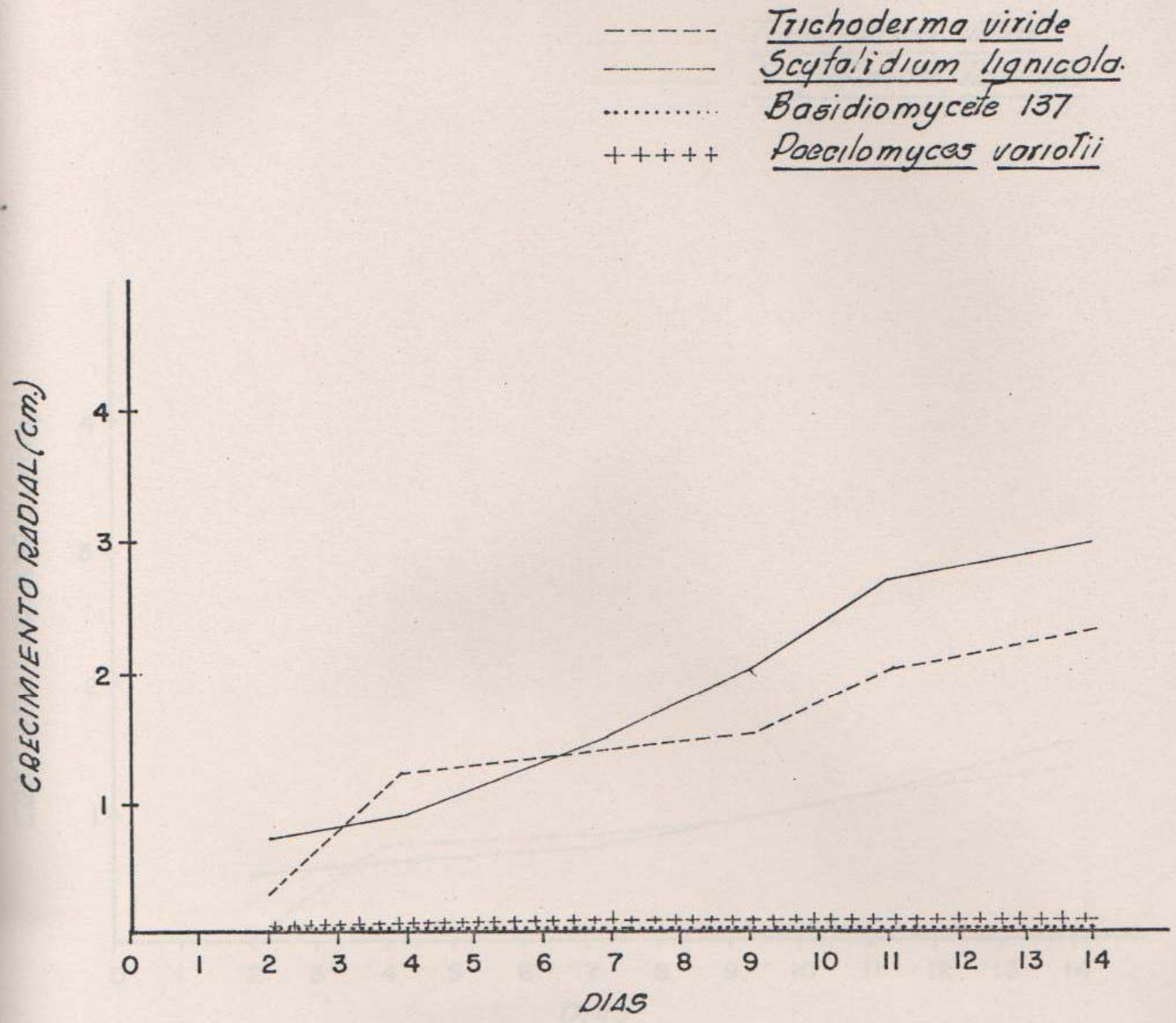


FIG # 10 : CRECIMIENTO RADIAL DE T. viride, P. variotii, S. lignicola Y DEL Basidiomycete 137 EN PENTACLOROFENOL A LA CONCENTRACION DE 0,1 ppm.

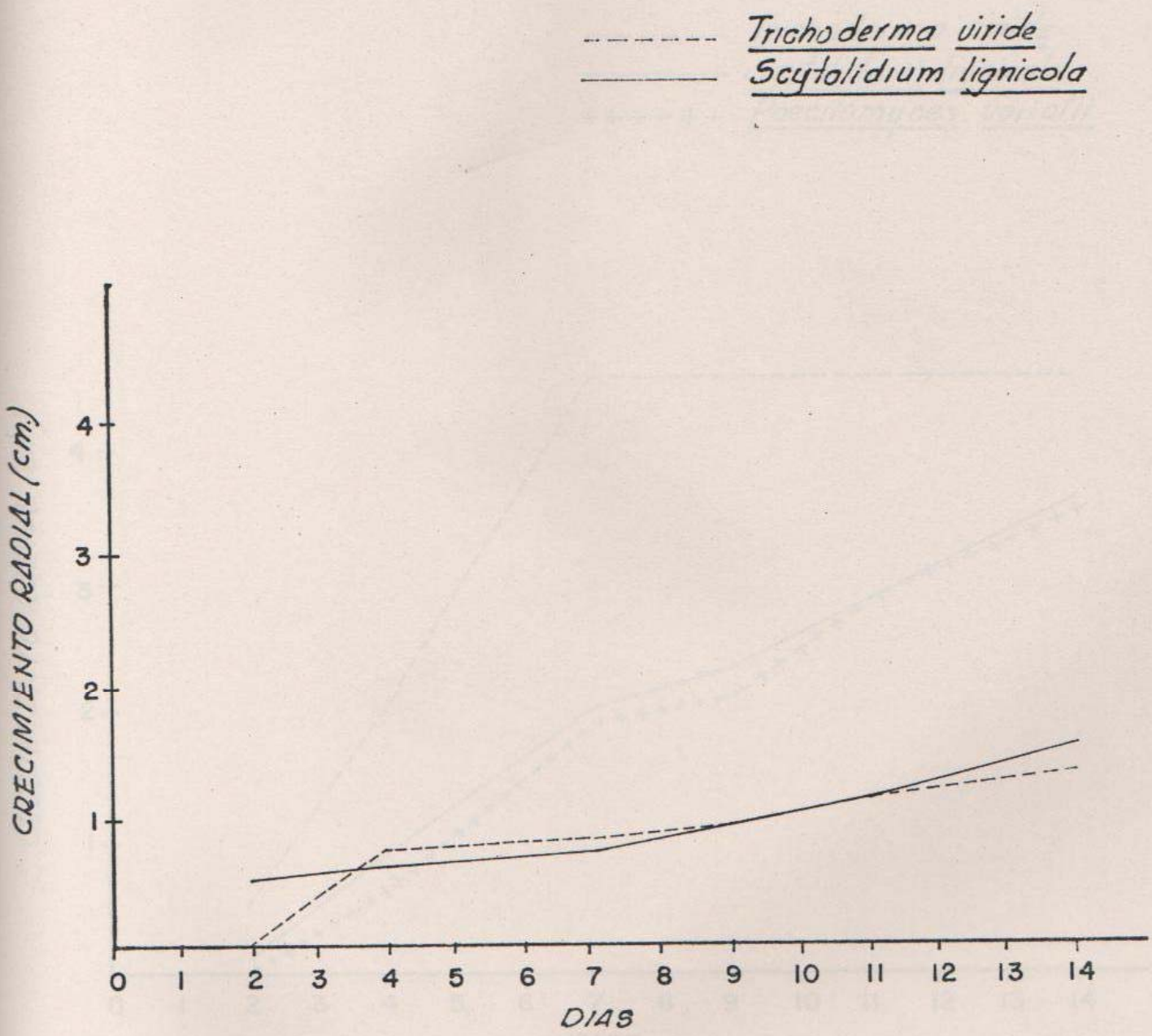


FIG. #11: CRECIMIENTO RADIAL DE T. viride, Y S. lignicola, EN PENTACLOROFENOL A LA CONCENTRACION DE 0,2 ppm.

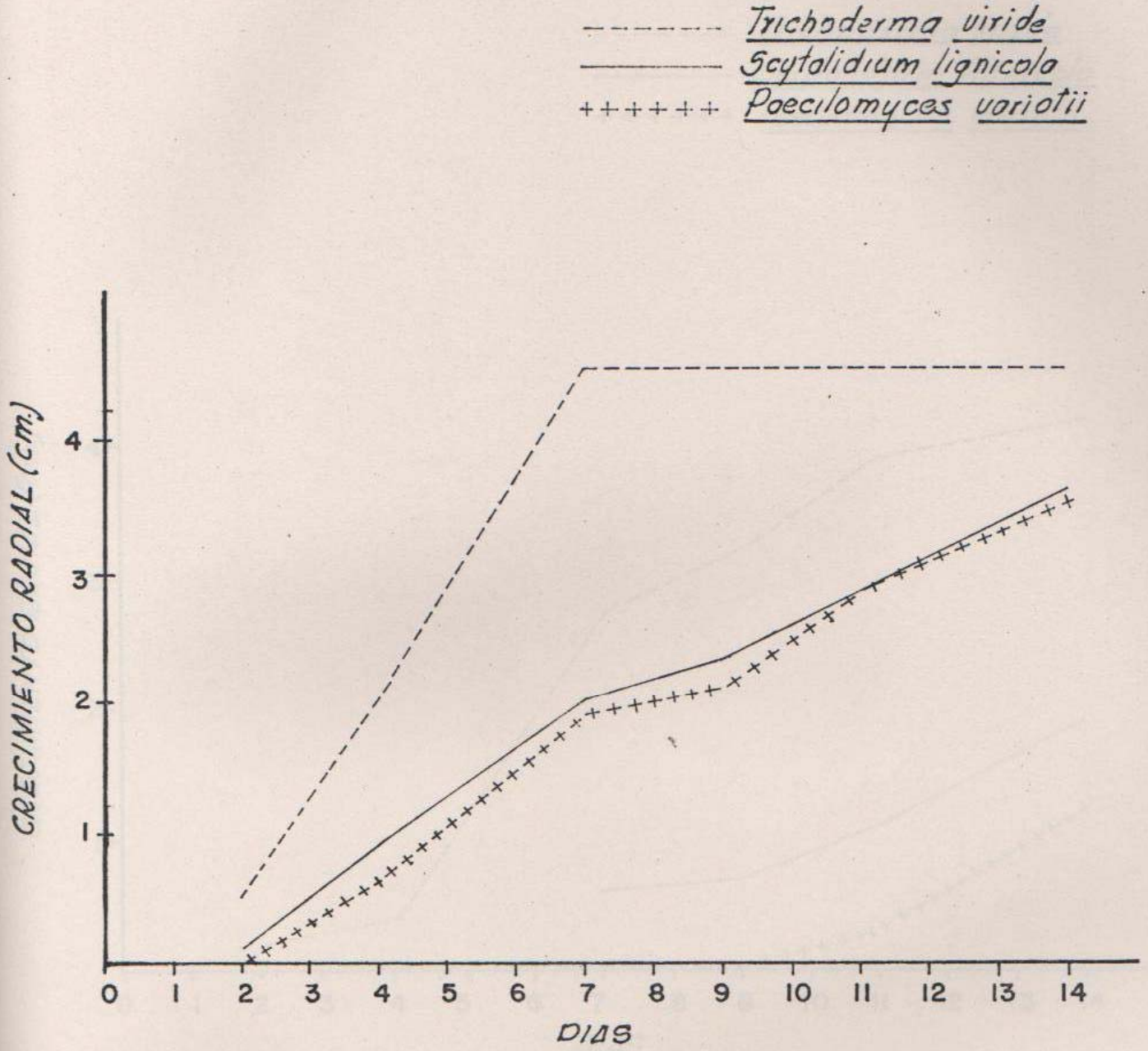


FIG. #12: CRECIMIENTO RADIAL DE *T. viride*, *P. variotii* Y *S. lignicola* EN SALES DE SULFATO DE COBRE, DICROMATO DE SODIO Y ARSENITO, EN LA CONCENTRACION DE 0,005 ppm.

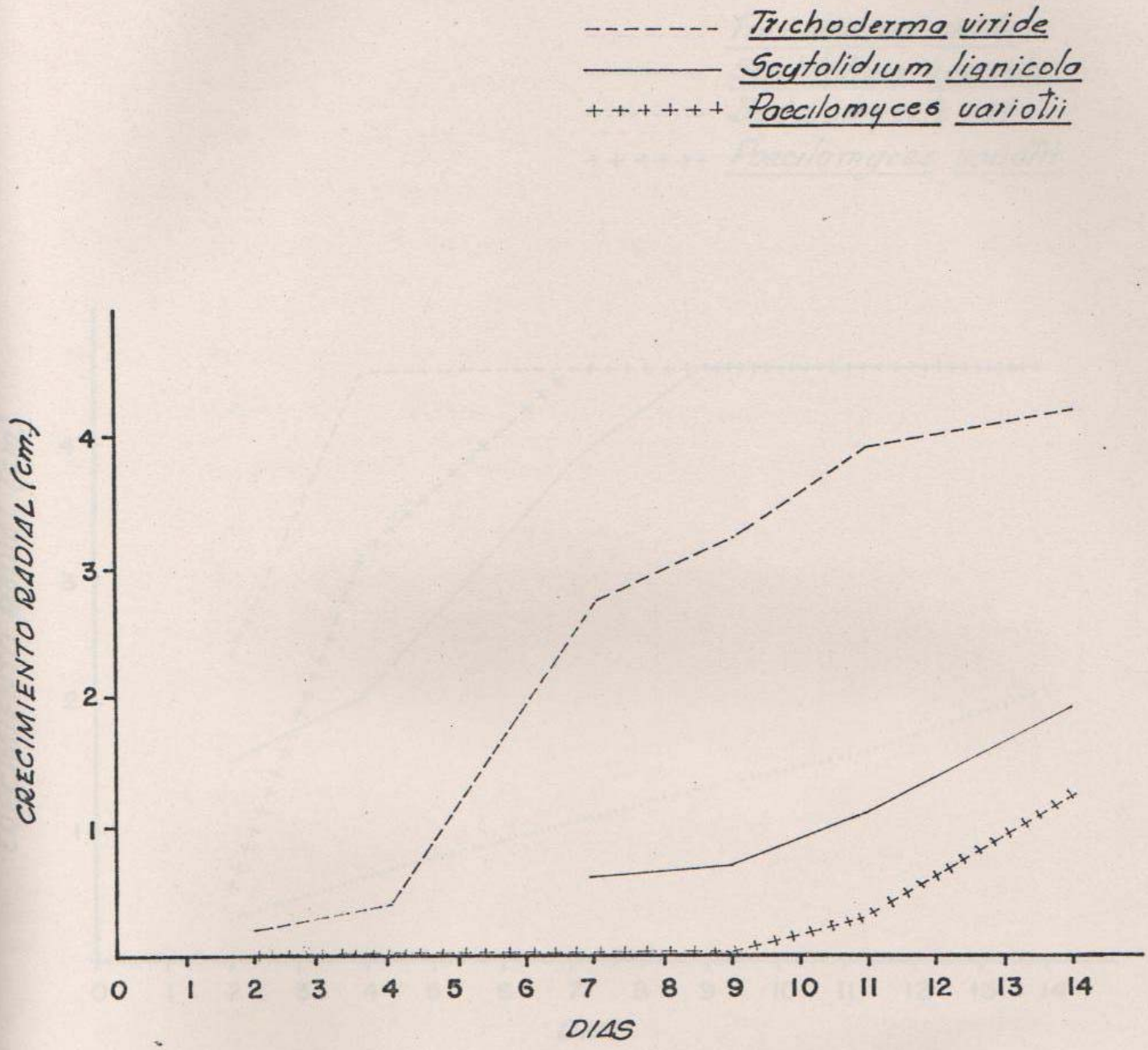


FIG #13: CRECIMIENTO RADIAL DE T. viride, P. variotii, S. lignicola, EN SALES DE SULFATO DE COBRE, DICROMATO DE SODIO Y ARSENITO, EN LA CONCENTRACION DE 0,01 ppm.

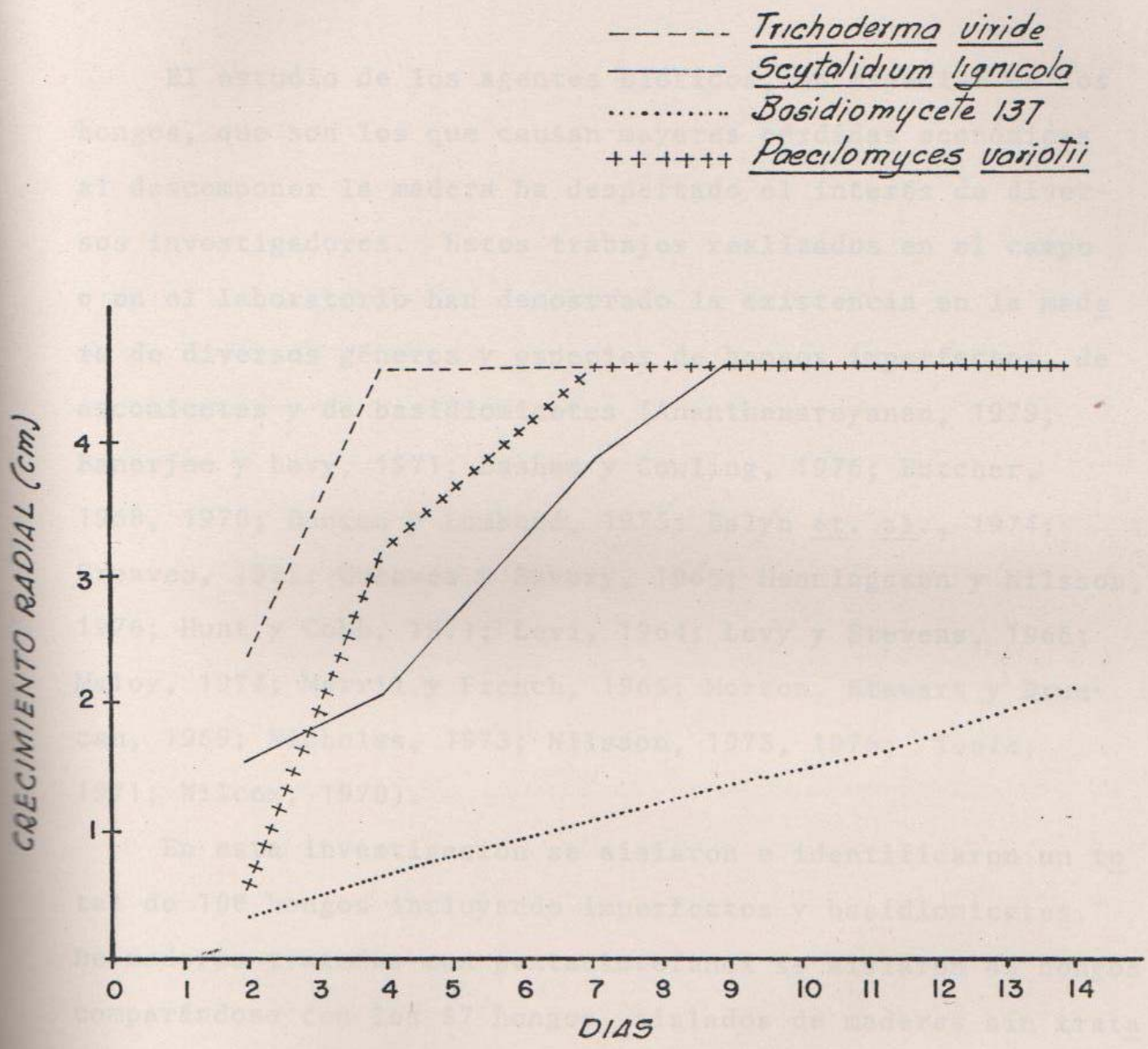


FIG # 14: CRECIMIENTO RADIAL DE *T. viride*, *P. variotii*, *S. lignicola* Y DEL Basidiomycete 137 EN LOS MEDIOS USADOS COMO TESTIGOS.

DISCUSION

El estudio de los agentes bióticos, en especial de los hongos, que son los que causan mayores pérdidas económicas al descomponer la madera ha despertado el interés de diversos investigadores. Estos trabajos realizados en el campo o en el laboratorio han demostrado la existencia en la madera de diversos géneros y especies de hongos imperfectos, de ascomicetes y de basidiomicetes (Ananthanarayanan, 1979; Banerjee y Levy, 1971; Basham y Cowling, 1976; Butcher, 1968, 1970; Duncan y Lombard, 1975; Eslyn et. al., 1974; Greaves, 1972; Greaves y Savory, 1965; Henningsson y Nilsson, 1976; Hunt y Cobb, 1971; Levi, 1964; Levy y Stevens, 1966; Maloy, 1974; Merril y French, 1965; Morton, Stewart y Bruncan, 1969; Nicholas, 1973; Nilsson, 1973, 1976; Toole, 1971; Wilcox, 1970).

En esta investigación se aislaron e identificaron un total de 100 hongos incluyendo imperfectos y basidiomicetes. De maderas tratadas con pentaclorofenol se aislaron 43 hongos comparándose con los 57 hongos aislados de maderas sin tratamiento.

Los hongos que se aislaron con mayor frecuencia fueron hongos imperfectos, los cuales han sido considerados como los invasores primarios de maderas tratadas con preservantes o sin tratamiento que se encuentran en contacto con el suelo (Banerjee

y Levy, 1971; Butcher, 1968; Greaves, 1972). Tanto Trichoderma viride como Paecilomyces variotii son hongos que se encuentran comúnmente en el suelo (Griffin, 1972; Merril y French, 1965). La mayoría de estos primeros invasores no atacan la estructura de la madera pero sí obtienen nutrientes principalmente de los contenidos celulares (Banerjee y Levy, 1971; Greaves, 1972; Shigo, 1967); esto se pudo comprobar claramente al observar las bajas pérdidas de peso que se obtuvieron en las maderas utilizadas en este ensayo, especialmente en el caso de Scytalidium lignicola y Paecilomyces variotii; aunque algunos autores han considerado a estos dos hongos como causantes de podredumbre suave no se puede llegar a esta conclusión por los resultados obtenidos en este trabajo, ya que los porcentajes de pérdida de peso obtenidos para ambos hongos son menores de un 60%, además no se observaron cavidades en las paredes (Nilsson, 1973; Savory, 1954); sólo se observó una leve erosión en el caso de Paecilomyces variotii. En el caso de Scytalidium lignicola puede considerarse la pérdida de peso como un estado incipiente de podredumbre debido a la poca resistencia de la madera. Sin embargo, en las maderas inoculadas con Trichoderma viride, sí se presentó un valor muy próximo al 60% de pérdida de peso, por lo cual podría considerarse este hongo como causante de podredumbre suave, viéndose favorecido dicho ataque posiblemente por la poca resistencia que presentaba la madera utilizada en este ensayo (Bombacopsis sessilis), notándose

una fuerte erosión en las paredes principalmente de los vasos.

La infección de estas muestras de madera se vio favorecida por la presencia de abundantes micro y macro - rajaduras, principalmente en la parte superior y a nivel del suelo, ocasionadas por cortes de machete posiblemente hechos cuando se limpiaba el terreno, o por raíces de plantas superiores; estas rajaduras son posibles vías de invasión para toda clase de hongos (Ananthanarayanan, 1979; Pizano, 1952; Wilcox, 1970).

Las maderas tratadas con pentaclorofenol, mostraban superficialmente una coloración verduzca debido a la presencia del preservante, coloración que en algunos casos fue posible observarla internamente, lo cual indicó una buena retención del preservante durante el tiempo que estuvieron expuestas estas maderas al efecto de agentes bióticos y abióticos, el cual osciló entre 10 y 12 años. Los hongos aislados de estas muestras principalmente Scytalidium lignicola y Trichoderma viride mostraron tolerancia a concentraciones altas de pentaclorofenol, lo que explica la gran incidencia de estos hongos, tanto en la parte externa como media de las muestras. Es interesante notar que estos mismos hongos se presentaron en gran abundancia en las maderas no tratadas; de donde se aisló un número mayor de hongos; entre ellos Paecilomyces variotii y el Basidiomicete 137 que en las pruebas de tolerancia al preservante mostraron poca o baja tolerancia.

La presencia de cuerpos fructíferos tanto de basidiomicetes o de ascomicetes en la madera es un signo seguro de podredumbre, como se pudo comprobar al tratar de obtener algunas muestras, ya que se presentó poca resistencia a la entrada del taladrador, aislándose de una de ellas el basidiomicete 137. De la madera (131 W1.1) donde se observó el cuerpo fructífero de Trametes corrugata, no se pudo obtener micelio puro debido al rápido crecimiento de los hongos imperfectos; además que pueden ejercer una influencia antagónica contra basidiomicetes (Ananthanarayanan, 1979; Lundborg y Unestann, 1980; Morton y Eggins, 1976; Ricard y Bollen, 1969; Ricard, Wilson y Bollen, 1969; Salinas, 1974; Toole, 1971), esto hace pensar en un posible control biológico, como lo han sugerido varios autores, utilizando los hongos imperfectos para inhibir el crecimiento de los basidiomicetes, ya que estos remueven algunos carbohidratos de la madera, necesarios para la rápida colonización e inicio de la podredumbre por hongos destructores de la madera, o en algunos casos involucra la producción de antibióticos (Lundborg y Unestann, 1980; Ricard, 1975; Ricard y Bollen, 1976; Ricard, Wilson y Bollen, 1969; Salinas, 1974; Toole, 1971). Al utilizar esta técnica se evita el uso de preservante tan tóxico para el ambiente.

El número de hongos aislados de maderas resistentes sin tratamiento y de maderas no resistentes con tratamiento fue semejante, indicando esto la efectividad del preservante en impedir una mayor colonización de hongos a las maderas no re-

sistentes. Los hongos basidiomicetes fueron observados en maderas no tratadas. En las pruebas de tolerancia a los preservantes se pudo observar una tolerancia mayor en los hongos imperfectos y una menor en los basidiomicetes, lo que puede explicar la no presencia de basidiomicetes en maderas tratadas. El hecho de ser los hongos imperfectos más tolerantes a los preservantes y en general a sustancias tóxicas presentes en las maderas, hace pensar en una posible sucesión, en la cual los hongos imperfectos desintoxican el sustrato permitiendo la entrada de los hongos basidiomicetes (Banerjee y Levy, 1971; Butcher, 1968; Greaves, 1972; Morton y Eggins, 1976; Shigo, 1967; Tichy, 1975).

CONCLUSIONES

La flora fúngica presente en la madera es más restringida que la del suelo, como se pudo comprobar en este estudio al aislar solo 9 géneros de hongos diferentes.

La alta humedad presente en el suelo y la presencia de micro y macrorajaduras en la madera, favorecieron la colonización fúngica, siendo ésta menor en las maderas tratadas con pentaclorofenol comparada con la de maderas sin tratamiento, comprobándose la efectividad protectora del preservante.

Sin embargo, se notó que altas concentraciones de sales como sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos, pueden inhibir un mayor número de hongos, por lo que puede sugerirse el uso de dicho preservante en maderas poco resistentes para prolongar el tiempo de servicio.

Una alternativa al uso de preservantes tóxicos para el ambiente y el hombre, es el uso de control biológico por medio de hongos imperfectos, que inhiban el crecimiento de basidiomicetes.

RESUMEN

En el presente trabajo se trató de aislar e identificar los hongos presentes en maderas tratadas con pentaclorofenol y compararlos con los obtenidos de maderas no tratadas con preservantes.

Se obtuvieron 100 aislamientos de hongos distribuidos en 7 y 9 géneros diferentes, de maderas tratadas y no tratadas con pentaclorofenol respectivamente.

Se pudo comprobar que la mayoría de ellos no afectaron la estructura de la madera, pero que podían actuar como primeros colonizadores y alterar el sustrato para la entrada de hongos destructores de la madera.

LITERATURA CITADA

American National Standard.
1978 Standard Method of: Accelerated Laboratory Test of Natural Decay Resistence of Wood. ANSI/ASTM D 2017-71

Ananthanarayanan, S.
1979 Timber Deterioration and Its prevention. Revue de Mycologie. 43(2): 131-139

Banerjee, A.K., and Levy, J.F.
1971 Fungal Succession in Wooden Fence posts. Mat. und Org. 6(1): 1-25.

Barnett, H.L., and Hunter, B.B.
1972 Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Third Edition. Minnesota: Burgess Publishing Co. 241 p

Basham, H.G. and Cowling, E.B.
1976 Distribution of essential Elements in Forest Trees and Their Role in Wood Deterioration. Beihefte Mat, und Org. 3: 155-165.

Becker, G.
s.f. Sobre termitas en América Central y del Sur. Hojas mimeografiadas. Laboratorio de Maderas, U. de C.R. 2 p.

Bravery, A.F.
1968 Determining the Tolerance of Soft-Rot Fungi to Wood Preservatives. A comparison of tests methods. Mat. und Org. 3: 213-227.

Butcher, J.A.
1968 The Ecology of Fungi Infecting Untreated Sapwood of Pinus radiata. Canad. J. Bot. 46(12): 1577-1589.

Butcher, J.A.
1970 Techniques for the Analysis of Fungal Floras in Wood. Mat. und Org. 6: 209-232.

Carranza, J.
1979 Fungi Associated with Creosoted pine Utility Poles in New York. Master Thesis. State University of New York. College of Environmental Science and Forestry. Syracuse, New York. 84 p.

Centro de Desarrollo (CENDES).
1969 Madera Preservada. Ecuador, Publicaciones del CENDES. pp: 1-21.

Christensen, C.M., Kaufert, F.H., Schmitz, H. and Allison, J.L.
1942 Hormodendrum resinae (Lindau) an inhabitant of wood impregnated with creosote and coal tar. American Journal of Botany 29: 552-558.

Duncan, C., and Lombard, F.
1975 Fungi Associated with Principal Decays in Wood Products in the U.S. U.S. For. Serv. Res. Paper Wo-4 D.A. pp: 1-31

Dwyer, G. and Levy, J.F.
1976 The Colonization of Wood by Microorganisms: An Objective Approach. Beihefte Zu Mat. und Org. 3: 13-20

Eckstein, D. y Liese, W.
1970 Investigations on the Mutual Influence of some Soft Rot Fungi on Artificial Media. Mat. und Org. 5 (2): 81-93.

Ellis, M.B.
1971 Dematiaceous Hyphomycetes. Common Wealth Mycological Institute, Kew, Fngland. 608 pp.

Eslyn, W.E., Kirk, T.K. and Effland, M.J.
1974 Changes in the Chemical Composition of Wood Caused by Sis Soft-Rot Fungi. Phytopathology 65: 473-476.

Forest
1967 Products Laboratory. Factors influencing decay of untreated wood. U.S. Forest Service Res. Note FPL. 0154. 3 p.

González, G. et al.
1974 Evaluación de la durabilidad natural de ciento trece especies maderables de Panamá y comparación de esas mismas especies sometidas a un tratamiento preservador. Laboratorio de Productos Forestales, Universidad de Costa Rica. pp: 1-11.

Greaves, H.
1971 Biodeterioration of Tropical Hardwood Chips in Outdoor Storage. Tappi 54 (7): 1128-1133.

Greaves, H.
1972 Influence of a mixed microbial population on basidiomycetes decay. Mat. und Organismen 7(1): 11-25

Greaves, H.
1972 Microbial ecology of untreated and cooper-chrome-arsenic treated stakes exposed in a tropical soil. 1. The initial invaders. Canadian Journal of Microbiology 18: 1923-1931.

Greaves, H., and Savory, J. G.
1965 Studies of the microfungi attacking preservative-treated timber, with particular reference to methods for their isolation. J. Inst. Wood Science 15: 45-50.

Griffin, D.M.
1972 Ecology of soil fungi. Syracuse University Press. 193 p.p.

Henningsson, B., and Nilsson, T.
1976 Some aspects on microflora and the descomposition of preservative-treated wood in ground contact. Beihefte zu material und Organismen 3: 307-318.

Hunt, R. S., and Cobb, F.W.
1971 Selective medium for the isolation of wood-rotting basidiomycetes. Canadian Journal of Botany 49: 2064-2065

Hunt, G., and Garratt, H.
1953 Wood Preservation. Second edition. New York, Mc Graw Hill Book Company. p.p. 72-126

Intercambio de ideas y métodos.
1962 Prolongación de la vida de la madera en casas de habitación. Segunda edición. México, Centro Regional de Ayuda Técnica p.p.: 6-10.

Kaufert, F., & Schmitz, H.
1937 The effect of arsenic, zinc and copper on the rate of decay wood by certain wood- destroying fungi. Phytopathology 27: 781-787.

Levi, M.P.
1964 The fungal degradation of wood. J. Inst. Wood Science 12: 56-66.

Levi, M.P.
1976 The effects of microorg on chromated-Copper-arsenate preservatives in wood. Beihefte zu material und Organismen 3: 297-306.

Levy, J.F., and Stevens, M.G.
1966 The inititation of attack by soft-rot fungi in wood. J. Inst. Wood Science 16: 49-55.

Liese, W.
1970 "Ultrastructural aspects of woody tissue desintegration". Ann. Rev. Phytopathology 8: 231-258.

Line, M.A.
1977 Microorganisms tolerant to creosote in Creosote treated soil. Biodeterior. Bull (ISSN 0020-6164). 13(4): 102-107.

Lundborg, A., & Unestann, T.
1980 Antagonism against Fomes annosus, comparison between different test methods in vitro and in vivo. Mycopathology 70(2): 107-115.

Maloy, O.C.
1974 Benomyl -malt-agar for the purification of cultives of wood decay fungi. Plant Disease Reporter 58 (10) 902-904

Merril, W., and French, W.
1965 Colonization of wood by soil fungi. Phytopathology 53: 301-303.

Morton, H.L.G., and Eggins, H.O.W.
1976 Studies of interactions between wood-inhabiting microfungi. Mat. und Org. 11(3): 197-214.

Morton, H.L., Stewart, J.L., and Brumeau, G.P.
1969 Isolation of microorganisms from preservative treated wood. forest Prod. J. 19(1): 38-41

Nicholas, D.D.
1973 Wood deterioration and its prevention by preservative treatments. Vol I. Degradation and protection of Wood. Vol II. Preservatives & Preservative Systems. Syracuse University Press. 380 p.

Nilsson, T.
1973 Studies on wood degradation and cellulolytic activity of microfungi. Studia Forestalia Suecia. Nr 104. Sweden. 40 p.

Nilsson T.
1976 Soft-Rot Fungi-Decay Patterns and Enzyme Production. Beihefte Mat. und Org 3: 103-112.

Panshin, A. J. and de Zeeuw
1970 Textbook of Wood Technology. Third Edition. New York, Mac Graw-Hill Book Co. 705 p.

Pizano, J. F.
1952 Impregnación de Maderas. México, D. F., Banco de México. pp. 7-11, 16, 35, 36.

Ricard, J. L.
1975 Biological control of decay in standing creosote-treated poles. J. Inst. Wood Science 7 (4): 6-9.

Ricard, J. L., and Bollen, W. B.
1968 Inhibition of Poria carbonica by Scytalidium sp, an imperfect fungus isolated from Douglas-fir poles. Can. J. Bot. 46: 643-647.

Ricard, J. L., Wilson, M. M. and Bollen, W. B.
1969 Biological control of decay in Douglas-fir poles. For. Prod. J. 19(8): 41-45.

Rodríguez, J. A.
1976 Insectos Xilófagos: xilófagos marinos. En: tratamiento y conservación de la madera. España. 200 p.

Rossel, S. E., Abbot, E., and Levy, J. F.
1971 Bacteria and Wood. London, England, Imperial College of Science and Technology. pp: 28-35.

Salinas, R.
1974 Un problema de mohos en madera para empaques. México Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. pp: 11-17.

Savory, J. G.
1954 Damage lo wood caused by microorganism. J. Appl. Bacterial. 17: 213-218.

Scheffer, T. C. y A. F. Verrall.
1979 Principles for protecting wood Buildings from Decay. ISDA Forest Service Res. Paper FPL 190. 56 p.

Scheffer, T. C. y W. E. Eslyn.
Effect of Heat on the Decay Resistance of Wood. Forest Prod. Journal. pp. 485-490.

Schmidt, V. O., and Liese, W.
1976 The reaction of some bacteria to preservative. Beihefte zu material und Organismen. No. 3: 197-209.

Shigo, A. L.
1967 Successions of organisms in discoloration and decay of wood. Int. Rev. Forest Res. 2: 237-299.

Stranks, D. W.
1976 Wood preservatives: Their depletion as fungicides and fate in the environment. Canadian Forestry Service. Report 10. pp: 1-35.

Stranks, D. W. and Hulme, M.
1976 The mechanisms of degradation of wood preservatives. Beihefte zu material und Organismen. 3: 345-350.

Taschdjian, C. L.
1954 Simplified Technique for Growing Fungi in Slide Culture. Mycologia 46: 681-683.

Tichy, V.
1975 An experimental study of fungus succession in wood. Ceská Mykologie 29(2): 90-36.

Toole, E. R.
1971 Interaction of mold and decay fungi on wood in Laboratory tests. Phytopathology 61: 124-125.

Wangaard, F.
1966 Resistance of Wood to chemical Degradation. Forest Products Journal 16(2): 53-64.

Wilcox, W. W.
1970 Anatomical changes in wood cell walls attacked by fungi and bacteria. The Botanical Review 36(1): 1-28.

Young, G.
1961 Cooper tolerance of some wood-rotting fungi. For. Prod. Lab. Rep. 2223.

APENDICE

Cuadro No. 1: Promedio de crecimiento radial (en cm), de *Trichoderma viride*, a diferentes concentraciones de pentaclorofenol, durante dos semanas de exposición al preservante

Concentración de pentaclorofenol (ppm)	Días					
	2	4	7	9	11	14
0,005	1,3	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
0,01	1,4	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
0,05	0,6	1,4	2,3	2,6	3,4	3,7
0,1	0,3	1,2	1,4	1,5	2,0	2,3
0,2	Leve crecimiento	0,7	0,8	0,9	1,1	1,3
Testigos	2,3	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5

Cuadro No. 2: Promedio de crecimiento radial (en cm), de *Paecilomyces variotii*, a diferentes concentraciones de pentaclorofenol, durante dos semanas de exposición al preservante

Concentración de pentaclorofenol (ppm)	Días					
	2	4	7	9	11	14
0,005	0,4	0,8	1,0	1,2	1,5	2,0
0,01	0,4	1,1	1,2	1,3	1,7	2,0
0,05	Leve crec.	Leve crec.	Leve crec.	Leve crec.	0,3	0,5
0,1	No crec.	No crec.	Leve crec.	Leve crec.	Leve crec.	Leve crec.
0,2	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.
Testigos	0,5	3,1	4,5	4,5	4,5	4,5

Cuadro No. 3: Promedio de crecimiento radial (en cm), de *Scytalidium lignicola*, a diferentes concentraciones de pentaclorofenol, durante dos semanas de exposición al preservante

Concentración de pentaclorofenol (ppm)	Días					
	2	4	7	9	11	14
0,005	0,5	1,5	3,2	3,8	4,5	4,5
0,01	1,6	1,8	4,1	4,5	4,5	4,5
0,05	0,8	1,0	2,1	3,0	4,5	4,5
0,1	0,7	0,9	1,5	2,0	2,7	3,0
0,2	0,5	0,6	0,7	0,9	1,1	1,5
Testigos	1,5	2,0	3,8	4,5	4,5	4,5

Cuadro No. 4: Promedio de crecimiento radial (en cm), del Basidiomycete 137, a diferentes concentraciones de pentaclorofenol, durante dos semanas de exposición al preservante

Concentración de pentaclorofenol (ppm)	Días					
	2	4	7	9	11	14
0,005	0,3	0,8	1,5	1,6	1,9	2,3
0,01	0,4	0,8	1,3	1,5	1,8	2,0
0,05	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.
0,1	"	"	"	"	"	"
0,2	"	"	"	"	"	"
Testigos	0,3	0,6	1,0	1,3	1,5	2,0

Cuadro No. 5: Promedio de crecimiento radial (en cm), de *Trichoderma viride*, a diferentes concentraciones de sales de sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos; durante dos semanas de exposición

Concentración de sales (ppm)	Días					
	2	4	7	9	11	14
0,005	0,5	2,0	4,5	4,5	4,5	4,5
0,01	0,2	0,4	2,8	3,2	3,9	4,2
0,05	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.
0,1	"	"	"	"	"	"
0,2	"	"	"	"	"	"
Testigos	1,6	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5

Cuadro No. 6: Promedio de crecimiento radial (en cm), de *Paecilomyces variotii*, a diferentes concentraciones de sales de sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos; durante dos semanas de exposición

Concentración de sales (ppm)	2	4	7	9	11	14
0,005	Inicio de crec.	0,6	1,9	2,1	2,8	3,5
0,01	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.	Inicio de crec.	1,2
0,05	"	"	"	"	No crec.	No crec.
0,1	"	"	"	"	"	"
0,2	"	"	"	"	"	"
Testigos	0,2	0,5	1,7	1,9	2,1	2,5

Cuadro No. 7: Promedio de crecimiento radial (en cm), de *Scytalidium lignicola*, a diferentes concentraciones de sales de sulfato de cobre, dicromato de sodio y arseniatos; durante dos semanas de exposición

Concentración de sales (ppm)	Días					
	2	4	7	9	11	14
0,005	0,1	0,9	2,0	2,3	2,8	3,6
0,01	No crec.	No crec.	0,6	0,7	1,1	1,9
0,05	"	"	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.
0,1	"	"	"	"	"	"
0,2	"	"	"	"	"	"
Testigos	1,0	1,7	2,5	3,0	4,5	4,5

Cuadro No. 8: Promedio de crecimiento radial (en cm), del Basidiomycete 137, a diferentes concentraciones de sales de sulfato de cobre, de dicromato de sodio y arseniatos; durante dos semanas de exposición

Concentración de sales (ppm)	Días					
	2	4	7	9	11	14
0,005	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.	No crec.
0,01	"	"	"	"	"	"
0,05	"	"	"	"	"	"
0,1	"	"	"	"	"	"
0,2	"	"	"	"	"	"
Testigos	"	0,1	1,0	1,1	1,5	2,2

Cuadro No. 9: % de pérdida de peso en maderas sanas de Pouteria sp (Níspero chicle), después de estar 4 meses en contacto con el Basidiomycete 137

# de tuco	Peso inicial (g)	Peso final (g)	% de pérdida de peso (g)
1 *	6,02	5,74	4,65
2 *	6,05	5,51	8,93
3 *	6,05	5,59	7,60
4 *	6,04	5,53	8,44
5 *	6,03	5,66	6,13
6 *	6,07	5,60	7,74
7 *	6,10	5,72	6,23
8 *	6,02	5,66	5,98
9 *	5,99	5,41	9,68
10 *	6,10	5,57	8,69
11	6,10	5,58	8,52
12	6,08	5,51	9,37
13	6,05	5,49	9,26
14	6,17	5,69	7,78
15	6,13	5,62	8,32
16	6,12	5,49	10,29
17	6,15	5,61	8,78
18 Testigo	6,17	5,70	7,62
19 Testigo	6,06	5,47	9,74

* Muestra aleatoria para aplicar prueba de t de Student

Cuadro No. 10: % de pérdida de peso en maderas sanas de Tetragastris sp (ciruelo), después de estar 4 meses en contacto con Paecilomyces variotii

# de tuco	Peso inicial (g)	Peso final (g)	% de pérdida de peso (g)
40 *	4,96	4,56	8,06
41 *	4,87	4,61	5,34
42 *	4,95	4,66	5,86
43 *	4,93	4,66	5,48
44 *	4,96	4,61	7,06
45 *	4,98	4,69	5,82
46 *	4,97	4,64	6,64
47 *	5,01	4,54	9,38
48 *	5,00	4,44	11,20
49 *	5,01	4,56	8,98
50	5,02	4,54	9,56
51	5,02	4,67	6,97
52	4,90	4,20	14,28
53	4,97	4,65	6,44
54	4,95	4,64	6,26
55	4,95	4,64	6,26
56	4,84	4,57	5,58
57	4,85	4,51	7,01
58 Testigo	4,86	4,68	3,70
59 Testigo	4,91	4,68	4,68

* Muestra aleatoria para aplicar prueba de t de Student.

Cuadro No. 11: % de pérdida de peso en maderas sanas de *Bombacopsis sessilis* (pochote y/o ceibo), después de estar 4 meses en contacto con *Trichoderma viride*

# de tuco	Peso inicial (g)	Peso final (g)	% de pérdida de peso (g)
60 *	1,16	1,00	13,80
61 *	1,13	0,85	24,77
62 *	1,12	0,95	15,18
63 *	1,11	1,01	9,00
64 *	1,22	0,82	32,78
65 *	1,21	1,08	10,74
66 *	1,13	0,76	32,74
67 *	1,12	0,87	22,32
68 *	1,15	0,84	27,00
69 Testigo	1,12	1,03	8,03
70 Testigo	1,12	1,04	7,14
71 *	1,20	0,91	24,16
72	1,13	0,87	23,00
73	1,12	0,97	13,40
74	1,12	0,87	22,32
75	1,17	0,83	29,05
76	1,17	0,79	32,47
77	1,17	0,87	25,64
78	1,14	0,53	53,50

* Muestra aleatoria para aplicar prueba de t de Student.

Cuadro No. 12: % de pérdida de peso en maderas sanas de *Bombacopsis sessilis* (Pochote), después de estar 4 meses en contacto con *Scytalidium lignicola*

# de tuco	Peso inicial (g)	Peso final (g)	% de pérdida de peso (g)
80 *	2,94	2,66	9,52
81 *	2,94	2,62	10,88
82 *	2,99	2,66	11,03
83 *	2,99	2,66	11,03
84 *	2,99	2,66	11,03
85 *	2,98	2,64	11,40
86 *	2,91	2,65	8,93
87 *	2,92	2,65	9,24
88 *	2,82	2,57	8,87
89 *	2,91	2,66	8,59
90	2,95	2,68	9,15
91 Testigo	2,95	2,71	8,13
92	2,94	2,66	9,52
93	2,90	2,63	9,31
94	2,90	2,60	10,34
95	2,90	2,63	9,31
96	2,85	2,61	8,42
97 Testigo	2,90	2,67	7,83
98	2,91	2,64	9,28

* Muestra aleatoria para aplicar prueba de t de Student