



Naturalis

Repositorio Institucional
<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo



Identificación y efectos de los hongos xilófagos sobre las características estructurales y químicas del leño de especies forestales

Murace, Mónica Adriana

Doctora en Ciencias Naturales

Dirección: Perelló, Analía

Co-dirección: Luna, María Luján

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
2019

Acceso en:

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20200310001707>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



Naturalis

Repositorio Institucional
FCNyM - UNLP



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

**Identificación y efectos de los hongos xilófagos sobre
las características estructurales y químicas del leño de
especies forestales**

Tesis presentada para optar al título de Doctor en Ciencias Naturales de la
Facultad de Ciencias Naturales y Museo Universidad Nacional de La Plata

Mónica Adriana Murace

DIRECTORES: Dra. Analía Perelló FCyF UNLP - Dra. María Luján Luna FCNyM UNLP

LA PLATA OCTUBRE 2019

AGRADECIMIENTOS

A mi hija Sofía.

A mis padres y hermanos.

A mis directoras, Luján y Analía, por su ayuda, por acompañarme en este gran desafío, por su aliento constante, por confiar en mí.

A los Doctores Pedro Balatti, Gerardo Robledo, Gustavo Lucentini y muy especialmente a Mario Saparrat y Marcelo Hernández por su gran apoyo.

A mis amigas de siempre.

A mis compañeros del Curso Protección Forestal (Alberto, Naty, Toty, Raúl, Fabio).

A los evaluadores del manuscrito por sus enriquecedoras sugerencias, Dr. Mario Rajchenberg, Dra. Silvia Monteoliva y Dra. Lorena Eládes.

A la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), en particular a los docentes y no docentes del Laboratorio de Análisis Químico (Patricia y Marta), a Gabriela y a los docentes investigadores pertenecientes al LIMAD (Ruso, Ele, Meche, Carla, Chispa, Laura).

Al Posgrado de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP).

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCION.....	5
Generalidades.....	5
ANTECEDENTES Y FUNDAMENTACION DEL ESTUDIO	7
HIPOTESIS	10
OBJETIVO GENERAL.....	10
OBJETIVOS PARTICULARES.....	11
CAPITULO I	12
HONGOS XILOFAGOS.....	12
INTRODUCCION	12
Generalidades.....	12
Aspectos ecológicos.....	15
1. - Ciclo de vida	15
2. -Estrategias de colonización del sustrato	16
3. - Grupos funcionales	20
Características de importancia para la identificación de los hongos xilófagos.....	22
1. - Aspectos morfológicos de la fructificación	22
1.1 Nivel macroscópico	22
1.2 Nivel microscópico	27
2. - Características culturales.....	29
MATERIALES Y METODOS	33
Sitio de muestreo	33
Material de estudio.....	33
1. - Obtención de cultivos puros; consideraciones para su identificación	36

2. - Identificación de las cepas xilófagas a partir de las características de la fructificación.....	38
3. - Identificación a partir de estudios moleculares	38
4. - Conservación de cultivos y basidiocarpos	39
RESULTADOS	40
Hongos de pudrición blanca. Características culturales y de la fructificación	43
Hongo de pudrición castaña. Características culturales y de la fructificación	68
DISCUSION	73
CONCLUSIONES.....	82
CAPITULO II	83
MODIFICACIONES ANATOMICAS CAUSADAS POR LOS HONGOS XILOFAGOS	83
LA MADERA COMO SUSTRATO DE COLONIZACION FUNGICA.....	83
Elementos constituyentes del leño de Coníferas y Latifoliadas como vías de colonización.....	83
Pared celular: Estructura y ultraestructura de la pared de las células del leño	84
Colonización fúngica.....	86
Barreras a la colonización fúngica.....	89
TIPOS DE PUDRICIONES CAUSADAS POR LOS HONGOS XILOFAGOS.....	92
Pudriciones blancas	92
Pudriciones castañas	95
Pudriciones blandas.....	96
Alteraciones estructurales que causan los hongos xilófagos en maderas naturalmente infectadas: Antecedentes a la fecha.....	97
MATERIALES Y METODOS	99
Muestras de madera.....	99
Estudios anatómicos.....	101

RESULTADOS Y DISCUSION	103
Descripción anatómica de las maderas sanas (testigo).....	103
Alteraciones anatómicas en las maderas atacadas	117
1.- Pudriciones blancas	118
CONCLUSIONES.....	205
2.- Pudriciones castañas	206
CONCLUSIONES.....	253
CAPITULO III.....	255
ALTERACIONES QUIMICAS CAUSADAS POR LOS HONGOS XILOFAGOS	255
LA MADERA COMO SUSTRATO DE DEGRADACION FUNGICA	255
Fracción polimérica de la pared celular. Generalidades.	255
Degradación del complejo lignocelulósico del leño. Alteraciones químicas como elementos de diagnóstico de las pudriciones blancas y castañas.	258
1.- Hongos responsables de pudrición blanca	258
2.- Hongos responsables de pudrición castaña	261
ANEXO A	265
ANEXO B	265
MATERIALES Y METODOS	267
Muestras de madera.....	267
Estudios químicos.....	267
1.- Normas TAPPI.....	267
1.1 Procesamiento del material.....	269
1.2 Determinación del contenido de humedad	269
1.3 Análisis químico	271
.....	274
2.- Espectroscopía Infrarroja Transformada de Fourier (FT-IR)	278
RESULTADOS	281
Análisis químico según Normas TAPPI	281

1.- Pudriciones blancas	281
2.- Pudriciones castañas	281
Espectroscopía Infrarroja Transformada de Fourier (FTIR)	283
1.- Pudriciones blancas	283
.....	286
2.- Pudriciones castañas	287
DISCUSION	289
CONCLUSIONES.....	295
CONCLUSIONES FINALES	297
BIBLIOGRAFIA	300
PUBLICACIONES	322

RESUMEN

Los hongos xilófagos son los principales organismos vinculados con la degradación del tejido leñoso, lo cual implica la alteración de la matriz lignocelulósica, mediada fundamentalmente por acción ectoenzimática. El ataque a la fracción polimérica de la pared conduce a la diferenciación de 2 tipos principales de pudriciones: blancas y castañas. Las pudriciones patogénicas (presentes en ejemplares en pie, vivos) pueden conducir a la muerte de los ejemplares afectados, provocan pérdidas en la calidad y cantidad de madera y ponen en riesgo la estabilidad de los ejemplares. En Argentina no se registran estudios que aborden de modo integral las pudriciones como enfermedades, vinculando las propiedades químico-anatómicas del hospedante con las estrategias de degradación por parte del patógeno. El objetivo general de este trabajo fue estudiar las interacciones hospedante - patógeno en árboles en pie con el propósito de contribuir al conocimiento de los procesos de degradación e interpretar su posible influencia en la alteración de las propiedades de resistencia de la madera. Se analizaron 19 interacciones (12 asociadas a pudrición blanca y 7 a pudrición castaña) en su mayoría provenientes de los espacios públicos de la ciudad de La Plata y alrededores. La identificación de los hongos xilófagos fue realizada a partir de los rasgos macro y microscópicos de los basidiomas, de características culturales y mediante la aplicación de técnicas moleculares. Los estudios anatómicos de maderas atacadas y testigos se efectuaron a ojo desnudo y con microscopios estereoscópico, óptico y electrónico de barrido, siguiendo técnicas convencionales. El análisis químico fue realizado según norma TAPPI y aplicando FTIR. Se identificaron 13 cepas xilófagas (12 causantes de pudrición blanca y una de pudrición castaña, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murr.), pudridoras del duramen de latifoliadas exóticas. La preponderancia de *L. sulphureus* sería consecuencia de la diferenciación de abundantes clamidosporas y conidios en las maderas atacadas, esto sumado a su condición de patógeno generalista y agresivo. A nivel anatómico, en las muestras con pudriciones blancas fueron observados los siguientes caracteres de diagnóstico: coloración blanquecina; consistencia esponjosa; separación celular; diferenciación de "white pockets" por completa delignificación; ataque a la celulosa residual; punteaduras erosionadas; senderos de erosión; adelgazamiento y deformación de las paredes celulares. En las muestras con pudrición castaña se visualizaron rasgos de diagnóstico como: fracturas; contracción del tejido; pérdida de birrefringencia (indicador de celulolisis). Los análisis

químicos en el material con pudrición blanca evidenciaron notables reducciones en los contenidos de holocelulosa y lignina; la degradación de la lignina por sobre los polisacáridos resultó indicador de pudrición blanca selectiva. En las muestras afectadas por pudrición castaña se determinó el ataque preferencial a los polisacáridos estructurales. Excepto para las interacciones *Cerrena unicolor* (Bull.) Murr. / arce y *Laetiporus sulphureus* / falsa acacia, los resultados obtenidos constituyen primeros aportes a nivel mundial en torno a las alteraciones químico-estructurales en maderas naturalmente infectadas y la interpretación de dichos cambios considerando aspectos vinculados con los hospedantes y las cepas fúngicas. Se menciona un nuevo hospedante para *Tyromices fissilis* (Berk. & Curtis) Donk (*Tilia* sp.) en la ciudad de La Plata; también se aporta una nueva evidencia respecto del posible rol patogénico de *Phlebia brevispora* Nakas. Nakas. & Eslyn, dándose a conocer por primera vez su presencia en nuestro país. Lo hallado en este estudio apoya la hipótesis en cuanto a que distintos hospedantes pueden ser afectados de modo diferente por la misma especie fúngica, de acuerdo a sus rasgos anatómicos particulares, a las diferencias en el potencial enzimático que pueda presentarse entre cepas fúngicas, y a las estrategias de colonización que éstas desarrollen. Los resultados obtenidos mediante este trabajo constituyen un aporte original en el ámbito de la sanidad forestal.

ABSTRACT

The wood decay fungi are the main organisms related with degradation of woody tissue, which involves the disruption of lignocellulosic matrix mainly mediated by ectoenzymatic action. The attack on the polymer fraction of the wall leads to the differentiation of 2 main types of decay: white and brown. Pathogenic rots may lead to death of individuals affected, cause losses in quality and quantity of wood and put at risk the stability of the specimens. In Argentina, no studies addressing integrally rots as disease linking chemical and anatomical properties of the host with degradation strategies by the pathogen. The main objective of this work was to study host-pathogen interactions in standing living trees, in order to contribute to the knowledge of the processes of colonization and degradation, and to interpret their possible influence on altering the strength properties of wood. Nineteen interactions were analysed (12 associated with white rot and 7 with brown rot) mainly found in urban trees of La Plata city and surroundings. Identification of wood decay fungi was performed from the macro and microscopic features of the basidiomata, cultural features and by applying molecular techniques. The anatomical studies of attacked and control woods were carried out with naked eye and with stereoscopic, light and scanning electron microscopes, following conventional techniques. The chemical analysis was carried out according to the TAPPI standard and FTIR. Thirteen xylophagous strains (12 causing white rot and one brown rot, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murr.) were identified, located in the heartwood zone of exotic hardwoods. The preponderance of *L. sulphureus* would be a consequence of the differentiation of abundant chlamydospores and conidia in the attacked woods and its condition as a general and aggressive pathogen. At anatomical level, in the samples with white rot were observed the following diagnostic characters: whitish coloration; spongy consistency; cell separation; differentiation of "white pockets" by complete delignification; attack on residual cellulose; eroded pits; erosion trails; thinning and deformation of cell walls. In the samples with brown rot, diagnostic features were visualized as: fractures; tissue contraction; loss of birefringence (as indicator of cellulolysis). The chemical analyzes in the material with white rot evidenced remarkable reductions in the contents of holocellulose and lignin; the degradation of lignin over polysaccharides was an indicator of selective white rot. In the samples affected by brown rot, the preferential attack to the structural polysaccharides was determined.

Except for the *Cerrena unicolor* (Bull.) Murr. / maple and *Laetiporus sulphureus* / black locust previously reported interactions, the results obtained constitute the first contributions worldwide regarding the chemical-structural alterations in naturally infected woods, as well as the interpretation of these changes, thus considering aspects related to the hosts and fungal strains. A new host is mentioned for *Tyromices fissilis* (Berk. & Curtis) Donk (*Tilia* sp.) in La Plata city; new evidence of the pathogenic role of *Phlebia brevispora* Nakas. Nakas. & Eslyn is also provided, making it known for the first time its presence in this country. The findings in this study support the hypothesis that different hosts can be affected in a different manner by the same fungal species, according to their particular anatomical features, as well as the differences in the enzymatic potential between fungal strains, and the colonization strategies that these strains develop. The results obtained through this work constitute an original contribution in the field of forest health.

INTRODUCCION

Generalidades

Los hongos xilófagos - particularmente Phylum Basidiomycota - son los principales organismos vinculados con la degradación del tejido leñoso de los ecosistemas naturales (Blanchette, 1995; Schwarze, 2004; Webster & Weber, 2007) como también de la madera en servicio (Highley, 1987; Zabel & Morrell, 1992; Highley et al., 1994).

El "status" de estos hongos se debe a su condición de eficientes colonizadores – determinada por su fase vegetativa micelial - y a su capacidad de causar degradación en sustratos complejos, como lo son las maderas, en la mayoría de los casos hasta su total mineralización producto de su gran capacidad ligninolítica. En este sentido, y en términos generales, la degradación fúngica del leño es definida como el proceso por el cual los carbohidratos de la pared celular y la lignina – matriz lignocelulósica - son convertidos en dióxido de carbono (CO₂) y agua (H₂O), permitiendo el ciclo del carbono esencial para el sostén de la vida. De acuerdo con esto, el rol fundamental que cumplen estos organismos en el ciclo de nutrientes como también en el ámbito industrial - textil, papelería, alimenticio - y en procesos de detoxificación (Chaparro et al., 2009; Wymelenberg et al., 2011; Rytioja et al., 2014). Asimismo, en los árboles en pie, la degradación fúngica resulta beneficiosa desde el punto de vista nutricional y del resguardo de los insectos y animales silvestres (Schwarze, 2007).

En oposición a los beneficios ecológicos que aporta este tipo de biodegradación, en los árboles en pie vivos, dicho proceso es considerado una enfermedad – pudrición patogénica - y los hongos responsables patógenos y, como tal, existen evidencias - signos y/o síntomas- que permiten su diagnóstico - presencia de basidiomas y/o micelio, madera podrida expuesta, entre otros -. Las pudriciones patogénicas pueden conducir a la muerte de los ejemplares afectados, provocan pérdidas en la calidad y cantidad de madera como también ponen en riesgo la estabilidad de los ejemplares afectados; éstas los predisponen al quiebre y vuelco (Zabel & Morrell, 1992; Deflorio et al., 2008; Urcelay et al., 2012).

Rayner & Boddy (1988) y Deflorio (2006) consideran que, en los ejemplares vivos, la severidad de la degradación fúngica depende de numerosos factores. Estos autores se valen del concepto "triángulo de la enfermedad" de Agrios (2005) para

explicar que la severidad resulta de la interacción hospedante, patógeno y ambiente que se establezca y de las características de cada componente de dicha interacción. Los factores más importantes vinculados con el hospedante son la vitalidad y las propiedades químico-anatómicas de la madera. Los árboles difieren en sus características anatómicas, rasgos que influyen en el proceso de colonización y degradación (Schwarze et al., 1997; Schwarze et al., 2000a). En cuanto al patógeno, los condicionantes son el potencial de inóculo, el sistema de degradación y la tolerancia a situaciones extremas. Respecto del ambiente, los principales factores son las condiciones exógenas - humedad, temperatura del entorno - y las endógenas, que tienen que ver con las características del sustrato - contenido de humedad, tenor de oxígeno - (Rayner & Boddy, 1988; Deflorio, 2006; Wymelenberg et al., 2011). De acuerdo con esto, distintos hospedantes o tipos de madera pueden verse afectados de diferente modo por una misma especie xilófaga y viceversa, resultando en distintos patrones de degradación ¹ (Schwarze et al., 1997; 2000a; Schwarze, 2007).

Si bien de las distintas interacciones hospedante – patógeno posibles de presentarse en la naturaleza resultan diferentes patrones de degradación, éstos son agrupados en tres tipos principales de pudrición: pudriciones blancas, castañas y blandas, cada uno de ellos con rasgos químico - anatómicos que permiten su diagnóstico (Zabel & Morrell, 1992; Wilcox, 1993a; b; Blanchette, 1995; Anagnost, 1998; Schwarze et al., 2000a; Schwarze, 2007). No obstante, dicha clasificación es considerada demasiado rígida teniendo en cuenta la plasticidad que pueden manifestar distintos aislamientos fúngicos y, en este sentido, producir más de un tipo de pudrición en el mismo sustrato. Esto último, entendido como una estrategia de colonización alternativa que desarrolla el patógeno ante la presencia de algún tipo de barrera y por ello no implica, por ejemplo, modificaciones en su capacidad ligninolítica (Schwarze et al., 1997; Schwarze & Fink, 1997; 1998; Schwarze & Baum, 2000; Deflorio, 2006). Schwarze et al. (2000a) consideran a estas especies como basidiomicetes facultativos. De igual modo, cuestionando dicha rigidez, Riley et al. (2014) y Floudas et al. (2015) se refieren a la clásica organización de los hongos xilófagos en dos grupos principales: responsables de pudrición blanca y responsables de pudrición castaña. Tradicionalmente estos organismos son agrupados en base a los componentes de la pared celular que degradan, producto de la conformación de su sistema enzimático. De

¹ Considerados resultantes del sector del anillo y tipos celulares atacados, del avance de la degradación, entre otros.

acuerdo con esto, y a modo de generalidad, los hongos de pudrición blanca - asociados particularmente con las latifoliadas - degradan los polisacáridos de la pared celular - celulosa y hemicelulosas - mediante un sistema hidrolítico constituido por celulasas/hemicelulasas y la lignina mediante un sistema enzimático oxidativo constituido por peroxidasas y lacasas. Por su parte, los hongos de pudrición castaña - asociados a las gimnospermas - degradan los carbohidratos estructurales de la pared celular mediante un mecanismo enzimático – hidrolítico - y no enzimático – oxidativo - mientras que la lignina permanece como un residuo parcialmente modificado (Hori et al., 2013; Riley et al., 2014; Floudas et al., 2015). Según se indicó, hoy día, a partir del estudio de los genomas fúngicos, se considera que la dicotomía establecida no refleja la complejidad que ocurre en la naturaleza. Existen antecedentes respecto de la similitud entre especies de pudrición blanca y castaña en los genes que codifican la síntesis de enzimas responsables de la degradación de la pared celular, genes cuya expresión está condicionada por el sustrato (Wymelenberg et al., 2011).

ANTECEDENTES Y FUNDAMENTACION DEL ESTUDIO

En la República Argentina, los hongos xilófagos fueron estudiados principalmente desde un punto de vista sistemático. Los trabajos publicados por Luna et al. (2007; 2012; 2015) y Murace et al. (2011; 2014b; 2016; 2017) y aquellos a publicar, producto del desarrollo de esta investigación, constituyen los primeros antecedentes relacionados con el estudio de las alteraciones químico - estructurales resultantes de algunas de las interacciones patógeno – hospedante ² identificadas en nuestro país.

De acuerdo con esto, en la Argentina, las investigaciones relacionadas con este grupo de hongos fueron iniciadas por Carlos Spegazzini a fines del siglo XIX (Ibañez, 1995), sentado las bases para posteriores estudios llevados a cabo en distintas regiones del territorio argentino - Región Pampeana, Mesopotámica, Chaqueña, Andino-patagónica, entre las más importantes - (Blumenfeld et al., 1982).

² Una interacción (o combinación) patógeno – hospedante, en el marco de esta tesis siempre significa infección natural, ocurrida en ejemplares en pie, vivos, por lo tanto, las maderas bajo estudio, fueron infectadas de este modo.

A mediados del siglo pasado, Marchionatto (1948) aporta algunos ejemplos de hongos xilófagos y hospedantes afectados, antecedentes surgidos de distintos relevamientos realizados por dicho autor, con el objetivo de identificar los hongos parásitos de los árboles cultivados en la Argentina - Ej.: *Trametes trogii*, en álamos, acacia blanca y timbó; *Polyporus* sp., en álamo, roble y sauce; *Ganoderma sessile*, en tipa, eucalipto; *G. lorentzianum*, en aramo, entre otros -. En esa época, además, surgen distintas publicaciones de Iaconis y Wright reconocidas por fijar los métodos, las técnicas y la terminología castellana para el estudio de los hongos xilófagos en este país como también por presentar descripciones detalladas de las especies, contribuyendo de este modo con su identificación (Jauch, 1975, tomado de Sarasola & Roca, 1975).

En los años 70, Deschamps & Wright (1975) publican una clave de los caracteres de cultivo de Basidiomycetes xilófagos de la Argentina aislados de árboles en pie -troncos y ramas- como también de rollizos y de madera en obra. Dicha publicación fue elaborada en base a las contribuciones de Wright (1948; 1966; 1976), Iaconis & Wright (1953), Wright & Iaconis (1955), Bettucci & Guerrero (1971), Wright & Deschamps (1972; 1975; 76/77), Wright et al. (1973), Gómez & Loewenbaum (1976), Gómez (1976), Boidin et al. (1976), entre otros.

Años más tarde, Deschamps & Wright (1997) publican la actualización de la clave original - anteriormente citada -, surgida de la recopilación de los trabajos de Bazzalo & Wright (1982), Blumenfeld et al. (1982), Rajchenberg (1982; 1983a; 1984; 1987a) y Job (1986) como también una clave genérica de los Aphyllophorales del Cono Sur de América. Asimismo para el período indicado - segunda mitad del siglo XX - surgen numerosas contribuciones al estudio de los hongos xilófagos de nuestro país, entre ellas, a modo de ejemplo, se citan las provenientes de los trabajos de Rajchenberg & Wright (1982; 1987, 1998), López (1983; 1988), Rajchenberg (1983b; 1985; 1986; 1987b; 1989; 1993; 1996; 1997; 1998), Wright & Blumenfeld (1984), Blumenfeld (1986; 1992); Rajchenberg & Bianchinotti (1991); Cwielong & Rajchenberg (1993), Ibáñez (1995; 1998), Greslebin & Rajchenberg (1997a;b; 1998), Sede & López (1999), Urcelay & Rajchemberg (1999), entre otros.

Por su parte, para principios de este siglo XXI algunos de los trabajos vinculados con esta temática que se pueden citar son los publicados por Urcelay et al. (2000; 2012), Gottlieb et al. (2002); Robledo et al. (2003a, 2003b), Urcelay & Robledo (2004); Robledo et al. (2006), Robledo & Rajchenberg (2007), Robledo & Urcelay (2009), Robles et al. (2011), Rajchenberg & Robledo (2013), Rajchenberg et al.

(2015), Pildain et al. (2017) en muchos de ellos con la aplicación de técnicas moleculares como herramienta de identificación y de estudios filogenéticos.

No obstante, los antecedentes enumerados, la identificación de una especie xilófaga asociada a un ejemplar, sólo representa una contribución al conocimiento del tipo de pudrición que ha de esperarse en el leño de dicho hospedante. Según se indicó, una misma especie puede producir patrones de degradación diversos en distintas especies botánicas e incluso tipos de pudrición diferentes en la misma madera - como estrategia de colonización del leño -, en función de las condiciones prevalecientes - características del medio ambiente y del sustrato - cada uno de ellos con efectos diferentes respecto de la estabilidad de los ejemplares (Schwarze et al., 1997; Schwarze et al., 2000a; Schwarze, 2001; Schwarze, 2007).

A nivel mundial, entre los antecedentes recopilados en torno a este tema se pueden citar las investigaciones de Schwarze et al. (1997; 2000a) y Schwarze (2001; 2007). En dichos trabajos son descriptos los patrones de degradación resultantes de diferentes combinaciones patógeno-hospedante como también se discute el posible impacto de cada uno de ellos sobre las propiedades de resistencia del leño. Dentro del grupo de hongos responsables de pudrición blanca describen, entre otros, los cambios microestructurales producidos por: *P. squamosus* en el leño de *Platanus x hispánica*; *Ganoderma* sp. en *Quercus robur*; *G. applanatum* en *Tilia platyphyllos*; *Phellinus robustus* en *Q. robur* y *T. platyphyllos*; *Fomes fomentarius* en *Fagus sylvatica* y *Q. robur*; *Inonotus hispidus* en *P. x hispánica* y *Fraxinus excelsior*. Dentro del grupo de hongos responsables de pudrición castaña describen las alteraciones anatómicas causadas por: *Fomitopsis pinicola* en *Picea abies* y *F. sylvatica*; *Laetiporus sulphureus* en *Robinia* y *Q. robur*.

Otros aportes relacionados con este tema son los trabajos de Blanchette (1980; 1983) en los que se describen los cambios microestructurales producido por *P. (Fomes) pini* y *Fomitopsis pinicola* en madera de coníferas; los de Otjen & Blanchette (1982; 1984) quienes analizan las modificaciones anatómicas producidas por *I. dryophilus* y *Xylobolus frustulatus* en distintas especies de *Quercus*; la publicación de Blanchette et al. (1988) quienes analizan los patrones de degradación causados por *P. kawakamii* en *Acacia koa* como también las características del leño degradado de *Acer saccharum* y *T. americana*.

Los modelos descriptos por estos investigadores constituyeron el respaldo teórico de los resultados obtenidos en esta investigación.

Según se indicó, en nuestro país existen escasos antecedentes relacionados con el estudio de las alteraciones químico-anatómicas resultantes de las distintas combinaciones hospedante - patógeno presentes en nuestro territorio. En este contexto, la identificación de los hongos que causan estas enfermedades y la determinación del tipo de pudrición y del patrón de degradación que originan - considerando las características químicas y anatómicas del hospedante - constituyen un aporte original que permitirá comprender las causas de dichos patrones y las razones por las cuales las propiedades de resistencia de una madera degradada se alteran en función de cada combinación particular.

Por todo lo expuesto, surge la importancia de generar conocimiento en torno a este tema, debido a que contribuye con el diagnóstico como también con la interpretación de los perjuicios que implica la presencia de este tipo de deterioro y, a causa de ello, con la planificación y puesta en marcha de planes de manejo con fines preventivos.

HIPOTESIS

- Las evidencias externas permiten predecir la existencia de pudrición en los árboles.
- Los hongos de pudrición castaña se asocian a maderas de Gimnospermas y los de pudrición blanca a maderas de Latifoliadas.
- Existen diferentes patrones de degradación para cada combinación hospedante – patógeno.
- Las modificaciones estructurales y químicas de la madera degradada permiten determinar el tipo y patrón de pudrición y estimar su posible influencia en la alteración de las propiedades de resistencia.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar las interacciones hospedante - patógeno en el leño de especies forestales en pie, vivas, con el propósito de contribuir al conocimiento de los procesos de colonización y degradación e interpretar su posible influencia en la alteración de las propiedades de resistencia de la madera.

OBJETIVOS PARTICULARES

Capítulo I

- Identificar y enumerar los síntomas y signos presentes en los ejemplares arbóreos afectados por pudriciones.
- Determinar sistemáticamente los hongos xilófagos causantes de dichas pudriciones.

Capítulo II

- Caracterizar los tipos de pudrición a nivel estructural (macro y microscópico).
- Determinar la zona en la que se circunscriben los daños: albura, duramen, leño temprano, tardío, tipos celulares afectados.
- Identificar la presencia / ausencia de barreras a la degradación en las distintas especies forestales.
- Analizar las semejanzas y particularidades de los patrones de degradación entre las distintas interacciones hospedante - patógeno.

Capítulo III

- Determinar los cambios químicos que presentan las maderas afectadas por pudrición.
- Analizar las semejanzas y particularidades de los cambios químicos entre las distintas interacciones hospedante - patógeno.

CAPITULO I

HONGOS XILOFAGOS

INTRODUCCION

Generalidades

Gran parte de los hongos xilófagos pertenecen al Phylum Basidiomycota, siendo el Orden Poliporales el que posee el mayor número de especies; asimismo existen unos pocos representantes pertenecientes al Phylum Ascomycota - Familia Xylariaceae - (Agrios, 2005; Webster & Weber, 2007).

El **Phylum Basidiomycota** es un grupo grande y heterogéneo definido por la producción de esporas de origen sexual – basidiosporas - de manera exógena, sobre esterigmas y, en términos generales, por poseer un poro septal complejo - o doliporo - como también una fase vegetativa miceliar o filamentosa predominantemente dicariótica-heterocariótica y fibulada. Los integrantes de este grupo además diferencian distintas estructuras relacionadas con la dispersión, la reproducción asexual y con la supervivencia ante condiciones desfavorables – conidios, oidios, pseudoesclerocios, clamidosporas, rizomorfas -.

Los **Basidiomycota** – Basidiomicetes - representan el 32% de los hongos descritos. Dentro de este grupo hay formas saprófitas - responsables de la degradación de la materia orgánica leñosa acumulada sobre el piso de un bosque, de la madera de árboles en pie muertos o alguna de sus partes bajo esta condición o bien de la madera en servicio como lo hace *Serpula lacrymans*;- formas parásitas - Ej. *Armillaria mellea* quien parasita a un amplio rango de hospedantes arbóreos y herbáceos; las royas y los carbones organismos biótrofos responsables de enfermedades de importancia económica- como también simbioses, formadoras de asociaciones micorrízicas - ecto-micorrizas - con ejemplares leñosos - la mayor parte de los integrantes de las Boletaceae - (Webster & Weber, 2007).

Respecto del **Orden Poliporales** , considerando su importancia por la cantidad de especies xilófagas que incluye, sus rasgos salientes son la diferenciación de basidios aseptados producidos sobre hifas formando un himenio que tapiza la superficie de los pequeños poros o tubos que constituyen el himenóforo -himenóforo poroide - que los

caracteriza (Webster, 1980; Agrios, 2005; Webster & Weber, 2007; Riley et al., 2014). Este Orden comprende a los hongos conocidos vulgarmente como **poroides o políporos**, grupo morfológico distinguido por su himenóforo poroide y por su hábito de crecimiento. Los políporos constituyen uno de los mayores grupos de hongos degradadores de la madera - u hongos xilófagos - y son un componente indispensable de los sistemas boscosos. Por constituir un grupo morfológico y no taxonómico, distintas especies con iguales características, pertenecientes a diferentes Órdenes, forman parte de dicho grupo (Arora, 1986, tomado de Robledo et al., 2003b; Robledo & Urcelay, 2009). Los políporos poseen micelio perenne – predominante -, a partir del cual se originan las fructificaciones -sésiles o pediceladas - en forma anual o bien éstas pueden ser perennes y cada año diferenciar un nuevo estrato de tubos - Ej.: *Ganoderma applanatum* -. Estos y otros rasgos como la construcción hifal, poseen importancia taxonómica (Webster & Weber, 2007).

Los **hongos xilófagos** deben su nombre a que se alimentan de la madera previa degradación química o descomposición ecto-enzimática de los componentes principales - carbohidratos y lignina - en sustancias más simples, fácilmente por ellos absorbidas y asimiladas (Zabel & Morrell, 1992).

Estos organismos pueden degradar de forma rápida y eficiente este sustrato complejo - complejo lignocelulósico - debido a que su fase vegetativa micelial conforma un sistema eficiente de penetración, digestión externa y absorción de los constituyentes del leño. El crecimiento micelial apical y posterior ramificación les permite a estos hongos cubrir en un tiempo relativamente corto la superficie a colonizar, sumado a que cada extremo hifal es un punto de penetración y de importante actividad enzimática, más la capacidad de su cuerpo – talo - de absorber y traslocar las sustancias que despolimerizan, los convierte en eficientes colonizadores (Zabel & Morrell, 1992; Schmidt, 2006). En este sentido, Gamauf et al. (2007) consideran: *"....la descomposición eficiente de la pared celular de las plantas por los hongos se debe a su crecimiento hifal el cual provee puntos de penetración como también a la presencia de un sistema enzimático ectocelular altamente especializado en degradar la pared celular. La descomposición enzimática es normalmente sinérgica: enzimas altamente especializadas operan como integrantes de sistemas multi-enzimáticos que eficientemente degradan polímeros específicos. Además, para la síntesis y exportación de estas enzimas un sofisticado sistema de regulación genética y una altamente productiva maquinaria secretora fue desarrollada. Todas estas características determinan que los hongos sean exitosos competidores en sus*

ambientes y los principales agentes de descomposición en los ambientes terrestres y acuáticos...".en la naturaleza los hongos xilófagos juegan un importante rol en el ciclo global del carbono y Nitrógeno, promoviendo la bio-conversión de la materia orgánica (Oses et al., 2006).

Según se indicó, los hongos xilófagos son únicos debido a su capacidad de descomponer las paredes celulares lignificadas. Espacialmente, la lignina está íntimamente interpuesta con las hemicelulosas formando una matriz que rodea a la celulosa constituyendo una efectiva barrera físico-química a los sistemas de biodegradación (Schwarze, 2007).

La degradación química de la madera que producen estos hongos conduce a su pudrición, desorganización del tejido resultante de la descomposición de los polímeros estructurales de la pared celular: celulosa, hemicelulosas - en conjunto holocelulosa - y lignina. De acuerdo al tipo de degradación que estos organismos causan, tradicionalmente se reconocen 3 tipos de pudriciones: las blancas, las castañas y las blandas (Zabel & Morrell, 1992; Schwarze, 2007).

Las **pudriciones blancas** resultan de la degradación simultánea de la lignina, de la celulosa y de las hemicelulosas o bien de un proceso de delignificación selectiva asociada a la descomposición de las hemicelulosas. Los Basidiomicetes responsables de este tipo de deterioro son los únicos capaces de degradar completamente la lignina en CO₂ y H₂O, acción llevada a cabo mediante un sistema enzimático oxidativo. Estos organismos además pueden superar las dificultades que ofrece la descomposición de la madera como lo son el bajo contenido de Nitrógeno (relación C:N, aprox. 500:1) y la presencia de sustancias tóxicas (Blanchette et al., 1988; Blanchette, 1991; Blanchette, 1995; Schwarze et al., 1997; 2000a; Gamauf et al., 2007; Schwarze, 2007).

Respecto de las **pudriciones castañas**, éstas deben su origen a la degradación selectiva de la holocelulosa de la pared; la lignina es parcialmente oxidada y responsable de la coloración castaña que caracteriza y da el nombre a este tipo de pudriciones (Blanchette et al., 1988; Blanchette, 1991; Blanchette, 1995; Schwarze et al., 1997; 2000a; Gamauf et al., 2007; Schwarze, 2007).

En referencia a las **pudriciones blandas**, son producidas por Ascomicetes y por algunos Basidiomicetes - como facultativos, "facultative soft-rotters" -. En términos generales, los Ascomicetes responsables de las pudriciones blandas o "soft rot fungi" colonizan los productos derivados de la madera - madera en servicio - en contacto con el suelo, provocan la disminución de sus propiedades de resistencia mecánica y alteran parcialmente la estructura de la lignina. Otra particularidad de estos hongos es su

capacidad de degradar este sustrato bajo condiciones ambientales extremas - humectación extrema del material - situación que limita la acción de otros xilófagos.

En los árboles en pie vivos el rol más significativo de los Ascomicetes responsables de este tipo de deterioro sería el de degradar la base de las ramas muertas determinando un tipo de poda natural (Butin & Kowalski, 1983, tomado de Schwarze et al., 1997). Por su parte *Ustulina deusta* - Xylariaceae, responsable de pudrición blanca en la zona central del fuste de sus hospedantes - es una especie reconocida por causar pudrición blanda en las primeras etapas del proceso de colonización y degradación de árboles en pie vivos. Dicho comportamiento resulta ser una estrategia de invasión de tejidos con elevado contenido de humedad (Schwarze et al., 2000a).

En cuanto a las pudriciones blandas producidas por los Basidiomicetes, éstas resultan de la implementación de estrategias - bajo la forma de patrones de colonización y degradación alternativos a los que habitualmente poseen - para salvar las barreras surgidas del proceso de compartimentalización desencadenado por los tejidos vivos de los ejemplares colonizados - forma de respuesta activa a la infección - o bien para salvar aquellas barreras pasivas como ser regiones del leño altamente lignificadas y/o con altos tenores de humedad, como el presente en el tejido xilemático no colonizado - Ej: *Inonotus hispidus* en *Platanus x hispanica* y en *Fraxinus excelsior* - (Schwarze et al., 1997; 2000a; Schwarze, 2007).

Aspectos ecológicos

1. - Ciclo de vida

El ciclo de vida de los hongos xilófagos – Basidiomycota - comienza con la germinación de una **basidiospora**. Producto de la germinación se genera una hifa que con el tiempo origina un micelio regularmente septado - septo simple - y monocariótico (n) denominado **micelio primario**. Al poco tiempo, ante la presencia de otro micelio primario genéticamente compatible, se produce la plasmogamia - por somatogamia - y como resultado de este proceso de unión de citoplasmas y no de núcleos se origina un **micelio secundario**, dicariótico - heterocariótico (n + n). El ciclo culmina con la formación de un **cuerpo fructífero (basidiocarpo) o micelio terciario** (n + n).

En el basidiocarpo, puntualmente en el himenóforo, se ubica el **himenio o estrato fértil** de la fructificación debido a que en éste se diferencian los **basidios y basidiosporas** como también elementos estériles útiles al momento de la

identificación de una especie. En el himenio, la última célula de una hifa generativa se ensancha y en ella se produce la cariogamia, dando como resultado la formación de un probasidio ($2n$) en el cual por reducción – meiosis - se originan 4 núcleos (n); en este estado el probasidio pasa a llamarse metabasidio - probasidio y metabasidio constituyen estados diferentes de una misma célula -. Los núcleos originados ejercen presión sobre la pared del basidio hasta que salen y forman su propia pared - es por esto que las basidiosporas son exógenas - y sus correspondientes esterigmas. En cuanto a la reproducción asexual, es llevada a cabo por oidios y conidios originados a partir del micelio secundario, el cual además origina clamidosporas, pseudoesclerocios y rizomorfos - estructuras vegetativas de resistencia y/o dispersión - (Webster, 1980; Webster & Weber, 2007).

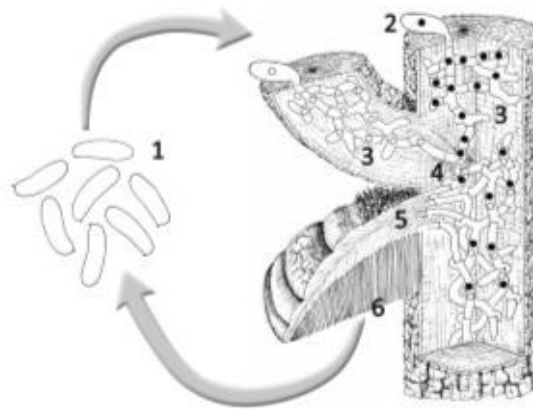


Figura 1. Ciclo biológico de un hongo de la madera. Etapa 1: esporas microscópicas que se dispersan por el viento. Etapa 2: espore que se pone en contacto con la madera y germina. Etapa 3: desarrollo del micelio primario monocariótico dentro de la madera. Etapa 4: las hifas de micelios de distinta polaridad se conjugan y el nuevo micelio pasa a tener dos núcleos (micelio secundario dicariótico). Etapa 5: desarrollo del basidioma o cuerpo de fructificación (el micelio que lo constituye se denomina terciario). Etapa 6: en el himenóforo del basidioma se producen las esporas que serán dispersadas y colonizarán nuevos sustratos leñosos (tomado de Robledo & Urcelay, 2009).

2. -Estrategias de colonización del sustrato

Los hongos xilófagos – Basidiomycota - se dispersan y llegan al sustrato bajo la forma de esporas o como micelio migratorio (Boddy, 1992) y una vez en él se establecen mediante alguna de las siguientes estrategias de colonización: pudrición del duramen o "heart rot", patogénesis activa ("active pathogenesis"), oportunismo especializado ("specialized opportunism"), tolerancia a la desecación ("desiccation tolerance") y oportunismo no especializado ("unspecialized opportunism") (Rayner &

Boddy, 1988). En esta etapa, la disponibilidad de sustancias fácilmente asimilables como azúcares solubles, lípidos y péptidos son críticas para el establecimiento (Boddy & Rayner, 1983).

Los hongos que **pudren el duramen** ingresan principalmente bajo la forma de esporas vía heridas ubicadas en troncos y ramas o bien como micelio que penetra a través de raíces heridas o enfermas. En ambos casos las lesiones son lo suficientemente grandes como para poseer este tipo de tejido. Estos xilófagos poseen una estrategia de colonización estrés-tolerante la cual consiste básicamente en su capacidad de crecer y causar degradación en dicha zona del leño carente de células vivas - y por ello sin inducir en el hospedante algún tipo de respuesta a fin de limitar su propagación -, con bajo contenido de humedad y con una fase gaseosa relativamente grande y en muchos casos con alta concentración de extractivos/extrahíbles antifúngicos.

La **patogénesis activa** está estrechamente vinculada a un alto potencial de inóculo, a la producción de enzimas pectinolíticas como también implica un comportamiento necrotrófico. Los mecanismos de este tipo de estrategia incluyen la infección ectotrófica ³ de raíces, la infección de heridas y la producción de canchales.

El **oportunismo especializado** está asociado a hongos que colonizan sustratos en los que se ha producido una disminución de la tensión microambiental - remoción de agua en el xilema funcional y desarrollo de una fase gaseosa - causada por factores independientes a ellos - sequía, infección por otros patógenos, entre otros -. Estos patógenos se pueden establecer en la albura desde el interior de la corteza en la cual se encuentran en forma latente, mediante insectos vectores o vía discontinuidades de la corteza.

La **tolerancia a la desecación** implica la colonización y persistencia del micelio fúngico en las partes secas de un árbol y la recuperación de su actividad bajo condiciones de humedad. Dicha estrategia está relacionada con la inaccesibilidad de agua en el leño producto de un bajo potencial agua y a la aparente imposibilidad de muchos Basidiomicetes xilófagos de crecer en estas condiciones.

³ Incluye el desarrollo de un extenso micelio fúngico sobre la superficie de un hospedante, previo al proceso de penetración; es una forma de lograr una cantidad importante/extensa y efectiva de inóculo con la cual se asegura matar a las células del hospedante (corteza externa y cambium) y de este modo poder penetrar (Rayner & Boddy, 1988).

Por su parte, el **oportunismo no especializado** involucra la colonización de la albura a través de heridas superficiales o profundas lo cual conduce al aumento del disturbio y consecuentemente a la disminución de la tensión en dicha zona del leño - tejido dañado e introducción de una fase gaseosa en él -. De acuerdo con la teoría de la sucesión, la asociación con bacterias y hongos distintos a los Basidiomicetes es esencial para el establecimiento de los Basidiomicetes xilófagos.

La mayoría de los hongos xilófagos atacan el duramen de los árboles en pie vivos: pudriciones del duramen o "heart rot". La tolerancia de estos hongos a los bajos contenidos de humedad ⁴ los convierte en eficientes colonizadores. En el duramen, además, factores como la alta tensión de oxígeno y la ausencia de algún tipo de mecanismo de defensa activo contra la colonización y degradación fúngica - compartimentalización, Shigo & Marx, 1977 - favorecen el desarrollo de la pudrición en esta región del árbol (Schwarze et al., 2000a; Schwarze, 2004).

A menudo el establecimiento de dichos hongos puede implicar mecanismos de patogénesis activa. Un ejemplo lo constituyen las afecciones del duramen de la base del tronco causadas por *Heterobasidium annosum* y *Armillaria*. Las mismas se originan a partir de una infección ectotrófica de raíces ya que las heridas que exponen el duramen raramente se presentan en esta región del árbol.

Ante la ausencia de una herida otro modo posible de establecimiento en el duramen es vía oportunismo especializado. Esta estrategia involucra la incorporación de patógenos que permanecen en forma latente en la albura de ramas intactas - Ej. *Stereum gausapatum* se establece en la albura de *Quercus* spp. por medio de la mencionada estrategia de colonización y desde allí se incorpora al duramen - o bien implica la incorporación de aquellos que permanecen en restos de ramas pequeñas - ramas muertas - que son incluidas con el crecimiento en espesor del tronco - Ej. *Echinodontium tinctorium* en *Tsuga heterophylla*, Rayner & Boddy, 1988; *Phellinus andinopatagonicus* en Lenga, Rajchenberg, 1998 -.

Las pudriciones del duramen no interfieren en la fisiología de sus hospedantes, de modo que los individuos afectados pueden presentar una apariencia sana y, en

⁴ El contenido de humedad -CH- mínimo de la madera debe ser el equivalente al punto de saturación de las fibras - p. s. f.- el cual, si bien es variable entre las especies, en términos generales se corresponde con el 25% - 30% respecto de su peso seco, por debajo de este valor las esporas no germinan; el CH óptimo se ubica en el rango 40% – 80% (Findlay, 1967; Zabel & Morrell, 1992)

consecuencia, no manifestar síntomas hasta etapas relativamente avanzadas de degradación. En etapas avanzadas las evidencias de que algún tipo de pudrición está ocurriendo son: presencia de fructificaciones y/o micelio, necrosis y hundimiento de la corteza de troncos y ramas, abultamientos en la base de troncos, presencia de canchales, entre otras. Una excepción la constituye la pudrición en árboles en pie causada por *Kretzschmaria deusta*. La detección de este patógeno es dificultosa debido a que sus fructificaciones – ascocarpos - son inconspicuas y a que los árboles enfermos no presentan los típicos síntomas de abultamiento en la base del tronco (Schwarze, 2007). Otra forma de detectar la presencia de degradación es a partir de la visualización de la madera podrida, expuesta a través de heridas de origen natural – desrame - o como producto de podas o el quiebre y vuelco de los árboles (Boyce, 1961; Schwarze et al., 2000a; Thero et al., 2007).

En algunas especies arbóreas la degradación del duramen puede ser limitada por un tipo de defensa pasiva como lo es la presencia de extractivos fungitóxicos (Schwarze et al., 1997). En este sentido, los extractivos del duramen pueden ser considerados como responsables de la resistencia de la madera a la degradación – durabilidad - por ciertas especies. Además, éstos pueden actuar como determinantes de la/s especie/s de hongos capaces de colonizarlo, ya sea porque dichas especies son tolerantes a los mismos - Ej. *Tyromyces amarus* sobre *Calocedrus decurrens*; *S. sanguinolentum* sobre *Abies balsamea*; *Laetiporus sulphureus* es reconocido por ser detoxificador de las sustancias fenólicas contenidas en el duramen - o porque los extractivos promueven el crecimiento de las mismas - Ej. los extractivos de *Ulmus spp.* promueven el crecimiento de *Pleurotus cornucopiae*, *Lyophyllum ulmarium* y *Rigidoporus ulmarius* -. De este modo, los extractivos determinan un tipo de selectividad hacia los "heart rot fungi" (Rayner & Boddy, 1988; Boddy, 1992).

En cuanto a la albura, pocas especies de hongos son capaces de degradarla. En este tejido, el alto contenido de humedad y el bajo tenor de oxígeno actúan como barreras efectivas a la entrada y crecimiento de la mayoría de los hongos xilófagos (Rayner & Boddy, 1988; Schwarze et al., 2000a). Además, ante un daño o infección fúngica los tejidos son compartimentalizados (Modelo CODIT, Shigo & Marx, 1977).

En relación al establecimiento de los hongos xilófagos en la albura, algunos patógenos pueden acceder a este tipo de tejido vía patogénesis activa. Un ejemplo lo constituye *H. annosum* en *Pinus spp.*: el patógeno mata las raíces de su hospedante por infección ectotrófica; *Hypoxylon mammatum*, patógeno de *Populus tremuloides*: este hongo origina canchales en su hospedante y de este modo vías de acceso a la

albura. *Schizopora paradoxa* puede colonizar y degradar la albura de distintas especies de *Quercus* mediante dicha estrategia de colonización. Ciertos hongos responsables de la pudrición del duramen pueden atacar la albura y provocar su muerte asistido por este mecanismo - *Phellinus* spp. e *Irpex mollis* -. Para las especies con esta estrategia de colonización, el establecimiento de un alto potencial de inóculo en el tejido dañado, la tolerancia a situaciones de estrés y la capacidad de dispersarse destructivamente dentro de la albura constituyen ventajas competitivas adicionales.

En la albura, los hongos xilófagos también se pueden establecer mediante la estrategia oportunismo especializado. En este sentido, la colonización de árboles en pie por distintas especies de *Hypoxylon* esta frecuentemente asociada con factores predisponentes como la sequía y la infección del sistema radical.

Por lo expuesto, los indicios de que algún tipo de degradación está ocurriendo en la albura incluyen: presencia de canchales, de heridas localizadas pequeñas, tanto superficiales como profundas en ramas y troncos, descortezamientos localizados, muerte de plantas o reducción en su crecimiento, necrosis radical, perforaciones producidas por insectos taladradores, entre otros (Rayner & Boddy, 1988; Boddy, 1992; Schwarze et al., 2000a).

3. - Grupos funcionales

Según se indicó, los Poliporales – Basidiomycota - son los principales degradadores del tejido leñoso - la mayor parte de los hongos xilófagos pertenecen a este Orden; la mayoría de las especies que lo integran producen la degradación total de la madera -. Como tales, estos hongos liberan el carbono fijado durante la fotosíntesis - almacenado bajo la forma de celulosa, hemicelulosas y lignina - como también otros nutrientes presentes en dicho sustrato, que son de este modo incorporados al suelo (Oberwinkler, 1994; Alexopoulos et al., 1996, tomados de Urcelay & Robledo, 2004). De acuerdo con esto, los políporos son considerados como una única entidad funcional - degradadores de madera - conformada por especies que pueden degradar distintos tipos y/o estados de la madera - fustes vivos, muertos en pie o volcados, ramas de diferentes diámetros, entre otros - diferencias consideradas como "distintivas características funcionales" (Rayner & Todd, 1979; Renvall, 1995; Hoiland & Bendiksen, 1996, tomados de Urcelay & Robledo, 2004). Las especies de políporos que degradan la madera de árboles en pie vivos, son denominadas parásitas y aquellas que degradan la madera de árboles muertos o bien partes muertas de árboles vivos son denominadas saprobias (Oberwinkler, 1994, tomado de Urcelay &

Robledo, 2004). Urcelay & Robledo (2004), en base a un estudio de los políporos presentes en madera de *Alnus acuminata* - frecuencia relativa - plantea la posibilidad de definir tres grupos funcionales: a.- conformado por especies capaces de colonizar y degradar fustes de árboles en pie vivos como también por presentar su mayor frecuencia de fructificación sobre troncos muertos de grandes diámetros - rango de diámetro medio, en cm: 29.3-49.1 - y por ello considerados como parásitas facultativas; b.- grupo constituido por especies con mayor frecuencia en muestras muertas - principalmente tocones y troncos -; c.-reúne a las especies siempre asociadas a troncos muertos y principalmente a ramas muertas de diámetro medio intermedio a pequeño - 1.9 - 27.0 cm ; estos 2 últimos conformado por especies consideradas saprobias.

Por su parte, Schwarze (2004) clasifica a los hongos que degradan la madera de los árboles en pie vivos en 2 grupos en función de la parte del árbol por ellos afectada. De acuerdo con ello, un grupo incluye a los responsables de las pudriciones de raíces; dentro de este grupo además distingue especies que frecuentemente se presentan en raíces y especies responsables de las pudriciones de raíces y base de fuste. Este grupo de xilófagos afecta la estabilidad de los ejemplares, pueden parasitar el cambium del sistema radical o bien permanecer dentro del xilema central. El segundo grupo reúne a las especies responsables de las pudriciones de los sectores altos de un ejemplar, poniendo en riesgo la resistencia a la fractura - la disminuyen -.

Debe tenerse en cuenta que dicha clasificación no es estricta; un hongo puede usar diferentes estrategias de colonización sobre diferentes hospedantes o bien consecuencia de que sus estrategias de colonización son naturalmente diversas: Ej.: *Laetiporus sulphureus* considerado como patógeno de fuste puede también destruir la madera de las raíces; *G. resinaceum* permanece por debajo del nivel del suelo cuando coloniza a ejemplares de roble mientras que en álamo se desarrolla a distintas alturas del fuste.

Asimismo, tradicionalmente los poliporales como también el resto de los Basidiomicetes degradadores de la madera - entidad funcional - son clasificados en 2 grandes grupos definidos por el tipo de pudrición que originan: hongos de pudrición blanca y hongos responsables de pudrición castaña (Riley et al., 2014). Según se indicó, las pudriciones blandas son producidas por Ascomicetes y en menor medida por Basidiomicetes y, en este último caso como una forma/estrategia alternativa de colonización y degradación fúngica a fin de superar las barreras que ofrece el sustrato - como "facultative soft-rotters" - (Schwarze et al., 2000a).

Características de importancia para la identificación de los hongos xilófagos

1. - Aspectos morfológicos de la fructificación

Las características macro y microscópicas de la fructificación de los hongos xilófagos constituyen un aspecto importante para su identificación (Robledo & Urcelay, 2009). Los caracteres a considerar al momento de iniciar la identificación de una especie son:

1.1 Nivel macroscópico

Forma: en términos generales las fructificaciones pueden ser estipitadas – con pie - o sésiles. En cuanto a las estipitadas, el pie puede tener ubicación central, lateral o excéntrica. Respecto de las sésiles, pueden ser demediadas anchamente adheridas al sustrato, adheridas en un punto como también flabeliformes. En corte longitudinal los basidiomas sésiles pueden ser aplanados, incurvados, ungulados, abungulados, imbricados, triqueros, resupinados, efuso reflejos o pendientes (Figura 2; Fotos 1 a 4).



Fotos 1 a 4: Morfología del basidioma, algunos ejemplos. Foto 1: basidioma estipitado, pie excéntrico. Fotos 2 a 4: basidiomas sésiles. Foto 2: demediado, anchamente adherido al sustrato. Foto 3: demediado adherido por un punto. Foto 4: flabeliforme, imbricado (MMura ce, 2018).

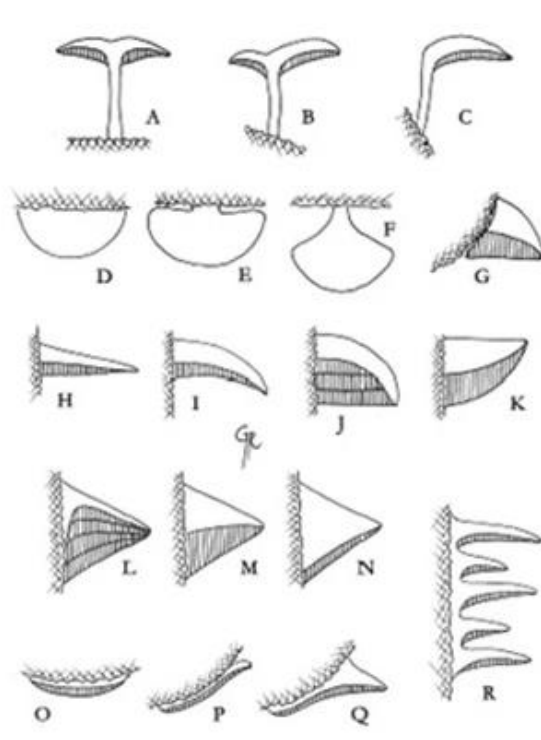


Figura 2. Morfología del basidioma. Basidiomas estipitados. A: pie central. B: pie excéntrico. C.: pie lateral. Basidiomas sésiles en vista superior. D-E: semicircular o demediado. F: flabeliforme. Por punto de adhesión. D: anchamente adherido. E-F: por un punto. G: pendiente. Basidiomas sésiles en corte longitudinal. H: aplanado. I: convexo. J: ungulado. K: obungulado. L-N: triquetros. O: resupinado. P-Q: efuso-reflejos. R: imbricado (Tomado de Robledo & Urcelay 2009).

Tamaño: las fructificaciones se miden en tres dimensiones: largo (A), ancho (B) y alto (C) cuyos valores son expresados en centímetros (cm) y siempre están referidos al valor máximo que cada dimensión puede alcanzar (Fotos 5 a 7).



Fotos 5 a 7: Dimensiones de una fructificación. Foto 5: aspecto general. Foto 6: largo (A); ancho (B). Foto 7: altura de la fructificación (C) (MMurace, 2018).

Píleo: la textura del píleo es otro rasgo de importancia y queda definida por el desarrollo de pelos en su superficie. En este sentido, se pueden diferenciar texturas glabras - superficie sin pelos - o bien superficie con pelos. Cuando la superficie del píleo es glabra, puede ser lisa brillante u opaca, presentar irregularidades como pequeñas verrugas o tener una cubierta muy dura denominada laca. En referencia a la superficie con pelos, recibe diferentes denominaciones de acuerdo al largo y densidad de los mismos: pubescente, velutinoso o híspido, viloso, tomentoso, hirsuto (Figura 3; Fotos 8 a 11). El color y la zonación de la superficie del píleo también deben tenerse en cuenta. La zonación puede estar dada por variaciones en el color de la superficie del píleo o de la pilosidad que a su vez se traduce en variaciones de color por la reflexión diferencial de la luz; por lo general la zonación es concéntrica teniendo como centro el punto de adhesión al sustrato.

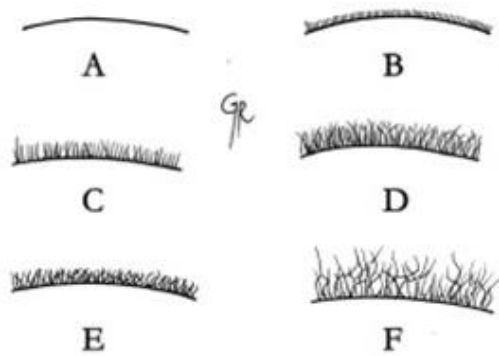


Figura 3. Diferentes texturas de la superficie del píleo. A: glabra. B: pubescente. C: velutinoso a híspido. D: viloso. E: tomentoso. F: hirsuto (tomado de Robledo & Urcelay, 2009).



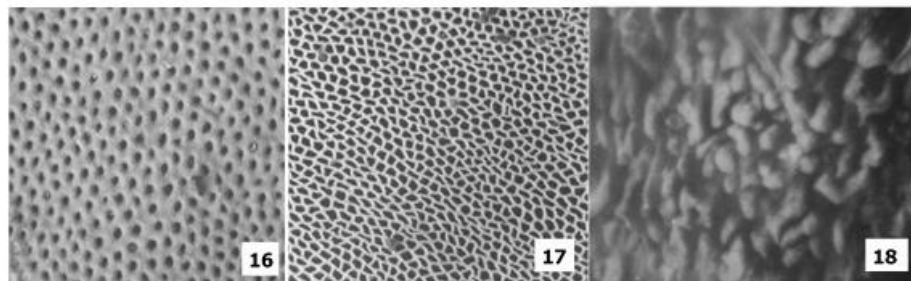
Fotos 8 a 11: Texturas del píleo, algunos ejemplos. Fotos 8 a 10: glabras, zonadas y verrucosas. Foto 8: brillante. Foto 9: opaca. Foto 10: dura (laca), con resquebrajamiento radial. Foto 11: pubescente, hirsuto (MMurace, 2018).

Margen: en una fructificación, el margen es la zona de activo crecimiento y constituye el borde de la misma; es el límite entre los poros y la superficie del píleo. Por lo general su color y textura es muy diferente a la superficie del píleo; en corte longitudinal su forma puede ser aguda o redondeada/obtusa (Figura 4, A1 y A2; Fotos 12 a 15).



Fotos 12 a 15: Márgenes de una fructificación, algunos ejemplos (MMurace, 2018).

Poros (en caso de presentarse): la forma, el tamaño y el color de los poros es otro rasgo de importancia. La forma puede variar de circular a angular; en ocasiones se fusionan generando un poro irregular de aspecto sinuoso o dedaloide (Fotos 16 a 18), fenómeno que puede llegar al extremo de adquirir forma de láminas. En cuanto al tamaño, se refiere al número por milímetro (mm); para los poros transformados en láminas se considera el número por cm. En referencia al color puede cambiar en función del ángulo desde el cual se miren como también al contacto con algún elemento.



Fotos 16 a 18: Poros, tipos. Foto 16: circulares. Foto 17: irregulares. Foto 18: laberintiformes (MMurace, 2018)

Contexto: es la zona que está entre la superficie del píleo y los tubos. El color del contexto es una característica importante al igual que la zonación - bandas de diferente color -. Otro rasgo importante es la medida que alcanza en la base del basidioma.

Capa de tubos (para políporos): es la zona por debajo del contexto que termina en los poros; cada tubo termina en un poro; los tubos están tapizados por el himenio - empalizada de elementos fértiles y estériles -. La capa de tubos permite identificar la estrategia de fructificación de los hongos poroides. En este sentido, se reconocen especies con estrategia de fructificación anual, es decir, producen una fructificación por año y, consecuentemente, una capa de tubos; las especies perennes desarrollan una fructificación persistente con capas de tubos que se generan y van superponiendo año tras año. En las fructificaciones perennes, las capas de tubos superpuestas pueden ser indistintamente estratificadas; solo puede observarse una variación en el color y micelio en el interior de los tubos más viejos. En oposición, las capas de tubos pueden verse notablemente estratificadas con o sin desarrollo de contexto entre capa y capa. Al igual que para el contexto, se deben considerar color y grosor, este último medido desde la base de la fructificación (Figura 4, B1 y B2).

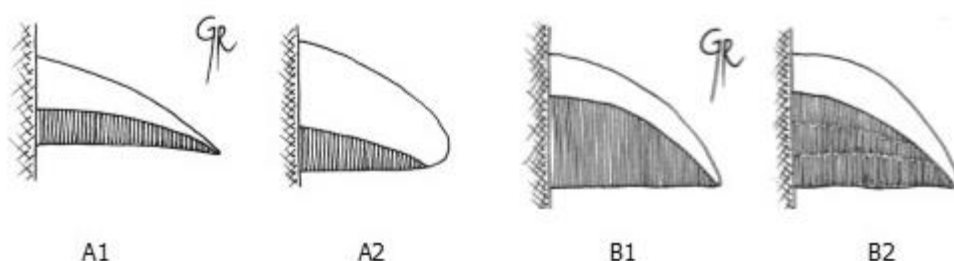
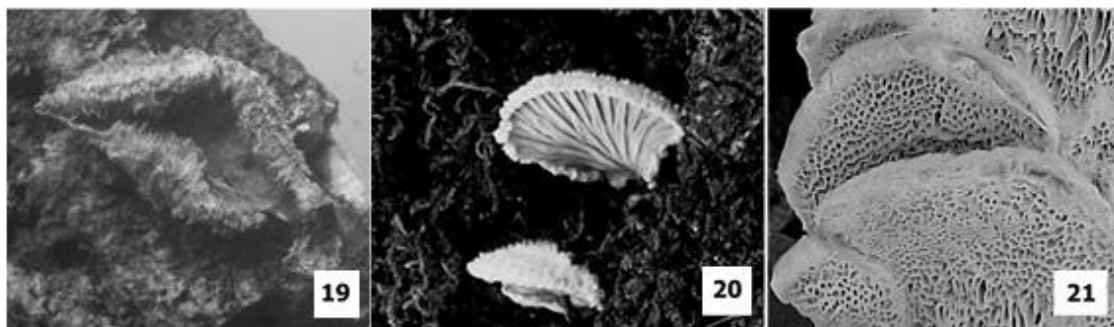


Figura 4. A: márgenes. A1: agudo. A2: redondeado. B: capa de tubos. B1: uniforme, no estratificada, de basidioma anual. B2: notablemente estratificados de basidioma perenne (tomado de Robledo & Urcelay, 2009).

Himenóforo: porta el himenio o empalizada que, en los políporos, por ejemplo, tapiza la superficie interna de los tubos. El himenio posee estructuras fértiles – basidios - y estériles - setas, cistidios, entre otros - cuyos rasgos morfo-biométricos poseen valor sistemático. El himenóforo puede ser: liso, dentado, laminar o poroide - típico de los poliporales – (Fotos 19 a 21).



Fotos 19 a 21: Himenóforo, tipos. Foto 19: liso. Foto 20: laminar. Foto 21: poroide (MMurace, 2018).

1.2 Nivel microscópico

Tipos hifales: los basidiocarpos están constituidos por hifas generativas en algunos casos asociadas a hifas esqueléticas, a esqueleto-ligadoras o bien a ligadoras. Las **hifas generativas** son unidades vivas, en continua división, septadas, con septos fibulados o simples y pared delgada o bien gruesa. Estas hifas son las unidades básicas de la fructificación ya que originan a los basidios y restantes tipos hifales y a causa de ello siempre están presentes. **Hifas esqueléticas:** hifas muertas, de pared engrosada, lumen estrecho, rectas y escasas o ausentes ramificaciones. **Hifas ligadoras:** hifas muertas, de pared engrosada, muy ramificadas; éstas unen y dan cohesión a los elementos constituyentes del basidioma. **Hifas esqueleto-ligadoras:** hifas muertas que combinan características de las hifas esqueléticas y de las ligadoras; poseen una sección sin ramificaciones y otra profusamente ramificada.

Sistema hifal: se denomina sistema hifal a la combinación de los distintos tipos de hifas posibles de presentarse en una fructificación y es considerado un carácter de importancia a la hora de identificar especies. El sistema hifal puede ser monomítico, dimítico y trimítico. El **sistema monomítico** está formado sólo por hifas generativas de septos simples o bien fibulados. El **sistema hifal dimítico** está compuesto por hifas generativas y esqueléticas; hifas generativas y esqueleto-ligadoras o bien generativas y ligadoras. El **sistema hifal trimítico** está formada por hifas generativas, esqueléticas y ligadoras. La constitución del sistema hifal muchas veces se refleja en la consistencia de la fructificación. En términos generales las fructificaciones di y trimíticas suelen ser más duras, pesadas y consistentes que las monomíticas.

Basidios: es la célula terminal de una hifa himenial. En esta célula ocurre la meiosis nuclear que originará a las esporas – basidiosporas - a partir de proyecciones denominadas esterigmas. Por lo general son clavados y para su estudio se consideran sus medidas en alto y ancho máximo.

Esporas: las esporas son las estructuras de dispersión de los hongos. Éstas se originan con la división meiótica del núcleo del basidio y son consideradas un carácter taxonómico importante en la clasificación de los hongos. Si bien muchas especies pueden ser determinadas sin observar las esporas, en otras las esporas son prácticamente el único carácter distintivo por lo que su observación y caracterización se torna indispensable para la identificación. Las esporas varían mucho en forma, tamaño, color y grosor de las paredes que a su vez pueden tener distintos tipos de ornamentaciones (Figura 5). El tamaño de las esporas se expresa en micrones (μm) de largo por ancho.

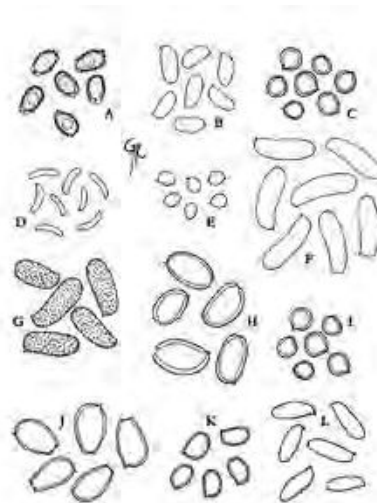


Figura 5. Esporas. **A:** ganodermatoideas, truncadas con dos paredes interconectadas por pilares. **B:** elipsoides, lisas, de pared delgada. **C:** globosas, lisas, de pared gruesa. **D:** alantoides, lisas, de pared delgada. **E:** globosas, lisas, de pared delgada. **F, L:** cilíndricas, lisas, de pared delgada. **G:** cilíndricas, estriadas, de pared delgada. **H:** elipsoides, de pared gruesa, con poro germinativo. **I:** sub-globosas, lisas, de pared gruesa. **J:** truncadas, lisas, de pared gruesa, con poro germinativo apical. **K:** elipsoides, lisas, de pared gruesa, con un lado plano (tomado de Robledo & Urcelay 2009).

Cistidios: los cistidios son hifas terminales modificadas, estériles, generalmente dispuestas en el himenio. Pueden tener distintas formas y características como la presencia o ausencia de cristales en la superficie, entre otros.

Setas: son un tipo especial de cistidio, características de numerosas especies del Orden Hymenochaetales - todo políporo que posea setas pertenece a este orden -. Las setas son hifas terminales de paredes muy engrosadas y de color castaño oscuro y por lo general forma de flecha - con ápice agudo -. Dependiendo de su ubicación, éstas pueden ser himeniales o tramales. En cuanto a su forma, pueden ser rectas,

ventricosas, ventricosas con base bulbosa, hifas setales - tan largas como una hifa; generalmente se encuentran en los tubos -.

Clamidosporas: esporas de origen asexual que se forma a partir de fragmentos hifales. Las paredes de estas esporas generalmente son muy engrosadas y, a causa de ello, funcionan como estructuras de resistencia, además de constituir una de tantas otras formas de dispersión. Algunas especies desarrollan fructificaciones especiales para la producción de clamidosporas denominadas clamidocarpos.

Otro aspecto importa a nivel microscópico para la identificación de los hongos es la reacción, manifestada con cambios o no en el color de las esporas, basidios, cistidios, hifas, al ser montadas en el Reactivo de Melzer (IKI) y en Azul de algodón. De acuerdo con ello, dichas estructuras montadas en IKI se consideran dextrinoides cuando viran al rojo, amiloides cuando viran a azul o bien IKI- si no reaccionan. Por su parte son consideradas cianófilas si viran a azul cuando son montadas en Azul de Algodón.

2. - Características culturales

Para la identificación de los hongos que causan pudrición en las maderas, la técnica de Nobles (1948; 1958; 1965) es la más conocida y tradicionalmente aplicada si bien existen otras con procedimientos similares (ej: Stalper, 1978; Nakasone, 1990). La metodología de Nobles se basa en el estudio de cultivos puros que se desarrollan en medio agar extracto de malta (AEM) a temperatura ambiente durante 6 semanas. De acuerdo con esto, semanalmente, las características culturales a considerar a los fines de la identificación son las siguientes:

Velocidad de crecimiento: para su valoración se toma el diámetro de la colonia o el radio de la misma, según el inóculo se halla sembrado en el centro o en el borde de la caja, respectivamente.

Color: se describe el color de la mata miceliana de acuerdo con una clave de colores.

Olor: esta es una determinación subjetiva, basada en olores conocidos.

Aspecto del reverso de la caja: en este caso se considera la variación del color del agar por la presencia de hifas pigmentadas o sustancias liberadas por el inóculo.

Borde: para su caracterización se tiene en cuenta como se define el límite de crecimiento en cuanto a forma y posición del micelio. Los términos usados para describir la zona de crecimiento son los siguientes: *regular*, margen liso, sin irregularidades; *festoneado*, margen dentado, ondeado, al menos con entradas; *sumergido*, micelio que crece a través del agar, debajo de su superficie; *postrado*, micelio que crece adherido a la superficie del agar; en muchos hongos es el primer estado antes de ser aéreo; *erecto*, formando una elevación sobre el agar; *difuso*, en este caso es casi imposible establecer la verdadera forma del margen.

Topografía y textura de la capa miceliana: *agamuzada*, suave, textura de gamuza suave; *algodonosa*, micelio erecto (3 a 5 mm) dispuesto en todas direcciones; *costrosa*, formando una costra, por lo general de color oscuro; *afelpada*, hifas cortas, finas, frecuentemente erectas, diseminadas laxamente; *farinácea*, superficie pulverulenta, harinosa; *afieltrada*, micelio algodonoso o lanoso que se entremezcla a manera de mata; *flocosa*, pequeños manojos sobre el agar de micelio lanoso o algodonoso, como flecos; *lacunosa*, micelio aéreo cubierto con puntuaciones o depresiones; *plumosa*, manojos de micelio con un eje central a partir del cual se desprenden radialmente hifas largas o grupos de hifas a menudo dispuestas en forma de abanico; *sedosa*, con hifas o grupos de hifas largas, paralelas, más o menos postradas, semejantes a seda peinada; *sub-afieltrada*, con micelio apretado al agar formando una mata delgada a menudo escasamente visible; *aterciopelado*, con una capa de micelio que consiste de distintos tipos de hifas rectas, erectas, densamente dispuestas, formando una trama como el terciopelo; *lanosa*, con micelio compuesto de hifas o grupos de hifas bastante largas, algo agrupadas, para formar una superficie semejante a la textura suave de una ropa de lana; *empapada*, micelio que parece mojado, generalmente es apretado; *vellosa*, hifas en forma de pelos cortos y finos, esparcidos flojamente por toda la superficie del medio; *aracnoide*, hebras micelianas largas, tenues, enredadas, que no son suficientemente gruesas para ser lanosas o afelpadas, ni suficientemente cortas para ser vellosas.

Reacción para detectar oxidasas extracelulares

Una de las formas de llevar a cabo esta determinación es mediante la "reacción de oxidasas" propuesta por Bavendamm en el año 1928. Este autor, a partir del estudio de unas pocas especies xilófagas, determinó que las responsables de pudrición blanca formaban una zona de difusión oscura - o corona - bajo su micelio cuando crecían en medio con ácido gálico o tánico, producto de la oxidación de los mismos. Años más tarde Campbell (1938) comprueba lo mismo para especies de *Fomes* y posteriormente Davidson et al. (1938) la prueban y confirman sobre un número mucho mayor de especies - 202 y numerosas repeticiones -. Dicha reacción aún vigente (Nakasone, 1990), dada a conocer principalmente a través de las publicaciones de Nobles (1958; 1965) se lleva a cabo en agar extracto de malta más el agregado de pequeñas cantidades de alguno de los ácidos mencionados. Al cabo de una semana de incubación, la presencia de la zona de difusión sobre el medio de cultivo conteniendo el inóculo fúngico indica la formación de oxidasas extracelulares (reacción +); su ausencia (reacción negativa -) indica la falta de las mismas (Fotos 22, A y B; 23, A y B). Debido a que muchos hongos responsables de pudrición blanca no reaccionan del mismo modo sobre el medio conteniendo uno u otro ácido, ambos deberían ser usados al momento de determinar el tipo de pudrición producida por una cepa. La presencia de oxidasas extracelulares también puede ser determinada mediante guayacol-(o goma de guacayo -; en este caso la diferenciación de una coloración azul sobre la mata miceliana, las fructificaciones - carpóforos, basidiomas, basidiocarpos - y las maderas podridas frescas indica la presencia de dicho sistema enzimático (Deschamps & Wright, 1975).



Fotos 22 y 23: Reacción de oxidasas. Fotos 22, en ácido gálico. Foto 22 A: positiva. Foto 22 B: negativa. Fotos 23, en ácido tánico. Foto 23 A, positiva. Foto 23 B, negativa (MMurace, 2018)

Los objetivos planteados para este capítulo son los siguientes:

- Identificar y enumerar los síntomas y signos presentes en los ejemplares arbóreos afectados por pudriciones.
- Determinar sistemáticamente los hongos xilófagos causantes de dichas pudriciones.

Sitio de muestreo

La ciudad de La Plata (34°56'00"S 57°57'00"O) es la cuarta ciudad de Argentina con mayor número de habitantes (aproximadamente 753.378). Se encuentra a 26 m.s.n.m. y posee una superficie de 893 km². Respecto de su clima, es templado; la temperatura media anual (ma) de aprox. 16,3 °C, la precipitación ma de 993 mm y la intensidad ma de los vientos llega a los 12 km/h, siendo predominantes aquellos del Este, Noreste y Suroeste. Por su cercanía al Río de La Plata, la humedad es elevada (80% ma). En cuanto su patrimonio forestal, es conocido el rol esencial de los árboles dentro del diseño urbano dados los múltiples beneficios ambientales, paisajísticos y socio-culturales que aportan a las ciudades (Urcelay et al., 2012). En este contexto, una de las particularidades que destacan a la ciudad de La Plata desde su época fundacional - año 1882- es su arbolado público, pese a la notable regresión en diversidad y números de ejemplares identificada principalmente desde fines del siglo XX. La presión demográfica y la infraestructura que ello demanda afectaron negativamente la composición del arbolado de los espacios públicos de esta ciudad, al igual que su deficiente manejo ya sea por parte del Estado como por particulares (Municipalidad de La Plata, 1983; Delucchi et al., 1993). Según datos publicados en el año 1982 por la Municipalidad de La Plata - únicos disponibles a la fecha -, resultantes del censo de número de ejemplares por especie presentes en los espacios urbanos públicos - parques, plazas, ramblas y calles -, por ese entonces la ciudad poseía cerca de 65.000 árboles, siendo las especies predominantes el fresno americano, tilo, paraíso, plátano, arce y acacia bola, dominancia que se presenta al día de hoy (Marquina com. pers.).

Material de estudio

En su mayor parte, el material objeto de estudio provino de las especies consideradas como las más representativas del Patrimonio Forestal de los espacios públicos de la Ciudad de La Plata y alrededores - principalmente arbolado de vereda y en menor medida parques - por lo tanto, en su totalidad expuestas a algún tipo de disturbio/intervención humana.

Se trabajó con individuos que manifestaron evidencias de pudrición. Las evidencias consideradas durante el muestreo fueron la presencia de madera podrida en árboles en pie y volteados - producto de un evento climático o a fin de su extracción, muestreo oportunista - y la de basidiocarpos - en su totalidad considerados indicadores directos de este tipo de deterioro - (Tabla 1). Fueron muestreados hasta 3 ejemplares por especie con iguales signos y síntomas, particularmente entre los meses de diciembre y mayo durante los años en que se realizó esta investigación. De acuerdo con esto, el muestreo fue dirigido y se considera acorde - especie y número de ejemplares contemplados - con el objetivo planteado. Al momento de la recolección, además se tuvo en cuenta la localización de la pudrición y/o basidiocarpos - copa, fuste, raíz; albura, duramen - como también la presencia de algún otro tipo de anormalidad en los individuos - hundimientos, abultamientos, canchales, heridas de poda y su tamaño aproximado o lesiones de otro tipo: vandalismo, carteles, cestos de basura, vehículos, construcciones, etc. -, condición del ejemplar - vivo, muerto, con evidencias de falta de vigor: copa rala, clorosis, aspecto y tamaño de las hojas -, ataque de insectos, entre las más importantes, muchos de los cuales forman parte de los aspectos a considerar en el marco de un VTA ("Visual Assessment of the Tree") (Thero et al., 2007; Robles et al., 2011).

Tabla 1. Ejemplares muestreados (especie), condición y evidencias de pudrición.

Hospedante	Condición signo y síntomas observados
<i>Acer negundo</i> L. "arce"	ejemplares en pie muertos y vivos (ramas muertas; en general faltos de vigor) micelio en madera podrida expuesta; basidiocarpos
<i>A. saccharinum</i> L. "arce plateado, arce sacarino"	ejemplar en pie vivo basidiocarpos
<i>Celtis australis</i> L. "almez"	ejemplar en pie vivo basidiocarpos
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill. <i>E. tereticornis</i> Smith "eucaliptos"	ejemplares en pie vivos (vigorosos o no), volcados, tocones micelio en madera podrida expuesta; basidiocarpos
<i>Fraxinus excelsior</i> "Aurea" L. "fresno dorado"	ejemplar en pie muerto basidiocarpos
<i>Fraxinus pennsylvanica</i> Marsh. "fresno americano"	ejemplares en pie vivos micelio en madera podrida expuesta basidiocarpos
<i>Ligustrum lucidum</i> W.T Aiton "ligustro"	ejemplares en pie vivos y muertos basidiocarpos
<i>Melia azedarach</i> L. "paraíso"	ejemplares en pie vivos y volcados micelio en madera podrida expuesta
<i>Platanus x acerifolia</i> "plátano"	ejemplares en pie vivos basidiocarpos
<i>Populus alba</i> L. "álamo blanco"	ejemplar en pie vivo micelio en madera podrida expuesta basidiocarpos
<i>Populus</i> sp.	ejemplares en pie vivos madera podrida expuesta basidiocarpos
<i>Prunus cerasifera</i> var. <i>pissardii</i> (Carrière) Koehne (= <i>P. pissardii</i>) "ciruelo"	ejemplar en pie vivo basidiocarpos
<i>Quercus robur</i> L. "roble europeo"	ejemplar volcado micelio en madera podrida expuesta basidiocarpos
<i>Robinia pseudoacacia</i> L. "acacia"	ejemplares en pie vivos micelio en madera podrida expuesta basidiocarpos
<i>Salix</i> sp. "sauce"	ejemplares en pie vivos, muertos y ejemplares volcados micelio en madera podrida expuesta basidiocarpos
<i>Tilia x viridis</i> (Bayer) Simonk. subsp. <i>moltkei</i> (Dippel) Xifreda "tilo moltkei"	ejemplares en pie vivos, muertos y ejemplares volcados (ramas) basidiocarpos micelio en madera podrida expuesta

El material objeto de estudio - madera podrida y/o basidiocarpos fue obtenido con navaja, serrucho, formón y maza. En cuanto a los basidiocarpos, su recolección fue realizada cuidando de separarlos del sustrato lo más completos posible. Cada una de las fructificaciones fueron utilizadas para la obtención de cultivos y posteriormente, estudiadas macro y microscópicamente. Las maderas con evidencias de pudrición también constituyeron fuentes de inóculo para la obtención de cultivos.

1. - Obtención de cultivos puros; consideraciones para su identificación

Según se indicó, los cultivos fueron obtenidos a partir de basidiocarpos y de maderas con evidencias de pudrición. Pequeños trozos de basidiomas - contexto e/o himenóforo - fueron lavados con Hipoclorito de Sodio al 1% - 1 a 2 min según consistencia -, enjuagados en agua destilada estéril - 2 lavados de 2 min. cada uno -, secados en papel de filtro esterilizado y posteriormente sembrados en cajas de Petri con 20 cm³ de medio agarizado, 1 ml de antibiótico y Benomyl al 0,05% - 48 cm³ cada 200 cm³ de medio -. Asimismo, se procedió a la siembra directa del micelio presente en las maderas o bien fueron sembradas pequeñas secciones de leño - previo flameado - en cajas preparadas del modo descrito. Cumplida esta etapa, las cajas fueron incubadas en estufa durante 1 a 2 semanas a 25 ± 2 °C de temperatura.

El medio de cultivo utilizado fue el agar malta (AM) de composición: 2 g de peptona; 20 g de agar; 10 g de extracto de malta en 1000 cm³ de agua destilada, todo esterilizado en autoclave durante 20 m a 1.5 atm. de presión. El antibiótico consistió en una solución conformada por 0,5 g de cloranfenicol y 1 g de estreptomicina disueltos en 200 cm³ de agua destilada estéril. El fungicida fue preparado disolviendo 1 capsula de 500 mg de Benomyl en 1l de agua destilada estéril (Saparrat com. pers.).

Obtenidos los cultivos, se procedió a la obtención de cultivos puros mediante siembra de punta de hifa para posteriormente repicarlos en el medio de Nobles para el estudio de sus características macro y microscópicas durante 6 semanas considerando los aspectos descriptos - características hifales; presencia de estructuras formadas por diferenciación hifal; presencia de conidios, clamidosporas y oidios; color y textura de la capa miceliana; tipo de margen de la colonia; velocidad de crecimiento, entre otros - según las consideraciones de dicho autor (Nobles, 1958; 1965) como también de acuerdo con Stalper (1978) a fin de obtener el código de cada especie.

Respecto de la determinación de oxidasas - de importancia para identificar el tipo de pudrición que causa cada una de las cepas -, fue realizada del modo siguiente: cada cepa aislada - cultivo puro - fue cultivada en medio agar malta (AM) más el

agregado de ácido gálico (Acg) o tánico (Act). De acuerdo con esto, 20 g de agar y 15 g de malta fueron disueltos en 850 cc de agua posteriormente esterilizados en autoclave durante 20 minutos a 1.5 atm de presión. Cumplida esta etapa y constatado su enfriamiento, fueron incorporados 5 g de ácido - Act o Acg Biopack - disueltos en 150 cc de agua destilada estéril - ácidos y medio no pueden ser esterilizados en conjunto; ambos ácidos hidrolizan el agar del medio cuando está caliente -; el medio con Act adquirió apariencia blanco lechosa; aquel con Acg conservó su transparencia. Culminada la mezcla, ésta fue dispensada en cajas de Petri. Una vez solidificada, se procedió a la siembra de porciones de micelio cuidando que la mata miceliana quede bien adherida a la superficie del medio. Se trabajó con inóculo proveniente de cultivos de 1 mes de antigüedad, obtenido con sacabocado de 10 mm de diámetro; fueron realizadas 3 repeticiones por cepa fúngica en cada medio. Transcurridos 7 días de cultivo a temperatura ambiente (25°C) y luz difusa, fue constatada la presencia/ausencia de reacción para la totalidad de las cepas y sus repeticiones. De acuerdo con Davidson et al. (1938) los términos utilizados para su valoración fueron:

Ausente (-): reacción negativa; no se diferencia coloración castaña sobre el agar o debajo del micelio.

Muy débil (+): zona de difusión color castaño claro a oscuro, formada debajo del centro de la mata miceliana; sólo visible por el reverso de la caja. En caso de no producirse crecimiento, se observa una coloración castaña tenue debajo del inóculo.

Débil (++) : zona de difusión color castaño claro a oscuro, formada debajo de la mayor parte de la mata miceliana, pero sin extenderse hasta el margen; visible sólo por el reverso de la caja.

Moderadamente fuerte (+++): zona de difusión color castaño claro a oscuro extendiéndose a corta distancia del borde; visible por la parte superior de la caja.

Fuerte (++++): zona de difusión color castaño oscuro, opaca, extendiéndose a cierta distancia del borde; visible por la parte superior de la caja.

Muy fuerte (+++++) zona de difusión muy intensa, color castaño oscura, opaca, formando una corona ancha alrededor de la mata miceliana. En general tales reacciones intensas se producen en especies que no crecen sobre el medio de cultivo; además son más comunes cuando se utiliza el medio con ácido gálico.

2. - Identificación de las cepas xilófagas a partir de las características de la fructificación

Las características morfológicas de los basidiocarpos constituyen un aspecto importante para la identificación de los hongos xilófagos. Por esto, en laboratorio se procedió al estudio de las fructificaciones muestreadas tomando en consideración sus rasgos macroscópicos, entre otros: forma; tamaño; características del píleo; margen; contexto; himenóforo, como también microscópicos: características de las esporas; tipo de sistema hifal; tamaño y forma de los basidios; presencia/ausencia de cistidios, setas, clamidosporas, entre otros, según lo detallado y siguiendo a Robledo & Urcelay (2009).

Los rasgos microscópicos fueron identificados sobre cortes histológicos del contexto y de la capa de tubos realizados a mano alzada y posteriormente montados en diferentes reactivos químicos para la mejor observación de las estructuras constituyentes de cada basidiocarpo. Los reactivos utilizados fueron: **Floxina 1%**, de composición: 1 g de floxina en 100 ml de agua. Este reactivo fue utilizado para teñir las células vivas de rojo, de esta manera adquirieron contraste, se hicieron más visibles en el microscopio. **Hidróxido de Potasio (KOH)**, de composición: 5% de hidróxido de potasio en 100 ml de agua. El KOH fue utilizado para hidratar y aflojar las hifas y de este modo lograr que las estructuras microscópicas fuesen más visibles; por lo general se utilizó con floxina. **Reactivo de Melzer (IKI)**, de composición: yodo 0.5%; yoduro de potasio 1.5%; hidrato de cloral 22 g; agua 20 ml. Cuando una estructura - espora, basidio, cistidio, hifa, entre otras - viró a rojiza fue considerada dextrinoide; cuando lo hizo al azulado, fue considerada amiloide; cuando no reaccionó fue considerada IKI -. **Azul de algodón**, de composición: 0.1% de azul de algodón en 60% de ácido láctico y 40% de agua. Cuando determinada estructura microscópica - espora, basidio, cistidio, hifa, entre otros - se tiñó de azul fue considerada cianófila. Los estudios fueron realizados con microscopio HOKENN.

3. - Identificación a partir de estudios moleculares

Esta instancia fue llevada a cabo sólo con algunos de los cultivos, a fin de identificar o bien confirmar lo obtenido mediante los métodos convencionales descriptos. Dicha etapa fue realizada en el Laboratorio de Microbiología (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP). Se trabajó con cultivos puros. La extracción de ADN genómico total fue realizada siguiendo el protocolo Wizard Genomic DNA Purification Kit Promega. El ADN obtenido de cada cultivo fue cuantificado en base a la

comparación de su intensidad de banda con las del marcador molecular control (Genoma del fago Lambda digerido con Hind III - Promega Biotech). Las mismas se resolvieron por electroforesis en geles de agarosa 0.7% P/V suplementado con bromuro de etidio. Las bandas se visualizaron en un transiluminador de UV. Los geles se documentaron utilizando el analizador de imágenes Syngene y el software Genetools. Obtenido el ADN molde, se procedió con la amplificación de la región ITS (Internal Transcribed Space). La amplificación se realizó mediante la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) utilizando los primers *ITS4* e *ITS5*. Los geles se observaron y documentaron en un analizador GeneGenius (Syngene) y las bandas se procesaron mediante GeneSnaps, GeneTools y el software GeneDirectory (Syngene). Una vez visualizado el producto de PCR (tamaño, cantidad y pureza) a través de los geles de agarosa, el mismo se precipitó, lavó y se envió a Macrogen Inc. (Seúl, Corea del Sur), para que sea secuenciado.

4. - Conservación de cultivos y basidiocarpos

Las fructificaciones recolectadas e identificadas se procesaron a fin de lograr una correcta conservación. El procesamiento consistió en su secado en estufa a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 15 días y posterior freezado por 72 h previa colocación en bolsas de nylon - el frío esteriliza los materiales; mata a insectos y demás organismos resistentes al secado-, (Robledo & Urcelay, 2009). Realizado esto, fueron colocadas en sobres de papel con la etiqueta correspondiente y depositadas en el herbario del Instituto Spegazzini, Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP). Respecto de los cultivos, éstos fueron ingresados al cepario de dicha Institución.

RESULTADOS

Las especies fúngicas identificadas junto con el grupo funcional al que pertenecen, ubicación y forma bajo la cual se presentaron en sus hospedantes (indicando para éstos su condición y síntomas observados) se detallan en las tablas subsiguientes, agrupadas en base al tipo de pudrición que originan: blanca (Tabla 2) y castaña (Tabla 3).

A continuación, son descritos los rasgos culturales y /o de las fructificaciones que permitieron la identificación de cada una de las especies. Se anexan figuras (Anexo A) con las reacciones de oxidasas obtenidas para algunas de ellas.

Tabla 2. Especies responsables de pudrición blanca y hospedantes

Especie xilófaga grupo funcional /ubicación	Hospedante condición/síntomas
<i>Bjerkandera adusta</i> (Willd.:Fr.) P. Karst saprótrofo basidiocarpos y micelio en fuste	sauce (<i>Salix</i> sp.) ejemplar muerto en pie; leño: rasgos de pudrición blanca (Zabel & Morrell, 1992)
<i>Cerrena unicolor</i> (Bull.) Murrill saprótrofo basidiocarpos y micelio en ramas y fustes	arce (<i>Acer negundo</i> L.) ligustro (<i>Ligustrum lucidum</i> W.T Aiton) sauce (<i>Salix</i> sp.) ramas muertas de ejemplares en pie vivos (faltos de vigor) y muertos en pie, evidencias de ataque de <i>Tremex fuscicornis</i> (Fabricius)
<i>Funalia gallica</i> (Fr.) Bondartsev & Singer saprótrofo basidiocarpos en fuste	fresno dorado (<i>Fraxinus excelsior</i> "Aurea" L.) ejemplar muerto en pie; ausencia de madera podrida expuesta
<i>Ganoderma australe</i> (Fr.) Pat. parásito basidiocarpos en fuste (base)	tilo (<i>Tilia</i> sp.) ejemplares en pie vivos (aspecto vigoroso) hundimientos en base de fuste; ausencia de madera podrida expuesta
<i>G. resinaceum</i> Boud. parásito basidiocarpos en fuste (tercio medio e inferior) y en sistema radical; esporada abundante	almez (<i>Celtis australis</i> L.) arce (<i>A. negundo</i>) arce plateado (<i>A. saccharinum</i> L.) fresno americano (<i>F. pennsylvanica</i> Marsh.) ligustro (<i>L. lucidum</i>) plátano (<i>Platanus x acerifolia</i>) roble europeo (<i>Quercus robur</i> L.) ejemplares en pie vivos; aspecto vigoroso; hundimientos y abultamientos en base de fuste; raíz ejemplar volcado; ausencia de madera podrida expuesta
<i>Inocutis jamaicensis</i> (Murrill) Gottlieb Wright & Moncalvo parásito [= <i>Arambarria cognata</i> (Bres.) Rajchenb. & Pildain comb.nov.] basidiocarpos en fuste	eucalipto (<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.) ejemplares en pie vivos; poco vigorosos según apariencia; canchros, hundimientos en corteza; bolsas de quino
<i>Phellinus pomaceus</i> (Pers.) Maire parásito basidiocarpos en ramas muertas asociados a depresiones (3-5 cm diám.; constituidas por albura considerando evidencias de reacción frente a herida)	ciruelo (<i>Prunus cerasifera</i> var. <i>pissardii</i> (Carnière) Koehne) ejemplares en pie vivos (faltos de vigor), gomosis; rajaduras; depresiones; heridas; madera expuesta con pudrición blanca (Zabel & Morrell, 1992)
<i>Phlebia brevispora</i> Nakas. Nakas. & Esllyn saprótrofo micelio en ramas y fustes (base)	paraíso (<i>Melia azedarach</i> L.) ejemplares en pie cortados; ahuecamiento en fustes rodeados por leño castaño-oscuro, aspecto húmedo y moteado. ramas: leño aspecto fibrilar y consistencia corchosa; en ambos casos rasgos de pudrición blanca (Zabel & Morrell, 1992)
<i>Pycnoporus sanguineus</i> (L.) Murrill saprótrofo basidiocarpos en tocón y fustes	ligustro (<i>L. lucidum</i>) ejemplar en pie muerto eucalipto (<i>Eucalyptus</i> sp.) tocón; madera podrida expuesta con características de pudrición blanca (Zabel & Morrell, 1992)
<i>Rigidoporus ulmarius</i> (Sow.:Fr.) Imazeki parásito basidiocarpos en fuste	álamo (<i>Populus</i> sp.) ejemplares en pie vivos; asociado a ahuecamientos
<i>Schizophyllum commune</i> Fr. saprótrofo basidiocarpos en fuste	tilo (<i>Tilia</i> sp.) ejemplar muerto en pie; ausencia de madera podrida expuesta
<i>Tyromyces fissilis</i> (Berk. & Curtis) Donk parásito basidiocarpos base de fuste	tilo (<i>Tilia</i> sp.) ejemplar en pie vivo; ausencia de madera podrida expuesta

Tabla 3. Especie responsable de pudrición castaña y hospedantes

Especie xilófaga grupo funcional	Hospedante condición/síntomas
<i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.) Murrill parásito	álamo plateado (<i>P. alba</i> L.) eucalipto (<i>E. tereticornis</i> Sm.)
basidiocarpos en fustes-ramas primeros ordenes sobre madera podrida expuesta o bien bajo la forma de micelio en ambos casos en duramen	falsa acacia (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.) fresno americano (<i>F. pennsylvanica</i>) paraíso (<i>M. azedarach</i>) tilo "moltkei" [<i>Tilia x viridis</i> (Bayer) Simonk. subsp. <i>moltkei</i> (Dippel) Xifreda]
	ejemplares en pie vivos; madera podrida expuesta: patrón de fractura cúbico; evidencias de poda de ramas que exponen duramen (> 10 cm diam. aprox.) ejemplares volcados; leño castaño rojizo, fractura cúbica

Hongos de pudrición blanca. Características culturales y de la fructificación

Bjerkandera adusta (Willd.:Fr.) P. Karst

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Meruliaceae, Bjerkandera (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

Características culturales, ver: Nobles (1965); Deschamps & Wright (1976); Stalpers (1978). Código de la especie: 2.3.7.(26).(34).35.36.38.40.42.50.54.55 (Deschamps & Wright, 1976). La identificación fue confirmada mediante estudios moleculares.



Figura 1a. *Bjerkandera adusta*.

Características culturales. Fotos 1-3: hifas con ensanchamientos vesiculosos (precursores clamidosporas). Foto 4: clamidospora. Fotos 5: hifa generativa. Foto 6: artrosporas.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: anual; sécil; pileado a efuso reflejo, rara vez resupinado; a menudo imbricado; aplanado (Figura 1b, foto: 1); medidas, de hasta 3 x 6 x 0.6 cm. **Pileo:** superficie glabra, suave al tacto; crémea a grisácea, se oscurece hacia el margen; azonada a concéntricamente zonada, muy débilmente. **Margen:** agudo, se incurva al secarse (Figura 1b, foto: 2); castaño. **Contexto:** blanco a crémeo; fibroso; azonado; de hasta 5 mm de espesor (Figura 1b, fotos: 2, 3). **Himenóforo:** poroide; grisáceo a negruzco. **Poros:** circulares a angulares; irregulares, de aspecto laberintiforme, también fueron observados (Figura 1b, fotos: 4, 5); 6-7/mm.

Características microscópicas

Sistema hifal: monomítico; IKI-. Hifas generativas fibuladas; hialinas; paredes delgadas; otras amarillentas; paredes engrosadas; de 2.5-6.5 μm (Figura 1b, foto: 6).

Cistidios: ausentes. **Basidios:** clavados; 4-sterigmas; de 10.5-16 x 4-5.5 μm ; fibulados (Figura 1b, foto: 7). **Basidiosporas:** elipsoidales, cilíndricas; hialinas; lisas; paredes delgadas; de medidas 4-5 x 1.5-3 μm ; IKI-. **Clamidosporas:** ausentes.

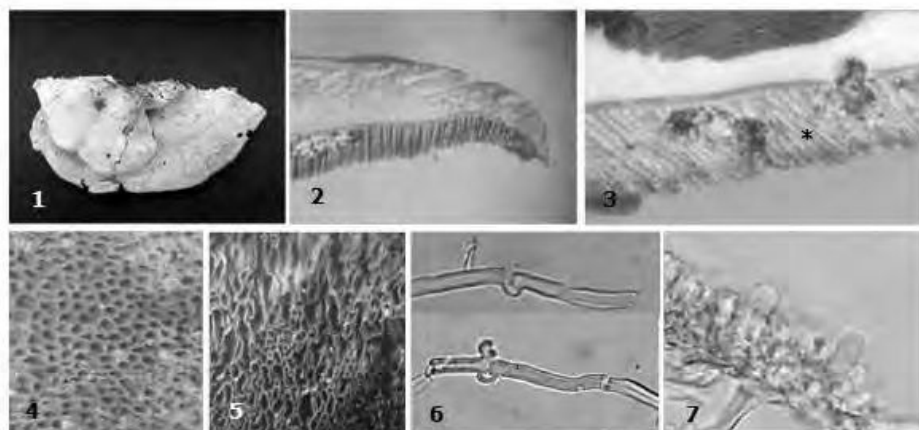


Figura 1b. *Bjerkanthera adusta*.
Rasgos macro y microscópicos de la fructificación.

Material examinado: Argentina. Reserva Punta Lara, sendero El Chiricote (Buenos Aires), M. L. Luna, 16/08/2016, sobre: fuste de árbol muerto en pie de *Salix* sp., LPS 49108; LPSC 1387.

Observaciones: el ennegrecimiento de sus tubos, el contexto blanco fibrilar y las anchas hifas contextuales, de pared engrosada y con grandes fíbulas, facilitaron el diagnóstico, en correspondencia con lo citado por Ryvarden & Johansen (1980, tomado de Mycobank). **Distribución y hospedantes:** ver Rajchenber & Robledo (2013).

***Cerrena unicolor* (Bull.) Murrill**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Polyporaceae, *Cerrena* (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

Características culturales, ver: Nobles (1965). Código de la especie: 2.3.8.32.36.38.40.42.43.53.54.59. (este último no determinado). Se confirmó la identificación mediante estudios moleculares.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: perenne; pileado, demediado, efuso-reflejo a resupinada; a menudo imbricado con muchos pileos reflexos desde una base efusa común (Figura 2a, foto: 1); medidas 7 x 10 x 0.5 cm o mayor; rígido a corchoso. **Píleo:** aplanado; densamente tomentoso a hirsuto; concéntricamente zonado en tonos blancos en los márgenes a grisáceo o bien marrón claro hacia la base, a menudo con coloraciones verdosas por la presencia de algas. **Margen:** agudo y suavemente lobado. **Contexto:** blanco y delgado; de más de 2 mm de espesor; separado del tomento del píleo por una delgada línea negra (Figura 2a, foto: 2). **Himenóforo:** poroide; blanco a gris claro ceniciento. **Poros:** elongados a sinuosos, laberintiformes; 2-3/mm - medidos tangencialmente -, más grandes en especímenes viejos; concoloros con el himenóforo; de más de 5 mm de longitud.

Características microscópicas

Sistema hifal: trimítico; IKI-; hifas generativas contextuales de paredes delgadas; fibuladas; de 2-4 μm de diámetro (Figura 2a, foto: 3); esqueletales contextuales de pared engrosada; sin septos; 2.5-5 μm de diámetro; ligadoras de pared engrosada; sin septos; de 2-4 μm de diámetro. **Cistidios:** fusoides; de pared delgada; 16-20 x 4-6 μm ; fibulados (Figura 2a, fotos: 4, 5). **Basidios:** clavados; 4-esterigmas; de 20-25 x 5-6 μm ; fibulados (Figura 2a, foto: 6). **Basidiosporas:** elipsoidales, cilíndricas; hialinas; lisas; de medidas 5-7 x 2.5-4 μm ; IKI-. Extremos hifales cistidiales en himenios viejos y disepimentos; clavados en los extremos; con pared engrosada que se adelgaza hacia el ápice; de medidas 2-3 μm de diámetro y 46 μm de longitud (Figura 2a, foto: 7). **Clamidosporas:** ausentes.

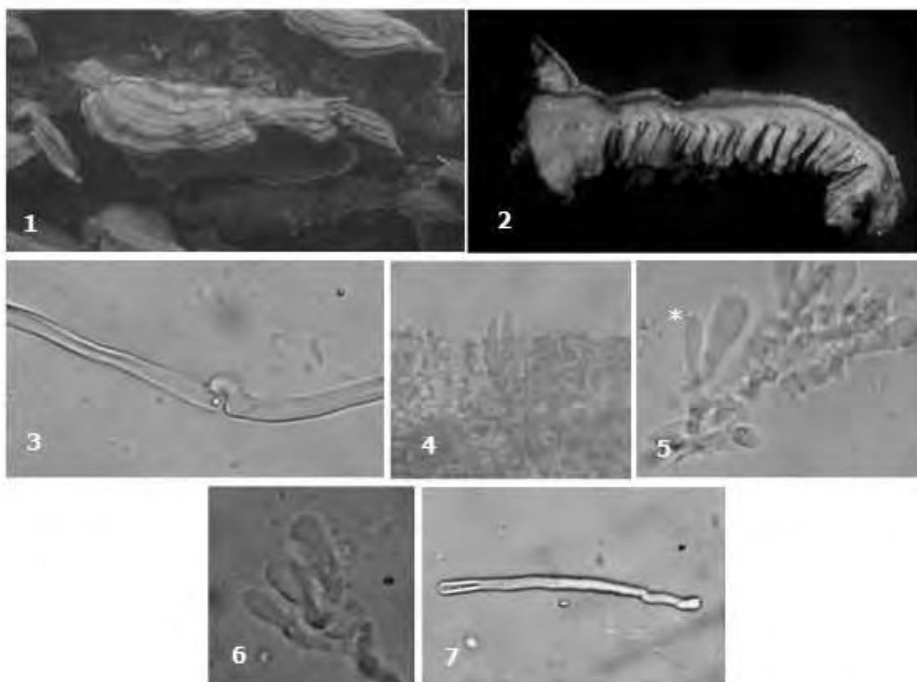


Figura 2a. *Cerrena unicolor*.
Rasgos macro y microscópicos de la fructificación.

Material examinado: Argentina, ciudad de La Plata (Buenos Aires), N. Acosta & M. Murace, 16/02/2014, sobre: rama muerta de árbol vivo, con aparente falta de vigor, de *Acer negundo*, LPS 49100; sobre: ejemplar muerto en pie de *Salix* sp., LPS 49107 (Figura 2b). Berisso, calle Montevideo (Buenos Aires), N. Acosta, 20/02/2014, sobre: rama muerta *Salix* sp., LPS 49106; La Plata, M. Murace, 2/03/2014, sobre: ejemplar muerto en pie de *Ligustrum lucidum*, LPS 49105. La totalidad de los ejemplares evidenciaron ataque de *Tremex fuscicornis* (avispa de la madera de las latifoliadas).



Figura 2b. *Cerrena unicolor* asociado a orificio de emergencia (flecha) de *T. fuscicornis* sobre ejemplar de sauce muerto en pie.

Observaciones: los basidiomas de esta especie fueron fácilmente identificados debido a su píleo hirsuto, la línea negra del contexto y al himenóforo laberintiforme en correspondencia con lo descrito por Ryvar den & Gilbertson (1993, tomado de Mycobank). Las evidencias de ataque de la avispa de la madera también contribuyeron con el diagnóstico debido a la simbiosis conocida entre ambas especies, citada entre otros por Landi et al. (2011). **Distribución y hospedantes:** ver Landi et al. (2011).

***Funalia gallica* (Fr.) Bond. & Sing.**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Polyporaceae, *Funalia* (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

No fue realizado. Se trabajó sólo con la fructificación.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: anual; sésil; pileado a efuso-reflejo; aplanado; anchamente adherido; solitario o en grupos; de hasta 5 x 14 x 2 cm (Figura 3a, fotos: 1 a 5). **Pileo:** superficie pilosa, hirsuta a hispida en la base que disminuye hacia el margen; castaño oscuro cuando fresca; zonada en tonos grisáceos y castaño claros cuando madura (Figura 3a, foto: 4). **Margen:** delgado y agudo, castaño claro. **Contexto:** castaño oscuro; azonado; de hasta 1 cm de grosor; oscureciéndose hasta tornarse casi negro con solución de KOH. Capa de tubos blanquecina a grisácea, de hasta 8 mm de grosor. **Himenóforo:** tubular, con tubos desigualmente hundidos en el contexto, 1-20 mm de largo, disminuyendo de tamaño hacia el margen, superficialmente blanquecinos. **Poros:** castaños claros a castaños grisáceos (Figura 3a, foto: 5); circulares, ovalados, ligeramente angulares a laberintiformes; 1-2/mm; de bordes enteros (Figura 3b, foto: 1).



Figura 3a. *Funalia gallica*.
Rasgos macroscópicos de la fructificación.

Características microscópicas

Sistema hifal: trimítico, IKI-. Hifas generativas con fíbula, hialinas; de paredes delgadas; de hasta 2.5 μm de diámetro. Hifas esqueléticas castañas a castañas amarillentas; de paredes engrosadas a macizas; de hasta 5 μm de diámetro (Figura 3b, foto: 2). Hifas ligadoras castaño amarillentas; de paredes engrosadas; de hasta 3 μm de diámetro (Figura 3b, foto: 3). **Cistidios:** ausentes. **Basidios:** clavados; 15-30 x 4-5 μm . **Basidiosporas:** cilíndricas; levemente curvadas; 10-13 x 3-4 μm ; lisas; hialinas; de pared delgada (Figura 3b, foto: 4); IKI-. **Clamidosporas:** ausentes.



Figura 3b. *Funalia gallica*.
Rasgos microscópicos de la fructificación.

Material examinado: Argentina, ciudad de La Plata (Buenos Aires), M. Murace & M. G. G. Ciuffani, 02/02/2012, sobre: fuste de ejemplar muerto en pie, de *Fraxinus excelsior* "Aurea" (Figura 3a), LPS 49116.

Observaciones: la fructificación aplanada con un delgado contexto castaño oscuro permitió identificar a esta especie en correspondencia con lo citado por Robledo & Urcelay (2009). **Distribución y hospedantes:** ver Rajchenber & Robledo (2013).

***Ganoderma australe* (Fr.) Pat.**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

En esta instancia sólo se trabajó con el basidioma.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: perenne; firme, leñoso; sésil; pileado a efuso-reflejo; anchamente adherido al sustrato; aplanado a ungulado; generalmente solitario; de hasta 30 x 18 x 13 cm (Figura 4, fotos: 1 a 3). **Píleo:** superficie glabra; con laca menor a 1 mm de espesor; concéntricamente ondulada que se resquebraja concéntrica y radialmente; a menudo tuberculada; castaña a castaña grisácea. **Margen:** redondeado; blanco a crémeo. **Contexto:** castaño oscuro; azonado; ausente entre las capas de tubo de cada año; de hasta 1 cm de grosor. **Himenóforo:** tubular. **Poros:** blancos cuando frescos (Figura 4, foto: 3) tornándose castaños cuando se los toca y castaño claro cuando maduran; circulares a levemente irregulares; 3 a 5/mm; de borde entero; de entre 150-300 µm de diámetro; disepimentos 100-150 µm; rellenos de micelio blanco (Figura 4, foto: 4). Capa de tubos castaña, más clara que el contexto; de hasta 3 cm de grosor.

Características microscópicas

Sistema hifal trimítico; IKI-. Hifas generativas con fíbula; hialinas; de paredes delgadas; 2.5-3.5 µm de diámetro. Hifas esqueléticas (he) principalmente esqueleto-ligadoras; profusamente ramificadas, tipo arboriforme, tortuosas; castaño oscuras a amarillentas; de paredes engrosadas; 5-7 µm de diámetro, a levemente menor (Figura 4, fotos: 5, 6). Hifas ligadoras (hl) castaño claras a castaño amarillentas - podrían interpretarse como ramificaciones de las esqueléticas -; de 2.5-3.5 µm de diámetro (Figura 4, foto: 5). **Cistidios:** ausentes. **Basidios:** clavados; 12-15 x 8-12 µm. **Esporas:** ovoides, truncadas en el ápice; 9.2-11.5 x 4.6-6.9 µm; castaño claras a castaño amarillentas; con dos paredes interconectadas con pilares que le dan la apariencia de ornamentadas o reticuladas; IKI-.

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires), M. Murace & M. G. G. Ciuffani, 20/02/2012, sobre: *Tilia* sp. (Figura 4, fotos: 1 a 3), LPS 49115.



Figura 4. *Ganoderma australe*.
Características macro y microscópicas de la fructificación.

Observaciones: a pesar de la gran variabilidad morfológica que presenta la fructificación, esta especie se caracteriza por la dura laca castaña que recubre la superficie del píleo y por la superficie de los poros que blanca cuando fresca, se oscurece inmediatamente al contacto con cualquier elemento. Las características observadas y descriptas coinciden con lo aportado por Robledo & Urcelay (2009) excepto por el espesor de la laca; además se encontraron diferencias en torno a las hifas esqueléticas, las que en este caso se considera oportuno describirlas como esqueleto-ligadoras, predominantes en el contexto. En cuanto a las ligadoras, fueron visualizadas predominantemente en el micelio blanco de los tubos, a modo de estructuras hialinas, delicadas, angostas, de hasta 2-3 μm espesor, de paredes engrosadas y profusamente ramificadas en coincidencia con Ryvarden et al. (1980; 2004, tomado de Mycobank). Las características aportadas por los autores primeramente mencionados para este tipo de hifas podrían ser consideradas para los fragmentos de las ramificaciones de las esqueleto-ligadoras, las que, se adelgazan y aclaran hacia los extremos y en muchos casos se presentan tortuosas. **Distribución y hospedantes:** ver Rajchenberg & Robledo (2013).

***Ganoderma resinaceum* Boud.**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Ganodermataceae, Ganoderma (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

Características culturales, ver: Bazzalo & Wright (1982). Código de la especie: 2.3.8.10.34.36.37.39.(42).54. La identificación de esta especie fue confirmada mediante estudios moleculares.

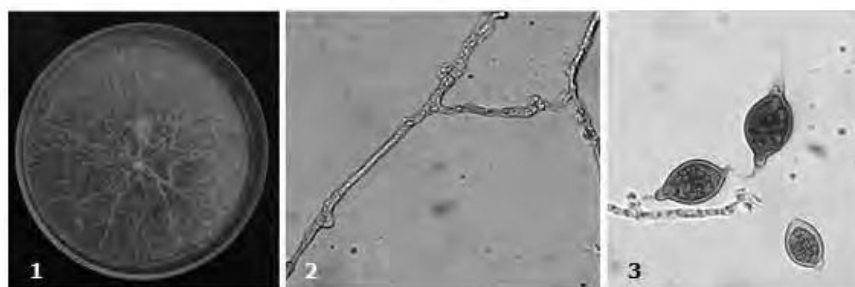


Figura 5a. *Ganoderma resinaceum*.
Características culturales. Foto 1: colonia (4 semanas). Foto 2: hifas generativas. Foto 3: clamidosporas.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: anual; leñoso; demediado – anchamente adherida al sustrato -, reniforme, circular, espatulado o ungulado; solitario o en grupos, imbricados, muchas veces varios píleos lateralmente confluentes, con pseudo-estípites libres o fusionados en uno; sésil, sub-estipitado; de medidas 3.5-55 x 3-18 x 1-8 cm (Figura 5b, foto: 1). **Píleo:** superficie aplanada, cóncava o más o menos infundibuliforme; lisa, irregularmente rugosa y concéntricamente surcada, radialmente rugosa o fuertemente tuberculosa; laqueada, brillante o mate cuando cubierta por una abundante capa de esporas, rojizo castaños; zona central marrón amarillenta, muy clara en especímenes jóvenes, oscureciéndose con la edad, desde el centro hacia los márgenes, con una ancha banda color crema marginal; en los especímenes maduros no existe tal gradiente, la superficie se torna marrón rojizo oscuro o marrón rojizo claro, homogéneo. **Margen:** estéril; grueso; recto, curvado o incurvado; amarillo crema, blanco amarillento en especímenes en activo crecimiento y marrón rojizo oscuro en maduros. **Pseudo-estípite:** lateral o central; muy corto a largo; delgado a grueso; negro, laqueado, brillante de 4-7 cm de longitud y 2-5 cm de ancho, muchas veces

rudimentario; sección delgada a gruesa engrosándose hacia la base, de 1-4 cm en la mitad del radio. **Dermis:** de 13-43 μm de espesor. **Contexto:** corchoso y blando o duro y leñoso; 2-5 cm de espesor; uniformemente marrón o con una delgada banda más oscura por encima de los tubos. **Himenóforo:** poroide; blanco a amarillento transformándose en marrón oscuro cuando viejo; con un estrato de tubos decurrente sobre el tronco; 5-15 mm de longitud; suavemente más claro que el contexto. **Poros:** circulares; grandes a medianos, 2-5/mm; de 89-309 μm de diámetro; disepimientos de 27-267 μm de ancho (Figura 5b, foto: 2).

Características microscópicas

Sistema hifal: trimítico, IKI-. Hifas generativas de pared delgada; fibuladas; con septos restringidos a la fíbula; de 1-6 μm de diámetro; ramificadas; abundantes en el margen de crecimiento del píleo y disepimientos. Hifas esqueléticas tipo *arboriforme*; sin fíbula; aseptadas; con una gruesa pared dorada; con pocas ramificaciones limitadas al extremo distal; de 3-8 μm de diámetro (Figura 5b, foto: 3). Hifas ligadoras tipo *bovista*; sin fíbula; aseptadas; de crecimiento limitado; pared gruesa, más delgada y pálida que la pared de las esqueléticas; muy ramificadas; de 1-4 μm de diámetro; solo presentes en el contexto (Figura 5b, foto: 4). **Cistidios:** ausentes. **Basidios:** globosos-sub-globosos; de 7-14 x 8-20 μm ; colapsan rápidamente. **Basidiosporas:** lisas; ovoides, con el ápice truncado; 9-13 x 5-8 μm ; castaño claras a castaño amarillentas; con dos paredes interconectadas con pilares que le dan la apariencia de ornamentadas o reticuladas, IKI- (Figura 5b, fotos: 5, 6). **Clamidosporas:** ausentes. **Himenodermis:** compuesta de elementos claviformes con lumen escaso y extremo redondeados, originándose desde las hifas esqueléticas y organizadas como en himenio; 7-16 μm de diámetro (Figura 5b, fotos: 7, 8).

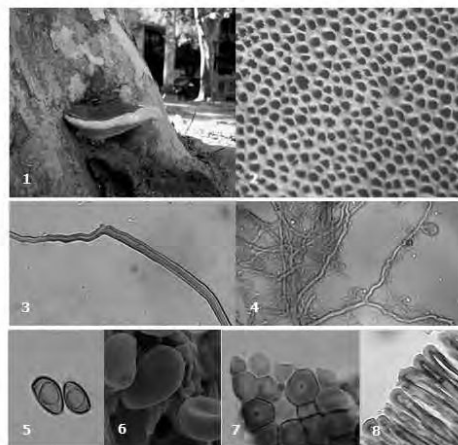


Figura 5b. *Ganoderma resinaceum*.
Rasgos macro y microscópicos de la fructificación.

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires), M. Murace & M. G. G. Ciuffani, 20/03/2009, sobre: ejemplar en pie, vivo de: *Acer saccharinum*, LPS 49099; *Celtis australis*, LPS 49101; *Ligustrum lucidum*, LPS 49103; *Platanus x acerifolia*, LPS 49118. Los Robles 71, Country Abril, Hudson (Bs. As.), M. Murace, 30/04/2012, sobre: *Quercus robur*. La Plata, M. Murace, 15/12/2016, sobre: *Acer negundo* (Figura 5c), LPSC 1389; La Plata, M. Murace, 2017, sobre: *Fraxinus pennsylvanica*, LPS 49120.



Figura 5c. *Ganoderma resinaceum* sobre *Acer negundo*.

Observaciones: la superficie del píleo cubierta por una laca rojiza brillante hizo a esta especie inconfundible. Lo observado se corresponde con lo citado por Bazzalo & Wright (1982) y Robledo & Urcelay (2009). A nivel microscópico las características células del cutis o himenodermis y la presencia de abundantes clamidosporas en cultivo permitieron la identificación y diferenciarla de otras especies en correspondencia con los antecedentes registrados: Ibáñez (1995); Gottlieb & Wright (1999). *Ganoderma* posee una amplia distribución mundial; este género fue citado en áreas templadas y tropicales de Europa, Asia y América principalmente sobre latifoliadas ya sea vivas, muertas en pie o en tocones. En nuestro país fue citada en iguales condiciones del sustrato, éstos pertenecientes a especies nativas y exóticas (Bazzalo & Wright, 1982; Robledo & Urcelay, 2009; Urcelay et al., 2012). **Distribución y hospedantes:** ver Rajchenberg & Robledo (2013).

***Inonotus rickii* (Pat.) D.A. Reid**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Hymenochaetales, Hymenochaetaceae, Inonotus (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

Características culturales, ver: Wright & Iaconis (1955). Código de la especie: 2.6.8.18.34.37.39.46.47.53.54. La identificación de la especie fue confirmada mediante estudios moleculares.

Fase anamórfica (clamidocarpo: *Pythogaster cubensis*) se desarrolla como una masa en forma de cojín, de hasta 20 x 25 x 15 cm, color marrón, textura suave, aterciopelada, húmeda, con exudados y consistencia carnosa (Figura 6b, fotos: 1,2); con el paso del tiempo, dicha estructura se torna seca y firme, fragmentándose en trozos de aspecto fibrilar, desmenuzables entre los dedos, producto de la formación de abundantes clamidosporas de forma globosa, color marrón a marrón amarillento, de medidas aproximadas 11 x 10 µm (Figura 6b, fotos: 3,4).

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires). M. Murace & M. G. G. Ciuffani, 20/03/2013, sobre: fuste de ejemplar en pie, muerto, de *Acer negundo* (Foto 6d), LPS 49114; M. Murace & M. G. G. Ciuffani, 04/12/2013, sobre: rama de árbol debilitado, falto de vigor, de *A. negundo*, LPSC 1386.



Figura 6a. *Inonotus rickii*.
Características culturales. Foto 1: hifa setal (hs); clamidosporas (cl).
Foto 2: detalle hifa setal. Foto 3: hifa fibrosa (hf).



Figura 6b. *Inonotus rickii* en *Acer negundo*.

Observaciones: para nuestro país, existen registros de su presencia en tala, visco, aguaribay, palo borracho, mora, sófora (Urcelay et al., 2012). Durante el desarrollo de esta investigación fue observado en ejemplares de olmo y braquiquito. **Distribución y hospedantes:** ver Rajchenberg & Robledo (2013).

***Phellinus pomaceus* (Pers.) Maire**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Hymenochaetales, Hymenochaetaceae, Phellinus (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

Características culturales, ver: Nobles (1965, como *Fomes pomaceus*). Código de la especie: 2.6.8.26.32.37.38.39.44.46.50.54; Deschamps & Wright (1976): 2.6.8.(10).32.37.39.47.51.54. La identificación de esta especie fue confirmada mediante estudios moleculares.

B. Características de la fructificación

Basidioma: perenne; sésil o efuso-reflejo. **Píleo:** ungulado; solitario o imbricado (Figura 7a, foto: 1); de 5 x 5 x 6 cm; superficie, inicialmente marrón gris claro, lisa, suavemente tomentosa tornándose ennegrecida, rimosa y glabra. **Margen:** redondeado; marrón claro. **Contexto:** marrón amarillento a marrón rojizo; brillante; zonado; leñoso; de más de 1 cm de espesor. **Himenóforo:** poroide; amarillo claro a marrón rojizo; estrato de tubos concoloros; estratificados; tubos blanquecinos en su interior. **Poros:** circulares; 7-9/ mm; disepimientos enteros y gruesos (Figura 7a, foto: 2).

Características microscópicas

Sistema hifal: dimítico; IKI-. Hifas generativas del contexto hialinas; paredes delgadas; simple septo; de 2-3 µm de diámetro; hifas tramales similares; algunas con pared delgada marrón pálido a hialinas. Hifas esqueléticas del contexto marrones en KOH; pared engrosada; ramificación frecuente o escasa; septo simple; de 2.5-5.5 µm de diam. (Figura 7a, fotos: 6, 7). **Cistidios:** ausentes. **Setas:** raras; subuladas a ventricosas; pared engrosada; 14-25 x 4.5-7 µm (Figura 7a, foto: 3). **Basidios:** clavados; 4-esterigmas; 10-13 x 5-5.6 µm; simple septo basal. **Basidiosporas:** ovoides a elipsoidales; hialinas; lisas; pared engrosada; IKI-; de 4-5 x 3-4.5 µm (Figura 7a, fotos: 4, 5). **Clamidosporas:** ausentes.

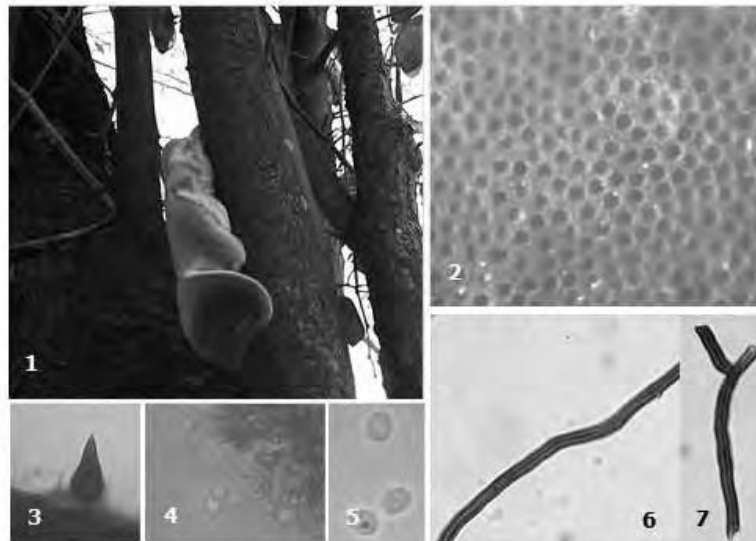


Figura 7a. *Phellinus pomaceus*.
Rasgos macro y microscópicos de la fructificación.

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires). M. Murace & M. G. G. Ciuffani, 04/12/2014, sobre: ejemplar en pie, vivo de *Prunus ceracifera* var. *pissardii* (Figura 7b), LPS 49109 como *P. tuberculosus*.



Figura 7b. *Phellinus pomaceus* en *Prunus ceracifera*.

Observaciones: los caracteres observados coinciden con lo descrito por Ryvarden & Gilbertson (1994, tomado de Mycobank), excepto en torno a la cantidad de poros por mm - en este caso fue menor: 5-6 - y en cuanto al tamaño de las esporas - en este caso fue mayor: $4.6-6.9 \times 4.6-6.9 \mu\text{m}$ -, características que coinciden con Niemella (1977, tomado de Mycobank). *P. pomaceus* está ampliamente distribuida en Europa; especie circunpolar y probablemente presente donde ocurren las especies nativas de *Prunus*; responsable de pudrición blanca de duramen en árboles frutales en pie vivos (Ryvarden & Gilbertson, 1994, tomado de Mycobank). **Distribución y hospedantes:** ver Rajchenberg & Robledo (2013).

***Phlebia brevispora* Nakas. Nakas. & Eslyn**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina; Agaricomycetes, Polyporales, Meruliaceae, *Phlebia* (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

Características culturales, ver: Nakasone & Eslyn (1981); Nakasone et al. (1982); Nakasone (1990). Código de la especie: 2.4.13.14.21.(27).33.34.36.40.41. 48.54.55.59 (este último no determinado). La identificación de esta especie fue realizada mediante estudios moleculares realizados con cultivos obtenidos de micelio recuperado de madera de ejemplar volcado. No fueron observados basidiomas.



Figura 8. *Phlebia brevispora*.

Características culturales. Foto 1: clamidospora. Foto 2: blastoconidios.

Foto 3: extremo hifal clavado. Foto 4: hifas sumergidas.

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires). M. Murace & M. G. G. Ciuffani, 04/02/2014, sobre: fuste de ejemplar volcado de *Melia azedarach*, LPSC 1391.

Observaciones: saprótrofa; causante de pudrición blanca en postes de angiospermas y gimnospermas; citada principalmente en postes telefónicos de pino (Nakasone & Eslyn, 1981). Por su parte Suhara et al. (2002) citan a esta especie asociada a pudriciones de la base del fuste de *Chamaecyparis obtusa* (Sieb. & Zucc.) Endl. (ciprés japonés), patogenicidad no comprobada. **Distribución y hospedantes:** Suhara et al. (2002) aportan el primer registro para Japón, fuera de su acotada área de distribución -sudeste de USA: Florida. Illinois, Louisiana, Maryland, Mississippi, Oklahoma, South Carolina y Virginia-, (Nakasone & Eslyn, 1981).

***Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Polyporaceae, Pycnoporus (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

No fue realizado. Se trabajó sólo con la fructificación.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: anual; sésil; pileado; aplanado, semicircular, anchamente adherido o demediado, en grupos pocos numerosos; rojo-anaranjado a bermellón; delgado; coriáceo cuando fresco tornándose bastante duro al secarse; medidas de hasta 5 x 6 x 1 cm. **Píleo:** superficie glabra; color naranja, ocasionalmente rojiza, aclarándose con la edad; azonada. **Margin:** redondeado. **Contexto:** naranja pálido; zonado; de hasta 7 mm de grosor; oscureciéndose - no intensamente - con KOH. **Himenóforo:** tubular, con los tubos en un solo estrato; de 0.2 a 0.3 mm; anaranjado. **Poros:** circulares a angulares (Figura 9a, foto: 1); concoloros o más oscuros que la superficie del píleo; más pequeños hacia los bordes; 4 a 6/mm; disepimentos gruesos; color anaranjado oscuro.

Características microscópicas

Sistema hifal: trimítico, IKI-. Hifas generativas con fíbulas; hialinas de paredes delgadas, 2-3 μm de diam. Hifas esqueléticas (he) amarillentas; no muy abundantes; de pared engrosada, 2-6 μm (Figura 9a, foto: 2). Hifas ligadoras (hl) hialinas a amarillentas; de paredes engrosadas o generalmente macizas; muy ramificadas; 1-3 μm (Figura 9a, foto: 3). **Basidios:** clavados; 10-13 x 3-5 μm . **Basidiosporas:** cortamente cilíndricas; lisas; hialinas; inamiloides; 4-5 x 2-3 μm ; de pared delgada (Figura 9a, foto: 4). **Clamidosporas:** ausentes.

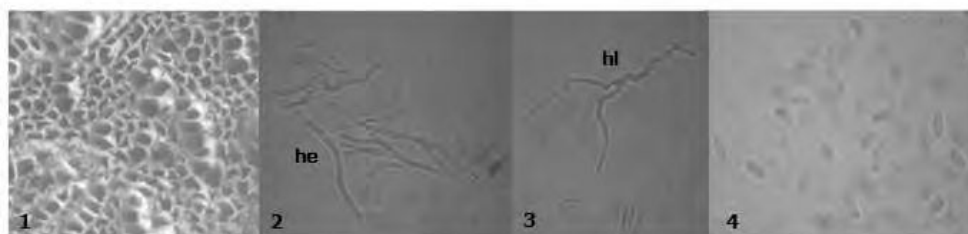


Figura 9a. *Pycnoporus sanguineus*.
Rasgos microscópicos de la fructificación.

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires). M. Murace, 04/12/2014, sobre: ejemplar en pie, muerto de *L. lucidum* 49123; LPS; M. Murace & M. G. G. Ciuffani, sobre: tocón de *Eucalyptus* sp. LPS 49122 (Figura 9b).



Figura 9b. *Pycnoporus sanguineus* en tocón de *Eucalyptus* sp. asociado a madera blanquecina, fibrilar, consistencia corchoza y «zones line».

Observaciones: la forma demediada y el color rojo-anaranjado de la fructificación tornaron a esta especie inconfundible. **Distribución y hospedantes:** ver Rajchenberg & Robledo (2013).

***Rigidoporus ulmarius* (Sow.:Fr.) Imazeki**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Meripilaceae, Rigidoporus (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

No fue realizado. Se trabajó sólo con la fructificación.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: perenne; sésil; pileado, anchamente adherido al sustrato a efuso-reflejo, aplanado; de hasta 6 cm de espesor y 30 cm de largo; frecuentemente solitario; corchozo cuando fresco y leñoso, duro al secarse **Píleo:** superficie crémea a rosácea desteñida; glabra a finamente tomentosa; lisa o tuberculada; azonado o concentricamente surcado. **Margen:** grueso, redondeado, notablemente recurvado cuando seco. **Contexto:** crémeo, blanquecino cuando seco; fibroso a firme, endurecido; azonado/zonado; myor a 5 cm de espesor. **Himenóforo:** poroide; color avellana a la madurez; capa de tubos no estratificada; concolora con la superfiie de los proros. **Poros:** circulares a angulares; 5 a 8 /mm; disepimentos enteros (Figura 10a, foto: 1).

Características microscópicas

Sistema hifal: monomítico, IKI-. Hifas generativas con septos simples, hialinas, de pared delgada a engrosada; raramente ramificadas; de 3-4 μm (Figura 10a, foto: 2).

Cistidiolas: hialinas; pared delgada (Figura 10a, foto: 3). **Basidios:** clavados; 14-21 x 10-11 μm . **Basidiosporas:** globosas a subglobosas; 7-11 x 7-10 μm ; lisas; hialinas; de pared delgada a ligeramente engrosadas; frecuentemente con gotas de lípidos; IKI - (Figura 10a, foto: 4).



Figura 10a. *Rigidoporus ulmarius*.
Rasgos microscópicos de la fructificación.

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires). M. Murace, 04/03/2016, sobre: ejemplar en pie, vivo, de *Populus* sp. (Figura 10b), LPS 49113.



Figura 10b. *Rigidoporus ulmarius* en *Populus* sp.

Observaciones: el endurecimiento notable del basidioma y el color avellana del himenóforo, contrastante con el color blanquecino del contexto, facilitó su identificación. **Distribución y hospedantes:** ver Rajchenberg & Robledo (2013).

***Schizophyllum commune* Fr.**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Agaricomycetidae, Agaricales, Schizophyllaceae, Schizophyllum (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

No fue realizado. Se trabajó sólo con la fructificación.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: anual; sésil; pileado, en ocasiones efuso-reflejo o resupinado; aplanado; flaveliforme; solitario o en grupos imbricados; de hasta 5 x 6 x 0.3 cm (Figura 11, fotos: 1 a 3). **Píleo:** superficie vilosa; gris cenicienta a blanquecina; concéntricamente zonada y radialmente surcada. **Margen:** agudo, desflecado, hendido; concoloro con la superficie del píleo; incurvado. **Contexto:** grisáceo; muy delgado, de hasta 1 mm de grosor. **Himenóforo:** sin poros; con láminas concoloras con la superficie del píleo, con bordes que se dividen en dos a lo largo y se incurvan hacia la superficie del píleo.

Características microscópicas

Sistema hifal: monomítico, IKI-. Hifas generativas fibuladas; muy variables: desde hialinas con paredes delgadas hasta castaño amarillentas con paredes engrosadas; hasta 6 µm de diámetro. **Cistidios:** ausentes. **Basidios:** clavados; 15-20 x 5-7 µm. **Basidiosporas:** cilíndricas; 4-7 x 2-3 µm; lisas; hialinas; de paredes delgadas; IKI-. **Clamidosporas:** ausentes.



Figura 11. *Schizophyllum commune* en *Tilia* sp.

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires). M. Murace, 10/03/2015, sobre: ejemplar en pie, muerto de *Tilia* sp; LPS 49121 (Figura 11).

Observaciones: *Schizophyllum commune* es fácilmente identificable por sus laminillas.

***Tyromyces fissilis* (Berk. & Curtis) Donk**

[= *Aurantiporus fissilis* (Berk. & M.A. Curtis) H. Jahn ex Ryvarden]

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Polyporaceae, *Tyromyces* (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

No fue realizado. Se trabajó sólo con la fructificación.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: anual; pileado, anchamente adherido al sustrato; aplanado a semi ungulado; triquero en sección; solitario o en grupos imbricados; de más de 10 cm de ancho, 20 de largo y 5 de espesor (Figura 12b, fotos: 1 a 3). **Píleo:** superficie azonada; híspida a tomentosa; crémea, gris o castaña cuando seca. **Margen:** redondeado o agudo; delgado o grueso. **Contexto:** blanco o bien amarillento naranja cuando seco; 4-20 mm de espesor. **Himenóforo:** poroide; superficie de los poros blanca cuando fresca, a menudo con tintes rosados; ocre cuando seca. **Poros:** circulares a angulares; 2-3/mm; disepimientos enteros o lacerados (Figura 12b, foto: 4).

Características microscópicas

Sistema hifal: monomítico, IKI-. Hifas generativas fibuladas; hialinas; con paredes delgadas a gruesas; hasta 6 µm de diámetro (Figura 12b, foto: 5); frecuentemente con diminutos cristales (Figura 12b, fotos: 6, 7). **Basidios:** clavados; 15-20 x 4-6 µm (Figura 12b, foto: 8). **Basidiosporas:** elipsoidales a subglobosas; 4-5 x 2-3 µm; lisas; hialinas; de paredes delgadas; IKI-. **Clamidosporas:** hialinas; de paredes engrosadas; globosas a subglobosas; 4-10 µm; abundantes en el contexto (Figura 12b, foto: 9).

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires). M. Murace, 04/03/2016, sobre: ejemplar en pie, vivo, de *Tilia* sp., LPS 49117.

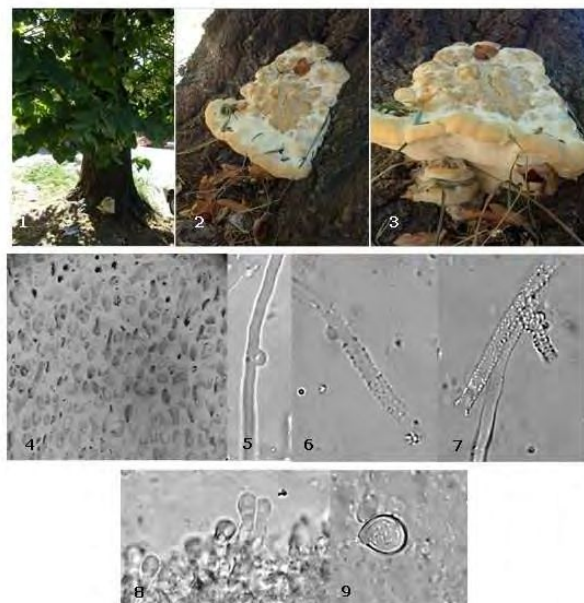


Figura 12b. *Tyromyces fissilis*.
Rasgos macro y microscópicos de la fructificación.

Observaciones: las características macroscópicas del basidioma, en conjunto con la presencia de cristales y clamidosporas permitieron la identificación de la especie.

Distribución y hospedantes: ver Rajchenberg & Robledo (2013).

***Arambarria cognata* (Bres.) Rajchenb. & Pildain comb. nov.**

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Hymenochaetales, Hymenochaetaceae, Inocutis (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

No fue realizado. Se trabajó sólo con la fructificación.

B. Descripción de la fructificación

Basidioma: anual; dimidiado, triquero, resupinado, a veces efuso-reflejo; sésil; simple o imbricado, sujeto por una amplia base; 2-4 x 3-7 x 1.5-2.5 cm (Figura 13, fotos: 1,2; Foto 2: basidioma (B) asociado a discontinuidad cortical (*) y pudrición blanca (Pb) en albura). **Píleo:** subungulado, convexo; velutino; castaño-amarillento cuando joven; glabro y castaño-rojizo cuando madura, oscureciéndose con el tiempo. **Margen:** castaño amarillento, incurvado cuando seco. **Contexto:** fibroso; suavemente zonado; con tenues líneas negras dispersas en el tejido; castaño-rojizo oscuro a chocolate; 5 mm aprox. de espesor. **Himenóforo:** poroide; capa de tubos concolora al contexto, de hasta 2 cm de espesor. **Poros:** poligonales a irregulares; 3-5/mm (Figura 13, foto: 3).

Características microscópicas

Sistema hifal: monomítico, IKI -. Hifas generativas con septos simples; de hialinas; con paredes delgadas a castañas con paredes gruesas; 2-6 µm de diámetro (Figura 13, fotos: 5,6). **Hifas setales y setas:** ausentes. **Basidios:** clavados; 13-15 x 7-8 µm (Figura 12b, foto: 8). **Basidiosporas:** elipsoidales a ovoides, con un lado plano, 5-6 x 4-5 µm; lisas; castaño-rojizas oscuras, muy abundantes, pared engrosada, IKI – (Figura 13, foto: 4). **Clamidosporas:** ausentes (Figura 12b, foto: 9).

Material examinado: Argentina. Buenos Aires, Pdo. de Lobería, Estancia Santo Domingo. F. Achinelli 04/11/2016, sobre: ejemplar en pie, vivo, de *E. globulus* de 13 años de edad, LPS 49119.

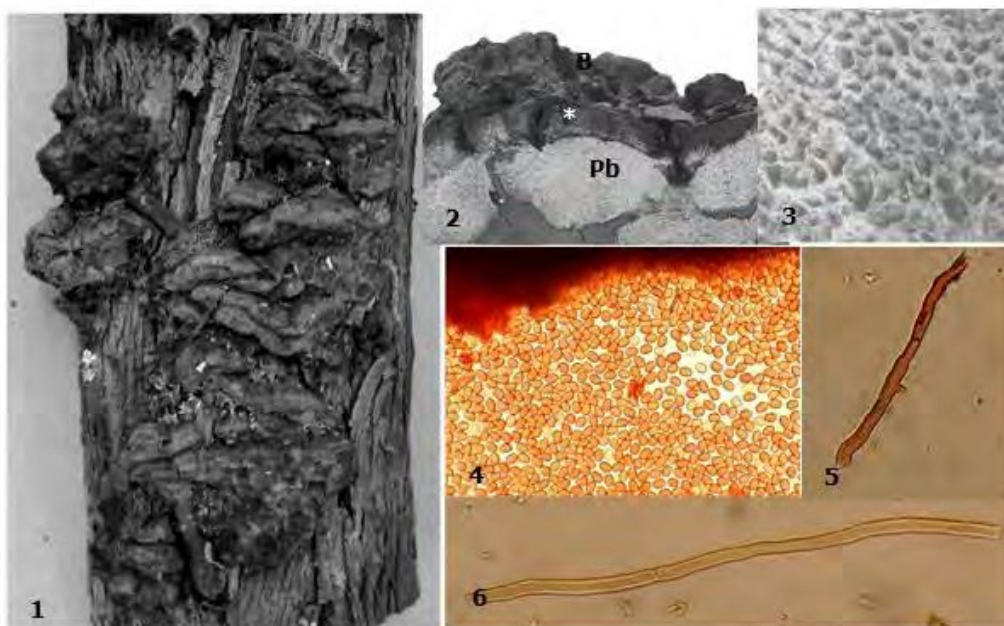


Figura 13. *Inocutis jamaicensis*.
Rasgos macro y microscópicos de la fructificación.

Observaciones: Rajchenberg et al. (2015) citan que la ausencia de contexto granular en *Arambarria cognata* es clave para distinguirla de *Inocutis jamaicensis*, especie citada para *Eucalyptus* spp. (Gottlieb et al., 2002; Martínez 2005; 2006), ambas caracterizadas por la ausencia de setas y el color castaño rojizo de sus esporas montadas en KOH. A fines del 2017 en base a estudios filogenéticos realizados entre aislamientos procedentes de Argentina, Uruguay y Chile dichos autores consideran que *A. cognata* (Bres.) Rajchenb. & Pildain comb. nov. es la denominación del patógeno presente en el hemisferio sur y por ello es la considerada en esta investigación.

Distribución y hospedantes: ver Robledo & Urcelay (2009); Rajchenberg & Robledo (2013); Rajchenberg et al. (2015); Pildaín et al. (2017).

Hongo de pudrición castaña. Características culturales y de la fructificación

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murr.

Fungi, Dikarya, Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Fomitopsidaceae, *Laetiporus* (Mycobank)

A. Descripción del cultivo

Para la totalidad de los aislamientos fueron identificados los caracteres que conforman la clave patrón de la especie, entre los cuales particularmente facilitaron el diagnóstico: la reacción de oxidasas negativa en ácido tánico y gálico (Anexo A, fotos: 5 y 14); el aspecto del micelio aéreo (farináceo/granuloso) (Figura 13a, foto: 1); el color de la colonia (salmón, naranja); la presencia de artrosporas (Figura 13a, foto: 2); clamidosporas (Figura 13a, foto: 3); conidióforos con ramificación racimosa a simpodial y conidios (blastoconidios) (Figura 13a, foto: 4). No se registraron cristales.

Características culturales, ver: Stalper (1978; 1984)

Código de la especie (Stalper, 1978; 1984): (7). (8). (9). 11. 13. 14. 18. 19. (21). (22). 23. 31. (32). 35. 48. 50. 52. 53. 54. 55. (78). 80. (82). 83. 84. 85. 86. 87. (89). (90). 96.



Figura 13a. *Laetiporus sulphureus*.
Características culturales.

B. Características de la fructificación

Basidioma: anual; sésil a lateralmente sub-estipitado. **Píleo:** simple o en grandes racimos imbricados; de un metro o más de extensión; demediado a flabeliforme; de hasta 40 cm de ancho; superficie color amarilla o anaranjada cuando fresco y marrón pálido cuando envejece y se seca; glabro; azonado (Figura 13b, foto: 1). **Margen:** concoloro; a menudo ondulado, redondeado; estéril o fértil debajo; pálido claro cuando se seca. **Contexto:** blanco; azonado; frágil, meduloso y succulento cuando fresco; de

más de 2 cm de espesor; quebradizo y seco cuando viejo. **Himenóforo:** poroide; estrato de tubos amarillos cuando fresco y pálido cuando seco; espesor superior a 4 mm. **Poros:** circulares a angulares; 2-4 por mm; con delgados disepimentos que rápidamente se tornan lacerados (Figura 13b, foto: 2).

Características microscópicas

Sistema hifal: dimítico, IKI -. Hifas generativas contextuales de paredes delgadas; hialinas; septadas; con escasas ramificaciones; de 6-12 μm de diámetro. Hifas ligadoras contextuales de paredes engrosadas; hialinas; no septadas; muy ramificadas; de 3-20 μm de diámetro (Figura 13b, foto: 3). Trama hifal con hifas de pared delgada; firme; ocasionalmente ramificada; septadas; de 4-6 μm de diámetro. **Cistidios** y otros elementos himeniales ausentes. **Basidios:** clavados; 4-esterigmas; 20-25 x 6-9 μm ; simplemente septados en la base. **Basidiosporas:** ovoides a elipsoides; hialinas; lisas; de 5-8 x 4-5 μm ; IKI -.

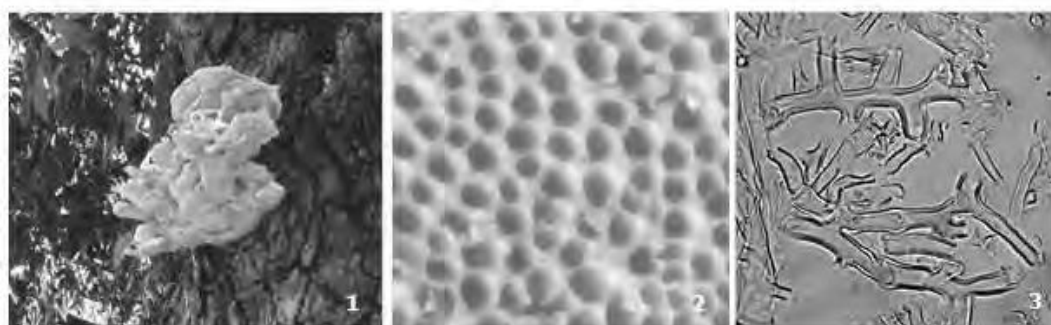


Figura 13b. *Laetiporus sulphureus*.
Rasgos macro y microscópicos de la fructificación.

Material examinado: Argentina. Ciudad de La Plata (Buenos Aires), M. Murace & M. G. G. Ciuffani, 02/04/2012, sobre: ejemplar volcado de *Eucalyptus* sp., LPS 49110; sobre: ejemplar en pie, vivo, de *Eucalyptus* sp., LPS 49111; La Plata (Bs. As.), M. Murace, 15/02/2014, sobre: ejemplar en pie, vivo, de *Fraxinus pennsylvanica* y *Melia azedarach*, LPSC 1388; La Plata (Bs. As.), M. Murace & M.L. Luna, 20/03/2014, sobre: ejemplar en pie, vivo, de *Populus alba*, LPS 49102 (Figura 13c); LPSC 1392; La Plata (Bs. As.), M. Murace, 04/12/2016, sobre: ejemplar en pie, vivo, de *Robinia pseudoacacia*; *Tilia "moltkei"*, LPSC1390.



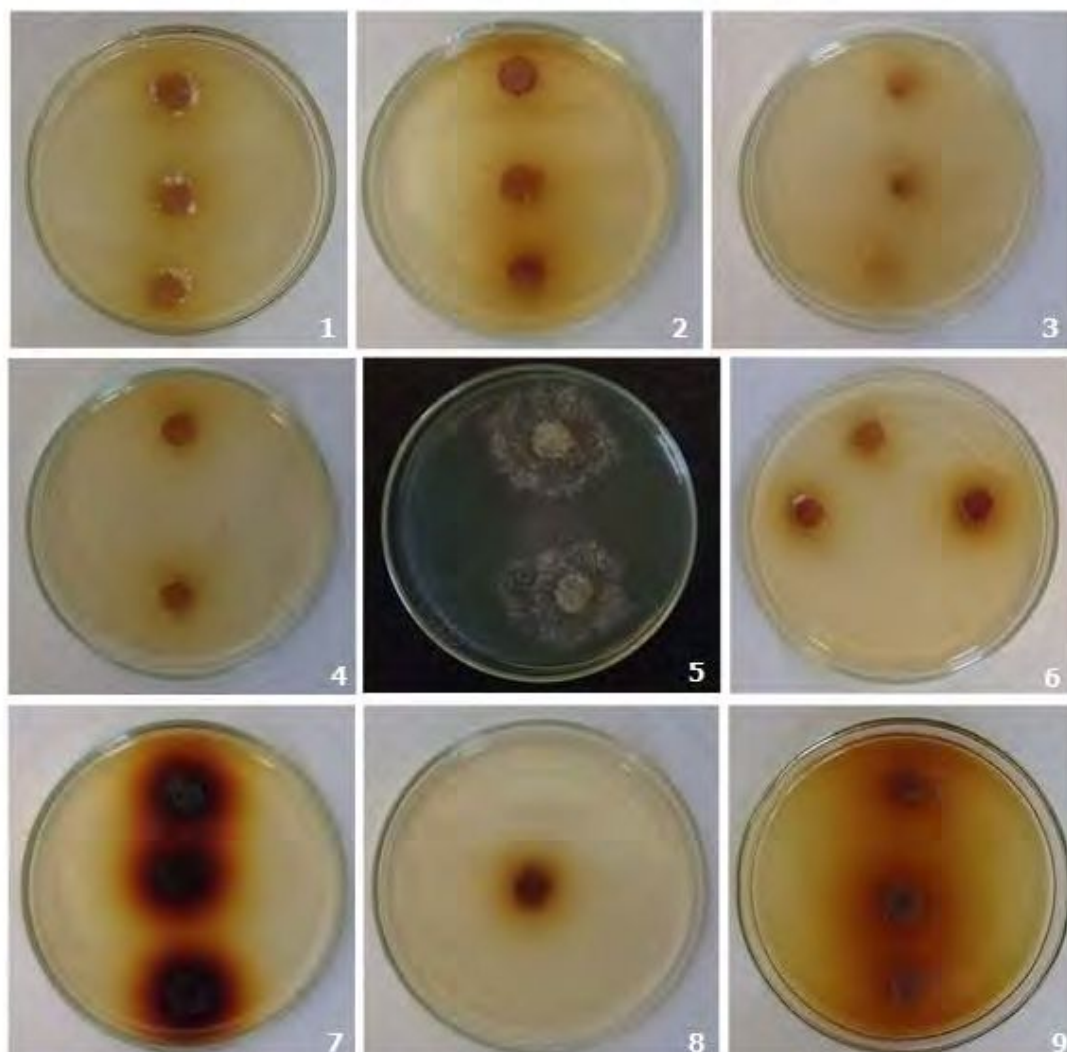
Figura 13c. *Laetiporus sulphureus* en *Populus alba*.

Observaciones: la forma, el gran tamaño y la coloración amarilla o bien naranja pálido de la fructificación hacen de esta especie que sea fácilmente identificable.

Distribución y hospedantes: ver Rajchenberg & Robledo (2013). La identificación de esta especie fue confirmada mediante estudios moleculares.

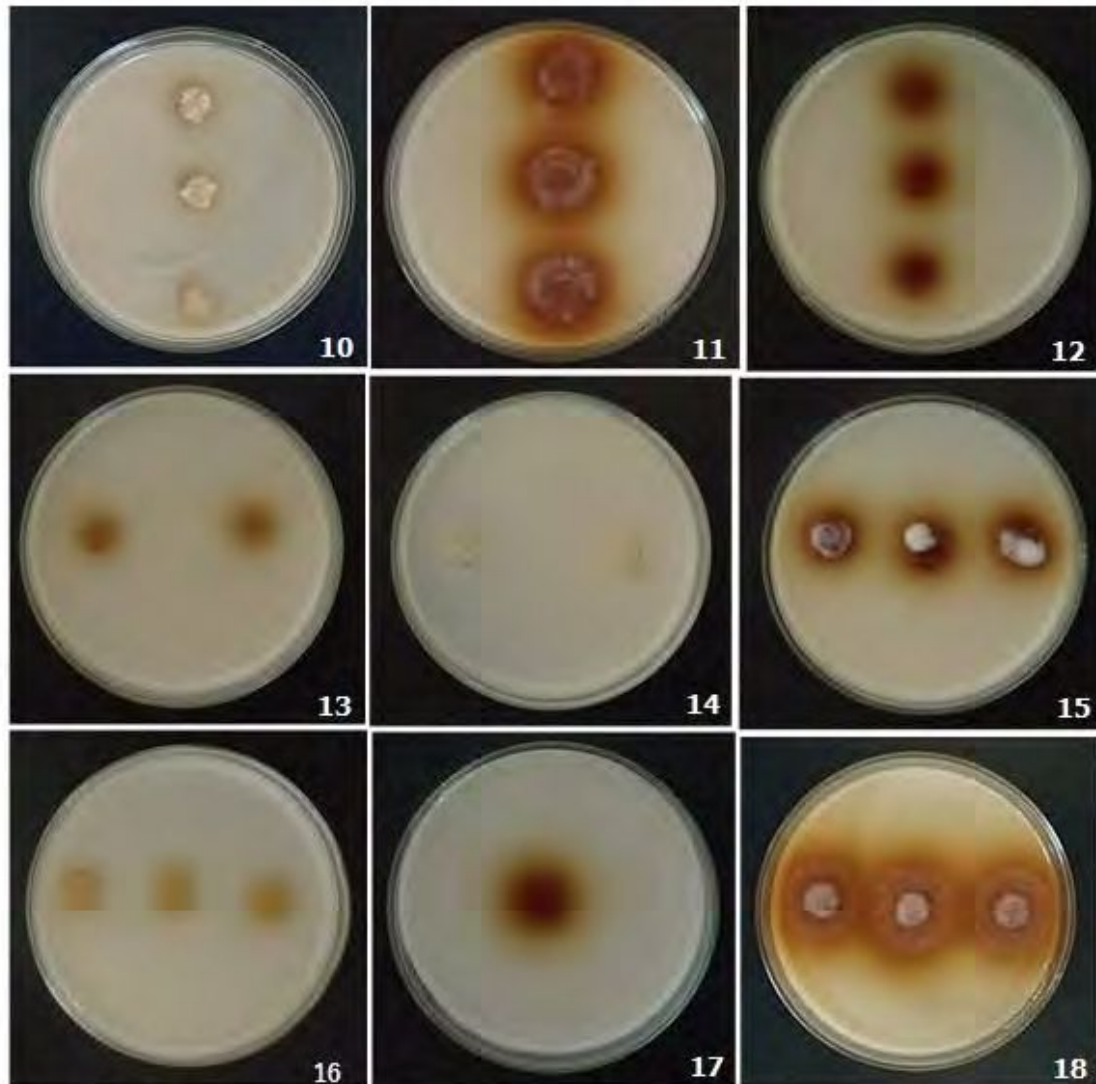
ANEXO A

Reacción de oxidasas en medio ácido gálico.



Fotos 1 a 9: reacción de oxidasas en medio ácido gálico de algunas de las especies estudiadas; positiva (+): pudrición blanca; negativa (-): pudrición castaña. Foto 1: *B. adusta*. Foto 2: *C. unicolor*. Foto 3: *G. resinaceum*. Foto 4: *I. rickii*. Foto 5: *L. sulphureus*. Foto 6: *Ph. pomaceus*. Foto 7: *Phl. brevispora*. Foto 8: *G. australe*. Foto 9: *T. Fissilis* (MMurace, 2018)

Reacción de oxidasas en medio ácido tánico.



Fotos 10 a 18: reacción de oxidasas en medio ácido tánico de algunas de las especies estudiadas; positiva (+): pudrición blanca; negativa (-): pudrición castaña. Foto 10: *B. adusta*. Foto 11: *C. unicolor*. Foto 12: *G. resinaceum*. Foto 13: *I. rickii*. Foto 14: *L. sulphureus*. Foto 15: *Ph. pomaceus*. Foto 16: *Phl. brevispora*. Foto 17: *G. australe*. Foto 18: *T. Fissilis* (MMurace, 2018).

DISCUSION

Las interacciones hongo xilófago-hospedante identificadas (Tablas 2 y 3) se corresponden con los antecedentes recopilados para los espacios urbanos de nuestro país y de aquellos existentes a nivel mundial (Sede & López, 1999; Schwarze et al., 2000a; Thero et al., 2007; Robles et al., 2011; 2012; Schmidt., et al 2012; Urcelay et al., 2012; Rajchenberg & Robledo, 2013, Heredia et al., 2014). De igual modo concuerdan el grupo funcional determinado para cada una de las especies fúngicas, su ubicación en el ejemplar, pudrición que originan y síntomas asociados (Bazzalo & Wright, 1982; Rayner & Boddy, 1988; Schwarze et al., 2000a; Thero & Hallaksella, 2005; 2008; Robledo & Urcelay, 2009). Para *Ganoderma resinaceum* y *Laetiporus sulphureus* en particular, la baja especificidad observada y su presencia en ejemplares exóticos (Tablas 2 y 3) es compatible con lo indicado para dichos patógenos en este tipo de contexto de nuestro territorio (Sede & López, 1999; Heredia et al., 2014).

En términos generales, la totalidad de las especies fúngicas pudieron ser fácilmente identificadas a partir de las fructificaciones y/o cultivos obtenidos. Esto último en particular muy promisorio frente a la necesidad de diagnosticar estas problemáticas careciendo de basidiomas y prescindiendo de las costosas técnicas moleculares. No obstante, la visualización de sobrecrecimientos, hundimientos, discontinuidades en la corteza, entre otros, - síntomas observados en esta instancia -, constituyen evidencias indirectas que permiten realizar un primer diagnóstico (Sede & López, 1999; Gottlieb et al., 2000; Schmidt et al., 2012).

Lo hallado respecto de la preponderancia de Poliporales coincide con su reconocimiento de grupo que incluye a la mayor parte de los hongos degradadores de la madera (Webster & Weber, 2007; Robledo & Urcelay, 2009). Por su parte, el mayor número de especies responsables de pudrición blanca identificadas se corresponde con su conocida preponderancia por sobre los de pudrición castaña (Schwarze et al., 2000a; Riley et al., 2014). Rajchenberg & Robledo (2013), arribaron a iguales resultados al realizar una recopilación de los políporos patógenos presentes en distintas regiones fitogeográficas de nuestro país, incluyendo ecosistema urbano y en éste, a los hospedantes nativos y exóticos. De igual modo, Heredia et al. (2014) al estudiar las interacciones hongos de la madera-árboles de los espacios públicos presentes en la ciudad de Córdoba.

En los ambientes urbanos, los árboles aportan múltiples beneficios ambientales, estéticos, sociales y económicos frecuentemente afectados por los distintos factores de

estrés propios de este ambiente - polución, disponibilidad limitada de espacio, agua y nutrientes, daños antrópicos siendo el más relevante el surgido de las malas prácticas de poda: tipo de corte y diámetro de las heridas -. Dichos factores reducen el vigor de los árboles - acentuándose con la mayor edad de los individuos - lo cual afecta negativamente algún posible mecanismo de defensa o bien generan vías de entrada para los agentes bióticos de daño (Schwarze et al., 2000a; Urcelay et al., 2012).

Dentro de las adversidades bióticas, las causadas por los hongos xilófagos son consideradas las más importantes por su frecuencia de manifestación y perjuicios que ocasionan. Estos organismos descomponen la madera y, a causa de ello, los ejemplares - o alguna de sus partes - disminuyen su estabilidad - resistencia al quiebre y vuelco - poniendo en riesgo a la población, sus bienes, a la diversidad biológica del medio y a los beneficios que los árboles aportan a las ciudades (Novak & Dwyer, 2007, tomado de Robles et al., 2011; Deflorio et al., 2008). Varios estudios a nivel mundial reflejan el impacto negativo de las pudriciones en los árboles del contexto urbano, impacto que en algunas situaciones implica su muerte paulatina producto del ataque al tejido fisiológicamente activo (Thero & Hallaksella, 2005; 2008; Thero et al., 2007) tal como fue observado en algunos hospedantes con el desarrollo de esta investigación (Tabla 2). En nuestro país, investigaciones en torno a los hongos xilófagos que forman parte de este tipo de ambiente y el potencial peligro que significa su presencia – tomando como referencia el tipo de pudrición que generan, su localización en el ejemplar y capacidad degradativa “in vitro” fueron realizadas por Wright & Iaconis (1955), Sede & López (1999), Robledo & Urcelay (2009), Urcelay et al. (2012), Robles et al. (2014).

Hongos responsables de pudrición blanca

En cuanto a ***Bjerkandera adusta*** (Figura 1b, foto: 1), ***Funalia gallica*** (Figura 3a) y ***Schizophyllum commune*** (Figura 11), lo hallado (Tabla 2) es compatible con lo mencionado por autores como Wright & Deschamps (1976/77), Bazzalo & Wright (1982), Urcelay et al., (2012): especies asociadas a ejemplares muertos o saprótrofas, responsables de pudrición blanca particularmente en el duramen de latifoliadas. No obstante, en nuestro país también se ha registrado su presencia en fustes y ramas vivos, como patógenos, sobre especies nativas y exóticas (Robledo et al., 2006, tomado de Robledo & Urcelay, 2009; Robles et al., 2011; 2012; Rajchenberg & Robledo, 2013; Murace, 2017, datos no incluidos en este trabajo). A causa de ello, tomando lo definido por Robledo et al. (2003b) y Urcelay & Robledo

(2004), poseerían un comportamiento parásito facultativo. Según estos autores, las especies pertenecientes a este grupo funcional poseen la capacidad de colonizar y degradar fustes de árboles en pie vivos como también de presentar su mayor frecuencia de fructificación sobre troncos muertos de grandes diámetros – 29.3 a 49.1 de diam. medio –. La presencia de estos xilófagos en los ejemplares bajo estudio, con fustes muertos de medidas dentro del rango propuesto, indicaría un comportamiento similar. Por su parte, *S. commune* es citada además como patógeno responsable de pudrición en albura y cambium dañados - patógeno de heridas - (Schmidt, 2006). De acuerdo con ello y según Rayner & Boddy (1988) podría ser considerada poseedora de una estrategia de colonización oportunismo no especializado: colonización de la albura a través de heridas superficiales o profundas lo cual conduce al aumento del disturbio y consecuentemente a la disminución de la tensión en dicha zona del leño, lo cual en esta instancia no fue observado.

Respecto de *Cerrena unicolor*, en primera instancia su identificación en fustes y/o ramas muertas (Tabla 2) concuerda con su consideración prácticamente generalizada de especie saprótrofa (Ryvarden & Gilbertson, 1993, tomado de Mycobank), responsable de “top rot” - pudriciones de fuste y ramas - (Rayner & Boddy, 1988). No obstante, la totalidad de antecedentes recuperados reflejan controversias en cuanto al posicionamiento de esta especie dentro un grupo funcional. Si bien escasas, existen evidencias de su rol patogénico y como tal, responsable de la producción de canchales - como áreas localizadas de corteza y cambium necrosados - y posterior muerte de los individuos (Boyce, 1961; Enebak & Blanchette, 1989; Greifenhagen & Hopkin, 1998, tomado de Palma et al., 2005). Autores como Rayner & Boddy (1988) y Thero & Hallaksella (2008) mencionan la presencia de este xilófago en ejemplares faltos de vigor y por tanto comportándose como parásito débil al igual que en alguno de los ejemplares bajo estudio, éstos atacados por *Tremex fuscicornis* (Hymenóptera, Siricidae) o “avispa de la madera de las latifoliadas/avispa taladradora de las latifoliadas” (Figura 2b).

Cerrena unicolor es considerada hasta el momento el único políporo simbiote de una avispa, asociación esencial para el ciclo de vida del himenóptero. Las avispas hembras acarrean el hongo en sus micangios⁵ bajo la forma de esporas o como fragmentos de micelio - inóculo fúngico -. Durante la oviposición, en el estrato cambial

⁵ Micangios: glándulas adosadas al sistema reproductor, situados en la cavidad abdominal de la hembra y que desembocan en la base del ovipositor del insecto.

de árboles estresados, el inóculo es depositado en la madera junto con los huevos y un mucus fitotóxico producido por el insecto - fenoles, proteasas y polisacáridos - que en conjunto van acentuando el decaimiento de los árboles hasta causar su muerte. Ocurre la inoculación, el hongo coloniza y degrada la madera al tiempo que las larvas cavan galerías y se alimentan del leño degradado y del micelio fúngico; la simbiosis es esencial para el desarrollo larval (Palma et al., 2005; Pažoutová & Srůtka, 2007; Landi et al., 2011). Si bien en este estudio no se comprobó dicha simbiosis - los aislamientos fúngicos no fueron obtenidos de avispas -, la secuencia de las regiones ITS resultaron con un 99 % de similaridad con especímenes de *C. unicolor*, incluido un espécimen (EF577058) aislado de micangias de *T. fuscicornis* (Robledo, com. pers.). Por lo expuesto, en el material bajo estudio *C. unicolor* provendría de una asociación simbiótica con las avispas y a causa de ello, estaría comportándose como patógeno débil, parásito facultativo, con estrategia de colonización oportunismo especializado y establecimiento exógeno tomando en consideración a Rayner & Boddy (1988).

El oportunismo especializado está asociado a hongos que colonizan sustratos en los que se ha producido una disminución de la tensión microambiental - remoción de agua en el xilema funcional y desarrollo de una fase gaseosa - causada por factores que producen un estrés fisiológico - sequía, por ejemplo; en este caso el estrés que poseerían los hospedantes y que provoca la atracción de la avispa se vería acentuado por el mucus fitotóxico que ésta segrega -. Estos patógenos se pueden establecer en la albura mediante insectos vectores - sin asociarse a una herida obvia -, entre otras formas posibles. Estos hongos no sólo capitalizan la disminución del estrés microambiental producido por factores ajenos a ellos sino además su condición de pioneros (Rayner & Boddy, 1988). En los ambientes urbanos, son numerosos los factores de tensión, entre ellos y considerado por algunos autores como el más importante, es el limitado suplemento de agua (Sæbeo et al., 2003; Holopainen et al., 2006, tomados de Thero & Hallaksella, 2008). En cuanto a los perjuicios que ocasiona este xilófago Thero & Hallaksella (2005; 2008) y Thero et al. (2007) mencionan que secciones transversales de fustes de ejemplares de *Betula*, tomadas a 2 m del nivel del suelo, se vieron afectadas en más de un 70% por la pudrición blanca que causa esta especie, pudrición en algunos casos asociada a ahuecamiento, síntomas indicadores de la posibilidad del quiebre y vuelco de los árboles atacados por *Cerrena*.

En referencia a las interacciones que incluyen a ***Ganoderma spp*** y los signos/síntomas observados – esporada abundante, abultamientos, ejemplares de aspecto vigoroso, entre otros (Tabla 2) - son compatibles con la estrategia de

colonización "heart rot" citada para dichos hongos como así también con su capacidad de causar pudrición blanca selectiva. Las esporas visualizadas sobre fustes y fructificaciones como también la presencia de heridas que exponen al duramen, frecuentes en el lugar de implantación de los ejemplares bajo estudio, son rasgos asociados a dicha estrategia de colonización del sustrato (Rayner & Boddy, 1988). Las distintas especies de *Ganoderma* son parásitas facultativas, responsables de pudrición blanca de duramen principalmente en la base de fustes y raíces - "butt rot"- (Figura 4, foto: 1; Figura 5b, foto: 1) (Schwarze, 2004; Deflorio et al., 2008) mediante patogénesis activa/invasión ectotrófica de raíces (Rayner & Boddy, 1988). No obstante, pasado un largo tiempo desde su establecimiento - en etapas muy avanzadas de degradación - estos hongos pueden alcanzar la albura y áreas próximas al cambium circundante, tal vez asistidos por un mecanismo de patogénesis activa u oportunismo especializado, estrategias difíciles de distinguir (Rayner & Boddy, 1988). Ante dicha situación, dependiendo de la especie forestal y de su vigor, los árboles forman un nuevo tejido leñoso - madera de compensación - (Sterken, 2005). El propósito de ello es contrarrestar las pérdidas causadas por la pudrición mediante la diferenciación de gruesos anillos en algunos casos asociados a crecimientos adaptativos o "bottle butt", los cuales fueron observados (Tabla 2), considerados evidencias indirectas de pudrición (Schwarze et al., 2000a; Sterken, 2005; Thero, 2009) útiles para la identificación de las pudriciones mediante "Visual Tree Assessment" (VTA, Mattheck & Breloer, 1994). Un árbol vital es capaz de establecer un equilibrio entre la formación de madera de compensación y la destrucción del material causada por el xilófago; la albura y cambium intactos garantizan que el árbol pueda crecer en diámetro y compensar de esta manera la destrucción desarrollada por el hongo xilófago (Sterken, 2005). Respecto de los abultamientos, constituyen síntomas de pudrición blanca selectiva, según se indicó, pudrición causada por *G. resinaceum*, resultante de un proceso de delignificación y del consecuente pandeo celular (Schwarze et al., 2000a). Este tipo de deterioro es considerado el menos riesgoso de las pudriciones blancas. Si bien la madera pierde rigidez, resistencia a la compresión, por la descomposición de la lignina, conserva su tenacidad producto de la celulosa residual - la preservación de las microfibrillas de celulosa tiene importantes consecuencias desde el punto de vista biomecánico -. La destrucción de la laminilla media altamente lignificada conduce a que las fibras se plieguen - pandeo -; cuando esto ocurre, las microfibrillas que corren en espiral se enderezan y a causa de ello aumenta su resistencia a la tensión (Schwarze, 2007). Asimismo, debe tenerse en cuenta que luego de la delignificación,

puede ocurrir la destrucción de la celulosa y, en consecuencia, la madera pierde su tenacidad - pierde resistencia a la tensión - al tiempo que se forman cavidades (Schwarze et al., 2000a). Las *Ganoderma* spp., como patógenos presentes en la base de fustes y raíces ponen en riesgo la estabilidad de los individuos atacados en grado variable en función de la interacción hospedante - patógeno que se establezca (Boyce, 1961; Rayner & Boddy, 1988; Schwarze et al., 2000a; Sterken, 2005; Thero et al., 2007; Deflorio et al., 2008).

En cuanto a *Arambarria cognata*, su presencia en *Eucalyptus globulus* y los síntomas asociados (Tabla 2) concuerda con lo mencionado por Martínez (2005). Dicho autor cita la presencia de este patógeno (como *Inocutis jamicensis*) en plantaciones de *E. globulus*, *E. maidenii* y *E. grandis* ubicadas en Uruguay, causando en la corteza de sus hospedantes rajaduras, hundimientos y deformaciones/cancros como las observadas. En Argentina fue identificada principalmente sobre latifoliadas nativas y exótica, incluidos *E. globulus* y *E. viminalis*, tanto vivas como muertas y en tocones, antecedentes que no mencionan algún tipo de deformación cortical. En nuestro país este xilófago es particularmente reconocido por su rol patogénico en *Vitis vinifera* en la cual además de la pudrición de fuste y ramas causa un característico síntoma foliar conocido como 'hoja de malvón', problemática también presente en Uruguay y Chile (Gottlieb et al., 2002; Pérez et al., 2008; Lupo et al., 2009; Rajchenberg & Robledo, 2013; Rajchenberg et al., 2015). *Arambarria cognata* es una especie neotropical, responsable de pudrición blanca fibrilar en duramen, no obstante, las deformaciones – cancos – observados resultarían de su avance hacia la zona cortical, colonización mediada por un mecanismo de patogénesis activa (Rayner & Boddy, 1988).

Respecto de *Inonotus rickii* (estado anamórfico *Ptychogaster cubensis* Pat, forma bajo la cual frecuentemente se presenta), lo hallado en este estudio (Tabla 2) (Figura 6b, fotos: 1, 2) se corresponde con los aspectos ecológicos conocidos para la especie. *Inonotus rickii* típicamente se manifiesta en ambientes urbanos, sobre latifoliadas, mediante clamidocarpos presentes en fustes y ramas de ejemplares debilitados o muertos. Esta especie es reconocida mundialmente como un patógeno agresivo, característico de regiones tropicales y subtropicales, responsable de pudrición blanca de duramen, pudrición que frecuentemente progresa hasta la albura y cambium provocando necrosis cortical, posiblemente asistidos por un mecanismo de patogénesis activa (Boddy, 2001; Cui et al., 2014). Los árboles que poseen afectado su tejido fisiológicamente activo reducen notablemente su vigor; los ejemplares enfermos

invariablemente declinan, sus copas se tornan ralas, presentan una muerte progresiva descendente - tal como fue observado - (Wright & Iaconis, 1955; Melo et al., 2002; Intini & Tello, 2003; Annessi et al., 2003; Robles et al., 2014). Alteraciones en la estabilidad mecánica de los ejemplares enfermos también son mencionadas (Ramos et al., 2008; Cui et al., 2014). Este patógeno se dispersa mediante basidiosporas y clamidosporas, siendo esta última forma la predominante. Las esporas son transportadas por el viento como también por herramientas de poda, insectos, - entre otros - y de este modo se depositan sobre heridas producidas naturalmente (desrame, producto del envejecimiento de los ejemplares) y/o antrópicas (podas, vandalismo) daños siempre presentes y con alta frecuencia en el entorno urbano (Annessi, et al., 2010).

En cuanto a *Phellinus pomaceus*, tal como se presentó (Tabla 2, Figura 7b), es un parásito facultativo principalmente reconocido por causar pudrición blanca en ejemplares de la familia Rosaceae - particularmente *Prunus* spp - (Karadelev et al., 2008; Urcelay et al., 2012) no obstante ello, existen antecedentes acerca de su presencia sobre otras latifoliadas (Ryvarden & Gilbertson, 1994, tomado de Mycobank; Heredia et al., 2014). Asimismo, si bien es considerado un "heart rot fungus", los síntomas visualizados y su ubicación (Tabla 2) son compatibles con los antecedentes recopilados para distintas especies del género respecto de su capacidad de atacar zonas vivas del leño a nivel fuste y copa - o "top rot" -. En este sentido, *Phellinus* spp afectan la albura posiblemente asistidos por patogénesis activa, mecanismo en el cual el alto potencial de inóculo es crítico para llevar a cabo dicha estrategia - o comportamiento necrótrofo - (Rayner & Boddy, 1988; Boddy, 2001). Si bien los "heart-rot fungi" difícilmente atacan la albura, *Phellinus* spp lo llevan a cabo al momento de fructificar, ante la falta de duramen expuesto. Bajo estas circunstancias es necesario el desarrollo de una densa mata micelial que destruya la albura y presione la corteza a fin de generar vías de fructificación, todo lo cual puede conducir a la muerte de la rama o del ejemplar atacado (Mattheck et al., 2015; Rayner & Boddy, 1988) en correspondencia con lo descrito para dicha interacción (Tabla 2).

En referencia a *Phlebia brevispora*, lo obtenido (Tabla 2) indicaría su rol como patógena, típica "heart rot fungi". En este sentido, Kubayashi & Maekawa (2001) y Suhara y colaboradores (2002) aportan el primer registro respecto de la presencia de *P. brevispora* en ejemplares en pie vivos y sugieren su rol patogénico. En dicha oportunidad fue aislada de *Chamaecyparis obtusa* (Sieb. & Zucc.) Endl, asociada a una pudrición blanca en duramen de base de fuste -"butt rot". Hasta entonces este

xilófago sólo fue reconocido como saprótrofo, responsable de pudrición en postes de madera de angiospermas y gimnospermas - particularmente postes telefónicos de pino - (Nakasone & Eslyn, 1981). Por su parte los autores mencionados confirmaron la acción patogénica de una especie afín - *P. chrysocrea* - mediante inoculaciones artificiales en *C. obtusa*. Un ensayo de patogenicidad es requerido para confirmar su comportamiento. La identificación de esta especie constituye el primer registro para nuestro país y fuera del sudeste de Estados Unidos y Japón únicos sitios al momento en los que fue reportada (Nakasone & Eslyn, 1981; Suhara et al., 2002).

La presencia de *Pycnopus sanguineus* en tocones con evidencias de pudrición blanca (Tabla 2) concuerda con el comportamiento saprótrofo y tipo de deterioro citados para esta especie (Blanchette, 1984; Otjen & Blanchette, 1987; Luna et al., 2004; Urcelay et al., 2012). Al aspecto blanquecino y fibrilar y a la consistencia corchosa de la madera – rasgos típicos de este tipo de deterioro -, se suma la presencia de "zones lines", líneas características en las "white rots" (Figura 9b). La manifestación de estas líneas estrechas y oscuras se asocia a la reacción del micelio a la desecación del sustrato, también son consideradas como proveedoras de estructuras de resistencia, poseedoras de propiedades antimicrobianas y de disminuir fenómenos de competencia, delimitar la madera sana-degradada o bien de definir zonas de interacción fúngica. Desde un punto de vista morfológico, resultan de la agregación de hifas muy ramificadas y anastomosadas – hifas pseudoparenquimatosas -, por sectores infladas, deformadas y a menudo melanizadas (Zabel & Morrell, 1992; Boddy, 2000; Smith, 2001). *Pycnopus sanguineus* posee distribución pantropical como también se encuentra en regiones templadas, y si bien es preferentemente citada en latifoliadas, puede colonizar gimnospermas. Asimismo, en oposición a su reconocido comportamiento saprótrofo, Banerjee (1956, tomado de Nobles & Frew, 1962) sugiere que podría atacar árboles vivos. Este autor obtuvo infecciones de ramas sanas de *Shorea robusta* mediante inoculaciones de micelio a campo.

En cuanto a *Rigidoporus ulmarius*, lo obtenido respecto de su presencia en ejemplares en pie, vivos (Tabla 2), pertenecientes a ambientes urbanos, se corresponde con los antecedentes hallados (Sede & López, 1999; Urcelay et al., 2012; Rajchenberg & Robledo, 2013). Esta especie, de distribución mundial, es reconocida por causar pudrición blanca en el duramen de numerosas latifoliadas, particularmente en el tercio inferior de fustes y en raíces, no obstante, en esta instancia, fue encontrada en oquedades ubicadas en el tercio superior de troncos.

Tyromyces fissilis, si bien sólo fue hallada en una especie - y sólo en 1 ejemplar - (Tabla 2), en nuestro país es reconocida por su baja especificidad hacia las latifoliadas exóticas; a la fecha sólo un registro se conoce para nativas: *Salix humboldtiana* (Urcelay et al. 2012). Este hongo, introducido del hemisferio Norte, es citada como parásito responsable de pudrición blanca en el duramen de especies que forman parte del arbolado urbano de nuestra región – *Salix babylonica*, en la ciudad de Córdoba, *Celtis australis*, en la ciudad de La Plata, *Salix* sp, CABA - (Wright et al. 1973; Urcelay et al., 2012) como también fue identificada en las selvas subtropicales en galería de los ríos Paraná y Uruguay (Rajchenber & Robledo, 2013). Su presencia en ejemplar en pie vivo de tilo aportaría un nuevo hospedante para el contexto urbano de nuestro país.

Hongo responsable de pudrición castaña

Lo hallado para *Laetiporus sulphureus* (Tabla 3) concuerda con la estrategia de colonización, el tipo de pudrición y amplio rango de hospedantes conocidos para la especie (Rajchenberg & Robledo, 2013). En cuanto a esto último, *L. sulphureus* es reconocido por su poca selectividad del sustrato lo cual es compatible con su capacidad de descomponer los extraíbles de la madera (Rayner & Boddy, 1988; Schwarze et al., 1997). Este xilófago es un parásito facultativo responsable de pudrición castaña en el duramen de fustes y copas - "top rot" - (Figura 13c), que también puede atacar la madera del sistema radical, presentarse en tocones y madera en servicio (Boyce, 1961; Rayner & Boddy, 1988; Schwarze et al., 2000a; Banik et al., 2010). Esta especie se dispersa vía esporas y se establece mediante una estrategia de colonización "heart-rot" - estrés tolerante - la cual, según se indicó, está vinculada con la presencia de heridas que exponen el duramen. Como "heart-rot fungi", rara vez alcanza la albura y a causa de ello, la ausencia de síntomas que puedan dar indicio del curso de un proceso de degradación, excepto cuando se observan fructificaciones y/o madera podrida. Opuesto a este concepto generalizado, Schwarze et al. (1997) destacan que esta especie puede penetrar en madera con elevado contenido de humedad mediante la formación de varios tipos de esporas que parecen estar adaptadas para su distribución dentro de la columna de agua y por largo tiempo permanecer en forma latente. Este modo de crecimiento podría permitir la colonización de la albura y allí permanecer a la espera de las condiciones que le permitan causar degradación. Rayner & Boddy (1988) consideran a este tipo de estrategia como oportunismo especializado, con establecimiento endógeno. *L. sulphureus* es un patógeno frecuente del arbolado

urbano, reconocido por disminuir notablemente la capacidad resistente de las maderas naturalmente infectadas (Schwarze & Fink, 1998; Schwarze, 1995, tomados de Schwarze et al., 2000a). Este hongo afecta la estabilidad y resistencia a la fractura de sus hospedantes. Como xilófago responsable de pudrición castaña, los carbohidratos de la pared celular de sus hospedantes son despolimerizados y la lignina es parcialmente oxidada (Green & Highley, 1997; Gamauf et al., 2007; Riley et al., 2014). La despolimerización de la celulosa y las hemicelulosas afecta negativamente las propiedades de resistencia de la madera desde las primeras etapas del proceso de degradación, y a causa de ello el riesgo que significa su presencia en los árboles (Schwarze et al., 2000a). Debe tenerse en cuenta que ante situaciones de pudrición total del duramen, si bien el riesgo de quiebre y vuelco es elevado, depende de numerosos factores. Según se indicó, en un árbol vigoroso el cambium y la albura intacta garantizan que un árbol crezca en diámetro y de este modo es compensada la destrucción causada por un hongo xilófago (Boddy & Rayner, 1983; Sterken, 2005).

CONCLUSIONES

La mayor parte de las interacciones identificadas resultaron de la combinación de Poliporales, responsables de pudrición blanca, con latifoliadas exóticas. En base a los antecedentes recopilados – obtenidos mediante búsqueda bibliográfica y/o el desarrollo de este trabajo -, la totalidad de las especies pueden ser consideradas parásitas facultativas y como tales capaces de colonizar y causar degradación en ejemplares en pie vivos, con distinto grado de vigor - y en este caso comportarse como patógenas - o presentarse en ejemplares muertos. La totalidad de los hongos resultaron colonizadores del duramen, no obstante, y de acuerdo con la bibliografía consultada, con potencialidad para alcanzar la albura circundante posiblemente asistidos por patogénesis activa – particularmente los responsables de la formación de canchales – u oportunismo especializado provocando en casos extremos la muerte de sus hospedantes. Se menciona un nuevo hospedante para *Tyromices fissilis* en la ciudad de La Plata como así también se aporta una nueva evidencia del rol patogénico que estaría cumpliendo *Phlebia brevispora*, constituyendo además un primer registro de la presencia de esta especie en nuestro país.

CAPITULO II

MODIFICACIONES ANATOMICAS CAUSADAS POR LOS HONGOS XILOFAGOS

LA MADERA COMO SUSTRATO DE COLONIZACION FUNGICA

Elementos constituyentes del leño de Coníferas y Latifoliadas como vías de colonización.

Los árboles difieren en sus características anatómicas según al grupo al que pertenezcan (Gimnospermas-Angiospermas), diferencias también existentes entre géneros y especie dentro de dichos grupos. Ello condiciona el modo de colonización y degradación por los hongos xilófagos, traducándose en diferentes patrones de degradación e incluso en diferentes tipos de pudrición causados por una misma especie fúngica – Ej.: Basidiomycetes facultativos de pudrición blanda -, alteraciones que afectan de modo distinto las propiedades resistentes del leño (Schwarze et al., 2000a).

Las células del leño o xilema secundario se organizan en dos sistemas: el axial - longitudinal o vertical - y el radial - transversal u horizontal -. El **sistema axial** es originado por las iniciales fusiformes del cámbium y contiene células con sus ejes mayores orientados verticalmente, es decir, paralelos al eje principal del tallo. El **sistema radial**, originado por las iniciales radiales del cámbium, está formado por filas de células orientadas horizontalmente, perpendiculares al eje del tallo (Esau, 1982).

A modo de generalidad, en las Coníferas el sistema axial está constituido por traqueidas – conductoras de agua y que aportan resistencia -, fibrotraqueidas – vinculadas con la resistencia del tejido - y en algunos géneros por parénquima; el sistema radial presenta células parenquimáticas y, en algunas ocasiones, traqueidas radiales. En aquellas especies poseedoras de canales resiníferos, éstos se disponen en ambos sistemas. Respecto de las Latifoliadas, poseen un leño más complejo que las Coníferas debido a la mayor diversidad de tipos celulares / elementos anatómicos que lo constituyen. En las Latifoliadas el sistema axial está constituido por elementos de vaso - conductores de agua -, fibras y en ocasiones traqueidas, que aportan

resistencia, y parénquima – apotraqueal, paratraqueal - y el sistema radial por células parenquimáticas – formando frecuentemente radios multiseriados -. En este grupo la colonización de la madera ocurre principalmente vía sistema axial, por los elementos de vaso; la ausencia de este tipo celular en las Coníferas determina que su leño constituya un sistema poco eficiente para dicho proceso (Zabel & Morrell, 1992; Schwarze et al., 2000a; Schwarze, 2007).

Pared celular: Estructura y ultraestructura de la pared de las células del leño

En la mayoría de los tipos celulares del leño (excepto en algunos casos en las células parenquimáticas) se diferencian en las paredes celulares las siguientes capas: la ***laminilla media***, la ***pared primaria*** y la ***pared secundaria*** constituida por tres estratos - S1, S2, S3 -, paredes que al formarse de afuera hacia adentro van ocluyendo el lumen celular (Figura 1, foto: A). Cada uno de estos tres componentes principales - laminilla media y ambas paredes - tienen una estructura y composición química única que también difiere entre las especies (Rytioja et al., 2014).

La ***laminilla media*** (Lm) es la capa más externa; es una zona estrecha entre células contiguas que puede medir desde unas décimas de micrómetros hasta más de 5µm en los ángulos celulares. La Lm además se caracteriza por su isotropía y aspecto homogéneo bajo microscopio electrónico de barrido (MEB). Desde el punto de vista químico, dicha zona está principalmente compuesta por sustancias amorfas como lo son la lignina y pectatos de calcio; la celulosa está ausente y a causa de ello la Lm no exhibe birrefringencia bajo luz polarizada. Por lo general a la Lm se la asocia a la pared primaria; en este caso ambas zonas son considerados como una unidad denominada ***laminilla media compuesta*** (Lmc). Desde el punto de vista mecánico esta estructura le imparte a la pared resistencia a la compresión y rigidez producto de su alta lignificación (Schwarze et al., 2000a; Gamauf et al., 2007).

La ***pared primaria*** (Pp) es una zona delgada, difícil de distinguir de la Lm adyacente bajo microscopio óptico (MO) o MEB, y a causa de ello, según se indicó, se la considerada constituyente de la Lmc. La Pp está compuesta por polisacáridos y glicoproteínas; la celulosa sólo constituye el 2,5% y se presenta bajo la forma de una trama de microfibrillas sin orientación definida (Figura 1, fotos: A, B) (Schwarze et al., 2000a; Gamauf et al., 2007).

En cuanto a la ***pared secundaria*** (Ps), provee soporte y está constituida principalmente por celulosa y lignina como también por compuestos no estructurales

que constituyen menos del 10% del peso seco de la madera. Dichos compuestos incluyen extraíbles con solventes orgánicos, los que pueden ser polares como los fenoles y los taninos o no polares como lo son las grasas y esteroides, proteínas y cenizas. A diferencia de la Pp, en la pared secundaria las microfibrillas de celulosa se disponen con igual dirección. Según se indicó, en esta pared se diferencian 3 estratos: S1, S2 y S3. El S1 y S3 se presentan a modo de zonas estrechas en las que las microfibrillas de celulosa están organizadas como una hélice plana u horizontal - mayor ángulo microfibrilar -; en las coníferas, el S3 tiene el mayor grado de lignificación. Respecto del S2 consiste de microfibrillas con disposición helicoidal y orientación casi paralela respecto del eje longitudinal de la célula - menor ángulo microfibrilar -. Este estrato constituye la zona más importante de la pared ya que es el responsable de la mayoría de las propiedades de resistencia de la madera debido a su mayor espesor, al alto contenido de celulosa y al pequeño ángulo microfibrilar (Figura 1, fotos: A, C), (Schwarze et al., 2000a; Gamauf et al., 2007).

Según el modelo clásico, las microfibrillas del estrato S2 se presentan formando capas superpuestas siguiendo la circunferencia de la célula. Existen otros modelos que muestran a las microfibrillas de celulosa orientadas radialmente con respecto al eje longitudinal de la célula y en sentido perpendicular a la laminilla media. Dicha disposición favorecería la degradación de la madera por hongos de pudrición blanda y castaña. En este sentido, la ausencia de estructuras radiales en las paredes de los elementos de vaso y de las células parenquimáticas dificultaría la degradación por estos hongos (Schwarze et al., 2000a).

En cuanto al ***lumen***, es un espacio inerte ocupado por aire y/o agua que representa la zona crítica en la cual los hongos inician el proceso de colonización y degradación. Entre células, la conducción de agua y de varios solutos ocurre a través de las punteaduras. Las punteaduras son interrupciones de la pared secundaria que contienen una porción modificada de la pared primaria adyacente llamada membrana de la punteadura. En las etapas iniciales de la colonización de la madera, dichas estructuras constituyen la principal vía de pasaje fúngico (Schwarze et al., 2000a; Gamauf et al., 2007).

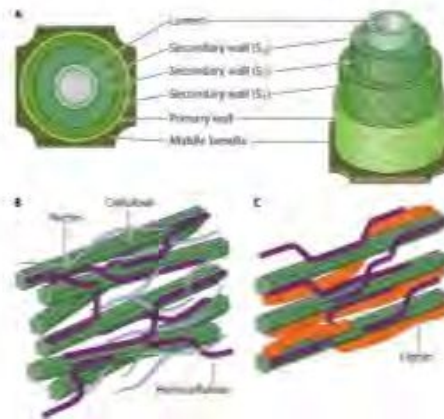


Figura 1. Modelo simplificado de la estructura de la pared celular. A: la estructura consiste de tres estratos principales: laminilla media, pared primaria y pared secundaria con sus estratos correspondientes (S1, S2 y S3). B y C: principales polisacáridos de la pared y lignina (disposición) en la pared primaria (B) y secundaria (C); en la pared primaria (B) la lignina no es ilustrada debido a que su contenido varía considerablemente entre las especies (tomado de Rytioja et al., 2014).

Colonización fúngica

Los hongos xilófagos llegan y penetran en sus hospedantes principalmente bajo la forma de basidiosporas y/o micelio siguiendo algunas de las estrategias de colonización mencionadas en el Capítulo I – "heart rot", oportunismo especializado, oportunismo no especializado, patogénesis activa -.

Una vez en la madera, la colonización se produce a través de los distintos tipos celulares que conforman el sistema longitudinal y el sistema radial del leño (Figura 2). Los hongos colonizan la madera más rápidamente en dirección longitudinal, a través de los lúmenes de los elementos xilemáticos. El acceso radial está restringido en particular por el espesamiento de las paredes celulares del leño tardío y en ciertos casos por el elevado contenido de nutrientes de las células parenquimáticas de los radios. La dispersión tangencial está limitada por la falta de un tipo de sistema de comunicación entre células, excepto cuando se produce la muerte en alguna zona del estrato cambial, lo cual facilita la dispersión subcortical. En todos los casos, el pasaje entre células ocurre a través de las punteaduras y/o de perforaciones que ellos originan en las paredes celulares (Wilcox, 1968; Boddy, 1992; Schwarze et al., 2000a; Schwarze, 2007).

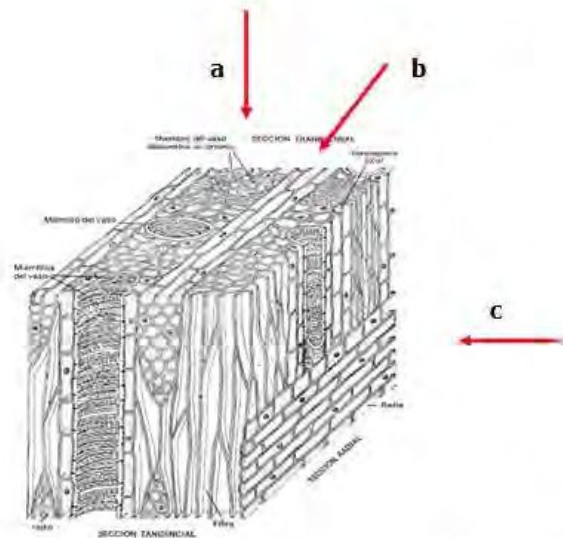


Figura 2. Leño de Angiospermas, vías de colonización fúngica: a, sentido longitudinal (axial); b, sentido radial; c, sentido tangencial (tomado de Monteoliva, 2010, adaptado por Murace, 2017).

La colonización del leño presenta diferencias entre Latifoliadas y Coníferas producto del tipo, abundancia y distribución de sus células. Estos aspectos también determinan diferencias en la colonización fúngica entre géneros pertenecientes al mismo grupo botánico. A modo de generalidad, se considera que la madera de las Gimnospermas representa un sistema poco eficiente para la colonización debido a la ausencia de vasos, a la presencia de torus en las punteaduras y a la escasez o ausencia de células parenquimáticas en el sistema longitudinal. Asimismo, la disponibilidad de nutrientes orgánicos y minerales - celulosa, hemicelulosas, proporción y tipo de lignina, niveles de Nitrógeno, entre otros -, el microclima - temperatura, composición gaseosa, contenido de humedad, pH -, la presencia de extraíbles - grasas, ácidos orgánicos, alcaloides, aceites, resinas, compuestos fenólicos, azúcares - como también la interacción con otros organismos constituyen factores a tener en cuenta al momento de analizar los procesos de colonización (Boddy, 1992; Schwarze et al., 2000a).

Las hifas de los hongos colonizan ampliamente la madera antes de que se registre alguna evidencia de degradación. La degradación incipiente se caracteriza por la presencia de al menos una hifa en las células del leño lo cual sugiere que las enzimas no pueden difundir fuera de las células en las que son secretadas. De acuerdo con esto, cualquier atributo de la madera que limite el desarrollo fúngico - tálides, compuestos gomosos, cristales - influye en su resistencia a la degradación fúngica (Zabel & Morrell, 1992).

En cuanto a la degradación de las paredes celulares, es producida de dos maneras diferentes. Una forma es mediante el adelgazamiento de la hifa y posterior penetración en la matriz lignocelulósica provocando la disolución enzimática de estas sustancias. Las enzimas son segregadas a lo largo de las superficies laterales de las hifas. En el segundo caso el grosor de la hifa no se modifica; ésta permanece adherida al estrato más interno de la pared secundaria (S2 o S3) y las enzimas son liberadas a través de su extremo apical (Deschamps & Wright, 1997; Schwarze, 2007).

Como todo organismo vivo, los hongos poseen ciertos requerimientos para su crecimiento y supervivencia en la madera; entre los más importantes se pueden enumerar:

- agua libre sobre la superficie del lumen celular;
- oxígeno atmosférico a relativamente bajos niveles para la mayoría de los hongos;
- temperatura favorable; el óptimo se encuentra entre los 15°C – 45 °C;
- un sustrato que provea de energía y metabolitos para la síntesis vía metabólica;
- pH adecuado; el óptimo está entre 3 y 6;
- factores químicos de crecimiento, como ser compuestos de Nitrógeno, vitaminas y elementos esenciales.

En términos generales, la fuente de nutrición más importante para los hongos xilófagos son los hidratos de carbono de la pared celular - polímeros estructurales: celulosa, hemicelulosas -. La degradación de la lignina ocurre en presencia de carbohidratos; desde el punto de vista nutricional dicho polímero tiene poca importancia para los hongos. No obstante, el establecimiento exitoso de estos organismos depende de su habilidad para utilizar los componentes no estructurales enumerados (Boddy & Rayner, 1983; Zabel & Morrell, 1992). El Nitrógeno (N) juega el rol más importante dentro de los constituyentes no estructurales de la madera. Su baja concentración - 0.03% - 0.10% - indica que estos organismos tienen un eficiente mecanismo para su metabolismo y reutilización. Los Basidiomycota pueden funcionar con pequeñas cantidades de este elemento; esto lo logran mediante la autólisis y la reutilización del N de su propio micelio o por la lisis del talo de otros hongos, en asociación con el uso extremadamente económico del mismo en el metabolismo. El N proveniente de la fijación bacteriana puede ser necesario para la formación de las fructificaciones. Con respecto a las vitaminas, la tiamina presente en la madera es considerada esencial para el crecimiento de la mayoría de los hongos; su destrucción

mediante tratamientos alcalinos fue considerada como estrategia de aumento de la durabilidad de la madera aserrada. Asimismo, la ausencia de extraíbles tóxicos es necesaria para la mayoría de estos organismos. Sin embargo, existen antecedentes en torno al desarrollo preferencial de *Ganoderma adspersum* dentro de un ambiente rico en polifenoles (Schwarze & Baum, 2000). Rayner & Boddy (1988) observaron que algunos volátiles pueden estimular el desarrollo de *Ganoderma* spp como también la dirección de crecimiento; Fries (1961, tomado de Schwarze & Baum, 2000) observó el crecimiento preferencial de *G. applanatum* en vasos conteniendo el volátil nonanal⁶. La luz visible es importante en algunas especies fúngicas para el desarrollo de las estructuras reproductivas; los altos niveles de luz UV son letales para la mayoría de estos organismos (Highley, 1987; Zabel & Morrell, 1992; Schwarze et al., 2000a).

Barreras a la colonización fúngica

En la albura de ejemplares sanos, vigorosos, los tejidos dañados por los hongos xilófagos pueden ser compartimentalizados. De acuerdo con esto, la colonización y degradación fúngica son restringidas mediante la producción de barreras físicas – depósitos de gomas y resinas, tñlides, estratos suberizados - y/o químicas - extractivos fungicidas - que surgen en respuesta a dicho proceso - barreras de tipo activa -, reacciones no sólo condicionadas por la vitalidad del ejemplar sino también por la época del año y temperatura asociada. El duramen en cambio, por su condición de tejido xilemático muerto, queda excluido de algún mecanismo de defensa o respuesta activa contra el avance de los hongos. No obstante, en esta zona del leño suelen presentarse barreras, consideradas de tipo pasivas (todas aquellas modificaciones químico anatómicas que surgen durante el proceso de duraminización) que no sólo incrementan la resistencia de las maderas a la degradación, sino que además determinan que especie/s fúngica/s es/son capaces de colonizarla (Rayner & Boddy, 1988; Boddy, 1992; Schwarze et al., 1997; Schwarze, 2001).

Uno de los primeros modelos que surgieron para describir el desarrollo y la restricción de la degradación en árboles en pie vivos fue el propuesto por Shain (1967, 1971, 1979). Según dicho autor, ante un daño, las células parenquimáticas diferencian barreras en la interface tejido degradado / tejido sano - zona de reacción - que son

⁶ Aldehído alquilo con un sabor a fruta fuerte u olor floral, utiliza en aromatizantes y perfumería.

interpretadas como un tipo de defensa que restringe al frente de avance de la infección.

Posteriormente surge el Modelo CODIT - "Compartmentalization of Decay in Trees" - de Shigo & Marx (1977). Este modelo es propuesto sobre la base de los patrones de decoloración y degradación observados en maderas de Latifoliadas. CODIT opera con "paredes" que asumen el rol de barreras físicas y/o químicas las cuales pueden estar presentes al momento de producirse la herida o bien ser formadas luego de un daño - respuesta activa - con el fin de detener el avance de la infección/colonización fúngica. Estas paredes son:

Pared 1 (W1): surge en respuesta al avance de la infección; resiste la difusión en dirección axial por oclusión del tejido orientado axialmente, ej.: tálides en los vasos; deposición de sustancias antifúngicas; en coníferas, el cierre de las punteaduras areoladas por el torus.

Pared 2 (W2): representada por el leño tardío, el cual resiste la difusión en dirección radial; los elementos celulares del leño tardío poseen a menudo paredes engrosadas, más lignificadas. Es una barrera preexistente al daño, por lo tanto, no inducida. En algunas especies las células parenquimáticas organizadas en el borde del anillo anual participan activamente en las respuestas de defensa.

Pared 3 (W3): establecida por las células parenquimáticas de los radios, que pueden resistir la difusión tangencial mediante la producción de sustancias de defensa - barrera inducida -; éstas no constituyen obstáculos continuos por representar paredes bajas, a modo de cintas, organizadas radialmente en la madera.

Las W1 a W3 implican una modificación de naturaleza química y/o anatómica en las células constituyentes de la madera. Éstas dependen de las células parenquimáticas con limitado número de respuestas y son equivalentes a las zonas de reacción previamente definidas por Shain (Rayner & Boddy, 1988; Pearce, 2000; Schwarze, 2001).

Pared 4 o zona de barrera (Bz): formada por el cambium en el anillo anual luego de ser dañado. La Bz o "barrier zone" es un tejido con una pequeña proporción de vasos y una alta cantidad de células parenquimáticas con capacidad de reacción - oclusión de fibras, parénquima y vasos por polifenoles y tálides -. Dichas células además poseen suberina - material corchozo, fungistático, en proporción variable en función de la especie arbórea - dispuesta a modo de laminillas superpuestas al estrato más interno de la pared celular, la cual contribuye con la resistencia a la degradación. De acuerdo con esto, la zona de barrera es un tejido formado *de novo* por el cambium

en la vecindad de la herida y, en contraste con las W1, 2 y 3, no sólo presenta una modificación química sino también anatómica. Esta barrera es la más efectiva por ser estructuralmente homogénea; forma un verdadero obstáculo para el ataque fúngico y marca un límite abrupto entre la madera degradada y la sana en la zona de la albura. La Bz está íntimamente ligada a la vitalidad y dinámica del cambium del árbol (Figura 3) (Shigo & Marx, 1977; Boddy & Rayner, 1983; Rayner & Boddy, 1988; Pearce, 2000; Schwarze, 2001).

Por su parte debe tenerse en cuenta que los hongos que infectan la albura y/o cambium y que activamente inducen la diferenciación de las zonas de reacción y la zona de barrera son excepciones. La mayoría de los hongos que degradan la madera de los árboles en pie vivos - parásitos, responsables de pudriciones patogénicas -, afectando su resistencia y estabilidad, son especies de duramen – "heart rot fungi"-. Éstos ingresan vía grandes ramas o raíces dañadas y se desarrollan en el tronco, por lo general sin causar daño a la albura y al cambium (Schwarze, 2001).

Existen algunos hongos capaces de salvar las barreras mencionadas mediante un mecanismo dual de degradación; un ejemplo de ello lo constituye *Inonotus hispidus*. Este patógeno, si bien es responsable de pudrición blanca en base a su habilidad ligninolítica, en *Platanus x hispanica* degrada la madera con un patrón de pudrición blanda - o *soft rot* - a fin de salvar la presencia de gomas, tálides y compuestos fenólicos que obstruyen el lumen de los vasos y fibras adyacentes al parénquima de la zona de reacción. Por su parte *G. adspersum*, responsable de pudrición blanca, supera las barreras diferenciadas por *Fagus sylvatica* a través de un mecanismo enzimático que le permite la degradación de tálides suberizadas y polifenoles (Schwarze et al., 1997; Schwarze, 2001).

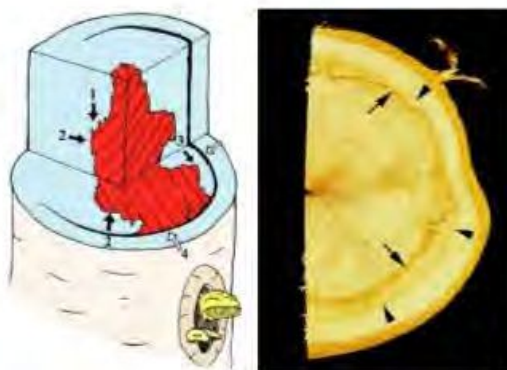


Figura 3: Izquierda, representación esquemática de las paredes (walls) del sistema CODIT. Derecha, sección transversal de fuste de *Tilia* sp. conteniendo una zona de barrera (punta de flecha), la cual separa la madera degradada y decolorada de la albura sana; la madera formada antes de iniciado el daño contiene una zona de reacción (flecha) (tomado de Schwarze, 2007).

TIPOS DE PUDRICIONES CAUSADAS POR LOS HONGOS XILOFAGOS

En términos generales, las pudriciones del leño pueden ser clasificadas como patogénicas, presentes en árboles en pie vivos, o como saprofitas, con desarrollo en ejemplares muertos o en algunas de sus partes bajo esta condición, denominación que también incluye a las pudriciones que afectan a los productos de madera. Existen además clasificaciones que contemplan la ubicación de las pudriciones en el ejemplar y, a causa de ello, son denominadas pudriciones de albura, de duramen, de raíz, fuste o de copa. Asimismo, en base al aspecto, consistencia y alteraciones químico-estructurales que adquiere la madera atacada se distinguen las denominadas pudriciones blancas, castañas y blandas (Zabel & Morrell, 1992; Schwarze, 2004; Schwarze, 2007), clasificación ampliamente utilizada y a considerar en esta sección.

Pudriciones blancas

El rasgo saliente de este tipo de deterioro - o "white rots", es la degradación de la lignina, polímero que sólo puede ser mineralizado por los "hongos de pudrición blanca", término que incluye a especies pertenecientes al grupo de los Basidiomycota y Ascomycota (Xylariaceae) (Janusz et al., 2017).

A modo de generalidad, a nivel macroscópico, la madera con Pb se caracteriza por su color blanquecino producto de la destrucción de sus pigmentos y por la acumulación de la celulosa residual. Comúnmente presenta líneas oscuras - o "zone lines" - definidas como líneas delgadas que delimitan la región atacada de la sana (Zabel & Morrell, 1992), indicadoras de fenómenos de interacción fúngica (Boddy, 2000) o relictos de zonas de reacción (Smith, 2001; Pearce, 1991). Distintos tipos de Pb son distinguidos en base al aspecto o bien a los rasgos microscópicos que adquiere el leño: alveolares - con cavidades -; fibrilares o "white stringy rots"; "white pocket rots" - con áreas blanco brillantes por acumulación de celulosa producto de selectiva delignificación -; moteadas o "white mottled rots" - pudrición blanca simultánea interpuesta entre sectores con delignificación selectiva -; pudriciones laminares o "laminated rots" - con desarrollo en la zona de transición leño temprano-tardío-; anulares o "ring rots" - presentes a la altura del anillo -. Los tipos enumerados resultan de la interacción entre el hongo responsable del deterioro, la anatomía del leño, la estructura y composición química de la pared de los distintos tipos celulares y de las condiciones ambientales. Otro rasgo característico es la consistencia esponjosa -

"spongy rot" que adquiere el material en los estadios avanzados de pudrición (Blanchette et al., 1985; 1988; Otjen & Blanchette, 1986; Blanchette, 1991; 1995; Schwarze et al., 2007). Dentro del grupo "pudriciones blancas" (Pb) se distinguen las blancas simultáneas y las selectivas. Las primeras resultan de la degradación simultánea de la matriz lignocelulósica de la pared celular. Las pudriciones blancas selectivas surgen de un proceso de selectiva delignificación. Asimismo, ambos tipos pueden presentarse en un mismo sustrato o bien una misma especie de hongo puede producir uno u otro, variantes condicionadas por la cepa fúngica, el medio y las características del sustrato (Blanchette et al., 1985; Blanchette, 1991; 1995; Martínez et al., 2005). **Pudriciones blancas simultáneas:** durante su desarrollo el micelio coloniza y permanece en el lumen celular. La degradación ocurre en el punto de contacto hifa/pared - la difusión de las enzimas está limitada a la proximidad de la hifa - e involucra la formación de senderos de erosión (se). Los se - o áreas de erosión localizada de la pared - pueden alcanzar la laminilla media compuesta (Lmc) y provocar la formación de agujeros o "holes" o bien pueden coalescer, provocar el adelgazamiento generalizado de la pared celular y la formación de vacíos que se llenan de tejido fúngico (Figura 4) (Blanchette, 1995; Schwarze et al., 1997; Schwarze, 2007). De acuerdo con ello, a nivel microscópico, los caracteres utilizados para diagnosticar este tipo de deterioro incluyen la formación de agujeros; el adelgazamiento de la pared; la diferenciación de senderos redondeados, con forma de U, en corte transversal; la presencia de abundante micelio en áreas con total degradación como también la erosión perfectamente circular de las punteaduras o "rounded pit erosion" y la presencia de pequeñas perforaciones, menores a 4 µm de diam. - o "bore holes" - (Anagnost, 1998).



Figura 4: Pudrición blanca simultánea; desarrollo. Las primeras etapas del proceso de degradación ocurren en la proximidad de las numerosas hifas ubicadas en el lumen celular. La pared es progresivamente degradada desde el lumen (de modo centrífugo); cada una de las hifas penetra la pared en ángulo recto respecto del eje axial formando área localizadas de erosión que por coalescencia conducen al adelgazamiento generalizada de la pared. Asimismo se diferencian pequeñas perforaciones entre células. En etapas avanzadas sólo quedan restos de la Lmc altamente lignificada (tomado de Schwarze, 2007).

Pudriciones blancas selectivas: su rasgo relevante es la separación celular consecuencia de un proceso de selectiva delignificación (Srebotnik & Messner 1994; Anagnost, 1998). Si bien la lignina está distribuida en la totalidad de los estratos de la pared, su mayor concentración en la Lmc y ángulos celulares determina que en dichas zonas se concentre el ataque con la consecuente manifestación de la separación de las células. En la pared secundaria, el colapso lamelar y la acentuación de las estructuras radiales cuando presentes - sólo fueron identificadas en las fibras - también es posible (Blanchette, 1991; Schwarze et al., 1997; Schwarze, 2007).

Este tipo de pudrición puede evolucionar de modo centrífugo - desde el lumen - o bien centrípeta - desde la Lmc -. En el primer caso, las hifas ubicadas en la cavidad celular producen una intensa delignificación en la totalidad de la pared incluídos los ángulos celulares; la lignina es degradada más allá del estrato adyacente a la hifa, a "grandes distancias de la hifa fúngica" (Figura 5). De acuerdo con ello, la descomposición de este polímero es mediada por un sistema ligninolítico difusible al tiempo que ocurre la degradación de las hemicelulosas. La descomposición de la celulosa es limitada o bien esta inhibida, todo lo cual conduce a su acumulación. En etapas avanzadas del proceso puede o no ser atacada. En referencia a la delignificación centrípeta, está asociada al crecimiento hifal entre células, a nivel Lmc, región a partir de la cual ocurre el proceso de fragmentación del polímero aromático. La madera con este tipo de deterioro adquiere aspecto fibrilar, pierde su rigidez y dureza, no obstante, mantiene su resistencia a la tensión producto de la celulosa residual (Blanchette, 1991; Srebotnik & Messer, 1994).

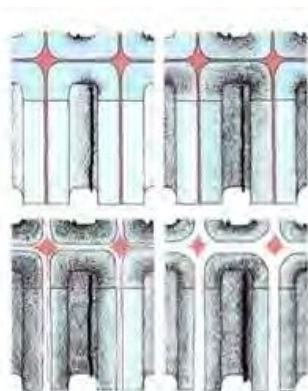


Figura 5: Pudrición blanca selectiva; desarrollo. Inicialmente, sustancias de bajo peso molecular difunden en la pared secundaria desde las hifas ubicadas en el lumen e inician la degradación de las hemicelulosas y lignina alcanzando la laminilla media compuesta (Lmc). En etapas avanzadas, la degradación preferencial de la Lmc resultan en la separación celular; la celulosa permanece intacta (tomado de Schwarze, 2007).

Pudriciones castañas

Las pudriciones castañas o "brown rots" constituyen un tipo de desorganización del leño causada exclusivamente por miembros de los Basidiomycota, rango taxonómico dentro del cual los Poliporales incluyen la mayor parte de las especies responsables de este tipo de pudrición (Gamauf, 2007; Schwarze, 2007).

Las pudriciones castañas (Pc) se inician con unas pocas hifas dispersas en el lumen celular y toman lugar particularmente en el S2 de la pared, estrato con mayor contenido de celulosa debido a su espesor. Inicialmente la degradación ocurre mediante un sistema celulolítico altamente difusible – distintas especies de oxígeno reactivo o ERO- que le permite a los hongos salvar la barrera que constituye la lignina (Figura 6), (Highley, 1987; Zabel & Morrell, 1992; Curling et al., 2001; Janusz et al., 2017).

Durante el curso de este tipo de deterioro, los carbohidratos de la pared celular son despolimerizados; la lignina sólo parcialmente modificada principalmente por demetilación (Fackler et al., 2010). El intenso ataque a la celulosa determina el patrón de fractura cúbico y la fragilidad del material – se transforma en polvo bajo presión - que las caracterizan. La lignina modificada es la responsable de la coloración castaña de la madera, y de la cual surge su denominación (Schwarze, 2007).

Macroscópicamente, las pudriciones castañas son consideradas más homogéneas que las pudriciones blancas. No obstante, microscópicamente, fueron reportados distintos patrones de colonización y degradación fúngica (Wilcox, 1993a; Schwarze et al., 2003; Murace et al., 2017). Las características anatómicas del sustrato, la ultraestructura de sus células constituyentes, las estrategias que desarrolla una especie para salvar las barreras a la colonización presentes en el tejido, entre otros, explicarían dicha heterogeneidad (Wilcox, 1993a; Schwarze et al., 2003; Schwarze, 2007).

A nivel microscópico, el adelgazamiento y deformación de las paredes celulares, la contracción del tejido, la presencia de fracturas perpendiculares a la pared y de pequeñas perforaciones - 0.5µm a 4µm de diam. o "bore holes" – y principalmente la pérdida de birrefringencia, constituyen elementos de diagnóstico (Wilcox, 1993a; Anagnost, 1998; Schwarze et al., 2000a; 2003; Schwarze, 2007). La mayor susceptibilidad a la degradación que poseen las fibras del leño temprano respecto de los elementos de vaso y parénquima también son rasgos que las caracterizan. La diferente disposición espacial de las microfibrillas de celulosa entre dichos tipos

celulares sería la causa. A diferencia de lo que ocurre en los vasos y en el parénquima, en las fibras las microfibrillas se disponen en el espacio formando estructuras radiales disposición que favorecería la difusión de las enzimas y demás agentes de degradación (Schwarze, 2007).

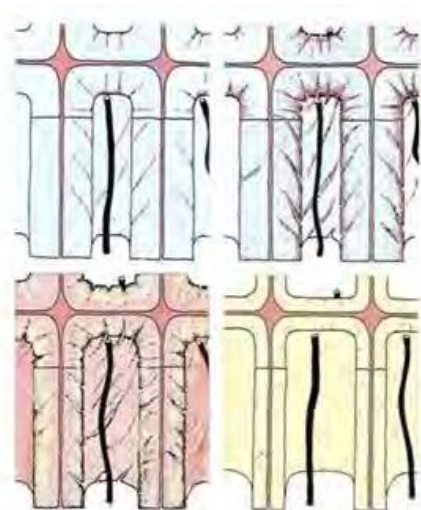


Figura 6: Pudrición castaña; desarrollo. Inicialmente, sustancias de bajo peso molecular son secretadas por las hifas fúngicas ubicadas sobre el estrato S3; dichas sustancias difunden radialmente en la pared celular. En un estado más avanzado, las enzimas han penetrado en la totalidad de la pared determinando el quiebre generalizado de la celulosa y hemicelulosas y el consecuente encogimiento de la madera; éste último conduce a la formación de numerosas rajaduras. En el S3 permanece intacto; en la totalidad de la pared persiste una matriz de lignina modificada (tomado de Schwarze, 2007).

Pudriciones blandas

Este tipo de deterioro, producido por Ascomicetes, es poco frecuente en ejemplares arbóreos, no así en los productos derivados de la madera - madera en servicio, bajo condiciones de alta humectación del material -.

Los hongos responsables de pudrición blanda o "soft-rot fungi" atacan la celulosa y hemicelulosas y alteran parcialmente la estructura de la lignina. Asimismo, ciertos Basidiomicetes pueden causar patrones de degradación típicos de pudrición blanda como parte de una estrategia de adaptación al sustrato, para salvar las barreras a la colonización que se les presentan, circunstancia bajo la cual se comportan como "facultative soft-rotters" (Schwarze & Fink, 1997; 1998; Schwarze & Baum, 2000; Schwarze et al., 2000a). La madera con este tipo de pudrición se caracteriza por su consistencia blanda cuando húmeda, por su color oscuro y por diferenciar rajaduras al secarse. Las formas de ataque a la pared celular son ilustradas en la Figura 11.

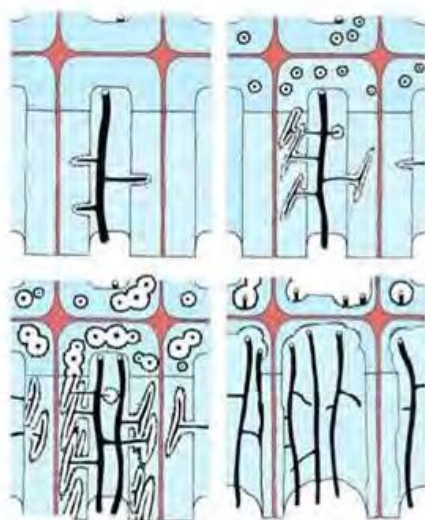


Figura 7: Pudrición blanda; evolución. Inicialmente las hifas penetran en la pared secundaria (S2); éstas se ramifican y orientan en forma paralela a las microfibrillas de celulosa. La degradación en las proximidades de las hifas conduce a la formación de cavidades de extremos cónicos. En estados avanzados de degradación la pared secundaria es completamente destruida y la Lmc rica el guayacil lignina persiste (tomado de Schwarze, 2007).

Alteraciones estructurales que causan los hongos xilófagos en maderas naturalmente infectadas: Antecedentes a la fecha

Para nuestro país es escasa la información relacionada con las alteraciones estructurales que causan los hongos xilófagos en maderas naturalmente infectadas (Luna et al., 2007; 2012; 2015; Murace et al., 2011; 2014b; 2016; 2017). A nivel mundial, si bien Schwarze et al., 2000a; Schwarze, 2007 recopilan información de este tipo, en pocos casos hacen referencias a las interacciones consideradas en esta investigación (Tabla 1). Este conocimiento se considera de importancia a los fines de aportar información respecto del daño posible de presentarse en los ejemplares atacados y a partir de ello poder explicar y estimar el impacto - con apoyo en el conocimiento de las alteraciones químicas que provocan los hongos en estas maderas- en la capacidad resistente del ejemplar. Lo expuesto en particular considerando la alta frecuencia con la que se presentan las interacciones bajo estudio en los ambientes urbanos (Sede & López, 1999; Schwarze et al., 2000a; Thero et al., 2007; Robles et al., 2011; 2012; Schmidt., et al 2012; Urcelay et al., 2012; Rajchenberg & Robledo, 2013, Heredia et al., 2014).

Los objetivos planteados para este capítulo son los siguientes:

- Caracterizar los tipos de pudrición a nivel estructural (macro y microscópico).
- Determinar la zona en la que se circunscriben los daños: albura, duramen, leño temprano, tardío, tipos celulares afectados.
- Identificar la presencia / ausencia de barreras a la degradación en las distintas especies forestales.
- Analizar las semejanzas y particularidades de los patrones de degradación entre las distintas interacciones hospedante – patógeno.

MATERIALES Y METODOS

Muestras de madera

El material de estudio (Tabla 1) provino mayoritariamente de las especies consideradas representativas de los espacios públicos de la Ciudad de La Plata y alrededores (Libro Municipalidad de La Plata, 1983).

Tabla 1. Interacciones estudiadas.

Especie arbórea	Especie xilófaga	Tipo de pudrición
<i>Acer negundo</i> L. "arce"	<i>Cerrena unicolor</i> (Bull.) Murr. <i>Inonotus rickii</i> (Pat.) D.A. Reid	blanca blanca
<i>A. saccharinum</i> L.	<i>Ganoderma resinaceum</i> Boud.	blanca
<i>Celtis australis</i> L. "almez"	<i>G. resinaceum</i>	blanca
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill "eucalipto blanco"	<i>Arambarria cognata</i> (Bres.) Rajchenb. & Pildain comb. Nov.	blanca
<i>E. tereticornis</i> Sm. "eucalipto colorado"	<i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.) Murr.	castaña
<i>Fraxinus pennsylvanica</i> Marsh. "fresno americano"	<i>L. sulphureus</i> <i>G. resinaceum</i>	castaña blanca
<i>Ligustrum lucidum</i> W.T Aiton "ligustro"	<i>C. unicolor</i> <i>G. resinaceum</i>	blanca blanca
<i>Melia azedarach</i> L. "paraíso"	<i>L. sulphureus</i> <i>Phlebia brevispora</i> Nakas. Nakas. & Eslyn	castaña blanca
<i>Populus alba</i> L. "álamo plateado"	<i>L. sulphureus</i>	castaña
<i>Prunus cerasifera</i> var. <i>pissardii</i> (Carrière) Koehne (= <i>P. pissardii</i>) "ciruelo de jardín"	<i>Phellinus pomaceus</i> (Pers.) Maire	blanca
<i>Quercus robur</i> L. "roble europeo"	<i>G. resinaceum</i>	blanca
<i>Robinia pseudoacacia</i> L. "falsa acacia"	<i>L. sulphureus</i>	castaña
<i>Salix</i> sp "sauce"	<i>C. unicolor</i> <i>Beijerkandera adusta</i> (Willd.: Fr.) P. Karst	blanca blanca
[<i>Tilia x viridis</i> (Bayer) Simonk. subsp <i>moltkei</i> (Dippel) Xifreda] "tilo moltkei"	<i>L. sulphureus</i>	castaña

La identificación botánica de dichas especies fue realizada a campo y en laboratorio, empleando los caracteres diagnósticos observados en las hojas, flores y/o frutos, cortezas (Dimitri & Parodi, 1977). En laboratorio, el material muestreado fue comparado con aquellos depositados en el Herbario de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (LP) y de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (LPAG), (UNLP). Materiales examinados: ARGENTINA. PROV. BUENOS AIRES. ***Acer negundo*** L. Pdo. La Plata: Gonnet, 21-04-1996, *G. Delucchi 1248* (LP); La Plata, 20-X-1983, *C. Guido 11* (LP). ***Acer saccharinum*** L. Pdo. Tigre, Tigre, 08-III-1959, *A. E. Lanfranchi 1500* (LP). ***Celtis australis*** L. Pdo. La Plata. La Plata: Paseo del Bosque, 24-III-1986, *G. Delucchi 79* (LP); Parque Saavedra 01-V-2003, *G. Delucchi 2.712* (LP). ***Eucalyptus tereticornis*** Smith. Pdo. La Plata, Isla Martín García, 16-III-2000, *Delucchi 2.365* (LP). ***Fraxinus pennsylvanica*** Marshal. Pdo. La Plata. Isla Martín García, 14-I-1994, *Hurrel et al., 1674* (LP); 15-III-1993, *Hurrel et al., 1459* (LP). ***Ligustrum lucidum*** Ait. Pdo. La Plata, Isla Martín García, 15-III-1993, *Hurrel et al., 1.480* (LP). ***Melia azedarach*** L. Pdo. La Plata. Gonnet, 20-IV-1997, *M. Hernández 54* (LP); 13-X-1989, *Rovella 78* (LP). ***Prunus ceracifera*** fo. ***Atropurpurea*** Rehder. Pdo. La Plata, La Plata, Bosque, 14-IX-1943, *D. Albatte s.n.* (LP). ***Quercus robur*** L. Dpto. La Plata. La Plata. Gonnet, 17-III-1996, *G. Delucchi 1.236* (LP); 26-III-1995, *G. Delucchi 940* (LP). ***Robinia pseudo-acacia*** L. Pdo. La Plata, City Bell, 19-X-1994, *G. Delucchi 798* (LP). ***Salix babylonica*** L. Pdo. Berisso, Isla Paulino, 1-V-2009, *M. P. Hernández 32* (LP). ***Salix humboldtiana*** Willd. Pdo. Berisso, Isla Paulino, 5-XII-2009, *M.P. Hernández 5* (LPAG). ***Tilia moltkei*** Spaeth. Pdo. La Plata, La Plata, 20-XI-1983, *C. Guido 48* (LP). Pdo. Mar de Plata, Mar del Plata, 04-XI-1944, *A. L. Cabrera 9.919* (LP). ***Tilia viridis*** (Bayer) Simonk. ssp. ***x moltkei***. Pdo. Ensenada, Isla Santiago, 18-III-2011, *M.P. Hernández 79* (LPAG). PROV. ENTRE RÍOS. ***Salix humboldtiana*** Willd. Colón, Parque Nacional El Palmar, 03-XI-2008, *G. Delucchi y F. Buet 3.397* (LP).

Se muestrearon aquellos ejemplares con evidencias directas de pudrición - madera podrida expuesta y/o presencia de basidiocarpos -. De cada uno de ellos también se obtuvo una muestra testigo (del mismo ejemplar en la mayor parte de los casos; cuando no fue posible por el avance del deterioro se muestreó otro individuo). Ante la presencia de fructificaciones como única evidencia de deterioro, el material fue obtenido con barreno de Pressler. En este caso, las muestras de madera degradada fueron tomadas según un muestreo en 4 puntos (en cruz) alrededor de la fructificación (Boyce, 1961).

Recuperadas las muestras de madera, en laboratorio se comenzó con la tarea de observación y descripción, inicialmente a ojo desnudo (macroscópicamente) y luego microscópicamente (con lupa, microscopio óptico y electrónico de barrido) previo procesamiento según se detalla a continuación.

Estudios anatómicos

Para las observaciones anatómicas del material con evidencias de deterioro, se consideraron las publicaciones de Blanchette (1980; 1983; 1995), Otjen & Blanchette (1982; 1984), Blanchette et al. (1985; 1988), Wilcox (1993 a; b), Anagnost (1998), Schwarze et al. (1997; 2000a), Schwarze (2001; 2007). Estos trabajos contribuyeron a la interpretación de los rasgos macro y microscópicos presentes en las muestras.

Procesamiento del material

Para los estudios con microscopio óptico (MO), porciones de madera fueron fijadas en formaldehído -ácido acético - alcohol (FAA), deshidratadas a través de una serie de etanol-xilol y embebidas en Paraplast. Los cortes (10–12 μm de espesor en los tres sentidos de estudio del leño) fueron teñidos con safranina-*fast Green*, donde coloraciones rojizas de las paredes celulares indican lignificación y las verdosas, presencia de celulosa = delignificación selectiva (D'Ambroggio de Argüeso 1986; Srebotnik & Messner, 1994). Porciones de leño también fueron fijadas en una solución 2,5% de glutaraldehído en buffer fosfato 0.1 M pH 7.5, infiltradas en vacío durante 2 hs, lavadas 3 veces en el mismo buffer y post-fijadas durante 3 h en tetróxido de osmio 1%. El material fue deshidratado luego en una serie de etanol-acetona e infiltrado en resina Spurr. Las secciones (2-2,5 μm de espesor) fueron teñidas con ácido fucsínico-azul de toluidina. En algunas ocasiones se realizaron además cortes con hojas de afeitar. A fin de detectar celulolisis (manifestada como pérdida de birrefringencia, rasgo de diagnóstico de pudrición castaña), secciones sin tinción fueron observadas con luz polarizada. Las observaciones se realizaron en un microscopio Nikon E200.

Las técnicas descriptas también fueron aplicadas para las descripciones del material testigo, las cuales fueron realizadas tomando en consideración los caracteres de diagnóstico de la IAWA (1989).

Además, se recurrió a la Xiloteca de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAYF, UNLP) como así también a la base de datos INSIDEWOOD-DATABASE.

Respecto de los estudios con microscopio electrónico de barrido (MEB), los cortes obtenidos con cuchillas descartables fueron montados sobre platinas y cubiertos con oro. Las observaciones se realizaron en microscopios FEI, modelo Quanta 200 (Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido y Microanálisis del LIMF-Facultad de Ingeniería-UNLP) y JEOL, JSM-35 CF (Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP).

RESULTADOS Y DISCUSION

Descripción anatómica de las maderas sanas (testigo)

Acer negundo L. (arce negundo)

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad difusa, vasos solitarios y radiales múltiples cortos predominantes, 40-100/mm², placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, punteaduras radio-vaso areoladas, espesamientos helicoidales, gomas y otros depósitos en vasos del duramen; fibras con punteaduras simples a diminutamente areoladas, de paredes delgadas; parénquima axial paratraqueal, radios 1-3 células de ancho, bajos (200 a 500 µm), procumbentes, 4-12 /mm; duramen claro, no distinguible de la albura circundante.

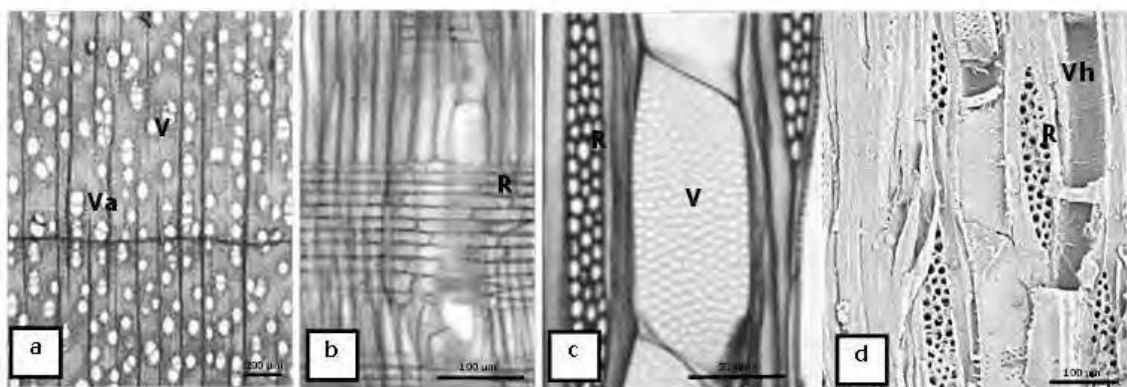


Figura 1. *Acer negundo*: rasgos relevantes con MO y MEB. Fotos a-c: MO. Foto a: corte transversal (CT); anillo de crecimiento demarcado; porosidad difusa; vasos solitarios (V) y radiales múltiples cortos (Va) predominantes. Foto b: corte longitudinal radial (CLR); radio (R) homocelular (procumbentes). Foto c: corte longitudinal tangencial (CLT); punteaduras de los vasos poligonales, alternas; radio (R), ancho. Foto d: MEB, CLT; radios bajos, homogéneos; espesamientos helicoidales en vaso (Vh).

***Acer saccharinum* L. (arce sacarino, plateado)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad difusa, vasos solitarios y radiales múltiples cortos, 20-40/mm², placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, espesamientos helicoidales, punteaduras radio-vaso areoladas, gomas y otros depósitos en vasos; fibras con punteaduras simples a diminutamente areoladas, de paredes delgadas; parénquima axial paratraqueal; radios 1 seriados y multiseriados (4 células de ancho), bajos (200 a 500 µm), cuerpo del radio con células procumbentes, 4-12 /mm; duramen mas oscuro que la albura circundante.

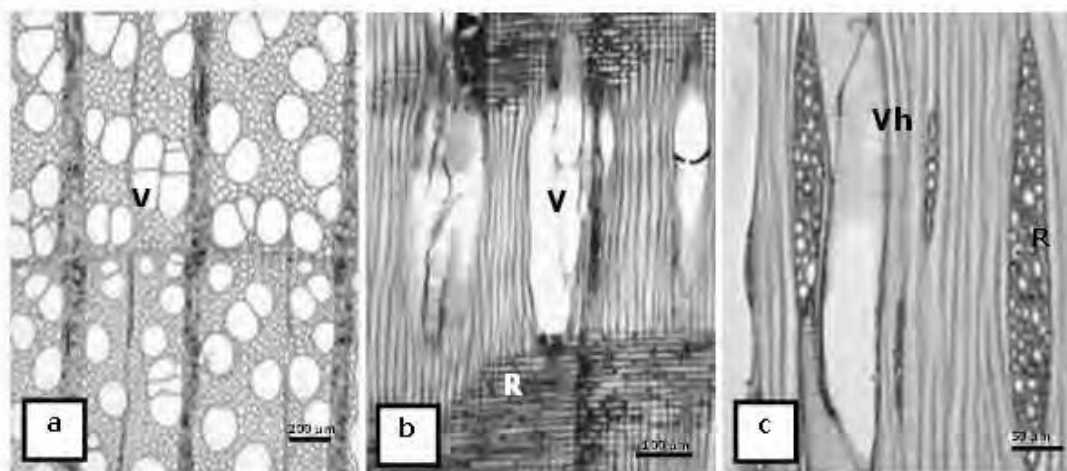


Figura 2.1. *Acer saccharinum*: rasgos relevantes con MO. Foto a: corte transversal (CT); anillo de crecimiento demarcado; porosidad difusa; vasos (V) solitarios y radiales múltiples cortos, predominantes. Foto b: corte longitudinal radial (CLR); radios (R) homocelulares (procumbentes). Foto c: corte longitudinal tangencial (CLT); espesamientos helicoidal en vaso (Vh); radio (R), ancho.

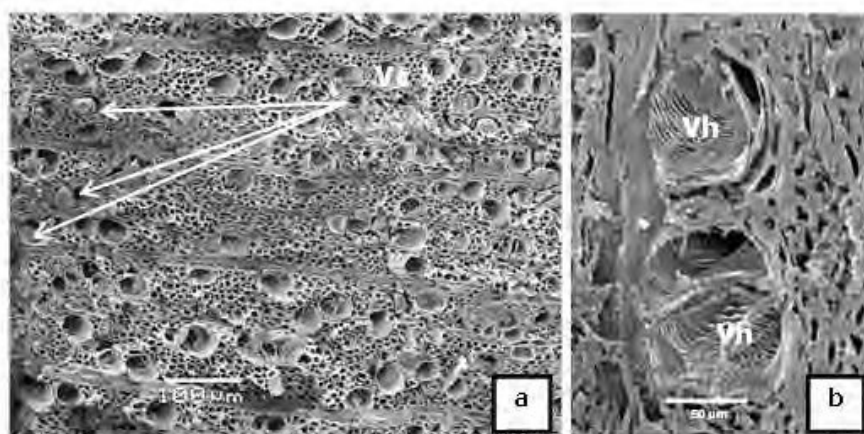


Figura 2.2 *Acer saccharinum*: rasgos relevantes con MEB. Fotos a-b: corte transversal (CT). Foto a: porosidad difusa; contenidos en vasos (Vc). Foto b: espesamientos helicoidales en vasos (Vh).

***Celtis australis* L. (almez)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad anular, vasos solitarios y agregados (predominante), en bandas tangenciales y con disposición ulmoide, placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, punteaduras radio-vaso areoladas, espesamientos helicoidales, traqueidas vasicentricas; fibras con punteaduras simples a diminutamente areoladas, de paredes delgadas a gruesas; parénquima axial confluyente; radios multiseriados, bajos (200 a 500 μm), procumbentes y células cuadradas, 4-12 /mm, con cristales; duramen claro, de color blanco, amarillento o grisáceo.

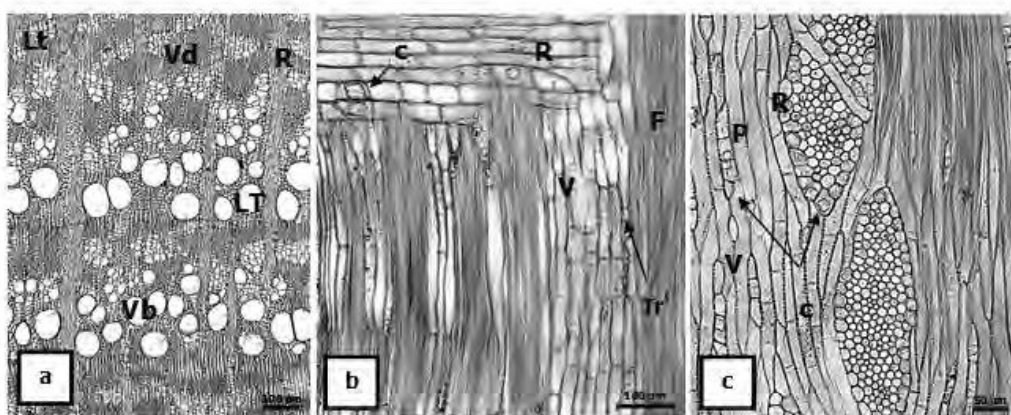


Figura 3. *Celtis australis*: rasgos relevantes con MO. Foto a: corte transversal (CT); anillo demarcado; porosidad circular, leño temprano (LT) y tardío (Lt); vasos en bandas tangenciales (Vb) y disposición diagonal (Vd); solitarios y agrupados. Foto b: corte longitudinal radial (CLR); radio (R) heterocelular; cristales (c) en radio (R); vasos agrupados; traqueida vasicéntrica (Tr); fibras (F). Foto c: corte longitudinal tangencial (CLT); radios anchos (R); cristales (c) en radio (R) y parénquima axial (P); vasos agrupados.

***Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto blanco)**

Anillos de crecimiento no demarcados; porosidad difusa, vasos solitarios, en disposición diagonal y/o radial, de dos clases de diámetro, 5-20/mm², placa de perforación simple, punteaduras areoladas, alternas, ornadas, areola circular u oval, punteaduras radio-vaso diminutamente areoladas, aparentan simples, tílides, traqueidas vasicéntricas; fibras con punteaduras simples a areoladas, de paredes delgadas a espesas; parénquima axial vasicéntrico, apotraqueal difuso y difuso en agregados, cristales; radios en su gran mayoría uniseriados y en menor proporción radios parcialmente 1-3 seriados, bajos (200 a 500 µm), con contenidos, procumbentes, ocasionalmente se observan células cuadradas y/o erectas en el cuerpo del radio o en el margen, 4-12/mm; duramen pardo amarillo a pardo – rosado.

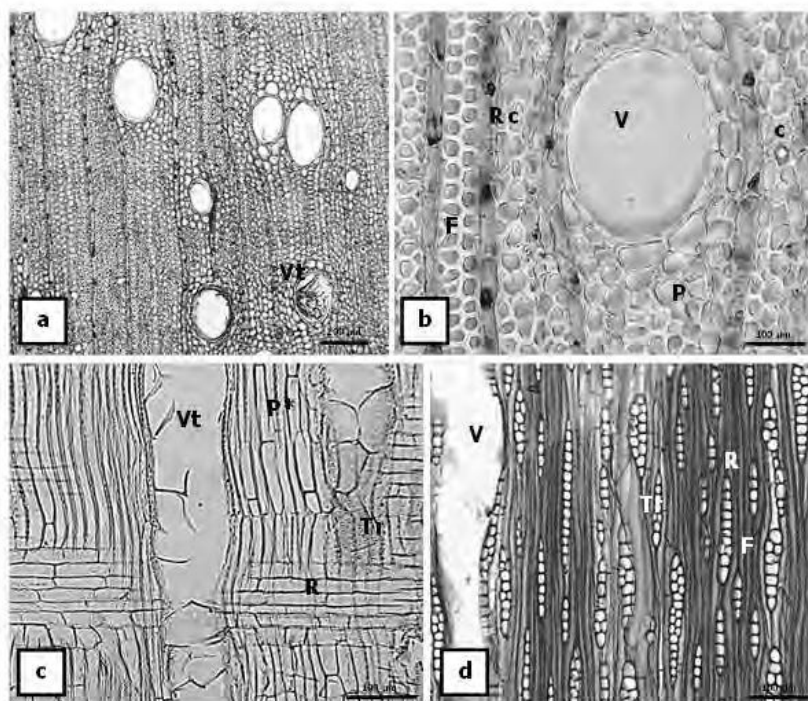


Figura 3.1. *Eucalyptus globulus*: rasgos relevantes con MO. Fotos a - b: corte transversal (CT); aspecto general y detalle, respectivamente; porosidad difusa; vasos (V) solitarios; tilosis (Vt); fibras (F); parénquima axial (P); contenidos en radios (Rc); cristal (c). Foto c: corte longitudinal radial (CLR); tilide en vaso (Vt); radio (R) heterocelular; parénquima (P); traqueidas vasicéntricas (Tr). Foto d: corte longitudinal tangencial (CLT); fibras (F); vaso (V); radio (R), ancho; traqueidas (Tr).

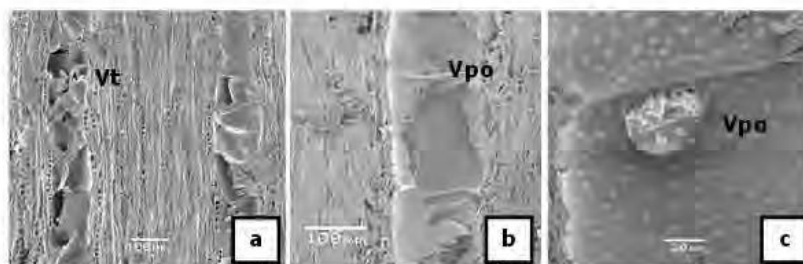


Figura 3.2. *Eucalyptus globulus*: rasgos relevantes con MEB. Fotos a - c: corte longitudinal tangencial (CLT). Foto a: tílides en vasos (Vt). Fotos b, c: vasos, punteaduras ornadas (Vpo), aspecto general y detalle respectivamente.

***Eucalyptus tereticornis* Smith (eucalipto colorado)**

Anillos de crecimiento no demarcados; porosidad difusa, vasos solitarios, con disposición radial o diagonal, de dos clases de diámetro, 5-20/mm², placa de perforación simple, punteaduras areoladas, alternas, poligonales, ornadas, punteaduras radio – vaso muy reducidas (aparentan simples), tílides, gomas y otros depósitos en vasos del duramen, traqueidas vasicéntricas; fibras con punteaduras areoladas, poligonales, de paredes espesas; parénquima axial difuso y vasicéntrico; radios biseriados predominantes, con contenidos, bajos (200-500 µm), constituidos principalmente por células procumbentes, >12/mm; duramen rojo o en tonos de rojizos.

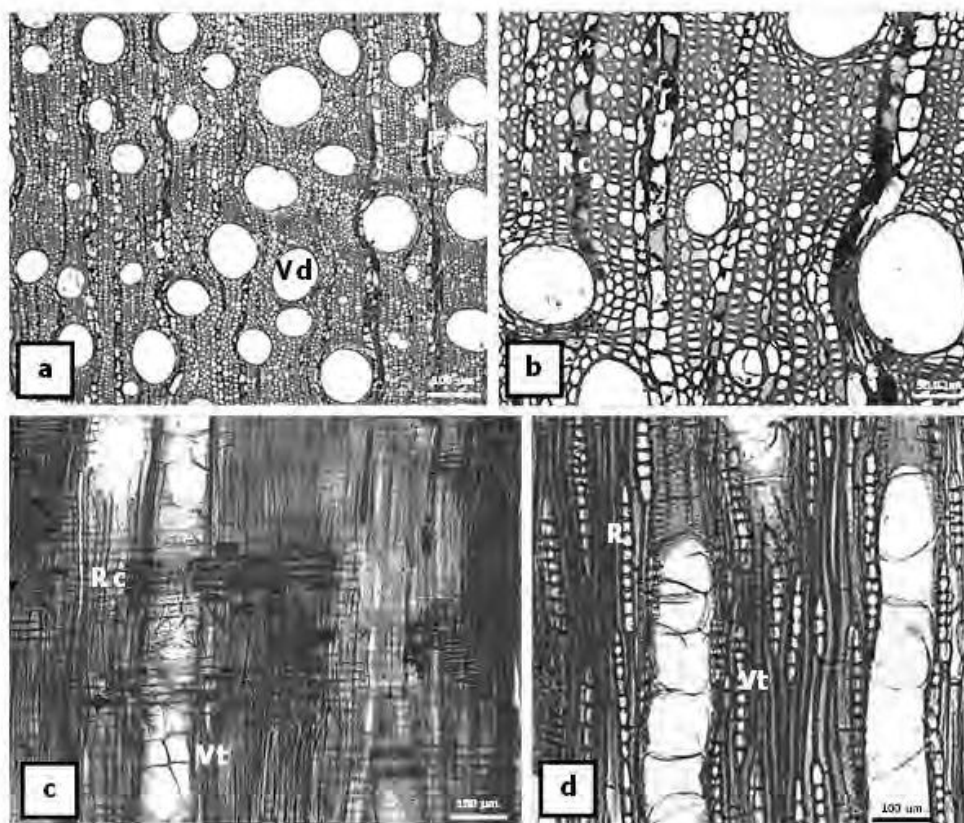


Figura 4. *Eucalyptus tereticornis*, rasgos relevantes con MO. Fotos a - b: corte transversal (CT). Foto a: anillos de crecimiento no demarcados; porosidad difusa; vasos con disposición diagonal (Vd). Foto b: vasos solitarios (V); radios (R) bi-seriados con contenidos (cn). Foto c: corte longitudinal radial (CLR); radios homocelulares, con contenidos (Rc); tílides en vasos (Vt). Foto d: corte longitudinal tangencial (CLT); vasos solitarios con tílides (Vt); radios (R) fusiformes.

***Fraxinus pennsylvanica* Marsh. (fresno americano)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad anular, vasos solitarios y radiales múltiples cortos, tílides, placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, punteaduras radio-vaso areoladas, similares a la de los vasos en forma y tamaño a nivel células radiales, traqueidas vasicéntricas; fibras con punteaduras simples a diminutamente areoladas, pared de las fibras delgada a gruesa; parénquima axial vasicéntrico, parénquima axial en bandas marginales o aparentemente marginales; radios 1-3 seriados, bajos (200 a 500 μm), constituídos por células procumbentes, 4-12/mm; duramen blanco a gris.

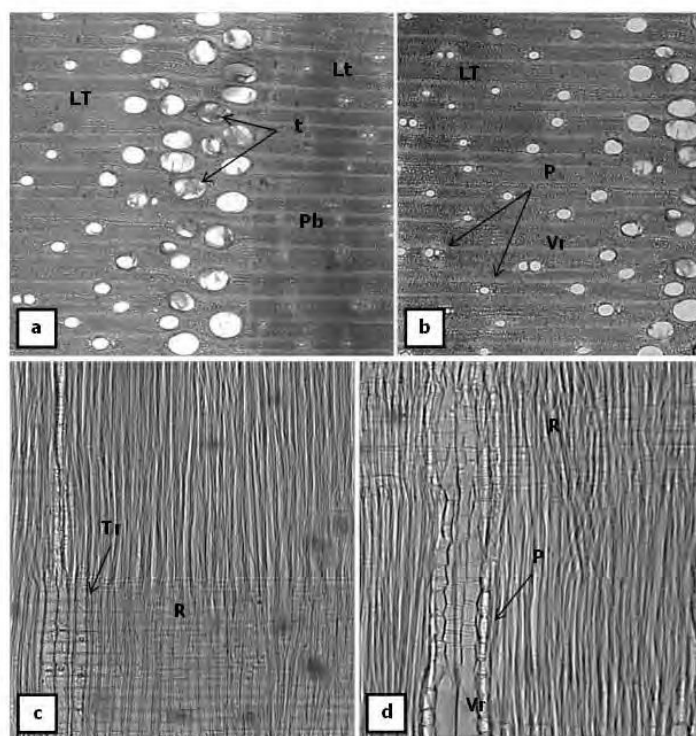


Figura 5.1. *Fraxinus pennsylvanica*: rasgos relevantes con MO. Fotos a - b: corte transversal (CT). Foto a: leño temprano (LT) y tardío (Lt); porosidad circular; tílides (t) en vasos; parénquima axial en bandas (Pb). Foto b: leño temprano (LT); vasos radiales múltiples cortos (Vr); parénquima axial vasicéntrico (P). Fotos c - d: corte longitudinal radial (CLR). Foto C: radio (R); traqueidas (Tr) vasicéntricas. Foto d: vasos radiales múltiples (Vr); parénquima axial vasicéntrico (P); radio homocelular. Escala: 200 μm

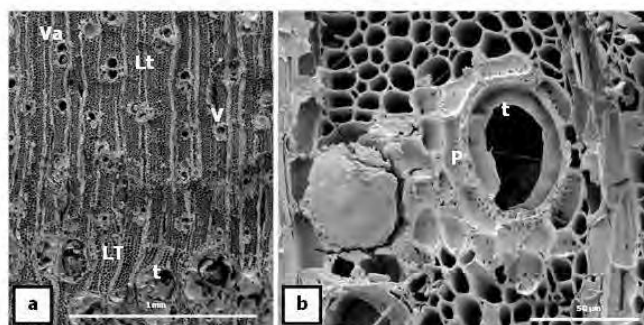


Figura 5.2. *Fraxinus pennsylvanica*: rasgos relevantes con MEB. Fotos a - b: corte transversal (CT). Foto a: leño temprano (LT) y tardío (Lt); porosidad circular; poros solitarios (V) y radiales múltiples cortos (Va); tílides (t) en vasos. Foto b: leño temprano (LT); parénquima axial vasicéntrico (P); tiliad (t) en vaso.

***Ligustrum lucidum* L. (ligustro)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad semi anular a difusa, vasos solitarios, 40-100/mm², placa de perforación simple, punteaduras alternas, punteaduras radio-vaso areoladas, espesamientos helicoidales en elementos de vaso; fibras con punteaduras areoladas, en paredes radiales y tangenciales, de paredes delgadas a espesas; parénquima paratraqueal, escaso-ausente; radios de 1-3 células de ancho, bajos (200 a 500 µm), células procumbentes con 2-4 o mas series marginales de células erectas o cuadradas, 4-12/mm, cristales; duramen claro.

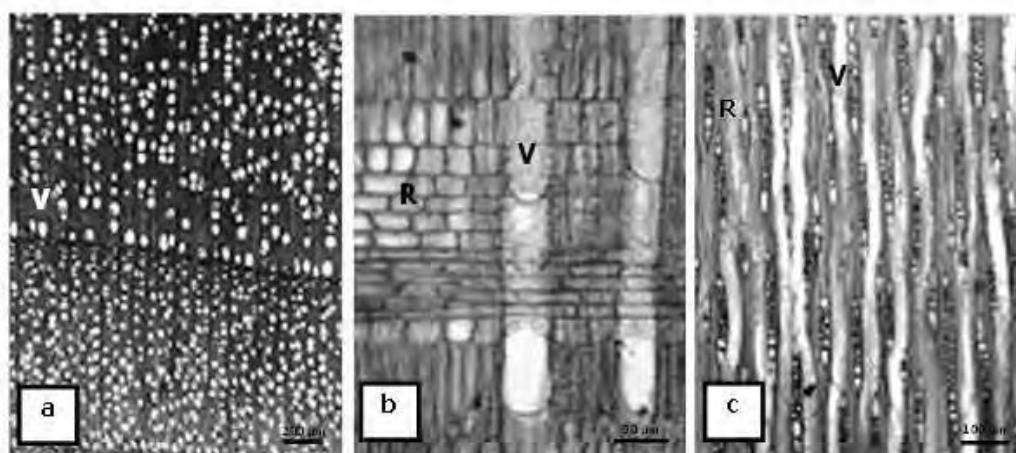


Figura 6. *Ligustrum lucidum*: rasgos relevantes con MO. Foto a: corte transversal (CT); anillo de crecimiento demarcado; porosidad anular; vasos (V) solitarios. Foto b: corte longitudinal radial (CLR); radio (R) heterocelular; vaso (V). Foto c: corte longitudinal tangencial (CLT); radio (R), ancho; vaso (V).

***Melia azedarach* L. (paraíso)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad anular, vasos solitarios y radiales múltiples largos predominantes (mas de 4 poros), placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, punteaduras radio-vaso areoladas, engrosamientos helicoidales en los elementos de vaso, gomas y otros depósitos en los vasos del duramen, predominantes en el leño temprano; fibras con punteaduras simples a diminutamente areoladas, de paredes delgadas a espesas; parénquima axial vasicéntrico, confluyente, cristales en células del parénquima axial; radios multiseriados (4-10), bajos (200 a 500 µm), constituídos por células procumbentes y 1-2 hileras marginales de células cuadradas, <4/mm; duramen de color más oscuro que la albura, duramen de color basicamente marrón o tonos de marrón.

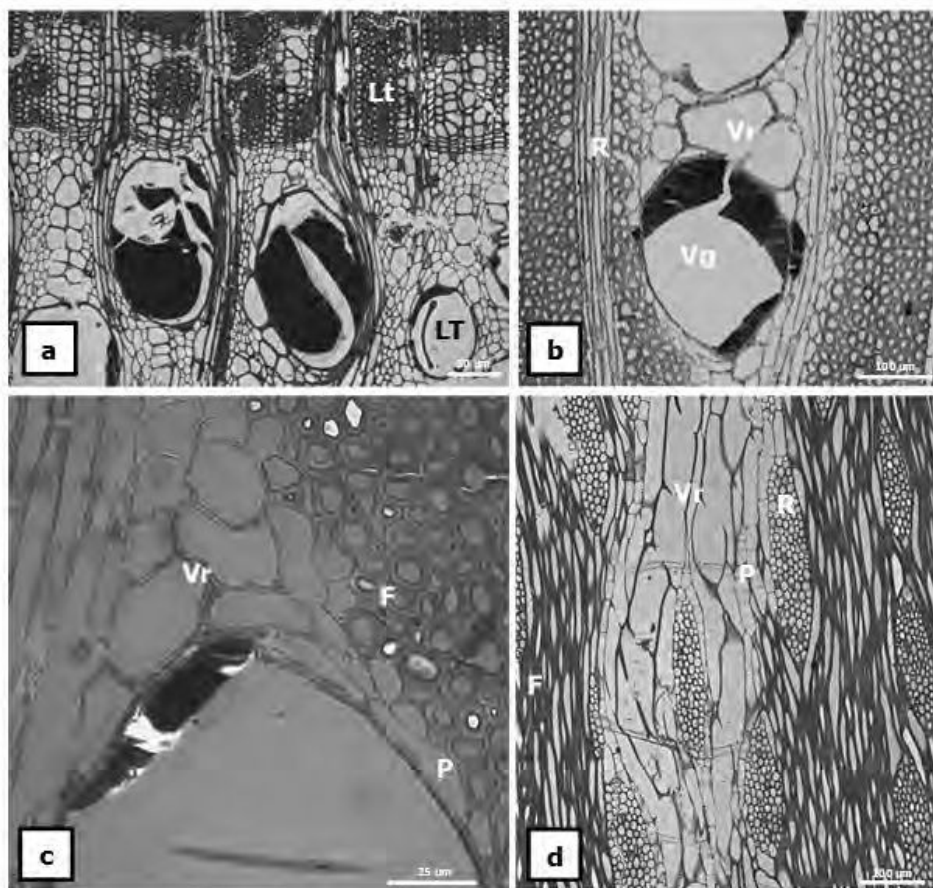


Figura 7. *Melia azedarach*; rasgos relevantes con MO. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: anillo de crecimiento con límite definido; leño temprano (LT) y tardío (Lt). Foto b: vasos radiales múltiples (Vr), con contenidos gomosos (Vg); radio multiseriado (R). Foto c: vasos agrupados, radiales múltiples (Vr); parénquima axial vasicéntrico (P); fibras de paredes espesadas (F). Foto d: corte longitudinal tangencial (CLT); fibras (F); vasos radiales múltiples (Vr); parénquima axial vacicéntrico (P); radio multiseriado (R).

***Populus alba* L. (álamo blanco)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad semi-anular a difusa, vasos solitarios o radiales múltiples cortos predominantes (2,3), 40-100/mm², placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, punteaduras radio-vaso areoladas, aparentemente simples; fibras con punteaduras simples a diminutamente areoladas, pared delgada; parénquima axial ausente; radios uniseriados, constituidos por células procumbentes, >12/mm; duramen blanco.

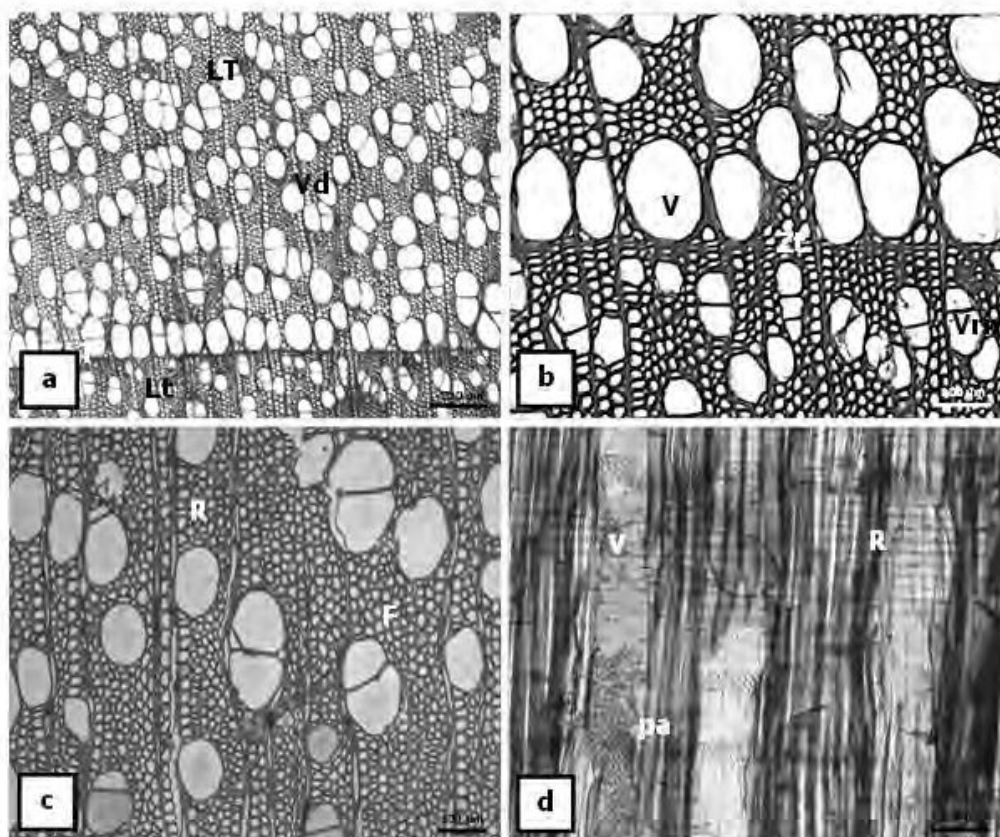


Figura 8. *Populus alba*: rasgos relevantes con MO. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: anillo de crecimiento con límite definido; leño temprano (LT) y tardío (Lt); porosidad semi-anular; vasos en diagonal (Vd). Foto b: vasos solitarios (V) y radiales múltiples (Vrm); transición leño temprano – tardío (Zt). Foto c: radio uniseriado (R); fibras de paredes delgadas (F). Foto d: corte longitudinal radial (CLR); vaso (V), punteaduras alternas (pa); radio homocelular (R).

***Prunus cerasifera* var. *pissardii* (Carrière) Koehne (ciruelo de jardín)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad semi-anular a difusa, vasos en diagonal y/o con un patrón radial, predominantemente solitarios, $> 100/\text{mm}^2$, placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, punteaduras radio-vaso areoladas, engrosamientos helicoidales en los elementos de vaso, gomas y otros depósitos en los vasos del duramen; fibras con punteaduras areoladas, de paredes delgadas a muy espesas; parénquima apotraqueal y vasicéntrico difuso; radios 1 a multiseriados (4-10 series de ancho), bajos (200 a 500 μm), constituídos por células procumbentes y más de 4 filas de células marginales cuadradas, 4-12/mm; duramen de color marrón o tonos de marrón.

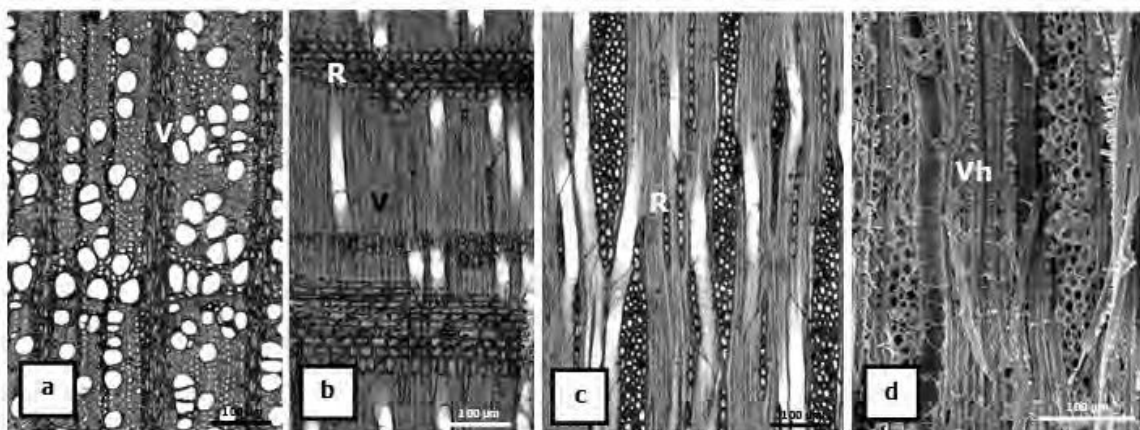


Figura 9. *Prunus cerasifera*: rasgos relevantes con MO y MEB. Fotos a-c MO. Foto a: corte transversal (CT); porosidad difusa; vasos (V) solitarios; patrón radial y/o diagonal; múltiples cortos, predominantes. Foto b: corte longitudinal radial (CLR); radios (R), multiseriados, bajos. Foto c: corte longitudinal tangencial (CLT); radio (R), ancho; altura (bajos). Foto d: MEB, detalle espesamiento helicoidal en pared del vaso (Vh), en CLT.

***Quercus robur* L. (roble europeo). Material correspondiente a raíz.**

Anillos no demarcados; vasos en disposición dendrítica, predominantemente solitarios, placa de perforación simple, punteaduras alternas, espesamientos helicoidales, con contenidos, punteaduras radio-vaso areoladas, traqueidas vasicéntricas; fibras con punteaduras simples a areoladas, de paredes espesas; traqueidas vasicéntricas presentes; parénquima axial abundante, con contenidos, cristales; radios de dos tamaños diferentes: 1-seriados predominantes y radios multiseriados de mas de 15 células de ancho, bajos (200 a 500 μ m), procumbentes, con contenidos.

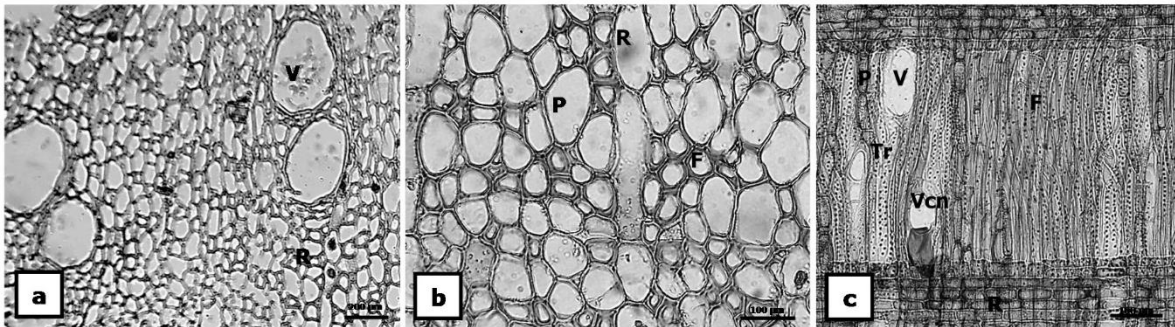


Figura 10. *Quercus robur*: rasgos relevantes con MO. Fotos a-b: corte transversal (CT). Foto a: vasos (V) solitarios, disposición radial; radio (R). Foto b: parénquima (P) axial abundante; fibras (F) de paredes espesas; radio (R) uniseriado. Foto c: corte longitudinal radial (CLR); radios homocelulares (R); vaso con contenido (Vcn); traqueidas (Tr) vasicéntricas; parénquima axial (P); fibras (F).

***Robinia pseudoacacia* L. (falsa acacia)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad anular, vasos solitarios y/o agrupados, en bandas tangenciales, placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, punteaduras radio-vaso areoladas, espesamientos helicoidales en los vasos de menor diámetro, tilosis; fibras con punteaduras simples a diminutamente areoladas, pared delgada a muy gruesa; parénquima axial vasicéntrico, confluyente, células parenquimáticas fusiformes, cristales en parénquima axial; radios 2-multiseriados (4-10 células de ancho), bajos (200-500 μm), constituidos por células procumbentes, 4-12/mm; duramen en distintos tonos de color marrón.

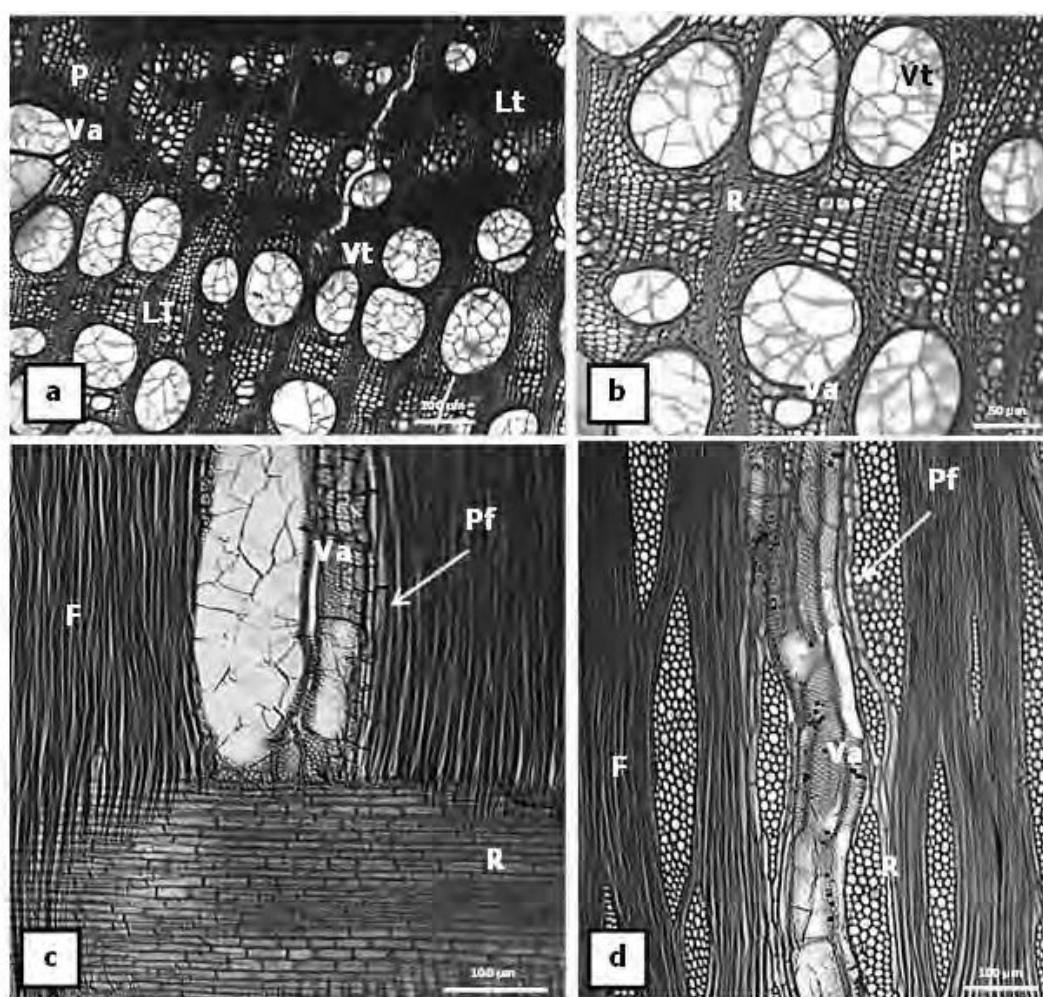


Figura 11. *Robinia pseudoacacia*: rasgos relevantes con MO. Fotos a - b: corte transversal (CT); aspecto general y detalle, respectivamente; porosidad anular; vasos (V) solitarios y agrupados (Va), en bandas tangenciales; tálides en vasos (Vt); parénquima axial (P) confluyente; leño temprano (Lt) y tardío (Lt). Foto c: corte longitudinal radial (CLR); vasos agrupados (Va); radio (R) homocelular (procumbentes); fibras (F); células parenquimáticas fusiformes (Pf). Foto d: corte longitudinal tangencial (CLT); fibras (F); vasos agrupados (Va); células parenquimáticas fusiformes (Pf); radio multiseriado (R).

***Salix* sp. (sauce)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad difusa, vasos solitarios y radiales múltiples, 40-100/mm², placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, punteaduras radio-vaso diminutamente areoladas, de apariencia simple; fibras con punteaduras simples a diminutamente areoladas, de paredes delgadas; parénquima axial muy escaso - ausente; radios uniseriados, bajos (200 a 500 µm), cuerpo con células procumbentes y filas marginales de células cuadradas, >12/mm; duramen de color basicamente blanco.

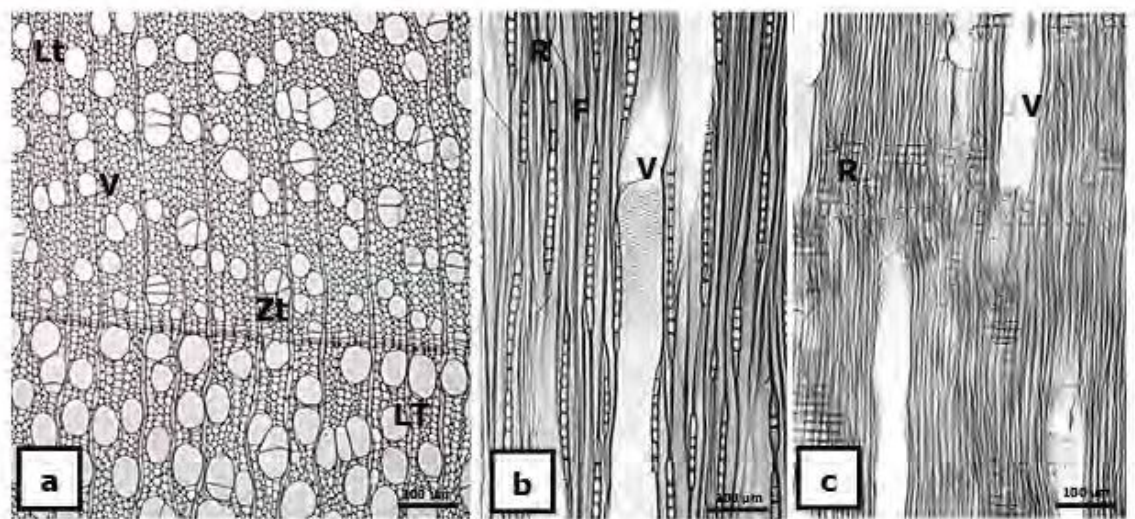


Figura 12. *Salix* sp.: rasgos relevantes bajo MO. Fotos a: corte transversal (CT); anillo de crecimiento con límite definido (Zt); vasos (V) solitarios y radiales múltiples; leño temprano (LT) y tardío (Lt). Foto b: corte longitudinal tangencial (CLT); radios (R) heterogéneos; de 1 célula de ancho. Foto c: corte longitudinal radial (CR); radios (R) bajos; heterocelulares.

***Tilia x viridis* (Bayer) Simonk. subsp *moltkei* (Dippel) Xifreda (tilo moltkei)**

Anillos de crecimiento con límites definidos; porosidad difusa, vasos solitarios o agrupados (predominantes), 40 a 100/mm², placa de perforación simple, punteaduras alternas, poligonales, tílides, punteaduras radio-vaso areoladas, espesamientos helicoidales en vasos; fibras con punteaduras simples a diminutamente areoladas, pared delgada; parénquima axial presente; radios de 1-3 células de ancho, bajos (200 a 500 µm), 4-12/mm, constituídos por células procumbentes; duramen blanco a grisáceo.

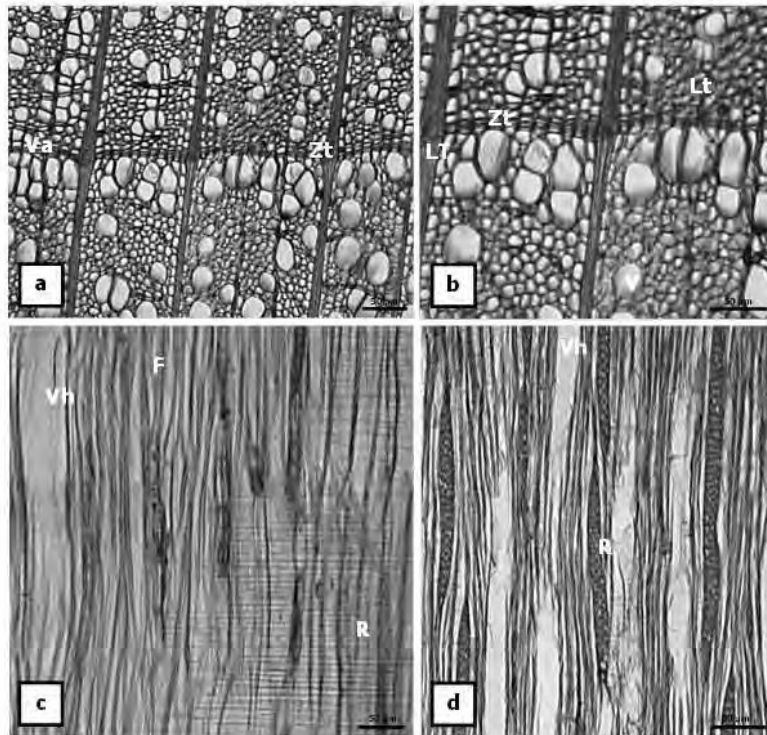


Figura 13.1. *Tilia x viridis* subsp. *moltkei*: rasgos relevantes con MO. Fotos a - b: corte transversal (CT); aspecto general y detalle, respectivamente; anillos de crecimiento con límites definidos (Zt); porosidad difusa; vasos solitarios (V) y agrupados (Va); leño temprano (Lt) y tardío (Lr). Foto c: corte longitudinal radial (CLR); vasos con espesamientos helicoidales (Vh); radios (R) homocelulares (procumbentes); fibras (F). Foto d: corte longitudinal tangencial (CLT); vasos con espesamientos helicoidales (Vh); radios bi a multiseriados (R).

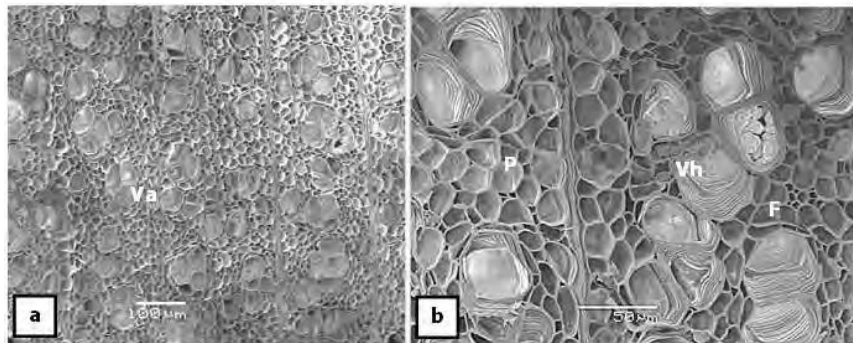


Figura 13.2. *Tilia x viridis* subsp. *moltkei*: rasgos relevantes con MEB. Fotos a - b: corte transversal (CT); aspecto general y detalle, respectivamente. Foto a: porosidad difusa; vasos agrupados (Va) predominantes. Foto b: espesamientos helicoidales en vasos (Vh); fibras (F), pared delgada; parénquima axial (P).

Alteraciones anatómicas en las maderas atacadas

En el material leñoso de las interacciones estudiadas (Tabla 1), fueron identificados caracteres de diagnóstico de pudriciones blancas y castañas. Asimismo, dentro de cada tipo principal de deterioro, las diferentes combinaciones leño-especie xilófaga evidenciaron patrones de colonización y degradación fúngica distintos, compatibles con las características anatómicas del sustrato, con los aspectos químico/anatómicos de cada tipo celular y el potencial enzimático conocido de cada especie fúngica. A continuación, se describen los rasgos macro y microscópicos de cada madera, agrupadas por tipo de pudrición y especie fúngica.

1.- Pudriciones blancas

Beijerkandera adusta (Willd.: Fr.) P. Karst

Salix sp.

Material muestreado: madera proveniente de fuste de ejemplar muerto en pie, con evidencias de deterioro definidas por su aspecto – color notablemente blanquecino y alteración estructural -, consistencia corchosa, por la presencia de basidiocarpos y micelio (Figura 1, fotos: a, b).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en vista transversal fue observado micelio a nivel de radios y vasos - particularmente en aquellos de diámetro ligeramente mayor -. En correspondencia con ello, sectores del tejido presentaron un característico patrón de ruptura cúbico. Los planos de fractura se presentaron a la altura de los radios – sitios de mayor debilidad - y en las proximidades del límite del anillo anual (Figura 1, fotos: c, d).

Con microscopio óptico, en secciones transversales coloreadas con safranina-*fast green*, sectores lignificados – coloración rojiza – , deformados y/o colapsados y con abundante micelio (Figura 2, fotos: a – e) se presentaron entre áreas con selectiva degradación de la lignina – coloración verdosa – (Figura 3, fotos: a – d). En áreas lignificadas, la deformación y adelgazamiento de las paredes celulares afectó a los vasos, radios y fibras (Figura 2, foto: a). En los vasos agrupados, el rasgo saliente fue el colapso de las paredes contiguas (Figura 2, foto: b). En los radios se observó la presencia de agujeros (Figura 2, foto: c). Por sectores de las muestras, el adelgazamiento celular pronunciado condujo al colapso del tejido, otorgándole al leño aspecto agujereado. Estos “agujeros” aparecieron colonizados por abundante tejido fúngico entremezclado, por sectores, con restos de ángulos intercelulares. Dicho rasgo particularmente comprometió a radios y fibras (Figura 2, fotos: d, e). La degradación preferencial de la lignina también se manifestó en la totalidad de los tipos celulares (Figura 3, fotos: a – d). La delignificación progresó de modo centrífugo, desde el lumen celular, sin involucrar a los ángulos intercelulares, los cuales persistieron entre células con paredes completamente delignificadas (Figura 3, fotos: a, b). La separación celular, rasgo característico de este tipo de deterioro, no fue observada. Culminada la delignificación, el adelgazamiento y colapso de las células - áreas de celulosa residual o *white-pocket* – (Figura 3, foto: c) también determinó el aspecto perforado del tejido particularmente debido a la destrucción de fibras y radios. En correspondencia con los

descripto, en corte logngitudinal radial, se observaron ambas formas de degradación de la madera (Figura 3, foto: d).



Figura 1. Fotos a - b: interacción Sauce - *B. adusta* bajo estudio. Foto a: aspecto general. Foto b: fructificación (B) de *B. adusta*. Fotos c - d: vista con lupa (16X) de secciones transversales de leño con evidencias de pudrición; micelio (m) en radios y particularmente en vasos del leño temprano (LT) de diámetro ligeramente mayor; porosidad semicircular.

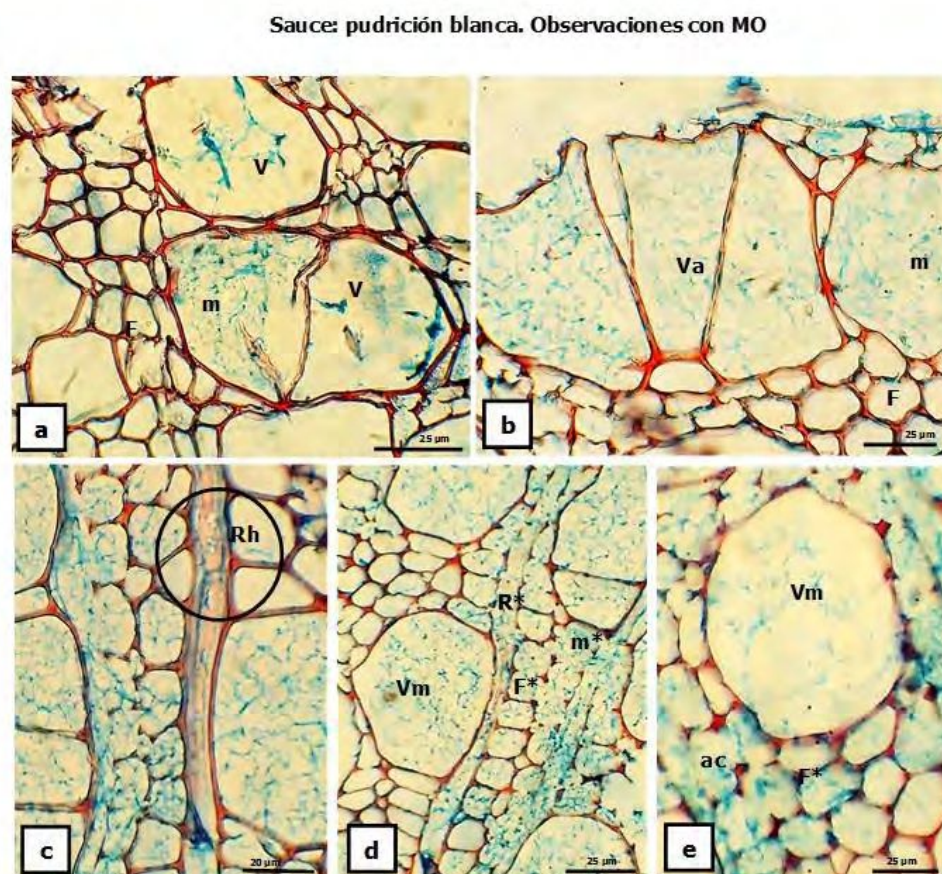


Figura 2. Fotos a - e: corte transversal (CT) de secciones de leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - b: adelgazamiento y deformación de vasos (V) y fibras (F); colapso de vasos agrupados (Va), a la altura del tabique celular; micelio predominante en vasos. Fotos c - e: pudrición avanzada. Foto c: agujeros en radio (Rh). Fotos d - e: colapso generalizado de la pared en radio (R*) y fibras (F*); persistencia de ángulos intercelulares (ac); abundante micelio en vasos (Vm) notablemente deformados y adelgazados y en áreas con avanzada degradación (m*), aspecto general y detalle, respectivamente.

Sauce: pudrición blanca. Observaciones con MO

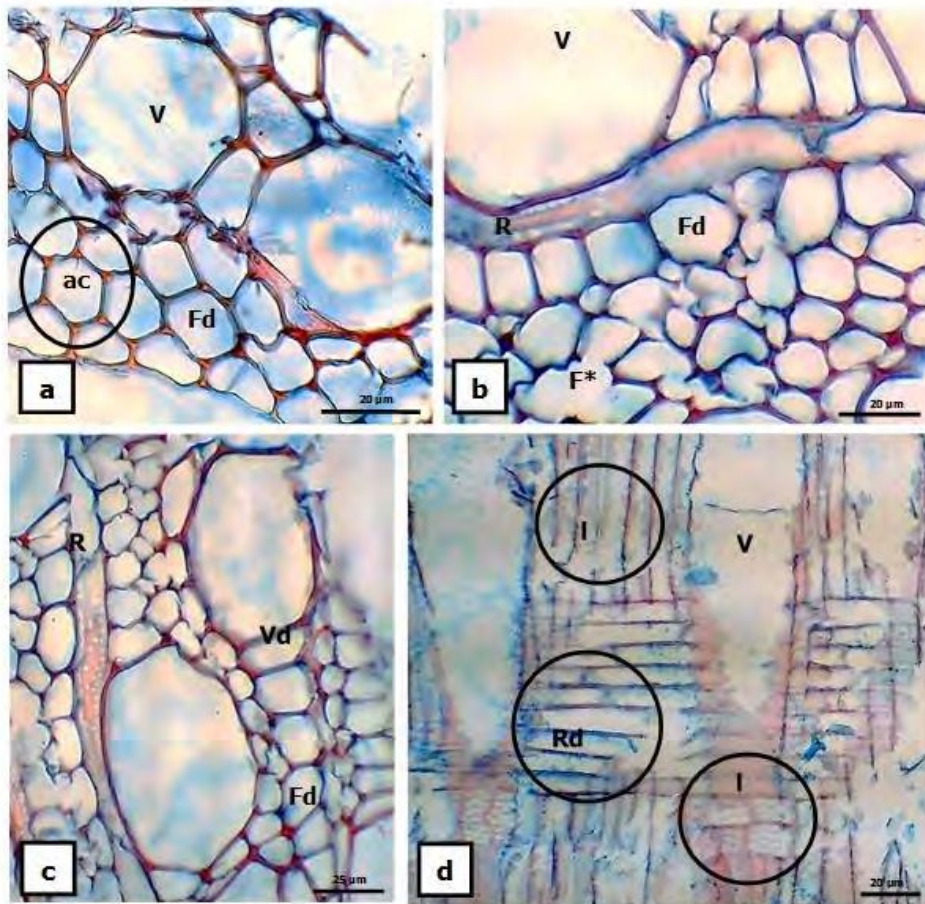


Figura 3. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: delignificación selectiva, de avance centrífugo, en fibras (F); persistencia de ángulos intercelulares (ac). Foto b: adelgazamiento y deformación de fibras carentes de lignina (Fd); colapso generalizado de la pared de las fibras (F*). Foto c: delignificación en vasos agrupados (Vd) y fibras (Fd). Foto d: corte longitudinal radial (CLR): áreas con delignificación selectiva (d) interpuestas entre células lignificadas (l); preferente degradación de lignina por sectores de un radio (Rd). Nótese el colapso acentuado del tejido, la ausencia de micelio y de separación celular en áreas con selectiva delignificación.

DISCUSIÓN

Para la interacción *Bjerkandera adusta* – *Salix* sp. el tipo de pudrición identificado y la condición del hospedante se corresponden con los antecedentes registrados en nuestro país. Esta especie se presenta en fustes y ramas de Salicáceas como también en distintas Latifoliadas nativas y exóticas, tanto vivas como muertas en pie, causando pudrición blanca de duramen (Wright & Deschamps, 1976/77; Bazzalo & Wright, 1982; Urcelay et al., 2012; Robles et al., 2012; Rajchenberg & Robledo, 2013).

A nivel microscópico la presencia de micelio en radios y vasos se corresponde con las principales vías de colonización fúngica de la madera. Los radios y los vasos de mayor diámetro en las maderas con porosidad circular y semi circular - como la del sauce - son preferentemente colonizados por los hongos. Ellos constituyen las vías que facilitan la invasión del leño en sentido radial y axial, respectivamente (Schwarze, 2007).

La persistencia en el tejido de células lignificadas resulta compatible con la consistencia corchosa detectada, característica de un estado intermedio de deterioro. La lignina aporta rigidez y resistencia a la compresión; su mayor concentración se presenta en la laminilla media compuesta (Lmc) y ángulos entre células. La Lmc mantiene la integridad del tejido y perdura hasta etapas avanzadas del curso de una pudrición blanca simultánea o bien selectiva de avance centrífugo, desde la cavidad celular (Schwarze et al., 2000a; Gamauf et al., 2007; Schwarze, 2007). De acuerdo con Zabel & Morrel (1992), la madera con estados intermedios de deterioro presenta evidentes cambios en su color y textura, no obstante, conserva su estructura. La consistencia esponjosa y el aspecto fibrilar, rasgos característicos de las pudriciones blancas en estado avanzado, sólo se logran con una acentuada y extendida alteración micro-estructural, rasgo que no presentaron las secciones bajo estudio.

El adelgazamiento y deformación de paredes lignificadas, los agujeros, la persistencia de ángulos celulares en sectores con colapso celular acentuado y abundante micelio, se corresponden con el curso de una pudrición blanca simultánea (PBSi). Las PBSi se inician con la presencia de micelio en los lúmenes celulares y con ataques localizados, limitados al punto de contacto hifa-pared. La degradación de la matriz lignocelulósica progresa de modo centrífugo, originando senderos de erosión. Alcanzada la Lmc, se produce la perforación de la pared celular, rasgo característico de las PBSi. En otros casos, la coalescencia de los senderos de erosión produce el adelgazamiento generalizado de las paredes celulares. La Lmc y los ángulos intercelulares son los últimos en ser atacados debido a su mayor lignificación,

perdurando hasta las últimas etapas del proceso, entremezclados con micelio (Schwarze et al., 1997; Anagnost, 1998; Schwarze, 2004; Schwarze, 2007).

Respecto de la preferente degradación de la lignina y el posterior colapso de las paredes celulares delignificadas, esto se corresponde con el curso de una pudrición blanca selectiva (PBSe). En las PBSe, son atacadas tanto las hemicelulosas como la lignina. La lignina es degradada más allá del estrato adyacente a la hifa, y a ello se debe la ausencia o escasez de micelio en áreas con este tipo de deterioro, tal como fue observado en este trabajo. El residuo de celulosa resultante puede o no ser degradado (Worrall et al., 1997; Schwarze, 2007). Srebotnik & Messner (1994) y Anagnost (1998) consideran la separación entre células como el rasgo más importante para el diagnóstico de las PBSe, rasgo particularmente asociado al avance centrípeto de la delignificación – desde la Lmc -. De acuerdo con ello, su ausencia en las muestras aquí observadas podría deberse al patrón centrífugo identificado y a una PBSe en etapa intermedia de desarrollo, donde aún la Lmc no ha sido completamente degradada. Según Blanchette (1991), este estrato es atacado progresivamente desde su parte central hacia los ángulos celulares; éstos son los últimos en ser degradados. Las paredes celulares se separan unas de otras, sólo luego de que la mayor parte de la Lmc es degradada.

La resistencia de los vasos – o tendencia en este sentido – y la susceptibilidad de las fibras y las células parenquimáticas frente al avance de ambos tipos de pudrición son compatibles con los rasgos químicos y/o anatómicos. La lignina varía en términos de cantidad y composición entre tipos celulares (Saito et al., 2012; Skyba et al., 2013). La siringil lignina, predominante en fibras y parénquima (con paredes secundarias) es considerada la más susceptible a la descomposición por especies responsables de pudrición blanca. Los vasos como así también la Lmc y los ángulos celulares poseen una alta relación lignina/carbohidratos con predominio de lignina del tipo guayacil. En los vasos, su delgada capa S2 y anchas S1 y S3, más lignificadas, contribuyen a ello, afectando en consecuencia la delignificación (Blanchette et al., 1988; Blanchette, 1995; Skyba et al., 2013; Pramod et al., 2015). Autores como Robles et al. (2014) y Pramod et al. (2015) mencionan la resistencia de los vasos y la susceptibilidad de las fibras al analizar las alteraciones microestructurales en las interacciones *Platanus acerifolia* - *B. adusta* y *Ailanthus excelsa* - *B. adusta*, respectivamente. En cuanto a los radios, Pramod et al. (2015) observan su colapso en etapas avanzadas de pudrición blanca; Robles et al. (2014) determinan su resistencia, rasgo que atribuyen a la presencia de extraíbles.

La identificación de áreas selectivamente delignificadas entre sectores con pudrición blanca simultánea se corresponde con el tipo de pudrición moteada = "mottled rot" definida por Otjen y Blanchette (1986). Estos autores, junto con Blanchette (1991) y Schwarze (2007) entre otros, aportan evidencias sobre los procesos de delignificación selectiva que ocurren sólo por sectores o tipos celulares de la madera, patrón de ataque frecuente en hongos capaces de degradar lignina de modo selectivo, como lo hace *B. adusta* (Blanchette, 1984a).

La identificación de pudrición moteada causada por *B. adusta* difiere de los antecedentes registrados respecto del tipo de pudrición blanca que causa este hongo. De este modo, constituye un indicio más respecto de la influencia del sustrato, de las características del medio ambiente y del potencial enzimático de una cepa fúngica en los patrones de degradación. En este sentido, Blanchette (1984a) cita a este xilófago como responsable de PBSe en madera de *Betula papyrifera*. Anagnost (1998) y Robles et al. (2014) describen un patrón de PBSi en madera de *Betula alleghaniensis* y *Platanus acerifolia*, respectivamente. Pramob et al. (2015), en ejemplares de *A. excelsa*, mencionan a *B. adusta* como causante de PBSi junto con alteraciones estructurales típicas de pudrición blanda o "soft-rot", como estrategia para salvar las barreras a la colonización impuestas por su hospedante. Schwarze (2007) considera como "facultative soft-rotter" a los hongos capaces de causar estos 2 tipos de pudrición en un mismo sustrato.

A la fecha, lo descrito constituye el primer antecedente relacionado con las alteraciones estructurales que causa *B. adusta* en madera de *Salix* sp. naturalmente infectada. Esta especie fúngica es considerada un patógeno muy agresivo en los ambientes urbanos de nuestro país (Robles et al., 2011; Robles et al., 2014), como también a nivel mundial (Pramob et al., 2015) el cual, por atacar principalmente a las fibras, pone en riesgo la capacidad resistente de la madera.

Cerrena unicolor (Bull.) Murrill

Acer negundo L.

Material muestreado: madera proveniente de rama muerta, con evidencias de deterioro definidas por su aspecto, consistencia corchosa, por la presencia de basidiocarpos (Figura 1, fotos: a, b) y abundante micelio (Figura 1, fotos: b-e), estos últimos asociados a orificios de 5-6 mm de diámetro, característicos de *Tremex fuscicornis*.

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en las proximidades y/o a nivel de los radios se observó el colapso y la deformación acentuada del tejido (Figura 1, fotos: b, c) otorgándole a sectores de las muestras un característico aspecto laminar por la separación del tejido en el sentido de los radios. Presencia de micelio en vasos y en zonas con total destrucción del leño (Figura 1, fotos: b - e).

Pudrición blanca en *Acer negundo* L. (Arce)

Aspecto general y con lupa

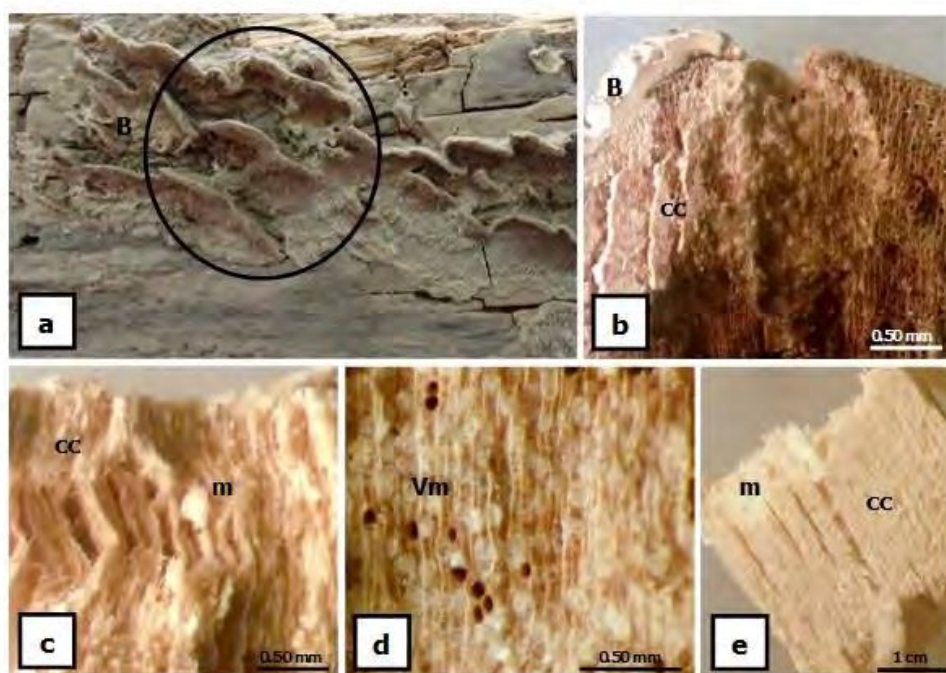


Figura 1. Fotos a - e: leño con evidencias de pudrición blanca. Foto a: basidiomas (B) de *C. unicolor*. Fotos b - e: vista con lupa (16x). Fotos b - d: vista transversal. Fotos b, c: colapso celular (cc) próximo/a nivel de los radios; deformación del tejido; apariencia laminar; presencia de micelio; basidioma (B); aspecto general y detalle, respectivamente. Foto d: micelio en vasos (Vm). Foto e: vista longitudinal; colapso celular (c) y micelio en áreas degradadas (m).

Con microscopio óptico, la totalidad de los tipos celulares presentaron evidencias de colonización y ataque fúngico. Caracteres como abundante micelio asociado a paredes notablemente adelgazadas y lignificadas, agujeros en la pared celular y punteaduras erosionadas fueron identificados en vasos, parénquima y fibras (Figura 2, fotos: a, b, c, d). Zonas con total destrucción o sólo persistencia de ángulos celulares entremezclados con tejido fúngico (Figura 2, fotos: a, b) también fueron visualizados. Si bien con poca frecuencia, la separación entre células – por destrucción de la laminilla media compuesta (Lmc) y ángulos intercelulares - y el colapso de paredes con evidencias de selectiva delignificación centrífuga – tonos claros del color azul - se presentaron en fibras y parénquima axial.

Por sectores de cortes transversales teñidos con safranina-*fast-green*, se evidenció delignificación diferencial entre células: vasos y radios permanecen lignificados – tonos rojizos - entre áreas con fibras y parénquima axial con selectiva degradación de la lignina – tonos verdosos - (Figura 3, foto: a). No obstante, fueron observadas zonas completamente delignificadas, comprometiendo a la totalidad de los tipos celulares también (Figura 3, foto: b). La pérdida selectiva de lignina avanzó de modo centrífugo, alcanzando la Lmc y en algunos casos a los ángulos entre células (Figura 3, foto: a) culminando con la deformación y la degradación de la celulosa residual. En estas muestras no fue observada separación entre células. Circundante a dichas zonas con acentuada degradación de lignina, vasos y radios permanecen lignificados, con acentuado adelgazamiento, deformación y colapso de la pared celular (Figura 3.1, fotos: a, b). En corte longitudinal radial (Figura 3, fotos: c, d) también se identificaron los caracteres descriptos.

Con microscopio electrónico de barrido, fue notable el colapso de fibras y parénquima próximos a los radios (en corte transversal), el cual avanzó en sentido radial otorgándole al tejido una apariencia laminar característica (Figura 4, fotos: a, b). Asimismo, se observaron vasos, fibras y parénquima deformados y abundante micelio en vasos. Las tñides, cuando presentes, aparecen perforadas (Figura 4, foto: c). Por su parte, en corte longitudinal se visualizó: el aspecto laminar en sentido radial y micelio en los distintos tipos celulares (Figura 5, fotos: a, b) y en áreas totalmente degradadas, punteaduras erosionadas y agujeros en fibras, parénquima y vasos (Figura 5, fotos: a-d). La colonización fúngica se produce principalmente a través de las punteaduras (Figura 5, fotos: c, d).

Arce negro: pudrición blanca. Observaciones con MO

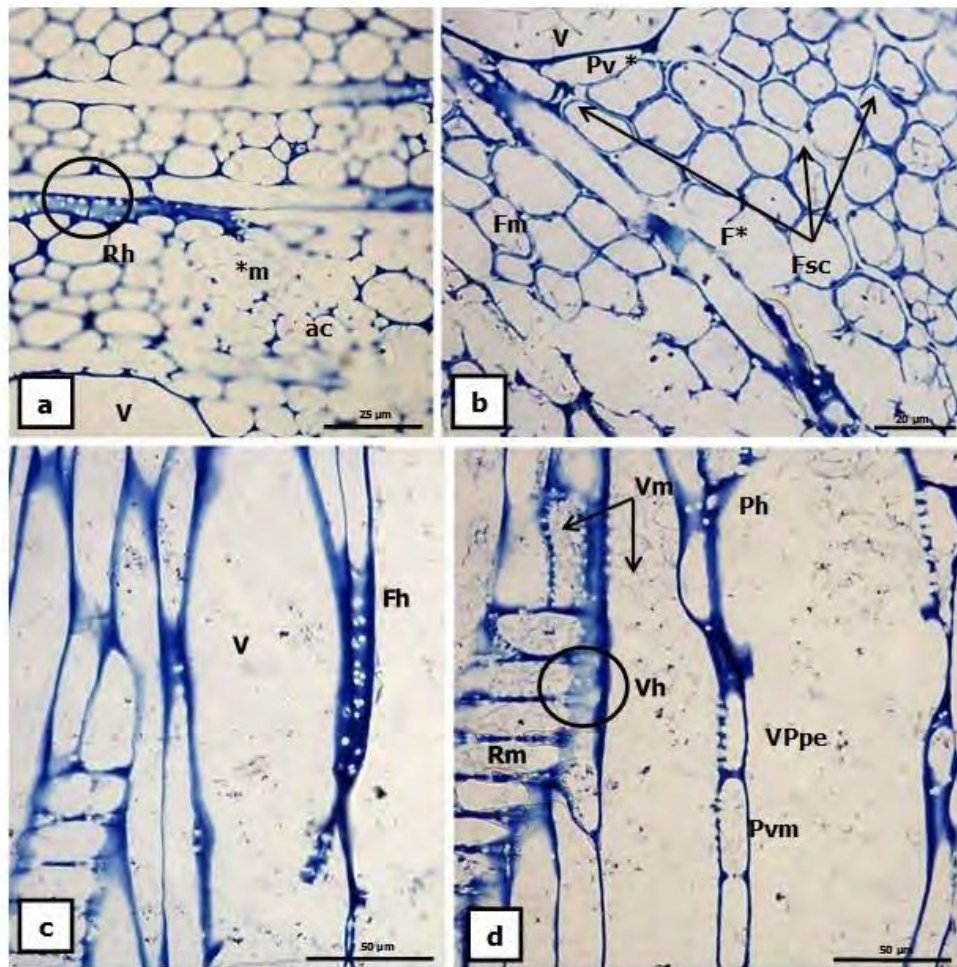


Figura 2. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - b: corte transversal (CT). Foto a: áreas totalmente degradadas (*) colonizadas por micelio (m); persistencia de los ángulos celulares (ac) en zonas con degradación total de la pared; agujeros en parénquima radial (Rh). Foto b: fibras (F), separación celular (sc), adelgazamiento y deformación de la pared; colapso celular (*) en fibras (F) y parénquima vasicéntrico (Pv); colonización fúngica en fibra (Fm). Fotos c - d: corte longitudinal radial (CLR). Foto c: agujeros en fibras (Fh). Foto d: micelio en vasos (Vm), parénquima radial (Rm) y vasicéntrico (Pvm); agujeros en vaso (Vh) y parénquima axial (Ph); punteaduras vaso-parénquima erosionadas (VPpe).

Arce negro: pudrición blanca. Observaciones con MO

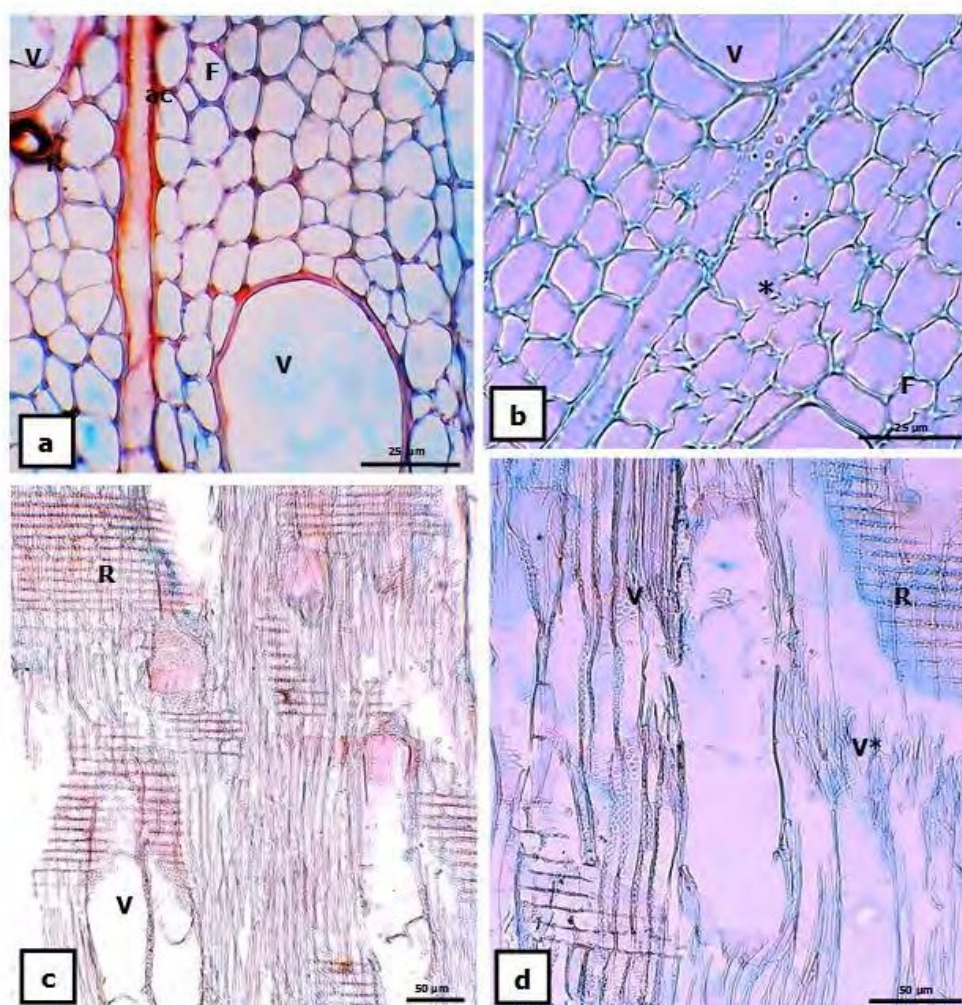


Figura 3. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a-b: corte transversal (CT). Foto a: delignificación diferencial entre tipos celulares; vasos (V) y particularmente, radio (R) y ángulos entre células (ac) permanecen lignificados (tonos rojizos); fibras (F) con delignificación generalizada. Foto b: delignificación generalizada; fibras (F), adelgazamiento, deformación y colapso de la pared celular (*). Fotos c - d: corte longitudinal radial (CLR). Foto c: delignificación diferencial entre tipos celulares, aspecto general; vasos (V) y radios (R) permanecen lignificados. Foto d: Vasos (V), deformación, recorrido sinuoso y colapso (*).

Arce negro: pudrición blanca. Observaciones con MO

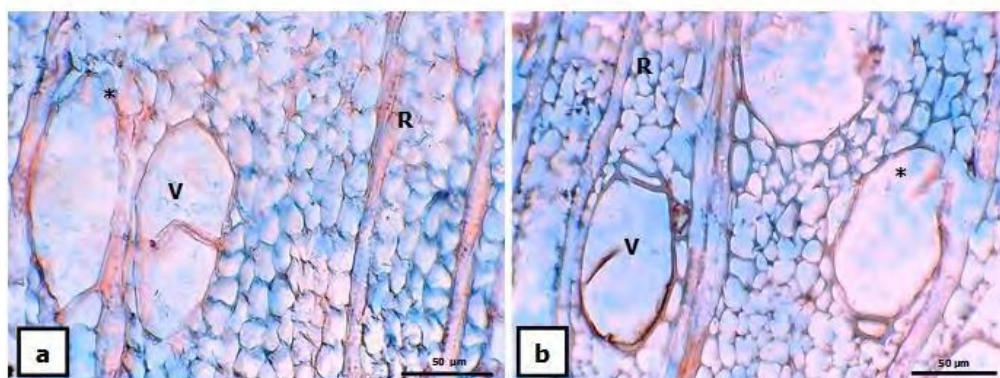


Figura 3.1. Fotos a - b: evidencias de delignificación diferencial entre tipos celulares. Vasos (V) y radios (R) permanecen lignificados entre áreas con notable delignificación. Vasos, adelgazamiento, deformación, colapso (*).

Arce negro: pudrición blanca. Observaciones con MEB

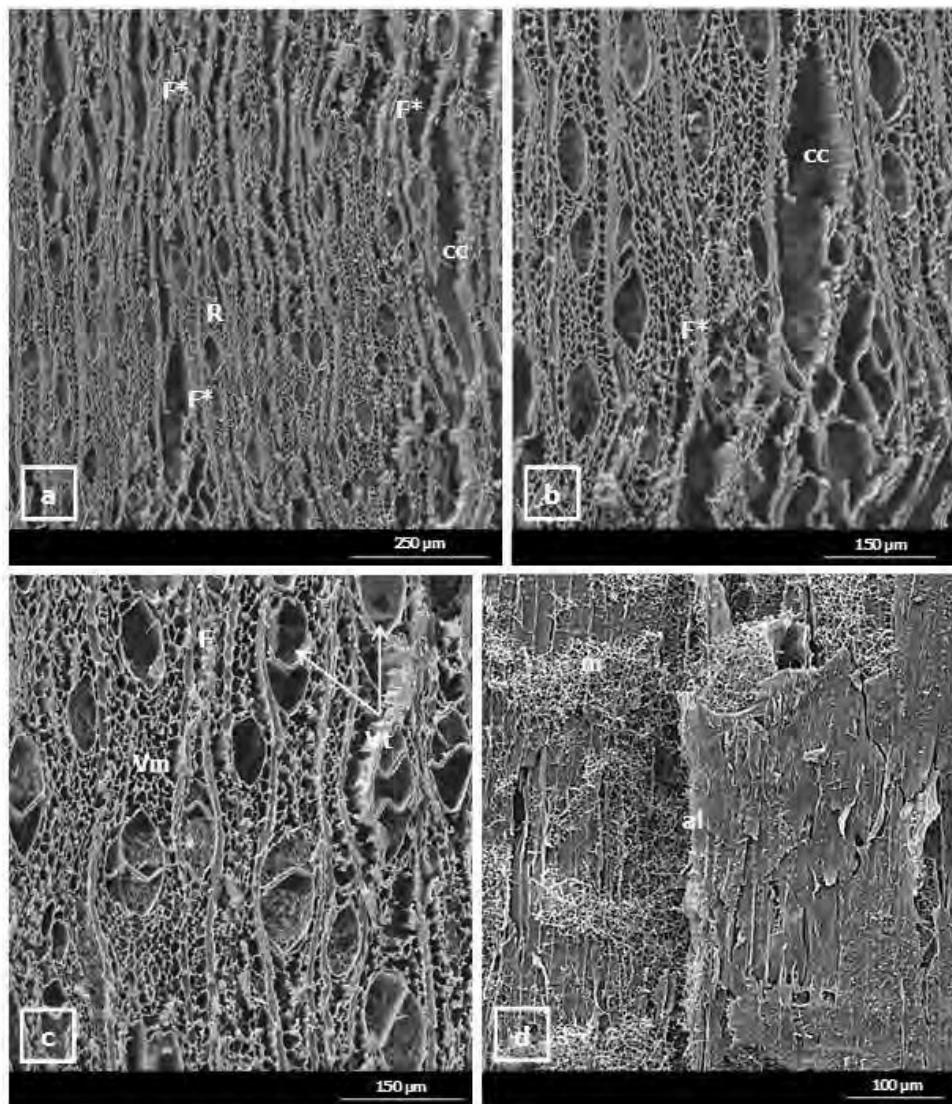


Figura 4. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - c: corte transversal (CT). Fotos a, b: apariencia laminar por colapso de fibras (F*) próximas a los radios (R); colapso de avance radial (cc); aspecto general y detalle, respectivamente. Foto c: vasos deformados (V), colonizados por micelio (m); degradación de tilides (t); fibras, deformación (F). Foto d: corte longitudinal radial (CLR); aspecto laminar del leño (al); áreas degradadas colonizadas por micelio (m).

Arce negro: pudrición blanca. Observaciones con MEB

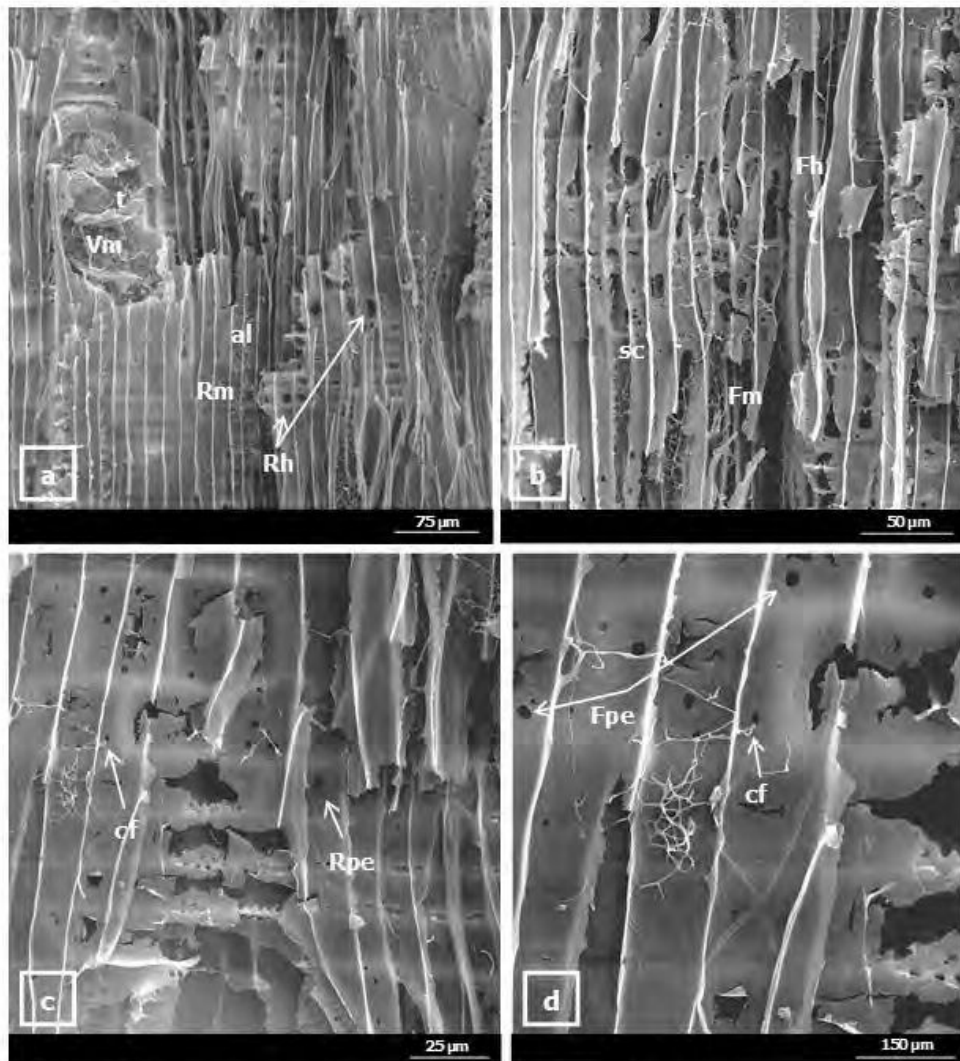


Figura 5. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca en corte longitudinal radial (CLR). Foto a: aspecto laminar (al); micelio en vasos (Vm) con tílides (t) y en radios (Rm); agujeros en radios (Rh). Foto b: fibras, agujeros (Fh); separación celular (sc) y presencia de micelio (Fm). Foto c: radios (R), colonización fúngica (cf) a través de punteadura radio - vaso; punteaduras erosionadas (pe). Foto d: colonización fúngica (cf) por punteaduras radiales; punteaduras erosionadas en fibras (Fpe).

Cerrena unicolor (Bull.) Murrill

Ligustrum lucidum L.

Material muestreado: madera proveniente de fuste de ejemplar muerto en pie, con basidiocarpos de *C. unicolor* (Figura 6, fotos: a-b), orificios de emergencia de *Tremex fuscicornis* y consistencia corchosa. El material fue obtenido mediante barreno de Pressler.

Estudios a nivel microscópico

En esta interacción, con microscopio óptico y en secciones transversales teñidas con azul de toluidina, fue notable la delignificación selectiva – tonos claros - de avance centrífugo en la totalidad de los tipos celulares, en algunos casos comprometiendo la laminilla media compuesta (Lmc) y ángulos celulares, provocando la separación celular. En estados más avanzados evidencias de ataques localizados a la pared – senderos de erosión – fueron frecuentes en las fibras. En otras zonas de las muestras, los vasos y fibras manifestaron adelgazamiento generalizado, deformación y, en casos extremos, el colapso de su pared delignificada, esto último más pronunciado en radios (Figura 6, fotos: c, d) provocando la ruptura del tejido en sentido radial (Figura 6, foto: d). En corte longitudinal radial, también fue evidente la delignificación selectiva. Además, se visualizaron agujeros en radios (Figura 6, foto: e) como también abundante micelio en vasos, radios y fibras (Figura 6, foto: f).

Pudrición blanca en *Ligustrum lucidum* L. (Ligustro)

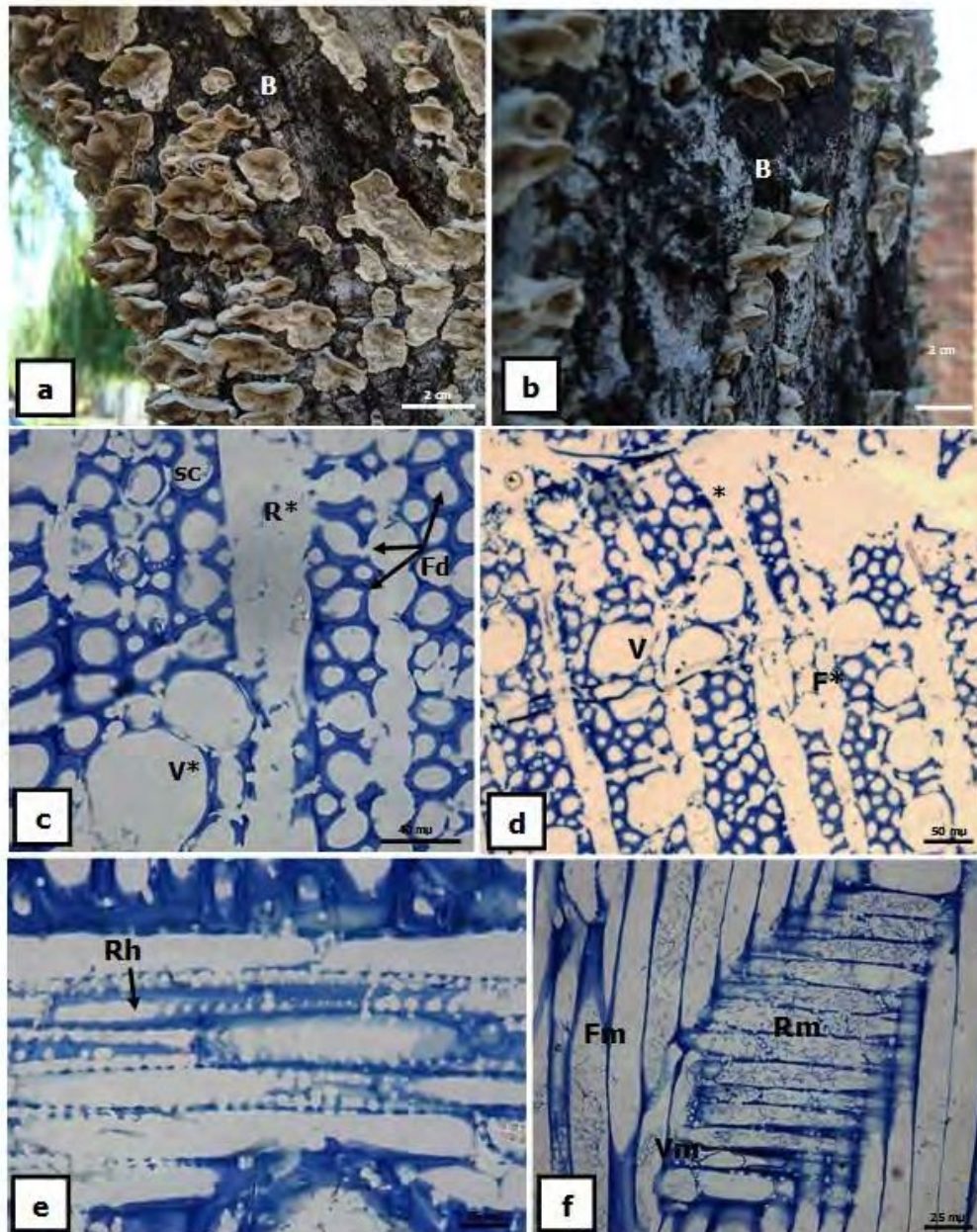


Figura 6. Fotos a - b: basidiomas de *C. unicolor*. Fotos c - f: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos c, d: corte transversal (CT); delignificación por sectores de las muestras. Foto c: separación celular (sc); degradación localizada en fibras (Fd); adelgazamiento, deformación y colapso de vasos (V); destrucción acentuada de radios (R*). Foto d: colapso (*) del tejido en sentido radial; deformación de vasos (V); colapso de la pared de las fibras (F*). Fotos e, f: corte longitudinal radial (CR). Foto e: agujero (h) en radio (R). Foto f: micelio (m) en vaso (V); fibra (F) y radio (R).

Cerrena unicolor (Bull.) Murrill

Salix sp.

Material muestreado: madera proveniente de rama de primer orden, tejido muerto, con evidencias de deterioro fúngico dadas por la presencia de micelio y basidiocarpos de *C. unicolor* – éstos asociados a orificios de emergencia de *Tremex fuscicornis* - (Figura 7, fotos: a, b), así como por su color y consistencia corchosa. La madera se caracterizó por presentar un patrón de ruptura laminar, perpendicular a los radios, producto de la acentuada destrucción observada en el anillo anual (Figura 7, fotos: b, c, d, e).

Putridión blanca en *Salix* sp (Sauce)

Aspecto general

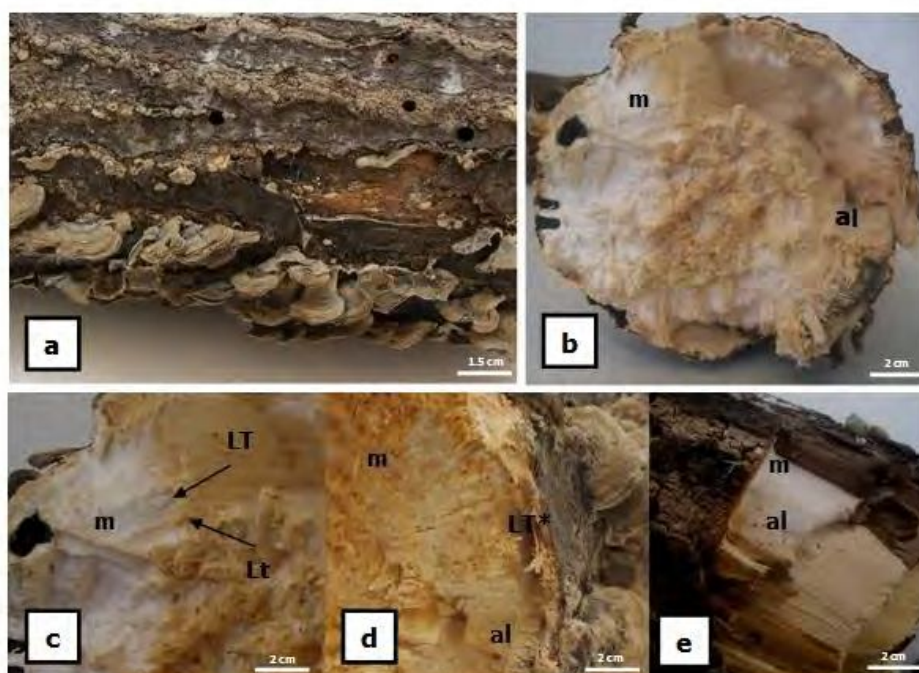


Figura 7. Fotos a - e: leño con evidencias de pudrición blanca. Foto a: basidiomas de *C. unicolor* asociados a orificios de emergencia de *Tremex fuscicornis*. Fotos b - e: aspecto laminar de la madera (al); colonización fúngica (m); degradación en leño temprano (LT*); leño tardío (Lt).

Estudios a nivel microscópico

Secciones de madera observadas con lupa permitieron corroborar lo descrito respecto de la diferenciación de "laminas" por el colapso en el anillo anual delimitado por el crecimiento tardío. El micelio se concentró en áreas con degradación total del tejido y en vasos, particularmente los de diámetro mayor - leño temprano - confiriéndole una textura característica. El colapso del tejido en sentido radial, si bien poco frecuente y acentuado, también se presentó.

Con microscopio óptico, muestras de madera teñidas con azul de toluidina permitieron identificar dos patrones de degradación del tejido en corte transversal. Uno de ellos comprendió el adelgazamiento y deformación de la pared de vasos y fibras sin evidencias de delignificación selectiva – tonos azul oscuro - deterioro que en algunas zonas condujo a la completa degradación de estas células y a la diferenciación de áreas colonizadas por micelio; sólo algunos ángulos celulares persistieron entre el micelio fúngico. La degradación progresó desde los radios evidentemente colapsados (Figura 8, fotos: a, b). Dichos rasgos se presentaron entre áreas con delignificación selectiva – color azul claro – comprendiendo vasos y fibras, en etapas aparentemente más incipientes – persistencia de la laminilla media compuesta o Lmc -. Por sectores, el avance centrífugo y/o centrípeto de la degradación alcanzó la Lmc y los ángulos intercelulares provocando separación celular, rasgo en general poco frecuente en estas muestras. De igual modo, ocasionalmente se visualizó el adelgazamiento y deformación de paredes con avanzada delignificación selectiva (Figura 8, fotos: c, d).

Sauce: pudrición blanca. Observaciones con MO

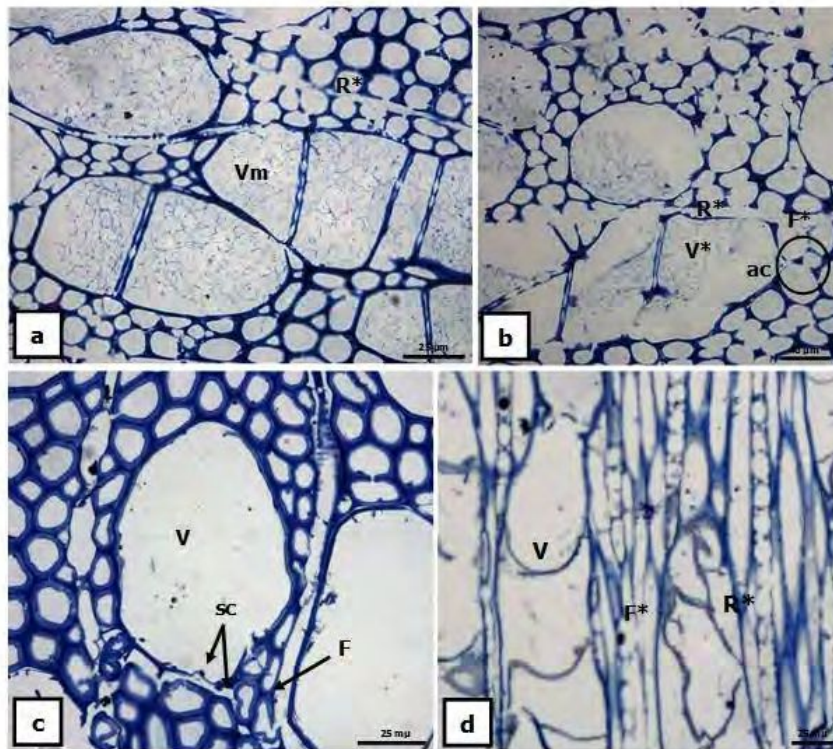


Figura 8. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: vaso (V) con pared lignificada, adelgazada, deformada, colonizada por micelio (m); colapso en radio (R*). Nótese el avance de la degradación desde el R. Foto b: pronunciado adelgazamiento y deformación de la pared de un vaso (V); colapso en vaso (V*), radio (R*) y fibras (F*); persistencia de ángulos celulares (ac) en áreas con avanzada degradación. Foto c: delignificación y deformación de la pared de un vaso (V) y en fibras (F); separación celular (sc). Foto d: delignificación avanzada en sectores del tejido - vaso (V), fibras (F) y radio (R); colapso en radio (R*) y fibras (F*). La ausencia de separación celular indica persistencia de Lmc; no se ha completado el proceso de delignificación selectiva - etapas incipientes del proceso -.

En secciones transversales y longitudinales de muestras observadas con microscopio electrónico de barrido fueron identificados vasos con abundante micelio, particularmente en aquellos de diámetro mayor, correspondientes a las zonas del leño temprano, y micelio en zonas con avanzada degradación del tejido (Figura 9, foto: a; Figura 10, foto: b). Punteaduras erosionadas, agujeros y senderos de erosión se identificaron en vasos, radios, fibras y parénquima axial y radial (Figura 9, fotos: b, c; Figura 10, fotos: a, c). La colonización fúngica se produce principalmente a través de las punteaduras (Figura 10, foto: d).

Sauce: pudrición blanca. Observaciones con MEB

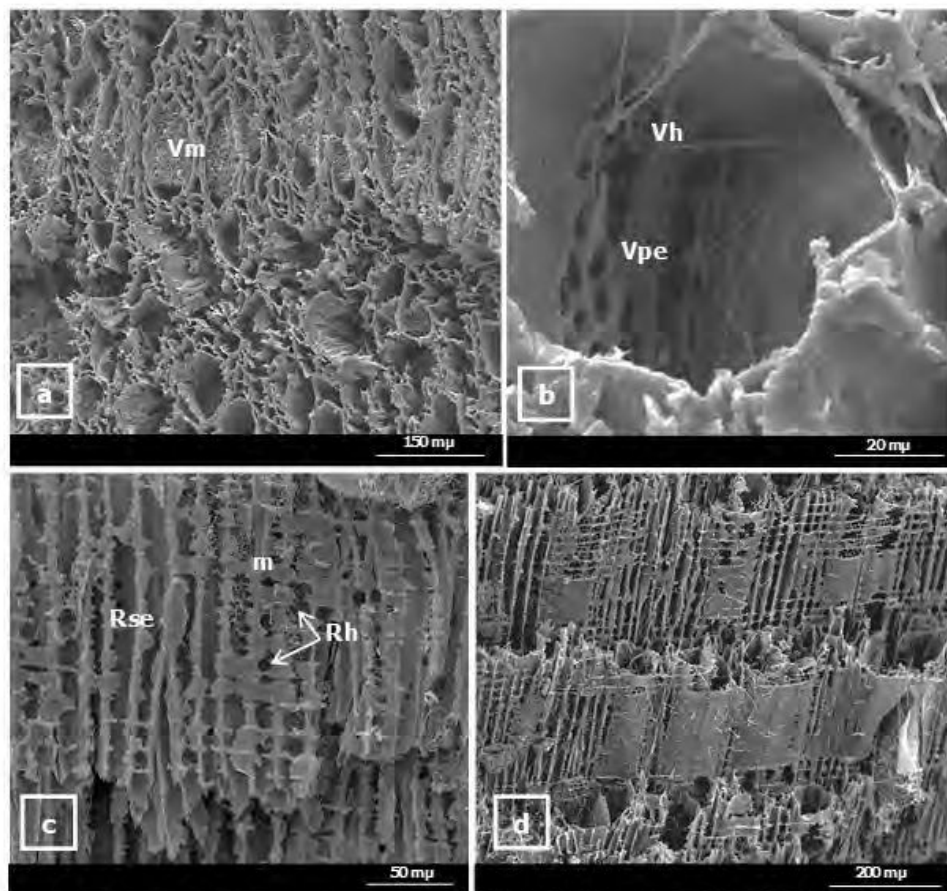


Figura 9. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - b: corte transversal (CT). Foto a: micelio en vasos (Vm). Foto b: vaso (V), punteadura erosionada (pe) y agujero (h). Fotos: c - d: corte longitudinal radial (CLR). Foto c: agujeros (h) y senderos de erosión (se) en radio (R); áreas degradadas colonizadas por micelio (m). Foto d: aspecto general.

Sauce: pudrición blanca. Observaciones con MEB

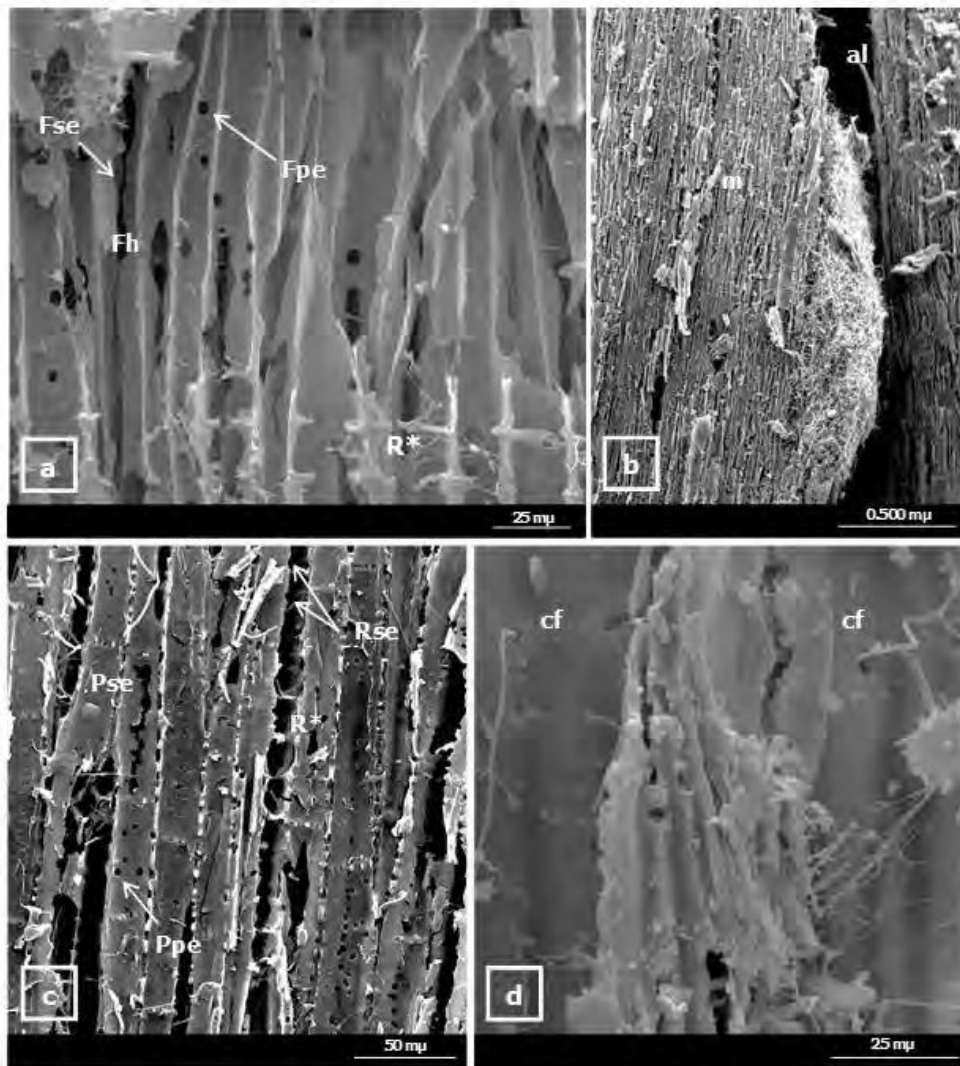


Figura 10. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Foto a: corte longitudinal radial (CLR); degradación de radios (R*); fibras (F), erosión de punteadura (pe), agujero (h), sendero de erosión (se). Fotos b - d: corte longitudinal tangencial (CLT). Foto b: apariencia laminar (al); micelio (m) en áreas degradadas. Foto c: radio (R), colapso (*), sendero de erosión (Rse); parénquima axial (P), sendero de erosión (se) y punteadura erosionada (pe). Foto d: colonización fúngica (cf) a través de punteaduras.

DISCUSIÓN

En todas las maderas atacadas por *Cerrena unicolor* - arce, sauce y ligustro - se registraron los caracteres diagnósticos de pudrición blanca. Este hongo es un reconocido simbiote de *Tremex fuscicornis*, insecto cuya presencia fue diagnosticada en todos los ejemplares estudiados. Esta avispa, conocida vulgarmente como "avispa taladradora del leño", ataca Latifoliadas bajo estrés a las que provoca su muerte paulatina, producto de la inyección de un mucus fitotóxico al tiempo que ovipone e inocula esporas y/o micelio fúngico en la región cambial (Klasmer & Parra, 2011; Landi et al., 2011).

El aspecto laminar en sentido radial en arce y perpendicular a los radios en sauce se corresponde con sus diferencias anatómicas. Otjen & Blanchette (1986) mencionan que, a nivel macroscópico, el patrón de colonización y degradación observado en las maderas resulta de la interacción hongo-hospedante que se establezca. Las características químico-anatómicas del sustrato determinan dichos patrones, en particular entre los hongos que selectivamente delignifican el leño como lo hace *C. unicolor* (Blanchette, 1984a; Otjen & Blanchette, 1987). La apariencia de la madera del sauce se corresponde con el concepto de "ring rot" o pudrición anular y con su porosidad semicircular, mientras que en arce la porosidad es difusa. En este tipo de deterioro, la degradación se concentra en el leño temprano del anillo anual (Otjen & Blanchette, 1986; Zabel & Morrell, 1992). Los vasos de mayor diámetro son preferentemente colonizados por los hongos (Schwarze, 2007).

En cuanto a la consistencia corchosa registrada en la totalidad del material, ésta resulta compatible con el concepto de estado intermedio de degradación. De acuerdo con Zabel & Morrel (1992), en este estado de deterioro, si bien el tejido presenta notables cambios en color y textura debido a la distribución del micelio en la madera, su estructura no ha sido lo suficientemente alterada como para transformarlo en un material esponjoso y de aspecto fibrilar, rasgos característicos de las últimas etapas del proceso de degradación.

A nivel microscópico, la persistencia en las muestras de sectores lignificados, en particular de la laminilla media compuesta (Lmc) y ángulos celulares también resulta compatible con la consistencia y el estado de degradación de las maderas. La lignina aporta rigidez y resistencia a la compresión; su mayor concentración se presenta en la Lmc. La Lmc mantiene la integridad del tejido y perdura hasta etapas avanzadas del curso de una pudrición blanca simultánea o bien selectiva de avance centrífugo (Schwarze et al., 2000a; Gamauf et al., 2007; Schwarze, 2007).

Respecto de la separación celular observada por sectores, es un carácter típico de la ocurrencia de pudrición blanca selectiva (PBSe). Durante el curso de las PBSe, son atacadas preferentemente las hemicelulosas y lignina. El residuo de celulosa resultante puede o no ser atacado (Worrall et al., 1997; Schwarze, 2007). Srebotnik & Messner (1994) y Anagnost (1998) consideran la separación entre células como el rasgo más importante para el diagnóstico de las PBSe, asociado principalmente al avance centrípeto de la degradación de la lignina. De acuerdo con ello, la baja frecuencia con la que se presentó dicho carácter se corresponde con la preponderancia de un patrón centrífugo de delignificación y de un estado intermedio de deterioro. En cuanto a los senderos de erosión observados, Worrall et al. (1997) y Anagnost (1998) mencionan que estos pueden presentarse en maderas con este tipo de pudrición blanca.

La resistencia a la delignificación selectiva observada en los vasos está dada por sus cualidades químico-anatómicas. Según fue mencionado para la interacción *B. adusta* - *Salix* sp., la siringil lignina es predominante en fibras y parénquima y considerada el tipo de lignina más susceptible a la descomposición por especies responsables de pudrición blanca. Tanto los vasos como la Lmc y los ángulos entre células poseen una alta relación lignina/carbohidratos con predominio de lignina del tipo guayacil, más resistente a la degradación. En los vasos, además, su estrecha capa S2 y anchas S1 y S3, éstas últimas más lignificadas, contribuyen con ello y en consecuencia son más resistentes a la delignificación (Blanchette et al., 1988; Blanchette, 1995; Saito et al., 2012; Skyba et al., 2013; Pramod et al., 2015). Autores como Levin & Castro (1998), Luna et al. (2004) y Robles et al. (2014) entre otros, arribaron a resultados similares en maderas expuestas a pudrición blanca.

En cuanto a la resistencia de los radios, existen evidencias sobre la mayor concentración de N en los mismos con respecto a otros tipos celulares (Otjen & Blanchette, 1982). Autores como Dill & Kraepelin (1986), Agosín et al. (1990) y Singh et al. (2012) definen al N como elemento regulador del curso de la delignificación selectiva. Los hongos de pudrición blanca degradan menos lignina a medida que aumenta el tenor de N, de modo que altas concentraciones de N promueven la degradación de los polisacáridos.

Debe tenerse en cuenta que no todos los hongos ligninolíticos se comportan de igual modo (Buswell, 1991). Así, la identificación en muestras de arce de áreas completamente delignificadas - "*white pockets*" - evidencian la capacidad de *C. unicolor* de causar la preferente degradación de la lignina en la totalidad de las células.

El ataque a la celulosa residual que en casos extremos condujo a la formación de "agujeros" donde se alojó en micelio fúngico, dándole a las muestras un aspecto "perforado", es también un rasgo frecuente de este tipo de deterioro (Otjen & Blanchette 1984b).

Por otro lado, el adelgazamiento y deformación de paredes lignificadas, los senderos de erosión, los agujeros, la persistencia de ángulos entre células en sectores con colapso acentuado y abundante presencia de micelio, resultan compatibles con el curso de una pudrición blanca simultánea (PBSi). Anagnost (1998) considera a dichos rasgos como claves para el diagnóstico de este tipo de deterioro, cuyo desarrollo fue descrito anteriormente para la interacción *B. adusta* - *Salix*.

La identificación de áreas selectivamente delignificadas entre sectores con pudrición blanca simultánea se corresponde con el tipo de pudrición "mottled rot" definida por Otjen y Blanchette (1986). Estos y otros autores - Blanchette, 1991; Schwarze, 2007 -, mencionan que es frecuente el desarrollo de pudriciones moteadas en interacciones que incluyen a hongos capaces de degradar selectivamente a la lignina, como es el caso de *C. unicolor* (Blanchette, 1984a). Existen reportes previos sobre la capacidad de *C. unicolor* de producir ambos tipos de pudrición blanca en el mismo sustrato (Blanchette et al., 1985; Otjen & Blanchette, 1986), en coincidencia con los observado en el presente trabajo.

En todas las maderas analizadas, la visualización de micelio en vasos y radios y de punteaduras erosionadas se correspondió con su rol de principales vías de colonización fúngica en sentido axial, radial y tangencial, respectivamente (Schwarze et al., 2000a).

Desde el punto de vista mecánico, en las maderas aquí estudiadas, atacadas por *C. unicolor*, sería de esperar una notable fragilidad o disminución de la capacidad de resistencia en las zonas con deterioro avanzado, como producto de la degradación de la celulosa durante la pudrición blanca (Schwarze et al., 2000a).

Ganoderma resinaceum Boud.

Quercus robur L.

Material muestreado: raíces de 2 cm de diámetro provenientes de árbol volcado, con evidencias de pudrición en cuanto a su aspecto y consistencia. Basidiocarpos y micelio en el sistema radical (Figura 1, fotos: a, c).

Macroscópicamente la madera presentó color blanquecino uniforme y aspecto fibrilar. El tejido además se caracterizó por su consistencia esponjosa al presionarlo entre los dedos (Figura 1, fotos: b, c).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, secciones longitudinales del material evidenciaron colonización fúngica en elementos de vaso como también abundante micelio en áreas totalmente degradadas (Figura 1, fotos: d, e). Por sectores, fueron observados depósitos oscuros en los vasos también (Figura 1, fotos: f, g).

Con microscopio óptico, secciones transversales teñidas con safranina *fast-green* mostraron el curso de un proceso de delignificación selectiva. En este caso, las fibras y el parénquima axial – sin contenidos - resultaron ser los elementos más susceptibles - color verdoso - (Figura 2, fotos: a, c). La degradación de la lignina progresó principalmente de modo centrífugo, alcanzando la laminilla media compuesta (Lmc) y por último a los ángulos entre células (Figura 2, foto: b). La delignificación selectiva provocó separación celular - muy extendida entre las fibras y el parénquima axial - (Figura 2, fotos: c, d; Figura 3, foto: a) diferenciándose sectores con elevada concentración de celulosa o "white pockets" (Figura 2, foto: d; Figura 3, foto: b). El ataque a la celulosa residual también fue diagnosticado por la presencia de senderos de erosión (Figura 3, foto: b) y el adelgazamiento generalizado de las paredes celulares (Figura 3, foto: c). La total degradación de la celulosa determinó en el tejido la formación de cavidades, otorgándole aspecto "perforado", rasgo muy extendido en las muestras (Figura 3, foto: d). Ocasionalmente se observaron vasos, fibras y parénquima con paredes lignificadas – tonalidades rojizas -. Asimismo, se visualizaron contenidos oscuros en vasos, parénquima radial y axial, estos últimos también con cristales (Figura 4, fotos: a –c) como también micelio en vasos.

Secciones de madera observadas con microscopio electrónico de barrido permitieron identificar caracteres como punteaduras erosionadas y agujeros en las

paredes de las células parenquimáticas radiales, de las fibras (Figura 5, foto: a), parénquima axial, vasos (Figura 5, foto: c) y traqueidas (Figura 5, foto: d), así como senderos de erosión en fibras (Figura 5, foto: a). Otros rasgos identificados incluyeron el colapso generalizado de sectores del tejido, la separación entre células, colonización vía punteaduras y la concentración de micelio particularmente en vasos - incluidos aquellos con contenidos – como también en áreas totalmente degradadas (Figura 5, fotos: b, d). Con EDAX se detectó la presencia de manganeso (Mn) en las muestras, en correspondencia con la visualización de depósitos oscuros en los vasos (Gráfico 1).

Pudrición blanca fibrilar en raíz de *Quercus robur* L. (Roble europeo)
Aspecto general y con lupa

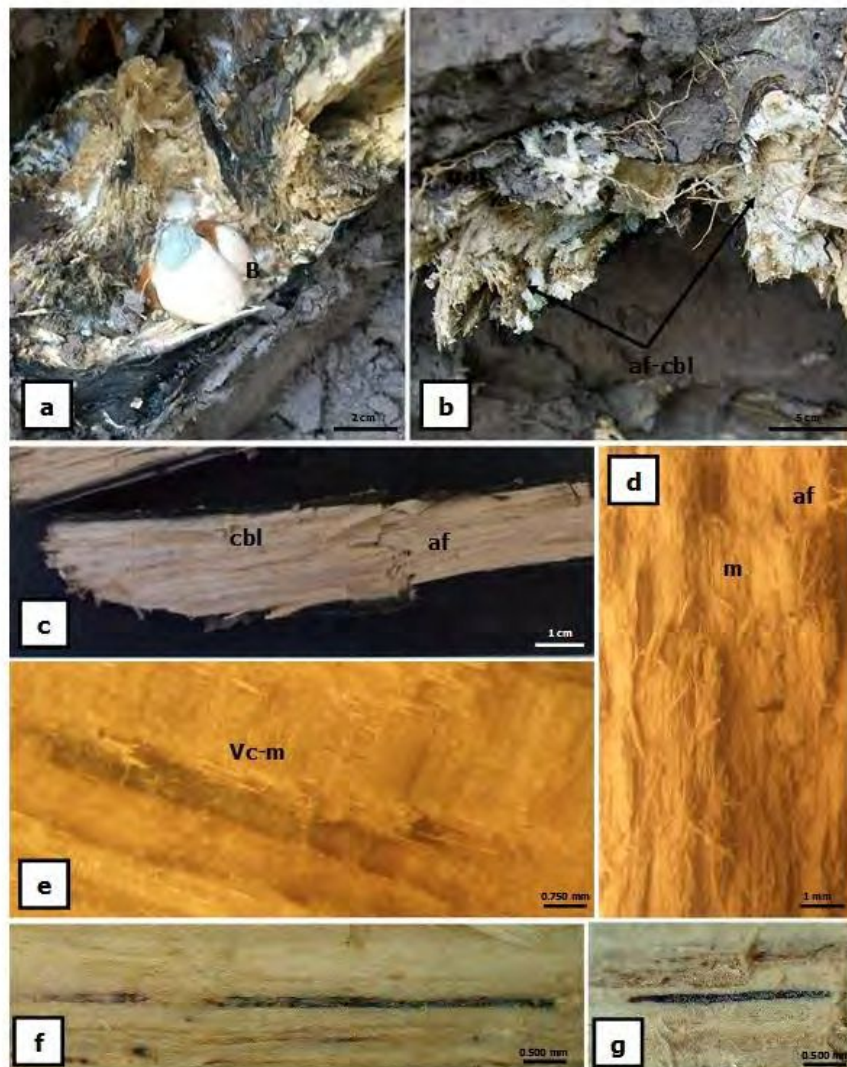


Figura 1. Fotos a - e: raíz con evidencias de pudrición blanca. Foto a: fructificación (B) asociada a la madera podrida. Fotos b, c: aspecto fibrilar (af) y coloración blanquecina (cbl) de parte del sistema radical *in situ* y en muestra bajo estudio, respectivamente. Fotos d - g: vista longitudinal del leño bajo lupa (16x). Foto d: aspecto fibrilar y micelio (m) en áreas degradadas. Foto e: vaso con contenidos (Vc) colonizado por micelio (m). Fotos f, g: vasos con depósitos oscuros por sectores del tejido.

Roble europeo: pudrición blanca fibrilar en raíz. Observaciones con MO

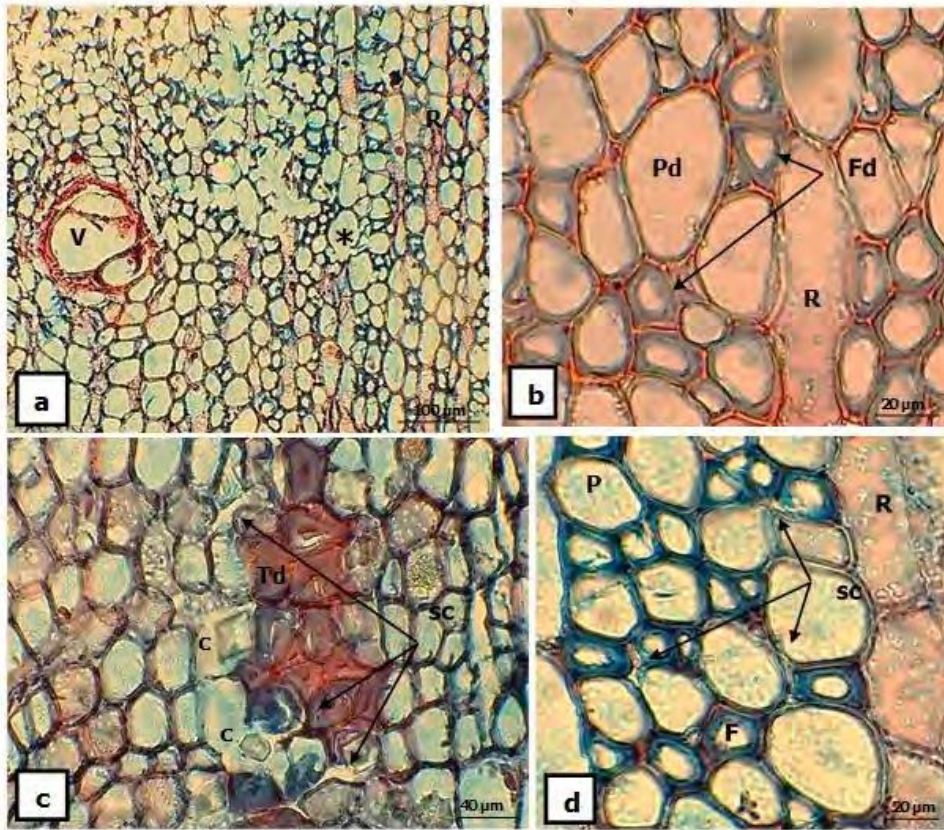


Figura 2. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca, corte transversal (CT). Foto a: delignificación y colapso diferencial entre tipos celulares; aspecto general; nótese delignificación generalizada y colapso en fibras y parénquima axial (*); radios (R) y en particular los vasos (V) permanecen lignificados. Foto b: detalle delignificación centrífuga en fibras (Fd) y parénquima (Pd). Fotos c: delignificación en traqueidas (T); separación celular (sc) por pérdida de la Lmc; colapso de células parenquimáticas con cristales (c). Foto d: delignificación generalizada en fibras (F) y parénquima (P); separación celular (sc).

Roble europeo: pudrición blanca fibrilar en raíz. Observaciones con MO

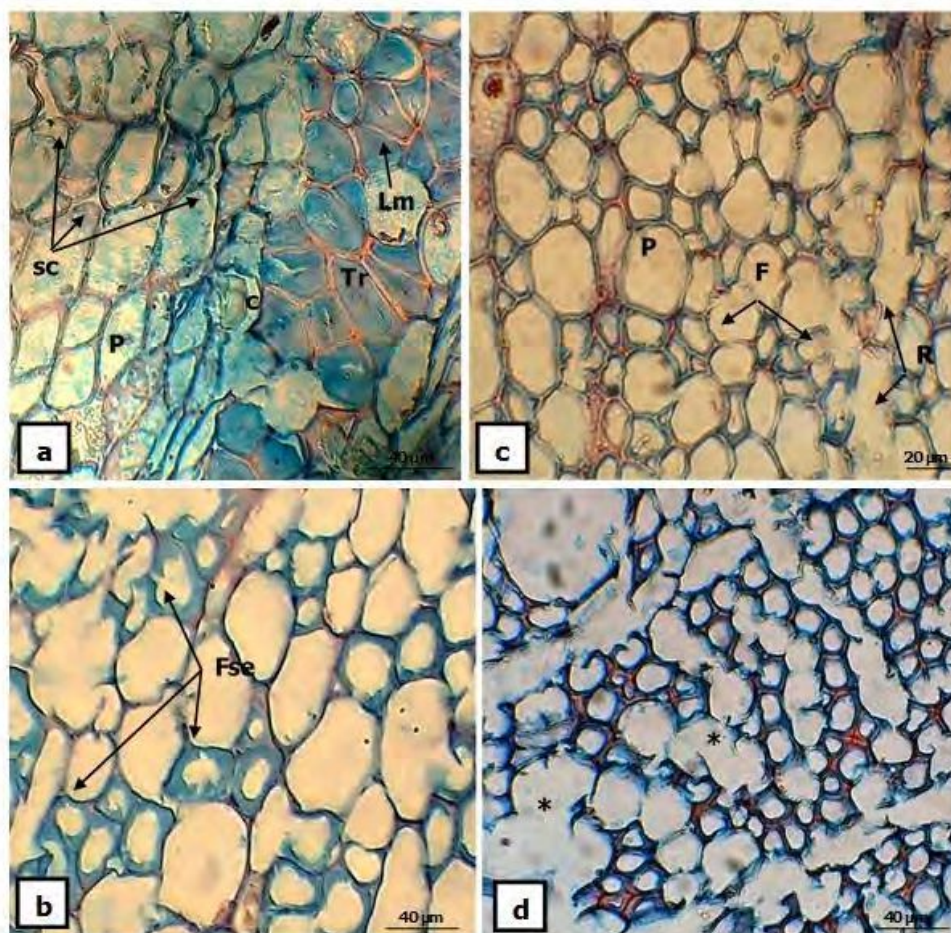


Figura 3. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca, corte transversal (CT). Foto a: delignificación selectiva, centrífuga, en traqueidas (Tr) y parénquima (P); separación celular; persistencia de laminilla media (Lm) en traqueidas (Tr); cristal (c) en célula parenquimática. Foto b: fibras (F), erosión localizada-senderos de erosión (se) en paredes delignificadas. Foto c: adelgazamiento, deformación y colapso de la pared de fibras (F), parénquima (P) y radio (R). Foto d: colapso (*) generalizado por sectores del tejido; aspecto "agujereado".

Roble europeo: pudrición blanca fibrilar en raíz. Observaciones con MO

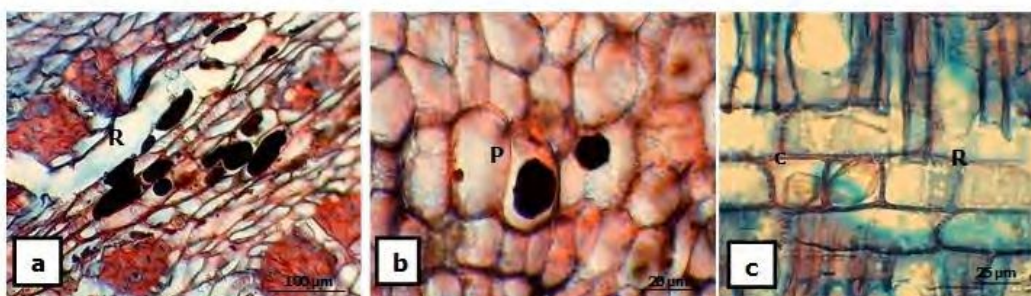


Figura 4. Fotos a - c: contenidos en leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a, b: corte transversal (CT); contenidos en radio (R) y parénquima axial (P), respectivamente. Foto c: corte longitudinal radial (CLR); cristales (c) en radio (R).

Roble europeo: pudrición blanca fibrilar en raíz. Observaciones con MEB

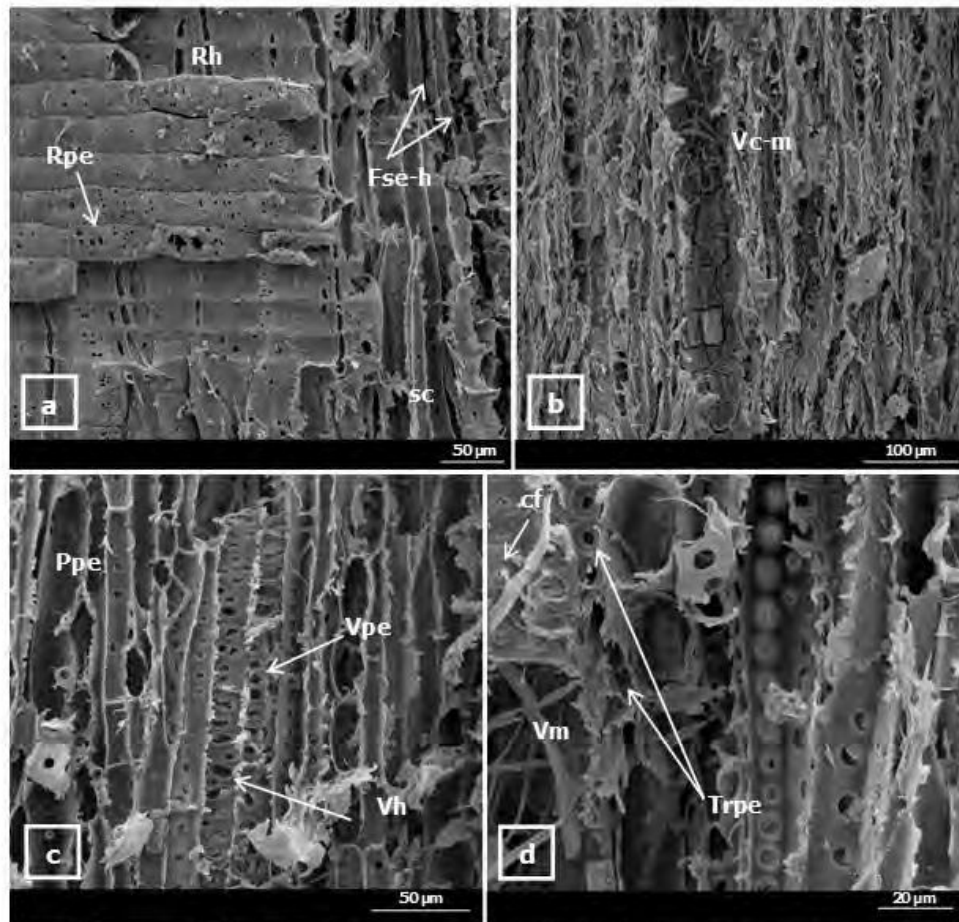


Figura 5. Fotos a - d: secciones de leño con evidencias de pudrición blanca. Foto a: corte radial (CLR), punteaduras erosionadas (pe) y agujeros (h) en parénquima radial (R); senderos de erosión (se) y separación celular (sc) en fibras. Fotos b - d: corte longitudinal tangencial (CLT). Foto b: vaso (V) con contenidos (c), colonizado por micelio (m). Foto c: parénquima axial (P) y vaso (V) con punteaduras erosionadas (pe); agujeros (h) en vaso (V). Foto d: punteaduras erosionadas en traqueidas (Trpe); colonización fúngica (cf) a través de las punteaduras de los vasos; micelio en vasos (Vm).

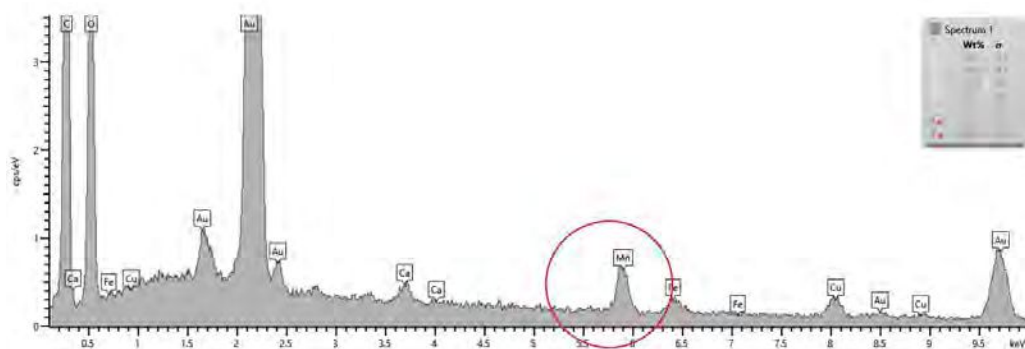


Gráfico 1. Identificación de Manganese (Mn) en muestras afectadas por pudrición blanca.

Ganoderma resinaceum Boud.

Fraxinus pennsylvanica Marsh.

Material muestreado: madera proveniente de base de fuste, de ejemplar en pie, vivo, con evidencias de deterioro en cuanto a su aspecto y consistencia relativamente corchosa; presencia de basidiocarpos (Figura 5, fotos: a, c). Muestras obtenidas con barreno de Pressler.

Estudios a nivel microscópico

Con microscopio óptico, los rasgos salientes en cortes transversales teñidos con safranina *fast-green* fueron la delignificación selectiva – paredes celulares color verdoso - y el colapso del tejido por sectores de las muestras, caracteres particularmente acentuados y extendidos en el leño temprano (Figura 6, foto: a). La degradación de la lignina fue más pronunciada en las fibras, registrándose principalmente un patrón de delignificación de avance centrípeto, desde la laminilla media compuesta (Lmc). La delignificación progresa de los radios hacia las fibras definiendo sectores totalmente delignificados o "white pockets" (Figura 6, fotos: a, b, c) con separación celular (Figura 6, foto: d). En etapas más avanzadas, la celulosa residual fue degradada (Figura 7, foto: a), ataque que se evidencia por la formación de "cavidades" / áreas con total degradación, otorgándole al tejido aspecto "agujereado". Próximas a dichas áreas con delignificación selectiva, fueron observadas ocasionalmente células con paredes lignificadas y adelgazadas – vasos y parénquima radial en particular – las cuales por sectores aparecieron colapsadas (Figura 7, fotos: b, c). En corte longitudinal radial, también fue notable la resistencia de los radios a la delignificación – tonalidades rojizas – y la degradación de las fibras luego del ataque a la lignina (Figura 7, foto: d).

Con microscopio electrónico de barrido, punteaduras erosionadas y agujeros fueron observados en la totalidad de los tipos celulares; el micelio se alojó en las áreas completamente degradadas y en particular en los elementos de vaso (Figura 8, fotos: a – d).

Fresno americano: pudrición blanca base de fuste. Observaciones con MO

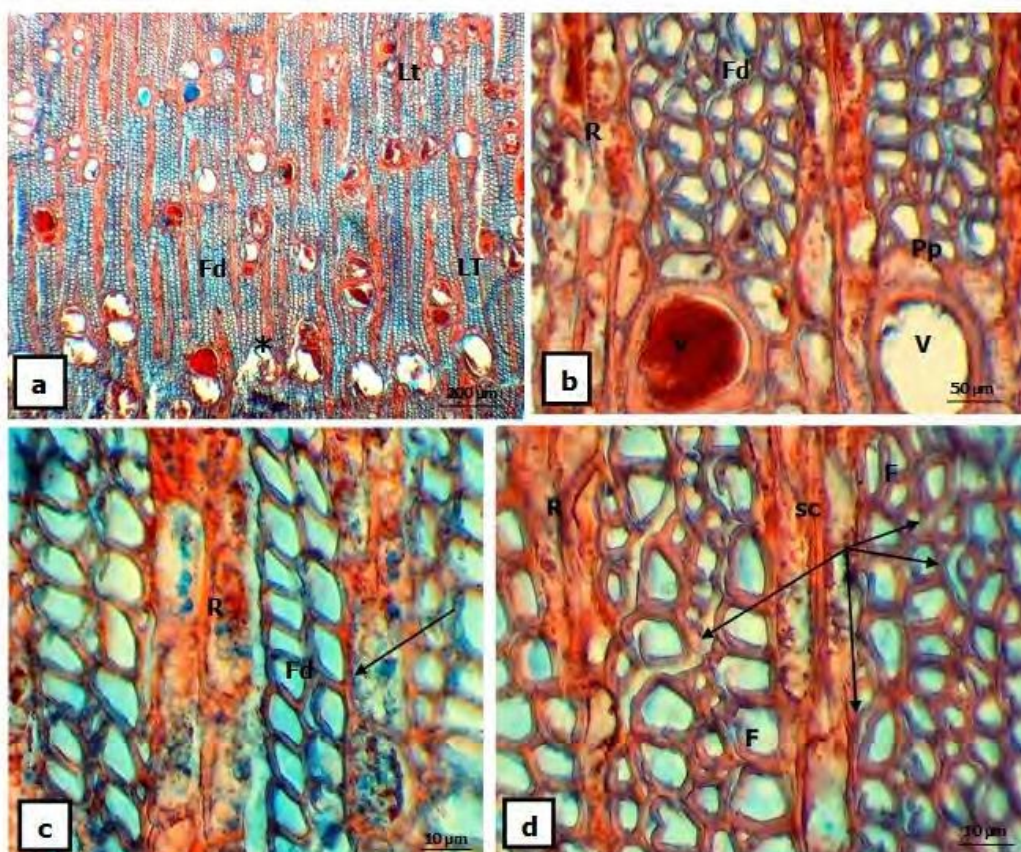


Figura 6. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca, corte transversal (CT). Foto a: colapso (*) y delignificación (d) diferencial entre leño temprano (LT) y tardío (Lt); colapso pronunciado por sectores del leño temprano (LT); delignificación selectiva en fibras (Fd), particularmente extendida en el leño temprano (LT). Foto b: delignificación de avance centrípeta en fibras (Fd); radios (R), vasos (V) y parénquima vasicéntrico (Pp) permanecen lignificados en áreas con evidencias de degradación selectiva de lignina. Foto c: progreso de la delignificación radio (R) – fibras (F). Foto d: separación celular (sc) por destrucción de la laminilla media compuesta; degradación centrípeta, paulatina de la lignina.

Fresno americano: pudrición blanca base de fuste. Observaciones con MO

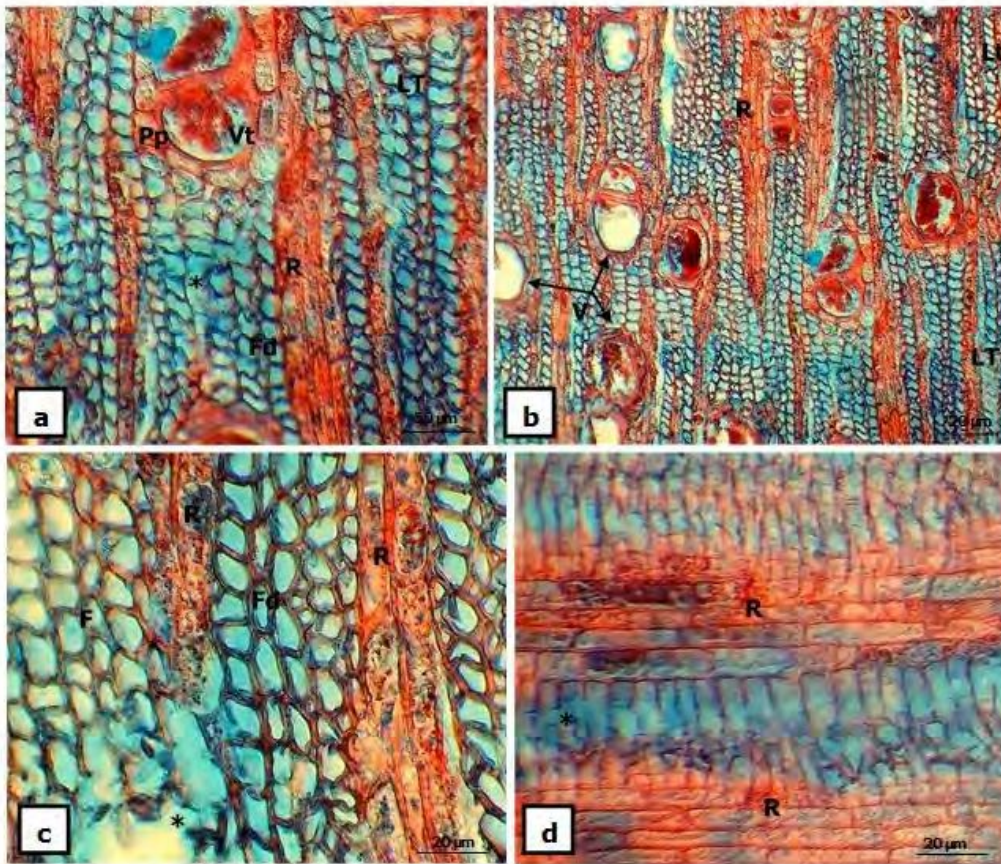


Figura 7. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: adelgazamiento, deformación y colapso de fibras selectivamente delignificadas; delignificación de avance centrífugo. Foto b: vasos (V), adelgazamiento y deformación de paredes lignificadas. Foto c: fibras (F) y radios (R), adelgazamiento, deformación y colapso (*) de paredes lignificadas entre fibras con delignificación selectiva (Fd). Foto d: corte longitudinal radial (CR); resistencia de los radios (R) a la selectiva delignificación; adelgazamiento y colapso de fibras completamente delignificadas.

Fresno americano: pudrición blanca en base de fuste. Observaciones con MEB

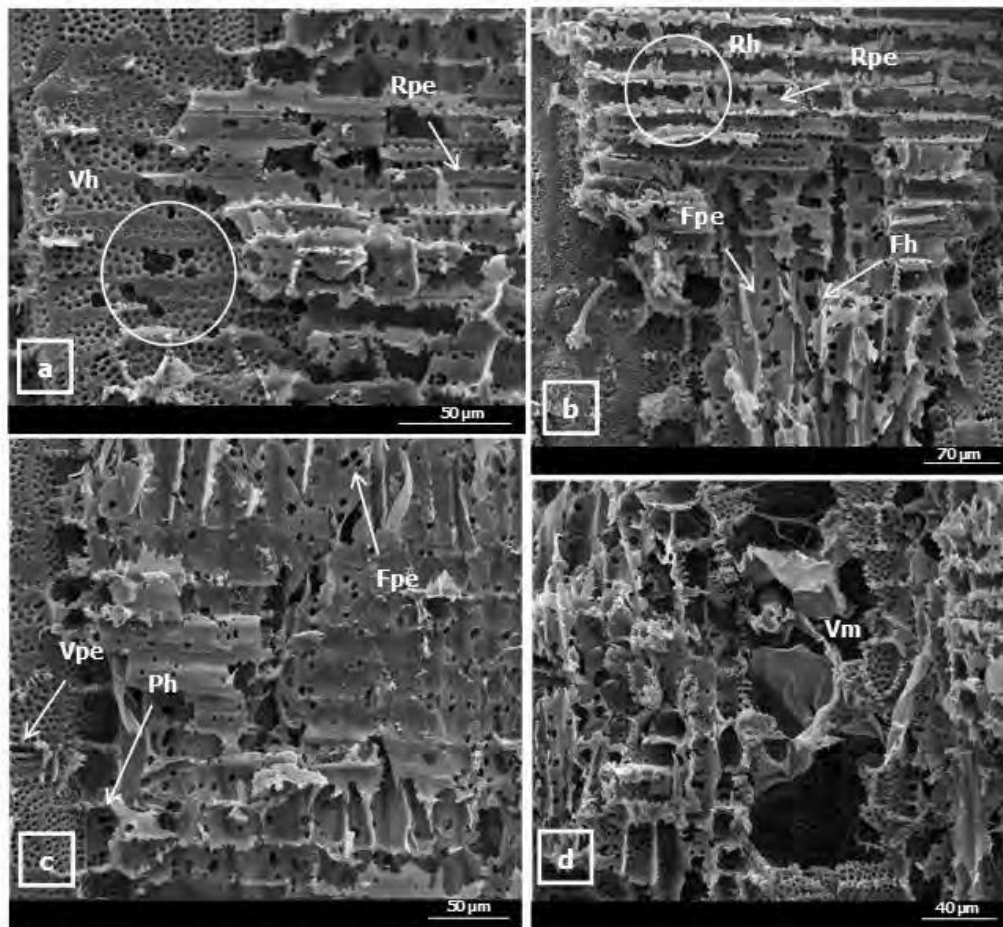


Figura 8. Fotos a - d: secciones de leño con evidencias de pudrición blanca; corte longitudinal radial (CLR). Foto a: coalescencia de punteaduras erosionadas en radio (Rpe); agujeros en elemento de vaso (Vh). Fotos b: agujeros (h) y punteaduras erosionada (pe) en fibra (F) y radio (R). Foto c: vaso, coalescencia de punteaduras erosionadas (Vpe); agujero en parénquima vasicéntrico (Ph); punteaduras erosionadas en fibra (Fpe). Foto d: vaso con tilde, colapso y colonización fúngica (Vm).

Ganoderma resinaceum Boud.

Acer saccharinum L.

Material muestreado: madera proveniente de base de fuste de ejemplar en pie, vivo, con basidiomas de *Ganoderma resinaceum* (Figura 9, fotos: a – c). Muestras recuperadas con barreno de Pressler.

Macroscópicamente (a ojo desnudo), las muestras de barreno se caracterizaron por presentar 3 zonas claramente diferenciadas por su aspecto y rigidez: zona interna (hacia la médula, Ma), con evidencias de pudrición debido a su consistencia corchosa compatible con su alteración estructural, de color castaño claro pálido, circundada por madera decolorada (Md), oscura, de 3 ca. mm de espesor y una zona externa (hacia la corteza, Me) de color blanco (Figura 9, foto: d), las dos últimas rígidas bajo presión.

Pudrición blanca en *Acer saccharinum* L. (Arce sacarino, plateado)

Aspecto general

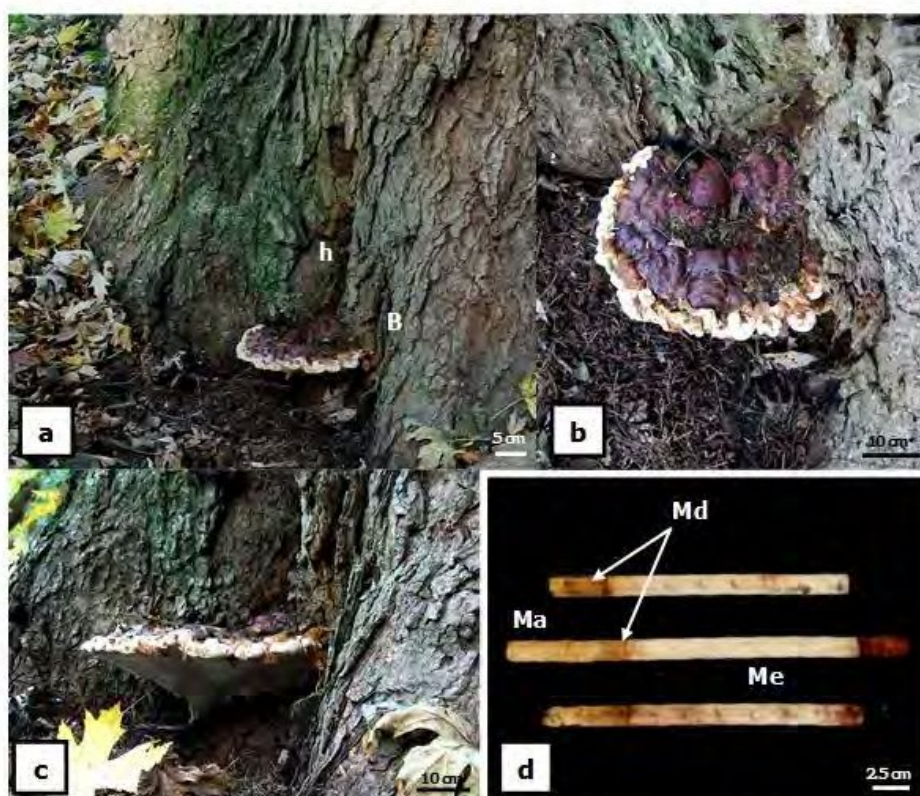


Figura 9. Fotos a – c: ejemplar de arce con evidencias (síntoma y signo) de pudrición blanca; basidioma (B) de *G. resinaceum* (signo) asociado a hundimiento (h, síntoma) en base de fuste. Foto d: muestras de barreno analizadas; madera interna con evidencia de pudrición (Ma); madera decolorada (Md), con límite definido; madera externa (Me).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en las vistas transversales y radiales, la zona Ma se caracterizó por presentar sectores completamente colapsados colonizados por micelio. En ella además se observaron contenidos en radios y vasos, comparativamente en menor cantidad y de tonalidad más clara respecto del leño de la zona Md (Figura 10, fotos: a, e). En la zona Md fue notable la abundancia de depósitos rojizos en el parénquima radial y vasos, éstos últimos colonizados por micelio. Hacia la porción más externa, el color de los contenidos se fue atenuando al igual que la cantidad de micelio (Figura 10, fotos: b, f). La Me contigua presentó, sólo por sectores, micelio y depósitos pardo-amarillentos (Figura 10, fotos: c, f), cuya cantidad fue disminuyendo hasta su total desaparición - albura sana - (Figura 10, foto: d).

Con microscopio óptico, en cortes transversales y longitudinales radiales a mano alzada y sin teñir fue identificada igual tendencia respecto del color de la madera en las distintas zonas, la alteración estructural del tejido y la cantidad y color de los depósitos celulares (Figura 11, fotos: a – g). En la Md, los depósitos fueron visualizados en vasos, radios así como en fibras, parénquima paratraqueal y en el límite del anillo (Figura 11, fotos: a - b, f - g). El color de los depósitos se hizo menos intenso y su distribución menos extendida en los distintos tipos celulares hacia la zona Me, hasta su total desaparición (Figura 11, fotos: c, d). En la zona Ma, se pudo identificar en cortes teñidos con safranina *fast-green* la delignificación selectiva – coloración verdosa – diferencial entre tipos celulares. Las fibras resultaron las más susceptibles (Figura 12, fotos: a – d). La degradación de la lignina progresó de modo centrífugo; la laminilla media compuesta (Lmc) y los ángulos entre células fueron los últimos en ser atacados (Figura 12, foto: c). La delignificación completa de la pared condujo a la diferenciación de "white pockets" o zonas completamente delignificadas y a la separación celular, esto último poco extendido en el tejido. Se observó también el adelgazamiento y la deformación de estas paredes delignificadas selectivamente hasta su completa degradación, determinando el aspecto "agujereado" del leño.

Con microscopio electrónico de barrido, sectores con aspecto "desfibrado" se presentaron entre zonas con total colapso celular y abundante micelio y cristales (Figura 13, fotos: a, b; Figura 14, foto: c). Punteaduras erosionadas, agujeros y senderos de erosión fueron rasgos extendidos en vasos, fibras y radios. La separación celular por destrucción de la Lmc se identificó entre las fibras, no obstante, fue un carácter poco frecuente (Figura 13, fotos: c, d; Figura 14, fotos: a, b). En los

contenidos gomosos de los vasos también se identificaron senderos de erosión y agujeros (Figura 14, foto: b).

Arce sacarino: pudrición blanca - zona de reacción. Observaciones con lupa.

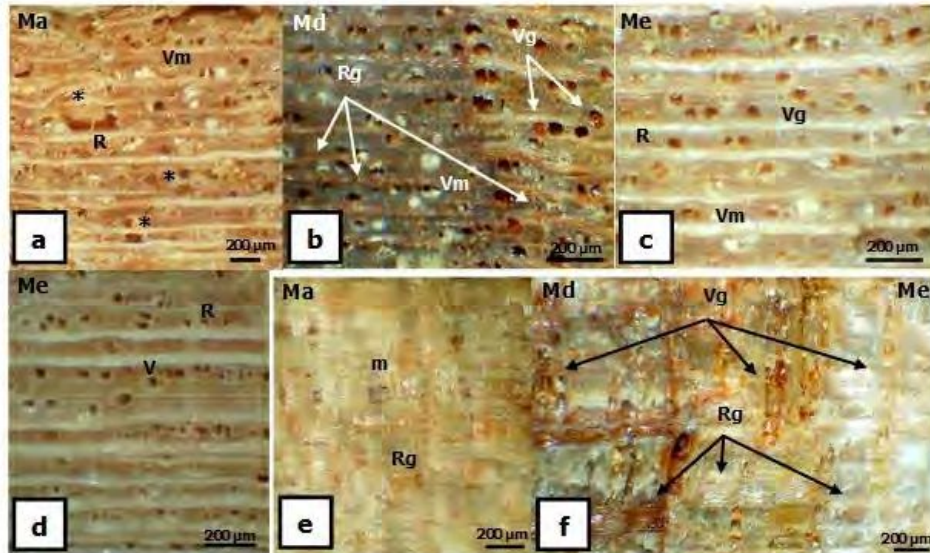


Figura 10. Fotos a - f: muestras de barroño observadas con lupa. Fotos a - d: vista transversal (VT). Foto a: sección interna (Ma); colapso generalizado (*) por sectores del tejido; radios (R) sin contenidos; micelio en vasos (Vm). Foto b: madera decolorada (Md) contenidos gomosos en radios (Rg); micelio en vasos (Vm); margen de la decoloración con depósitos en vasos (Vg) y radios (Rg). Fotos c, d: sección externa (Me). Foto c: tejido circundante a la Md; radio (R) libre de contenidos; vasos con contenidos (Vg) y micelio (Vm). Foto d: tejido libre de depósitos (albura sana). Fotos e - f: vista radial (VR). Foto e: sección interna; micelio (m) en área con colapso total del tejido; contenidos en radio (Rg). Foto f: madera decolorada (Md); margen de la decoloración y sección externa (Me); depósitos en radios (Rg) y vasos (Vg). Nótese el cambio de color del tejido en correspondencia con la disminución de los depósitos.

Arce sacarino: pudrición blanca - zona de reacción. Observaciones con MO.

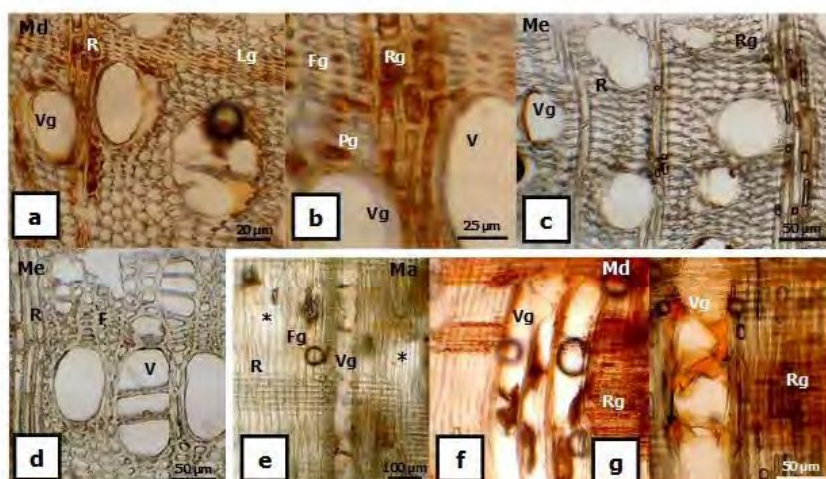


Figura 11. Fotos a - g: muestras de barroño; secciones de tejido observadas con MO. Fotos a - d: corte transversal (CT). Fotos a, b: sector decolorado (Md); aspecto general y detalle, respectivamente; contenidos gomosos en vasos (Vg), radios (Rg), fibras (Fg), parénquima axial (Pg) y en límite del anillo de crecimiento (Lg). Fotos c, d: sector externo (Me). Foto c: zona circundante a la Md; depósitos en vaso (Vg); radios con/sin contenidos (R). Foto d: ausencia de depósitos en vasos (V), radio (R) y fibras (F); albura sana. Fotos e, g: corte longitudinal radial (CLR). Foto e: sector Ma; colapso (*) contenidos pardo-amarillentos por sectores de los radio (R), en fibras (Fg) y en vaso (Vg). Fotos f, g: sector decolorado (Md); contenidos en vasos (Vg) y radios (Rg); nótese el cambio de color hacia el margen (foto g).

Acer sacarino: pudrición blanca. Observaciones con MO.

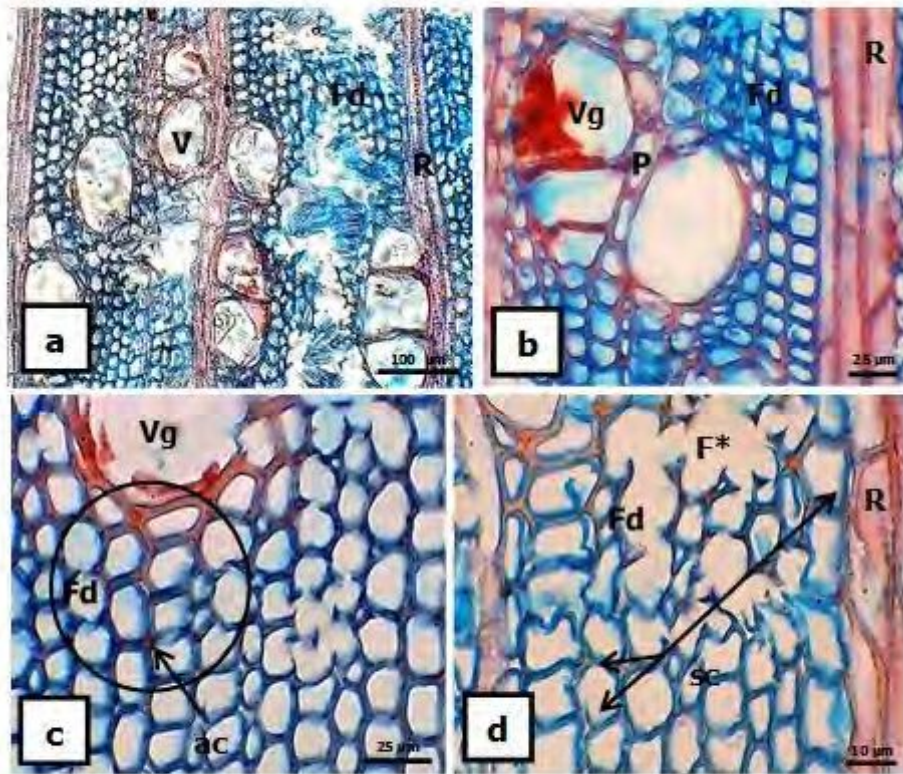


Figura 12. Fotos a - d: sección Ma, evidencias de delignificación selectiva en corte transversal (CT). Fotos a, b: resistencia de los vasos (V) y radios (R) a la preferente degradación de la lignina, aspecto general y detalle, respectivamente. Foto b: vaso con depósitos gomosos (Vg), parénquima paratraqueal (P) y radio (R) entre fibras completamente delignificadas (Fd). Foto c: delignificación de avance centrífugo en fibras (Fd); persistencia de ángulo celular (ac) entre células delignificadas. Foto d: separación celular (sc), adelgazamiento, deformación y colapso de fibras (F*) selectivamente delignificadas.

Arce sacarino: pudrición blanca. Observaciones con MEB

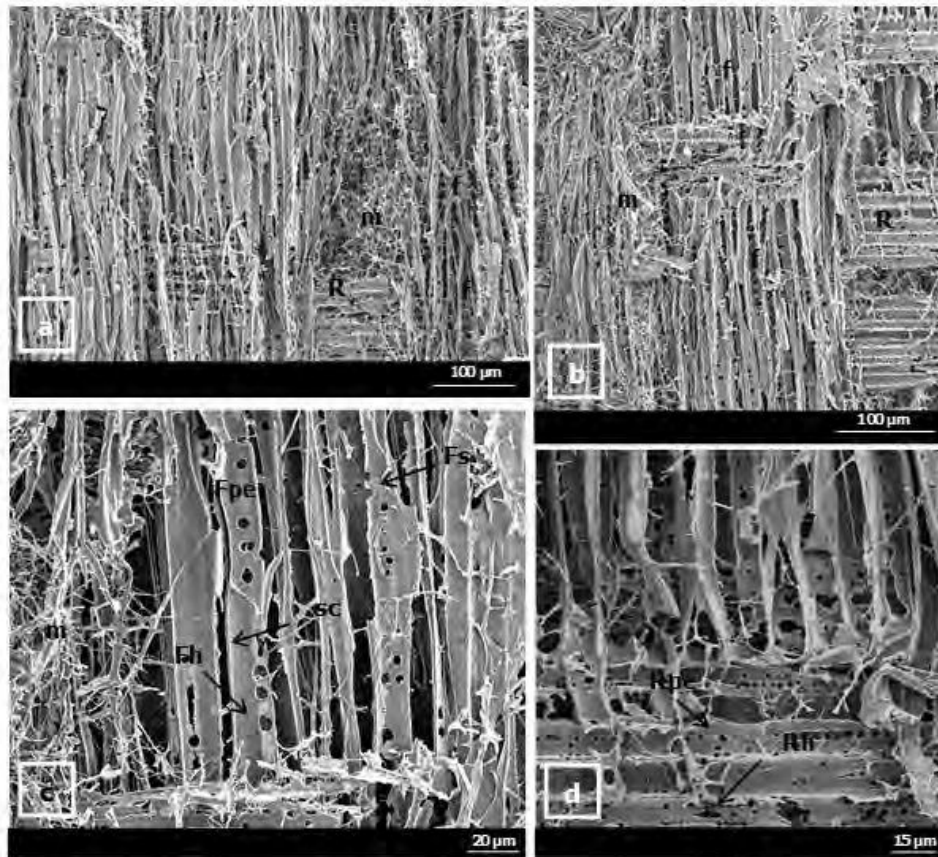


Figura 13. Fotos a - d: sección Ma; evidencias de pudrición blanca en corte longitudinal radial (CLR). Fotos a, b: micelio (m) en sectores con colapso generalizado del tejido entre áreas con aspecto desfibrado (f). Foto c: fibras (F), separación celular (sc), agujero (h), senderos de erosión (se) y punteadura erosionada (pe). Foto d: radio (R), agujero (h) y punteadura erosionada (pe).

Arce sacarino: pudrición blanca. Observaciones con MEB.

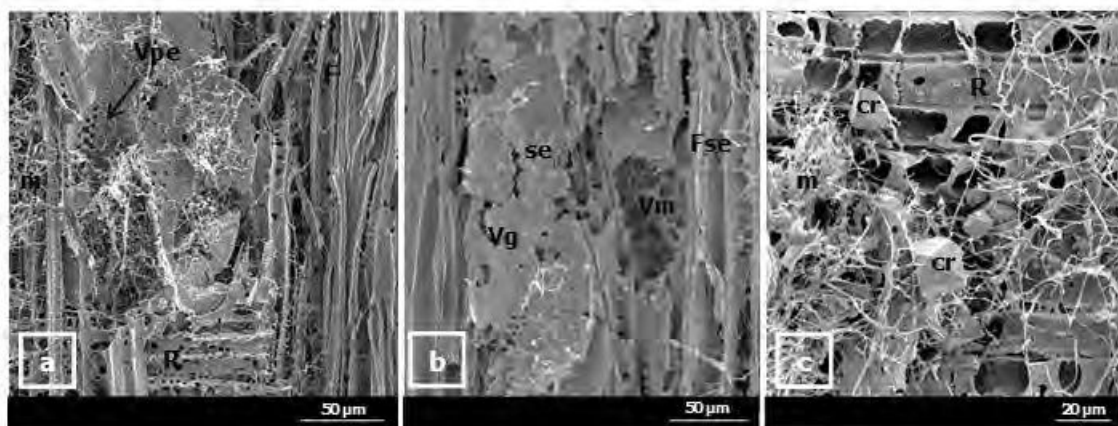


Figura 14: Fotos a - c: sección Ma; evidencias de pudrición blanca en corte longitudinal radial (CLR). Foto a: vaso, punteaduras erosionadas (Vpe). Foto b: micelio (m) y contenidos gomosos (g) en vasos (V); sendero de erosión (se) en depósito celular y fibra (Fse). Foto c: cristales (cr) entremezclados con micelio (m).

Ganoderma resinaceum Boud.

Celtis australis L.

Material muestreado: madera proveniente de base de fuste, de ejemplar en pie, vivo, con basidiocarpos (Figura 15, fotos: a, b). Muestras obtenidas con barreno de Pressler.

Pudrición blanca en *Celtis australis* L. (Almez)



Figura 15. Fotos a - b: basidiomas de *G. resinaceum* en base de fuste de ejemplar de almez.

Estudios a nivel microscópico

Con microscopio óptico, en cortes transversales teñidos con safranina *fast-green* fue identificada delignificación selectiva – color verdoso - por sectores del leño temprano y tardío (Figura 16, fotos: a, b). En ambos, la preferente degradación de la lignina se presentó en vasos, fibras, parénquima axial y traqueidas no obstante con diferente intensidad y extensión en las muestras. De acuerdo con ello, fue más pronunciada y extendida entre los vasos agrupados y las fibras; los radios y las fibras “aplastadas tangencialmente” del límite del anillo evidenciaron cierta resistencia (Figura 16, fotos: a – c; Figura 17, fotos: a, b). El patrón de delignificación fue predominantemente centrífugo, con origen en la cavidad celular. En los vasos y ocasionalmente en las fibras del leño temprano, la pérdida de lignina se manifestó en la totalidad de la pared, lo cual condujo a su separación (Figura 17, foto: a, d). El colapso de las paredes completamente delignificadas de los vasos determinó el aspecto “agujereado” del tejido (Figura 17, foto: b). Entre las fibras de la madera tardía se visualizó una incipiente separación celular producto de un proceso de delignificación centrípeta que sólo afectó a parte de la Lmc; en aquellas con delignificación centrífuga

fue notable el “desprendimiento” de su grueso estrato S2 de la Lmc. Respecto de las traqueidas vasicéntricas y parénquima axial, si bien en ambas zonas del anillo evidenciaron delignificación, la pérdida de lignina se presentó con baja frecuencia y predominantemente en etapas incipientes (Figura 17, foto: c). En algunos casos (con baja frecuencia) fueron identificadas fibras con paredes lignificadas y erosión localizada; cristales en parénquima axial y radial.

Almez: pudrición blanca base de fuste. Observaciones con MO

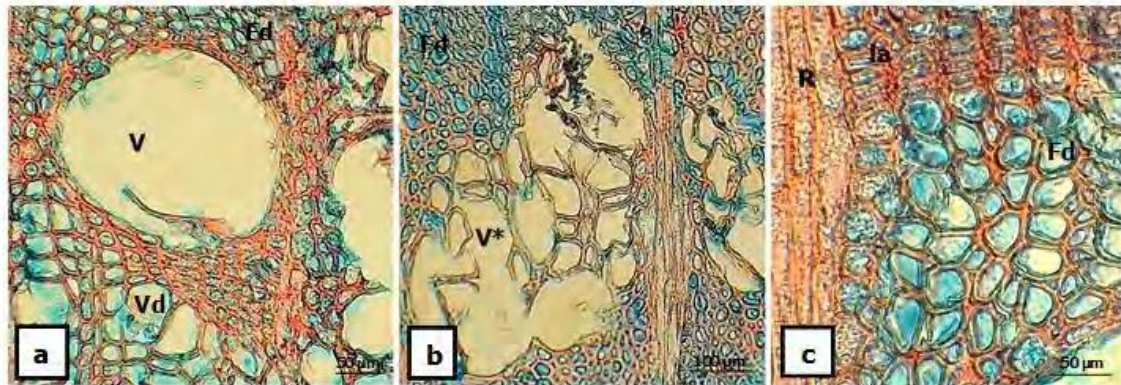


Figura 16. Fotos a - c: leño con evidencias de pudrición blanca, corte transversal (CT). Foto a: delignificación selectiva en fibras (Fd) y vasos agrupados (Vd) del leño temprano. Foto b: leño tardío, delignificación selectiva en fibras (Fd); colapso de vasos delignificados (V*). Foto c: leño temprano, delignificación de avance centrífugo en fibras (Fd); radios (R) y fibras del límite del anillo (la) ofrecen la mayor resistencia a la degradación de la lignina.

Almez: pudrición blanca base de fuste. Observaciones con MO

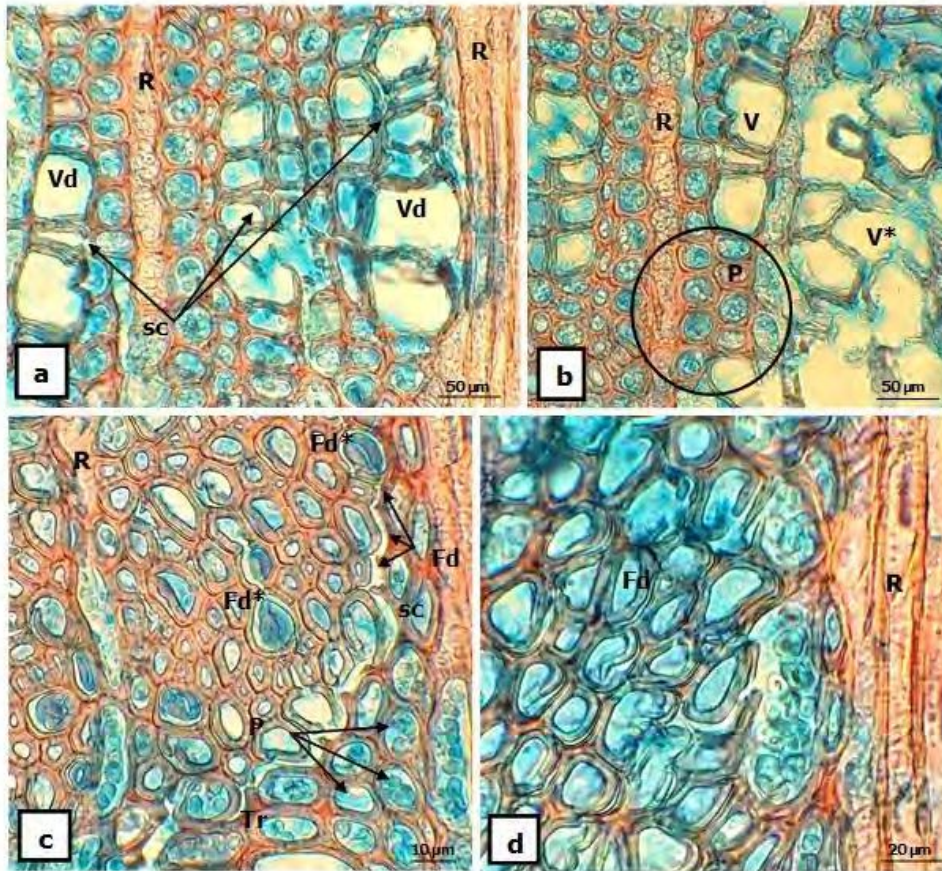


Figura 17. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca, corte transversal (CT). Foto a: delignificación selectiva en vasos agrupados (Vd) de la madera temprana y consecuente separación celular (sc); radios (R) permanecen lignificados. Foto b: colapso de vasos (V*) de la madera temprana con evidencias de total pérdida de lignina; parénquima axial (P) y radial (R) permanece lignificado. Foto c: leño tardío, separación entre fibras (sc) por delignificación centripeta (Fd); desprendimiento del estrato S2 por delignificación de avance centrífugo (Fd*); traqueidas vasicéntricas (Tr) y parénquima axial con incipiente delignificación. Foto d: leño temprano, delignificación centrífuga en fibras (Fd); deformación y colapso de la pared residual.

DISCUSIÓN

Las interacciones muestreadas, *Ganoderma resinaceum* - roble europeo/fresno americano/arce/almez y sus características – tipo y ubicación del deterioro y condición de los hospedantes - resultan compatibles con los antecedentes registrados. *Ganoderma resinaceum* es citada como parásita facultativa responsable de pudrición blanca de duramen, particularmente en base de fustes y raíces – o “butt rot” – de numerosas latifoliadas, entre las que se encuentran los hospedantes bajo estudio (Pearce & Woodward, 1986; Rayner & Boddy, 1988; Schwarze et al., 2000a; Deflorio et al., 2008).

En roble, el aspecto fibrilar y la consistencia esponjosa de las muestras se corresponden con la intensidad y la extensión de las alteraciones micro-estructurales observadas en el tejido y con el concepto de estado avanzado de pudrición blanca. Autores como Zabel & Morrel (1992), Worrall et al. (1997) y Schwarze & Ferner (2003) indican que las maderas con este tipo y estado de pudrición se caracterizan por su transformación en un material esponjoso y fibrilar, consecuencia de la extendida y completa degradación de sectores del leño, tal como fue observado particularmente debido a la destrucción de la celulosa residual (residuo originado por delignificación selectiva). La presencia de depósitos oscuros por sectores de las muestras también es característica del tipo de pudrición diagnosticado y compatible con la identificación de manganeso (Mn) en las muestras. Blanchette (1984c) identifica manchas negras por sectores del leño de *Tsuga canadensis* (L) Carr. con pudrición blanca selectiva (PBSe) causada por *G. tsugae*. Schmidt et al. (1997) describen lo mismo en *Pinus sylvestris* atacada por *Rigidoporus vitreus* (Pers.: Fr.) Donk. Según estos autores, su origen resulta de la precipitación de óxidos de manganeso, rasgo frecuente en maderas degradadas por hongos responsables de PBSe o moteada, entre los que menciona a distintas especies de *Ganoderma*. Estos depósitos estarían vinculados con la degradación de la lignina. Los agentes no enzimáticos que participan de la oxidación inicial de la lignina también causarían los óxidos de Mn en áreas donde ocurre delignificación selectiva. Por su parte, el Mn^{+3} es un agente difusible relacionado con la degradación de este polímero aromático, y que surge del Mn^{+2} , sustrato reductor de la enzima manganeso peroxidasa, constituyente del complejo enzimático que degrada lignina presente en los hongos de pudrición blanca (Reid, 1995).

En fresno, el ataque pronunciado al leño temprano es compatible con el concepto de “ring rot” o pudrición anular, tipo de deterioro en el cual la degradación se concentra en dicho sector del anillo (Otjen & Blanchette, 1986; Zabel & Morrell, 1992).

Blanchette (1984b) y Schwarse et al. (2000a) mencionan este patrón de ataque en ejemplares de *Quercus* sp. naturalmente infectados por *G. pfeifferi*.

En las muestras de arce, el margen coloreado (Md) delimitando la madera atacada y sus rasgos anatómicos – presencia de depósitos en vasos, fibras, parénquima axial y radial - se corresponden con el concepto de zona de reacción (zr). Las zr resultan de una respuesta activa de la albura a fin de limitar un disturbio/el avance de la disfunción del tejido fisiológicamente activo (Shain, 1971; 1979; Pearce, 2000). Pearce & Woodward (1986) observan en ejemplares de esta especie naturalmente infectados por *G. adspersum* una zr de características similares a las descritas tanto por la presencia y distribución de sus contenidos como por su diferente coloración. Estos autores interpretan al límite externo de la zr como un sector de tejido vivo en el cual está ocurriendo una activa invasión fúngica y una paulatina transformación en un área totalmente necrosada, rasgo, entre otros, que caracteriza a las zr. Respecto de la presencia de micelio en este sector (zr o Md) y en Me (o albura de apariencia sana) es compatible con el status de hongos moderadamente invasivos a muy invasivos que poseen muchas de las especies que conforman este género, debido a su capacidad de salvar las barreras a la colonización presentes en sus hospedantes. En este sentido, si bien las zr suelen ser barreras efectivas contra el avance de la infección fúngica, existen evidencias respecto de la capacidad de *Ganoderma adspersum* y *G. resinaceum*, entre otras, de superarlas en hospedantes como tilo, plátano, abedul y arce (Schwarze & Baum, 2000; Baum & Schwarze, 2002; Schwarze & Ferner, 2003). *Ganoderma* spp son reconocidas por degradar las tñides suberificadas y los depósitos celulares de naturaleza fenólica que poseen las maderas (Pearce & Woodward 1986; Schwarze, 2001; Schwarze, 2007). Asimismo, la colonización de la Me observada se corresponde con el modelo estático de zr mencionado por Pearce (1991; 1996). De acuerdo con este autor, las zr normalmente constituyen límites estáticos frente a una infección. Cuando una zr es superada, cierto volumen de madera es colonizado con poca o nula expresión de una típica zona de reacción hasta que un nuevo límite es establecido, situación que fue observada en las muestras. De acuerdo con ello, con el avance de la colonización fúngica en la albura funcional, es esperable observar en esta madera la diferenciación de una nueva zr delimitando un área con evidencias de pudrición blanca y zr relictos, rasgos que caracterizan a este modelo, y que permitirían confirmar su presencia como también constituiría una nueva evidencia de la invasividad moderada de *G. resinaceum* en correspondencia con lo mencionado por Schwarze & Ferner (2003).

En la totalidad de las muestras, lo observado en cuanto a la preferente degradación de la lignina, la separación celular y la diferenciación de "white pockets"—particularmente notable en roble - resulta compatible con estados avanzados de pudrición blanca selectiva (PBSe). Durante el curso de las PBSe, hemicelulosas y lignina son atacadas preferentemente. La total delignificación por sectores del tejido determina la diferenciación de "white pockets" o áreas con elevada concentración de celulosa (Blanchette, 1984a; Otjen & Blanchette, 1984; Blanchette, 1991) y separación entre células por destrucción de la laminilla media compuesta, sector altamente lignificado. La separación celular es considerada el rasgo más significativo para el diagnóstico de este tipo de deterioro (Srebotnik & Messner, 1994; Anagnost, 1998). Los senderos de erosión identificados en roble y arce, la completa degradación de la celulosa residual y el aspecto "agujereado" del tejido también son rasgos descritos por autores como Otjen & Blanchette (1984; 1986); Anagnost (1998) y Schwarze (2007) para este tipo de pudrición blanca. Además, la identificación de PBSe se corresponde con la conocida habilidad de *Ganoderma* spp en degradar polifenoles, químicamente similares a la lignina.

La resistencia a la delignificación observada en los vasos de roble, fresno y arce es compatible con sus rasgos químicos y/o anatómicos. Los vasos, al igual que la Lmc y los ángulos celulares poseen una alta relación lignina/carbohidratos con predominio de guayacil lignina, considerada la más resistente a la degradación por hongos de pudrición blanca. En los vasos, además, su estrecho S2 y anchos S1 y S3, más lignificados, contribuyen con ello y en consecuencia afectan la delignificación (Blanchette et al., 1988; Blanchette, 1995; Saito et al., 2012; Skyba et al., 2013; Pramod et al., 2015). En almez, el ataque a los vasos por sobre las fibras y traqueidas es compatible con las diferencias en el espesor de sus paredes. En este ejemplar, las gruesas paredes de las fibras y traqueidas afectarían la delignificación y colonización axial determinado que sean los vasos intensamente colonizados y delignificados esto último considerando el sistema difusible involucrado en los procesos de la degradación selectiva de la lignina (Kim et al., 2015; Gao et al., 2018). Schwarze (2007) menciona la concentración de la lignina como condicionante de la degradación.

En cuanto a la resistencia a la delignificación selectiva observada en los radios, podría ser explicada a partir de las elevadas concentraciones de Nitrógeno (N) que los caracterizan. Respecto de otros tipos celulares, los radios poseen la mayor concentración de N. Altas concentraciones de N, entre otros factores vinculados con las condiciones ambientales y características del sustrato, inhiben la degradación selectiva

de la lignina (Otjen & Blanchette, 1982; Dill & Kraepelin, 1986; Agosín et al., 1990; Singh et al., 2012).

El adelgazamiento de paredes lignificadas, los senderos de erosión presentes en ellas como también las punteaduras erosionadas y los agujeros observados en la totalidad de las muestras resultan compatibles con el curso de una pudrición blanca simultánea (PBSi). Anagnost (1998) considera a dichas alteraciones estructurales como caracteres para el diagnóstico de este tipo de deterioro. Desde el punto de vista anatómico, el desarrollo de las PBSi implica la presencia de abundante micelio en la cavidad de las células. La degradación se inicia mediante ataques localizados, en el punto de contacto hifa-pared, y progresa de modo centrífugo, hacia la Lmc, conformando senderos de erosión (se) – evidencias de la despolimerización simultánea de la fracción polimérica -. Los se pueden alcanzar la Lmc y diferenciar agujeros/perforaciones en la pared típicas de este tipo de deterioro o bien pueden coalescer y conducir al adelgazamiento generalizado de la pared. La Lmc y los ángulos entre células son los últimos en ser completamente degradados. A causa de ello, sectores constituidos por restos de Lmc y ángulos intercelulares entremezclados con micelio son rasgos frecuentes en estados avanzado de deterioro. La completa destrucción de las células por zonas del tejido define la apariencia agujereada/la formación de cavidades en las muestras (Schwarze et al., 1997; Anagnost, 1998; Schwarze, 2004; Schwarze, 2007).

La identificación de áreas con PBSe entre sectores con PBSi se corresponde con el concepto "mottled rot" o pudrición moteada definida por Otjen & Blanchette (1986), abordado en apartados previos. Según se indicó, este tipo de deterioro es frecuente entre hongos capaces de causar selectiva delignificación como lo hacen distintas *Ganoderma* spp, incluida *G. resinaceum* (Blanchette, 1984a; Blanchette et al., 1985; Otjen et al., 1987; Adaskaveg et al., 1990; Agosín et al., 1990; Schwarze & Ferner, 2003). Específicamente, la presencia de ambos tipos de pudrición blanca en un mismo sustrato fue descrita para distintas interacciones hospedante – patógeno que incluyen a *Ganoderma* spp, entre otras: *G. lobatum* - arce (Blanchette, 1984a); *G. tsugae* – tsuga (Blanchette, 1984b); *G. lucidum* y *G. tsugae* – roble (Adaskaveg & Gilbertson, 1986); *G. australe* – roble de Chiloé (Barrasa et al., 1992); *G. pfeifferi* - roble (Schwarze, 2007); *G. applanatum* - tilo (Schwarze, 2007).

Para muchas de estas interacciones, el desarrollo de pudrición moteada es justificado desde distintos puntos de vista, entre ellos: inestabilidad de las condiciones ambientales que promueven la preferente degradación de la lignina - las más

importantes: elevada humedad, bajas temperaturas, bajos niveles de oxígeno o condiciones micro-aeróbicas -; incapacidad de la cepa de mantener constantes los requerimientos ambientales enumerados, que promueven delignificación selectiva - o incapacidad de generar en una madera en descomposición microambientes/sistemas cerrados mediante la producción de placas pseudoesclerociales -; distribución heterogénea del N en el leño – sectores con altas/bajas concentraciones que inhiben/favorecen la degradación de la lignina de modo selectivo -; cantidad y tipo de lignina predominante - bajos contenidos de lignina y del tipo siringyl promueven la delignificación selectiva -; diferencias en el potencial enzimático entre cepas de una misma especie; requerimientos fisiológicos del hongo xilófago - la necesidad de generar sectores de producción, almacenamiento y transporte de nutrientes para la fructificación, sectores representados por áreas con Pbm – (Blanchette, 1984b; Dill & Kraepelin, 1986; Otejen & Blanchette, 1986; Agosín et al., 1990; Blanchette, 1991).

Respecto del micelio presente en los vasos, del avance del deterioro desde los radios - fresno - y de la presencia de punteaduras erosionadas se corresponden con su rol de principales vías de colonización fúngica de la madera en sentido longitudinal, radial y tangencial, respectivamente (Schwarze, 2007).

De acuerdo con Schwarze et al. (2000a), en estados avanzados y generalizados de deterioro, las maderas atacadas por *G. resinaceum* poseerían una notable fragilidad; reducirían notablemente su resistencia producto de la completa degradación de la matriz lignocelulósica que producen ambos tipos de pudrición blanca en estados avanzados. La degradación de la celulosa principalmente disminuye la resistencia a la tensión y la flexión dinámica de las maderas; el ataque a la lignina disminuye su rigidez y dureza. No obstante, en las muestras bajo estudio, la preponderancia de PBSe determinaría que la disminución de la capacidad resistente sea menos drástica, al menos en los primeros estados de deterioro. El residuo de celulosa surgido con la preferente degradación de la lignina contribuiría con ello. Las maderas con PBSe - en tanto no se produzca la degradación de la celulosa - incrementan su valor de flexión dinámica y tensión (Schwarze et al., 1997).

Arambarria cognata (Bres.) Rajchenb. & Pildain comb. nov.

Eucalyptus globulus Labill.

Material muestreado: madera proveniente de fuste de ejemplar en pie, vivo, con evidencias de pudrición dadas por su color blanquecino y consistencia corchosa – presentó notable rigidez al presionarla entre los dedos -; presencia de basidiocarpos.

Macroscópicamente, en vista transversal, las muestras presentaron una pudrición central – sector correspondiente al duramen -, de avance centrífugo, de apariencia blanquecina y rugosa, delimitada por un margen oscuro e irregular, de 1 a 2 mm de espesor aprox. Rodeando a esta zona de madera podrida fueron identificadas “islas” o sectores de tejido atacado, similares en apariencia a la pudrición central, los cuales por zonas de las muestras alcanzaron la región cortical. Bajo estas circunstancias se presentaron asociados a hundimientos, discontinuidades/rajaduras en la corteza, canchales y basidiomas. La pudrición central y circundante definieron un patrón complejo de deterioro “inmerso” en un área decolorada, color castaño-rojizo. Además, fueron observadas líneas castaño oscuras o “zones lines” (zl), delgadas, de 1 mm espesor en la madera podrida y bolsas de quino en la zona decolorada (Figura 1, fotos: a - f).

Estudios a nivel microscópico

Con microscopio óptico, en cortes transversales teñidos con safranina *fast-green*, el rasgo saliente fue la delignificación selectiva – color verdoso - y el colapso diferencial entre tipos celulares. El parénquima radial y axial resultaron los más susceptibles; la delignificación de estas células fue la más extendida en el tejido (Figura 2, fotos: a, b). En los radios, la degradación de la lignina ocurrió centrífugamente, progresando hacia las células circundantes, particularmente al parénquima axial (Figura 2, foto: a). En zonas más alteradas la degradación de la celulosa residual fue evidente (Figura 2, foto: b). Respecto de las fibras y traqueidas, en ellas fueron observados 2 patrones de delignificación: uno centrípeto, que comenzó en la laminilla media compuesta (Lmc), lo cual condujo a la separación celular (Figura 2, foto: c) y otro centrífugo con persistencia de los ángulos intercelulares (Figura 2, foto: d) no obstante, y según se indicó, dichos rasgos en fibras y traqueidas fueron poco generalizados. También se visualizaron células con paredes adelgazadas, sin evidencias de delignificación selectiva. En corte longitudinal radial (CLR) fue notable la mayor susceptibilidad del parénquima radial (Figura 3, fotos: a - c) indicando el posible

inicio de la degradación en estas células. Indicios de un proceso de delignificación y colapso fueron observados también en fibras. Las traqueidas manifestaron resistencia a la degradación selectiva de la lignina (Figura 3, fotos: c, d).

En cuanto al margen de la pudrición (m), la zona decolorada (de) y a las "zones lines" (zl), en ellos fueron identificados contenidos en vasos – tílides, compuestos gomosos -, parénquima axial, traqueidas y radios. La mayor cantidad de depósitos se presentó en el m y en la zl, en particular respecto de la albura sana circundante (Figura 4, fotos: a – l; material sin tinción). En m los contenidos determinaron una intensa coloración castaño-rojiza en correspondencia con la coloración que presentó a nivel macroscópico; en la zl dicha coloración se presentó entremezclada con depósitos que podrían ser melanínicos (Figura 4, fotos: h – k). En m y en la zl se evidenció colonización fúngica particularmente en los vasos.

Pudrición blanca en *Eucalyptus globulus* Labill. (Eucalipto blanco)

Aspecto general

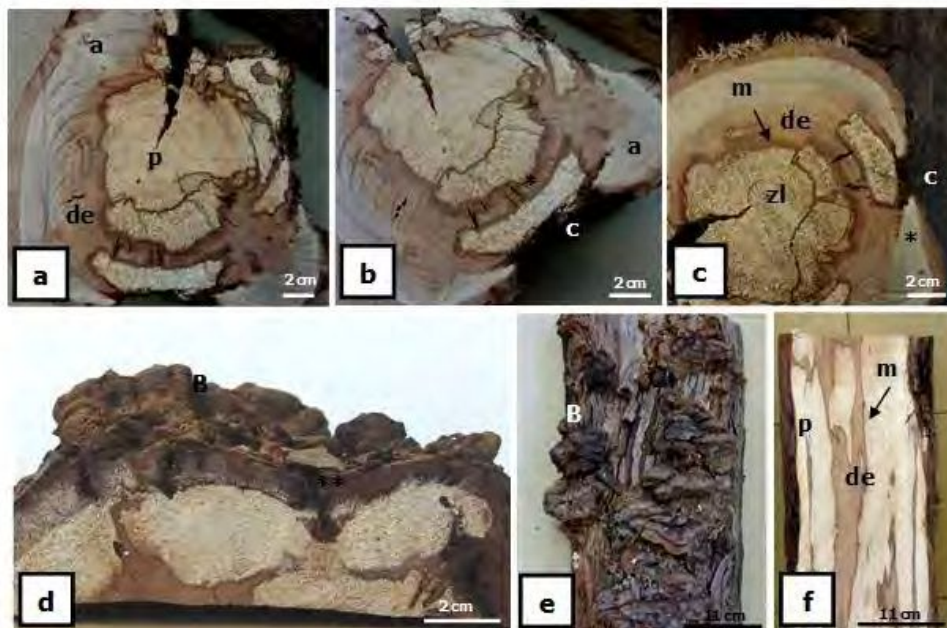


Figura 1. Fotos a - f: leño con evidencias de pudrición blanca a nivel macroscópico. Fotos a-d: vista transversal; albura (a); decoloración en albura (de); color blanquecino y textura rugosa (pudrición) central (p); "zone lines" (zl); canchros (c); basidiomas (B); bolsas de quino (*); discontinuidades en corteza (**); margen de la pudrición/ frente de avance fúngico (m). Fotos e-f: vista longitudinal; basidiomas (B); albura decolorada (de); pudrición (p); margen (m). Nótese el avance predominantemente axial del deterioro.

Eucalipto: pudrición blanca. Observaciones con MO

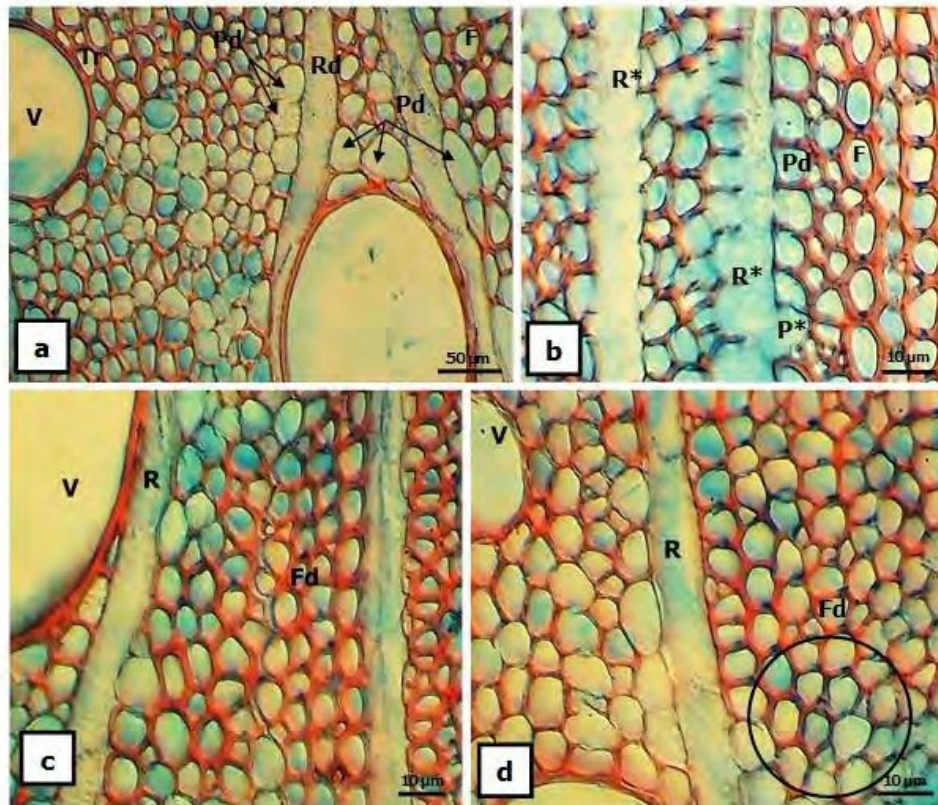


Figura 2. Fotos a - d: corte transversal (CT) de sectores con evidencias de pudrición blanca. Foto a: delignificación diferencial entre tipos celulares; vasos (V), fibras (F) y traqueidas vasicéntricas (Tr) resultaron las de mayor resistencia; delignificación en parénquima radial (Rd) y axial (Pd). Foto b: colapso de radios (R*) y parénquima axial (P*); delignificación, adelgazamiento y deformación de células parenquimáticas circundantes a los radios (Pd). Foto c: delignificación centripeta en fibras (Fd); separación celular. Foto d: fibras, delignificación centrifuga (Fd); persistencia de los ángulos intercelulares.

Eucalipto: pudrición blanca. Observaciones con MO

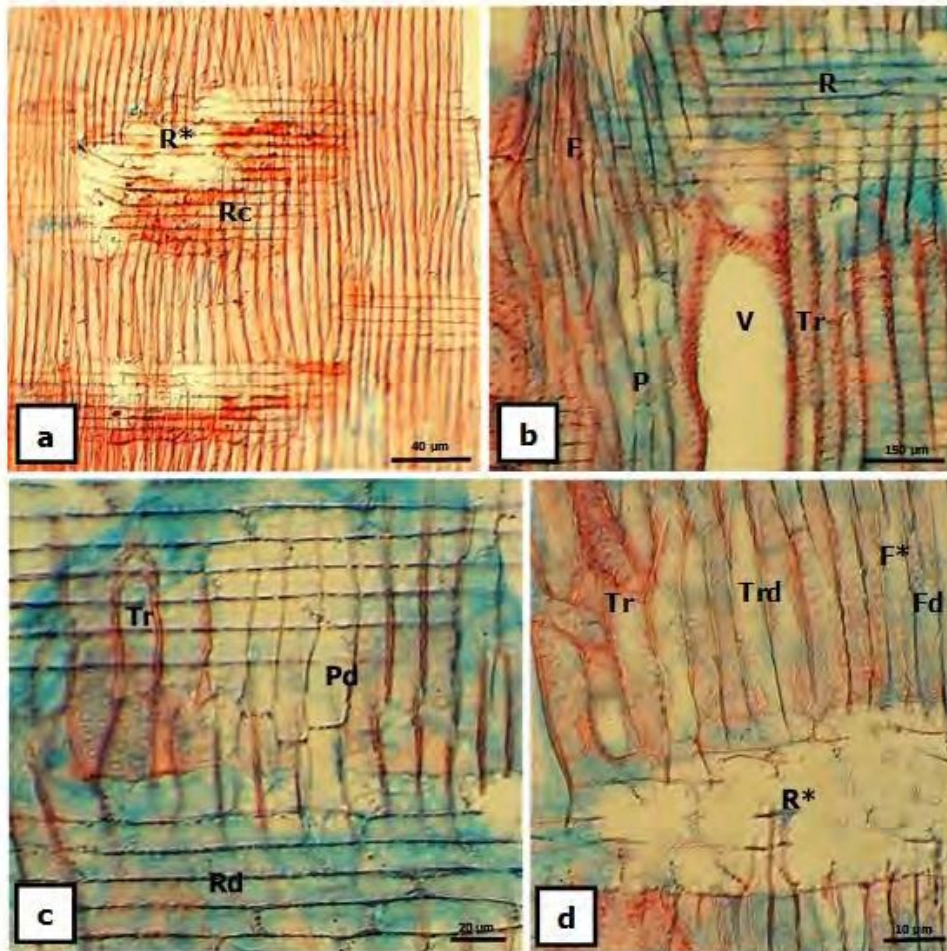


Figura 3. Fotos a - d: corte longitudinal radial (CR); evidencias de delignificación y colapso diferencial entre tipos celulares. Foto a: radios con contenidos (Rc) por sectores colapsados, rasgo contrastante con el tejido que lo circunda; aspecto general. Fotos b, c: delignificación en radio (R) y parénquima (P); elementos de vaso (V), traqueidas vasicéntricas (Tr) y fibras (F) conservan la lignina; aspecto general y detalle respectivamente. Foto d: degradación generalizada en radio (R) circundado por fibras (F) y traqueidas (Tr) con evidencias de delignificación (d) incipiente; traqueidas (Tr), resistencia diferencial a la pérdida de lignina respecto de las fibras, las cuales por sectores evidencian degradación de la celulosa residual (F*).

Eucalipto: madera decolorada-zona de reacción. Observaciones con MO

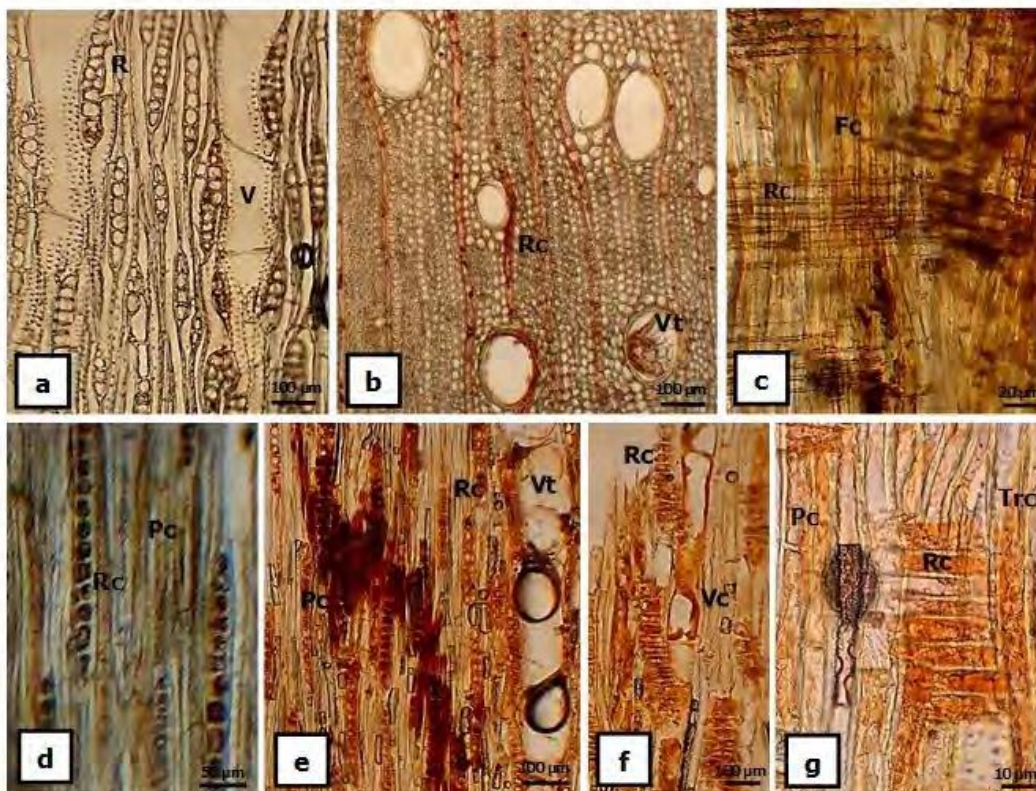


Figura 4. Foto a: albura, corte longitudinal tangencial (CLT); vasos (V) libres de tílides; radio (R), contenidos ausentes a escasos; nótese el color claro del tejido. Foto b: duramen, corte transversal (CT); contenidos en radios (Rc); tílido en vaso (Vt). Fotos c - d: decoloración del tejido (albura). Foto c: aspecto general, corte longitudinal radial (CLR). Foto d: corte longitudinal tangencial (CLT); contenidos en radios (Rc) y en parénquima axial (Pc). Fotos e-g: frente de avance de la colonización fúngica/margen de la pudrición (m). Foto e: corte longitudinal tangencial (CLT); contenidos en radios (Rc); tílides en vasos (Vt); contenidos en parénquima axial (Pc). Fotos f-g: corte longitudinal radial (CLR); aspecto general y detalle, respectivamente; tílides en vaso (Vt); contenidos en radio (Rc), vaso (Vc) parénquima axial (Pc) y traqueidas (Trc).

Eucalipto: "zone line"-zona de reacción. Observaciones con MO

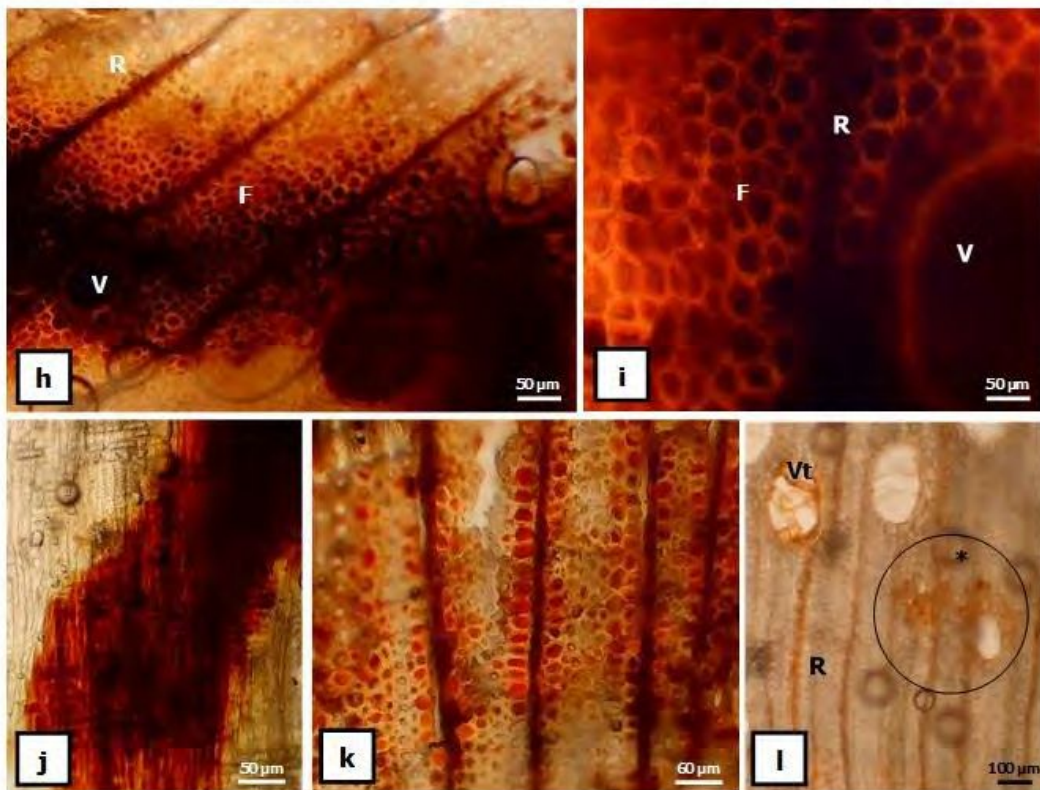


Figura 4 (continuación). Fotos h - j: "zones lines". Fotos h - i: corte transversal (CT); aspecto general y detalle, respectivamente; depósitos de melanina en el tejido (vasos, V; fibras, F; radios, R). Foto j: corte longitudinal radial (CLR); melanina en radios y elementos axiales. Fotos k - l: zona de reacción; corte transversal (CT). Foto k: depósitos en el margen (m) de la madera degradada; frente de avance de la colonización fúngica. Foto l: madera decolorada (de); tílides en vaso (Vt); depósitos en radios (R) y células del sistema axial (*).

Con microscopio electrónico de barrido, también fue notable la mayor susceptibilidad de los radios a la degradación, no obstante, la totalidad de los tipos celulares manifestaron evidencias de pudrición blanca (Figura 5, foto: a). De acuerdo con ello, fueron observados agujeros en radios, paredes de las fibras (Figura 5, foto: b), parénquima axial y vasos (Figura 5, foto: c), como también erosión de punteaduras, particularmente en aquellas de la intersección radio-vaso (Figura 5, foto: c). En cuanto a la colonización fúngica, la concentración de micelio fue evidente en los lúmenes de los vasos y radios, tanto en las zonas deterioradas como en el margen de la pudrición/frente de avance fúngico (m) (Figura 5, foto: d), estando ausente en la zona decolorada (de).

Eucalipto: pudrición blanca. Observaciones con MEB

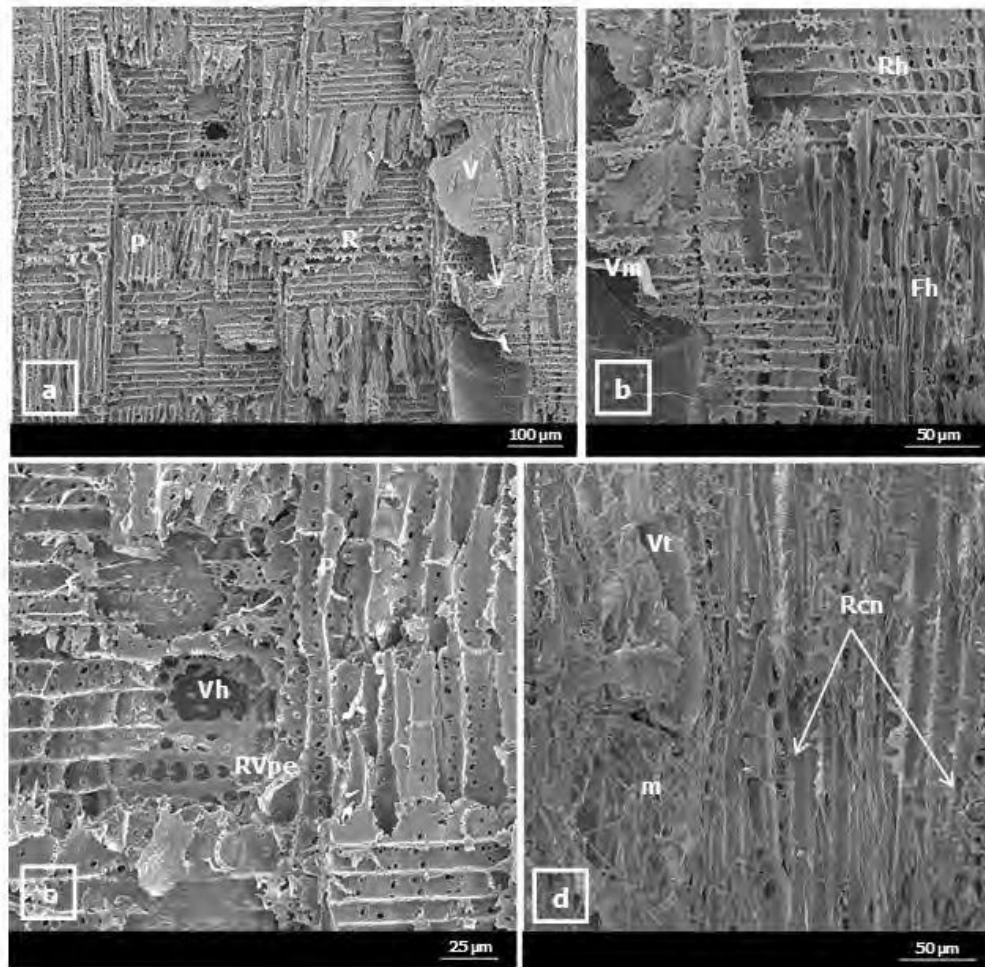


Figura 5. Fotos a - c: corte longitudinal radial (CLR); sectores con evidencias de pudrición blanca. Foto a: aspecto general corte longitudinal radial (CLR). Foto a: aspecto general. Foto b: agujeros en radio (Rh) y fibra (Fh); micelio en vaso (Vm). Foto c: agujero en vaso (Vh); erosión de punteaduras radio-vaso (RVpe). Foto d: corte longitudinal tangencial (CLT), evidencias de colonización fúngica en el margen de la madera deteriorada (m); vaso con tálides (Vt) colonizadas por micelio (m); contenidos en radios (Rcn).

DISCUSIÓN

Los síntomas descriptos para la interacción *Arambarria cognata* - *Eucalyptus globulus* identificada – tipo de pudrición y alteraciones a nivel corteza - se corresponden con lo mencionado por Martínez (2005). Dicho autor cita para Uruguay las interacciones *Arambarria cognata* (como *Inocutis jamaicensis*) - *E. globulus*, *E. maidenii* y *E. grandis* asociadas a pudrición blanca en duramen y anomalías en la corteza similares a las observadas. Respecto de estas últimas, su diferenciación en las secciones de fuste muestreadas es compatible con la identificación de ataque fúngico en la región cortical y con la presencia de basidiomas.

Entre los "heart rot fungi" como lo es *Arambarria cognata* (Rajchenberg et al., 2015; Pildaín et al., 2017), ante la falta de duramen expuesto, el avance de la degradación hacia la región cortical constituye una estrategia que permite generar vías de fructificación mediante ataques localizados a la región del cambium y corteza, los que provocan la formación de hundimientos/cancros, constituyendo también sitios de sucesivas invasiones fúngicas (Boyce, 1961; Rayner & Boddy, 1988; Schwarze et al., 2000a; Mattheck et al., 2015). Las pudriciones cancerosas o "canker rots" pueden conducir a la muerte de los hospedantes (Blanchette, 1982b). Balmelli & Resquin (2005) y Bettucci et al. (2006) (tomados de Lupo et al., 2009) mencionan la muerte de ejemplares de *E. globulus* afectados por este patógeno, con diferente grado de susceptibilidad en función del clon y la procedencia. En cuanto a la complejidad que presentó la interacción aquí estudiada – pudrición central rodeada por "islas o columnas" de madera degradada – también es compatible con la presencia de un "heart rot fungi" y la estrategia de colonización del sustrato que poseen estos hongos. Las especies pudridoras del duramen ingresan a sus hospedantes principalmente vía el duramen de ramas, sector expuesto a partir de heridas de origen natural y/o artificial, de lenta cicatrización, las que se producen frecuentemente durante el desarrollo de los ejemplares. Vía ramas, el patógeno ingresa al duramen del fuste y luego se extiende, de forma radial, hacia la albura. Alternativamente puede "escapar" de las ramas, y colonizar la albura y/o duramen más externo del fuste, no colonizado, dando origen a complejos patrones de deterioro. La colonización y degradación fúngica son compartimentalizadas, con éxito variable, en ambos tipos de tejido – barreras activas / pasivas, respectivamente -. La zona de barrera (zb o W4) sólo se forma en caso de ser atacado el cambium y su diferenciación depende en parte del vigor del ejemplar y la época del año en que ocurre la lesión (Shigo & Marx, 1977; Schwarze et al., 2000a; Deflorio et al., 2011). Quizás debido a ello no se observó en las muestras analizadas.

Barry et al. (2000), describen igual ingreso y apariencia del deterioro en ejemplares de *E. nitens* afectados por pudrición blanca.

Por su parte Blanchette (1982b) describe un patrón complejo de degradación y decoloración en ejemplares de *Betula papyrifera* infectados naturalmente por el "canker-rot fungi" *Inonotus obliquus*. Según dicho autor, los canchros producidos en los sitios de infección y fructificación del patógeno, producto del avance centrípeto de la colonización fúngica, constituyen vías de reinfección que determinan en el leño la alteración de sectores degradados y decolorados, con disposición similar a la visualizada en las muestras bajo estudio.

La presencia de líneas delgadas y oscuras y sus particularidades microscópicas son compatibles con el tipo de pudrición diagnosticado y el concepto de "zone line" (zl). Las zl son definidas como líneas delgadas, oscuras, simples o bien ramificadas, resistentes a la degradación, constituidas por hifas deformadas, muertas o esclerosadas, a veces melanizadas y por células del leño con alta cantidad de contenidos como melaninas, gomas, resinas y compuestos fenólicos. En áreas con degradación avanzada éstas retienen su estructura, tal como fue observado aquí. La diferenciación de zl es un rasgo típico de pudrición blanca, frecuentemente indicador de sitios de interacción fúngica intra o interespecífica, también vinculado con funciones de resistencia, antimicrobianas, entre otras que se les atribuyen (Zabel & Morrell, 1992; Boddy, 2000; Smith, 2001; Tudor et al., 2014; Gantz et al., 2017).

Respecto de los sectores circundantes a la madera con pudrición (m y de), la presencia de contenidos en particular abundantes en los elementos axiales del sector m - ausentes en duramen y albura sana - se corresponde con el concepto de zona de reacción (zr). La zr resulta de la respuesta activa de las células parenquimáticas de la albura a un daño o infección, mediante la generación de barreras químico-anatómicas - tálides, compuestos fenólicos, entre otros - a fin de aislar / evitar el avance del estrés o disfunción ocasionado por un daño o colonización fúngica (Shigo & Hillis, 1973; Shain, 1971; 1979; Boddy & Rayner, 1983; Bamber & Fukazawa, 1985; Pearce, 1991). Existen evidencias respecto de la diferenciación de tálides y de la biosíntesis de compuestos fenólicos en *Eucalyptus* spp relacionadas con el proceso de compartimentalización (Shortle, 1979; Mireku & Wilkes, 1988; Barry et al., 2000; Deflorio et al., 2011). Deflorio et al. (2011) describen una zr de similares características a las identificadas en m y en de, en ejemplares de *E. nitens* y *E. globulus*: tálides y/o depósitos oscuros en vasos, éstos últimos también presentes en parénquima axial, radial y traqueidas vasicéntricas, responsables del color que

adquiere el tejido en dicho sector, como también la diferenciación de venas de Kino, tal como fueron observadas.

De acuerdo con ello, distintos antecedentes avalan lo hallado durante este estudio. Las modificaciones observadas sólo podrían resultar de la reacción de la albura frente a un daño, lo cual no ocurre en el tejido muerto del duramen. La coloración intensa en el límite de la madera con evidencias de deterioro - m o frente de avance de la colonización fúngica - es compatible con la presencia de micelio y la reconocida acción de las fenoloxidasas fúngicas (Shortle, 1979).

Las características de la zr de la interacción estudiada, como escasa presencia de contenidos en fibras, evidencias de colonización fúngica y la extensión del deterioro a la región cortical, son compatibles con un proceso de compartimentalización ineficaz. Barry et al. (2000) sugieren que en *E. nitens* la zr no constituye una barrera continua y por tanto efectiva frente a un daño o colonización fúngica, debido a la ausencia de depósitos en las fibras. A iguales conclusiones arriban Baum & Schwarse (2002) en ejemplares de *Tilia platyphyllos* infectados naturalmente por otros hongos responsables de pudrición blanca. Deflorio et al. (2009) demostraron la relación existente entre la cantidad y distribución del parénquima axial y sus contenidos y la efectividad de la zr en madera de *Quercus robur*, *Acer pseudoplatanus*, *Fagus sylvatica* y *Pseudotsuga manziesii* infectadas artificialmente con hongos de pudrición blanca. En este sentido, Deflorio et al. (2011) sugieren la poca efectividad de la zr esperable en ejemplares de *E. globulus* y *E. nitens*, debido a la baja proporción y distribución irregular de las células parenquimáticas y traqueidas vivas en el tejido. Dichos rasgos anatómicos determinarían respuestas débiles al ingreso de aire o invasión fúngica, favoreciendo, en caso de infección, que dicha zr sea superada por hongos muy invasivos, como parece serlo *A. cognata*.

En referencia a la zona de, en base a sus características anatómicas, este sector podría ser interpretado como una zr en formación o zona de transición, de progresiva transformación de la albura, rasgo característico del modelo dinámico de zr. Barry et al. (2000) demostraron la presencia de este modelo en *E. nitens* afectado por pudrición blanca.

Respecto de la separación entre células y el posterior colapso de paredes con total delignificación observados – si bien poco extendidos - es compatible con el curso de una pudrición blanca selectiva (PBSe) avanzada (Otjen & Blanchette, 1984b; Worrall et al., 1997; Schwarze, 2007).

La resistencia a la delignificación selectiva observada en los vasos se corresponde con sus rasgos químico-anatómicos, como fue señalado con anterioridad (Blanchette et al., 1988; Blanchette, 1995; Skyba et al., 2013; Pramod et al., 2015). La resistencia observada en las traqueidas se debe al espesor de su pared celular y al sistema difusible involucrado en los procesos de degradación selectiva de la lignina. Kim et al. (2015) y Gao et al. (2018) arriban a iguales resultados - mayor resistencia de las traqueidas - en maderas de latifoliadas expuestas a degradación por *Pycnoporus sanguineus*, responsable de PBSe.

El adelgazamiento y deformación de paredes lignificadas, las punteaduras erosionadas y los agujeros en las paredes celulares y sectores del tejido registrados en las muestras analizadas, son característicos de una pudrición blanca simultánea (PBSi) (Anagnost 1998). La identificación de áreas selectivamente delignificadas entre sectores con pudrición blanca simultánea se corresponde con el tipo de pudrición "mottled rot" (Otjen & Blanchette 1986). Estos autores como también Blanchette (1991) y Schwarze (2007), entre otros, aportan evidencias en torno a procesos de delignificación selectiva que ocurren sólo por sectores o tipos celulares de la madera, patrón de ataque frecuente en hongos capaces de degradar selectivamente a la lignina, como lo hace *A. cognata*.

La visualización de micelio en vasos y radios y la presencia de punteaduras erosionadas indican que estas serían las principales vías de colonización fúngica del leño por parte de *A. cognata* (Schwarze et al., 2000a).

Lo descripto constituye el primer antecedente respecto de las alteraciones anatómicas que provoca este patógeno en el leño de ejemplares de *E. globulus* naturalmente infectados. Se evidencia aquí la escasa habilidad de estos individuos para compartimentalizar el frente de avance de *A. cognata*, un patógeno agresivo capaz de colonizar y degradar los depósitos presentes en el tejido.

Material muestreado: madera proveniente de rama de 1er. orden de ejemplar en pie, vivo, con evidencias de deterioro en cuanto a su aspecto y consistencia; presencia de micelio.

Macroscópicamente, a ojo desnudo, y en vista transversal, la madera presentó una característica coloración castaña, excéntrica, de textura rugosa (duramen patológico=dp), consistencia corchoza a esponjosa en la proximidad de la médula y húmeda al tacto, con margen irregular, de color oscuro, el cual gradualmente se aclara hacia la corteza, de cerca a 3 mm. El deterioro progresó de modo centrífugo, alcanzando la región cortical, por sectores asociado a una depresión o cancro (Figura 1, foto: a). La zona dp se aclaró con la pérdida de humedad, no obstante, persistió más oscura que la madera sana circundante.

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en vista longitudinal, fueron identificados en el margen de la pudrición, contenidos y un gradiente cromático que permitió distinguir 3 zonas: una externa (me), clara, circundada por madera sana; una central/media (mm), oscura, en correspondencia con su mayor cantidad de depósitos; y una interna (mi) de color rosado, contigua a la madera visiblemente atacada (dp) (Figura 1, foto b). Respecto de esta última (dp), en ella se visualizó micelio en vasos y en sectores con total degradación, esto último compatible con la consistencia corchoza-esponjosa y el aspecto fibrilar del tejido (Figura 1, fotos: c, d).

Con microscopio óptico, y en los 3 planos de estudio (corte transversal, longitudinal radial y tangencial), el rasgo predominante en la madera atacada (dp) fue la delignificación selectiva del tejido, la cual se evidenció por el color verdoso de las paredes celulares (de avance centrífugo, desde el lumen), en secciones teñidas con safranina *fast-green* (Figura 2, foto: a). La degradación preferencial de la lignina se presentó con mayor extensión en las paredes de las fibras. Así, se observaron sectores de fibras con paredes totalmente delignificadas – o "white pockets" – o bien con la sola persistencia de sus ángulos intercelulares. Estas paredes se presentaron también adelgazadas y en casos extremos colapsadas, definiendo el aspecto agujereado de sectores del tejido (Figura 2, fotos: a, b). En las fibras además fueron

observados senderos de erosión en serie, formando canales de erosión (Figura 2, foto: e). Los radios, vasos y fibras del límite del anillo (leño tardío) manifestaron mayor resistencia a la delignificación; estas células permanecieron lignificadas en sectores con total delignificación de las fibras (Figura 2, fotos: b, c, d, e). En cuanto a la separación entre células, carácter típico de un proceso de delignificación selectiva, sólo fue observada en radios (Figura 2, foto: f) y en las fibras del límite del anillo anual, producto de la degradación centrípeta de la lignina – con origen en la laminilla media compuesta o Lmc –. En estadios más avanzados, las paredes del parénquima radial y las fibras aparecieron adelgazadas y luego colapsadas. También fueron visualizados sectores con paredes profundamente adelgazadas y defomadas de color rojizo, lo cual indicaría la presencia de lignina (Figura 2, foto: g), y restos de depósitos en los lúmenes de los distintos tipos celulares.

En referencia al margen de la pudrición (m), en material sin teñir también fue identificada coloración y abundancia de contenidos diferenciales entre sectores (Figura 3, foto: a – e). La mayor cantidad de depósitos se presentó en la zona media/central (mm) más oscura (Figura 3, fotos: b, d), perdiéndose gradualmente los mismos desde la zona central de pudrición hacia la albura sana (sin contenidos). La colonización fúngica sólo fue observada en la zona mm. En muestras de esta mm, y teñidas con safranina fast-green, se observó un modo de ataque similar al descrito para la madera visiblemente podrida (dp): sectores delignificados – color verde - interpuestos entre áreas con aparente degradación simultánea – color rojo - y restos de contenidos celulares (Figura 4, fotos: a - d).

Con microscopio electrónico de barrido, en cortes longitudinales radiales y tangenciales, se visualizó por sectores de las muestras degradación completa del tejido. Otros rasgos observados fueron: punteaduras erosionadas ("rounded pit erosion"); agujeros ("holes") y senderos de erosión en fibras (Figura 5, foto: b) y parénquima radial (Figura 5, fotos: c, d). El micelio se presentó en la totalidad de los tipos celulares y en áreas completamente degradadas junto con cristales (Figura 5, foto: c) y contenidos. La colonización se produjo principalmente a través de las punteaduras.

Duramen patológico en rama de *Acer negundo* L. (Arce)
Aspecto general y con lupa

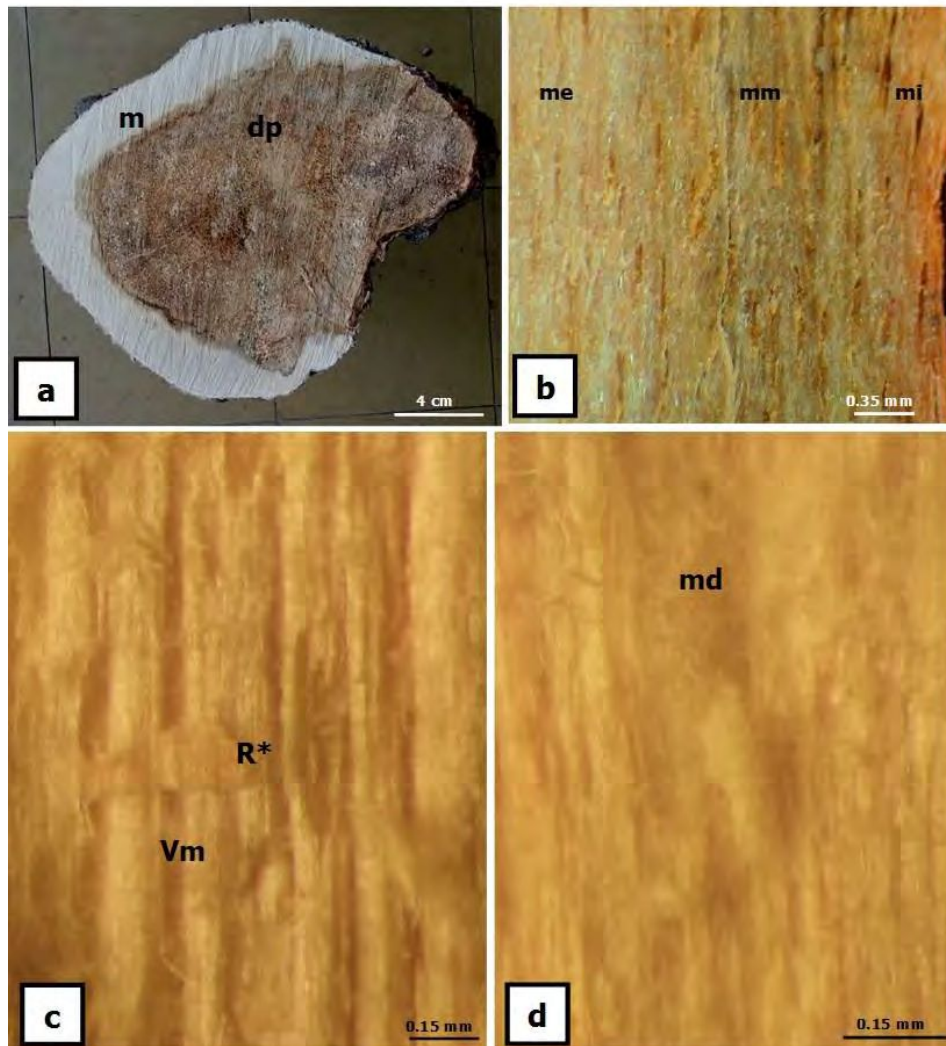


Figura 1. Fotos a - d: leño con evidencias de colonización y degradación fúngica. Foto a: vista transversal del material bajo estudio; duramen patológico (dp) y margen de la pudrición (m). Foto b: margen bajo lupa (bajo lupa (16x); nótese el gradiente cromático y distribución diferencial de contenidos entre el sector externo (me), medio (mm) e interno (mi). Fotos c, d: vista longitudinal del leño bajo lupa (16x); degradación en radios (R*); concentración de micelio en vasos (Vm) y en áreas totalmente degradadas (md).

Arce: pudrición blanca en duramen patológico. Observaciones con MO

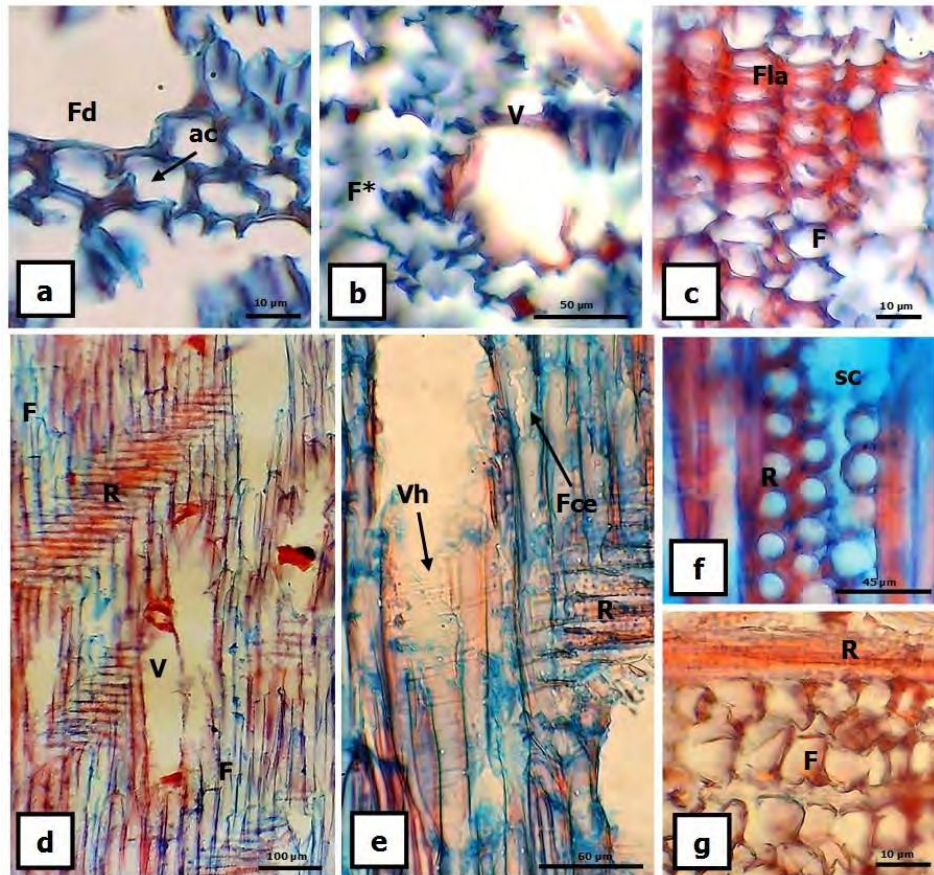


Figura 2. Fotos a - f: evidencias de delignificación selectiva. Fotos a – c: corte transversal (CT). Foto a: delignificación de avance centrífugo en fibras (F); persistencia de ángulos intercelulares (ac). Foto b: colapso de fibras (F*) delignificadas y con adelgazamiento acentuado; elemento de vaso (V) lignificado. Foto c: resistencia a la delignificación de las fibras del límite del anillo (Fla). Fotos d - e: corte longitudinal radial (CLR). Foto d: delignificación diferencial entre tipos celulares; elementos de vaso (V) y radios (R) permanecen lignificados entre fibras con delignificación total. Foto e: canal de erosión en fibra (Fce) delignificada; vaso con espesamientos helicoidales (Vh) y parénquima radial (R) lignificados. Foto f: corte longitudinal tangencial (CLT); delignificación centripeta en parénquima radial (R) y consecuente separación entre células (sc). Foto g: corte transversal (CT); fibras, adelgazamiento y colapso de paredes lignificadas.

Arce: zona de reacción en leño. Observaciones con MO

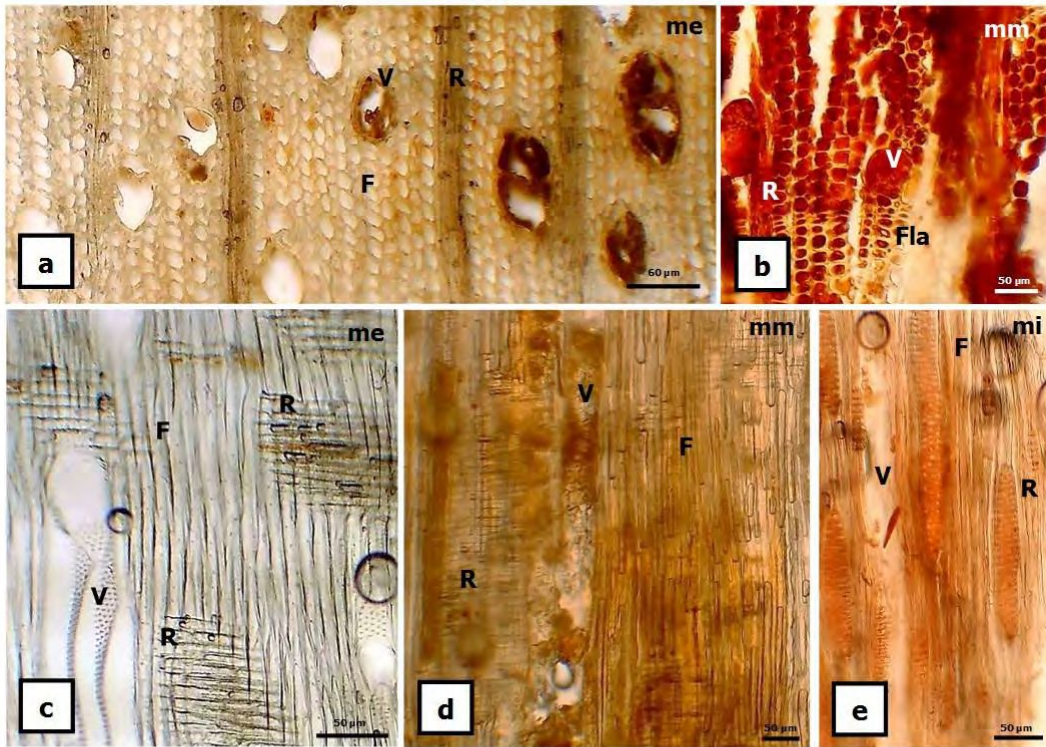


Figura 3. Fotos a - e: margen de la pudrición – zona de reacción en leño de arce; aspecto general. Fotos a, b: corte transversal (CT); margen, zona externa (me) y media (mm) identificadas; nótese la diferencia en color y cantidad de depósitos en radios (R), fibras (F) y vasos (V). Fotos c, d: corte longitudinal radial (CLR); disminución en la cantidad de depósitos desde mm hacia la región cortical (me, albura sana). Foto e: corte longitudinal tangencial (CLT); zona interna (mi) rosada con depósitos en elemento de vaso (V) y fibras (F).

Arce: pudrición blanca en zona de reacción. Observaciones con MO

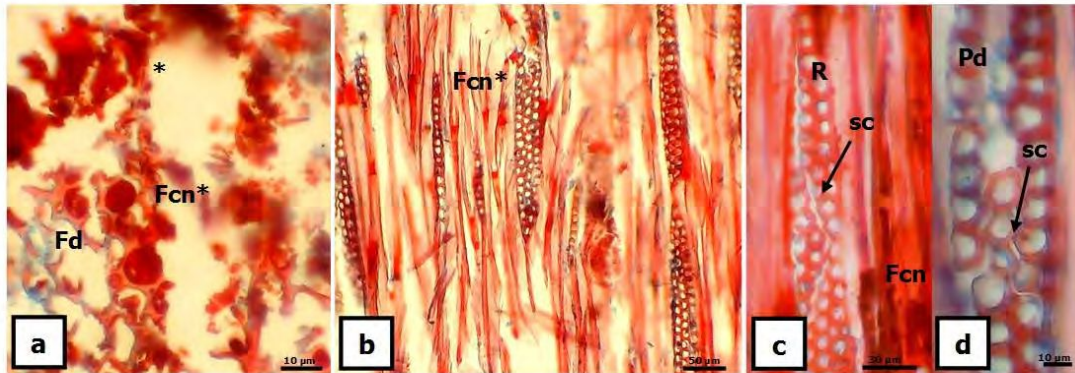


Figura 4. Fotos a - d: evidencias de pudrición blanca en zona de reacción. Foto a: corte transversal (CT); fibras con contenidos (Fcn), colapso de paredes lignificadas; delignificación selectiva en fibra (Fd); colapso generalizado por sectores del tejido (*). Foto b: corte longitudinal tangencial (CLT); fibras con contenidos (Fcn), paredes lignificadas y colapsadas; nótese el aspecto fibrilar de la muestra. Fotos c, d: corte longitudinal tangencial (CLT); radio (R), separación celular (sc) por delignificación centripeta; delignificación selectiva en parénquima radial (Pd); contenidos en fibras (Fcn).

Arce: duramen patológico. Observaciones con MEB

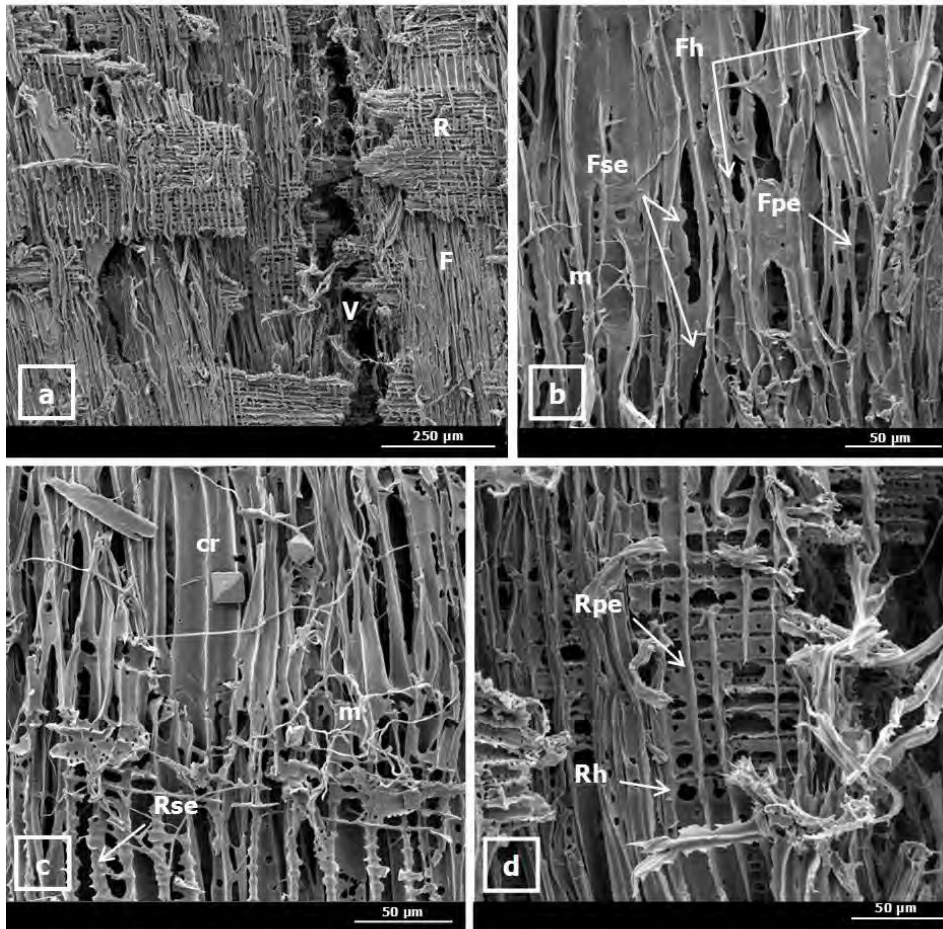


Figura 5. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca en duramen patológico; corte longitudinal radial (CLR). Foto a: aspecto general; evidencias de degradación en la totalidad de los tipos celulares: radios (R), vaso (V) y fibras (F). Foto b: punteadura erosionada (pe), agujeros (h) y senderos de erosión (se) en fibras (F). Foto c: serie de senderos de erosión en parénquima radial (Rse); micelio (m); cristales (cr). Foto d: agujero (h) y punteadura erosionada (pe) en parénquima radial (R).

DISCUSIÓN

El tipo, ubicación y la expansión del deterioro identificado en la interacción *Inonotus rickii* – arce negundo, resulta compatible con lo descripto para las combinaciones hospedante-patógeno que involucran a esta especie fúngica. A nivel mundial, *I. rickii* es reconocido como responsable de pudrición blanca de duramen – o zona del duramen – en distintas latifoliadas: *Albizia julibrissin* y *Acer negundo* (Annesi et al., 2003); *Celtis australis* (Ramos et al., 2008); *Acacia richii* (Cui et al., 2014); *Hevea brasiliensis* (Dai et al., 2010), entre otras citadas (Barnard, 1993). En los ejemplares enfermos, la pudrición frecuentemente progresa hasta la región cortical – tal como fue observado –, provoca su necrosis como también el debilitamiento y la muerte de los individuos con ataques severos al tejido fisiológicamente activo (Wright & Iaconis, 1955; Melo et al., 2002; Intini & Tello, 2003; Annessi et al., 2003; Dai et al., 2010).

La ubicación de la madera podrida en la zona del duramen, su apariencia (color más oscuro que el de la especie) y la presencia de micelio y contenidos (ausentes en la madera sana) son compatibles con el término “duramen patológico” (dp) - o falso duramen, entre otras denominaciones que recibe (Hörnfeldt et al., 2010) - descripto por Hillis (1987). Este autor define al dp como aquel que posee un contorno irregular, color alterado por la incorporación de depósitos y micelio. Este tipo de duramen comúnmente se presenta en especies arbóreas que no forman duramen regular/verdadero o duramen coloreado – como el arce - y resulta de la reacción del tejido vivo frente a una infección; su formación es estimulada en la albura por la colonización fúngica (Schwarze et al., 2000a; Luna et al., 2012). Good et al. (1955) describen un “falso duramen” en *A. saccharinum* con características similares a las observadas en el material de estudio: presencia de depósitos oscuros, minerales y de pudrición, color anormal y porcentaje de humedad elevado.

Respecto del margen (m) del dp, su localización y particularidades anatómicas son compatibles con el concepto de zona de reacción (zr) o zona decolorada presente entre el xilema sano – xilema dañado (Shain, 1979; Schwarze et al., 1995). Shortle & Smith (1990) proponen denominar “column boundary layer” a este sector alterado, ubicado alrededor del xilema disfuncional. La zr se origina en respuesta a un daño mecánico como también a una infección – respuesta no específica – con la finalidad de limitar el avance del disturbio/disfunción en el tejido fisiológicamente activo (Shain, 1971; 1979; Pearce, 2000). Ohman (1968), en ejemplares de *A. saccharinum*, describe un tipo de pudrición central y una zr circundante semejantes a las descriptas para la

madera en estudio. Pearce & Woodward (1986) observan en ejemplares de *A. saccharinum* naturalmente infectados por *G. adspersum* una zr de características similares a las descritas tanto por la presencia, color y localización de sus contenidos como por su gradiente cromático. Baral et al. (2016) mencionan una zr en ejemplares de *A. negundo* constituida por polifenoles y depósitos oscuros en los lúmenes celulares. Shortle & Smith (1990) y Deflorio et al. (2009) describen lo mismo para maderas de *A. saccharinum* y *A. pseudoplatanus*, respectivamente, afectadas por pudrición blanca.

En la zr además, la identificación del sector externo (me), sus rasgos anatómicos y la ausencia aparente de colonización fúngica resultan compatibles con la "zr en formación o externa" (zre) y con el modelo dinámico de formación de la zr (mdzr) mencionados por Baum & Schwarze (2002) para *Tilia platyphyllos* infectada naturalmente por especies de pudrición blanca. Estos autores describen la zre como un sector carente de micelio y con depósitos en la totalidad de los tipos celulares, aunque menos abundantes y mas claros – castaño amarillentos - que los de la madera de reacción circundante, contenidos cuya cantidad disminuye gradualmente hacia la albura sana. Respecto del mdzr - hasta entonces considerado prácticamente exclusivo de las coníferas - implica la migración paulatina de la zr en la albura funcional producto del avance del frente de infección y los daños que ello ocasiona (Shain, 1967; 1971; Pearce, 1996; Barry et al., 2000). En base a ello, Baum & Schwarze (2002) consideran que la diferenciación de una zre sumado a la ausencia de zr relictos – tal como ocurrió en el material aquí analizado - constituyen evidencias del curso del mdzr, modelo que, según lo hallado, también estaría expresándose en el ejemplar de arce bajo estudio. No obstante, serían necesarias nuevas observaciones para su confirmación.

La presencia de micelio en el sector mm, su notable colapso y la ausencia de zr relictos, no sólo son compatibles con el mdzr (Baum & Schwarze, 2002) sino además con el status de hongo muy invasivo que posee *I. rickii* (Robles et al., 2014) y la conocida agresividad de especies afines: *I. dryophilus* e *I. hispidus* (Pearce, 1991; Schwarze & Fink, 1997; Schwarze et al., 2000a; Schwarze, 2001). La extensión del deterioro a la zona cortical y la menor cantidad de depósitos observada en el dp también dan cuenta de ello (Schwarze et al., 2000a). *Inonotus rickii* no fue compartimentalizado por el *A. negundo*, determinando que el leño se transforme en una gran zona de reacción colonizada por micelio - o bien en un extenso dp -.

De acuerdo con Schwarze (2001) esto acerca a la zr con la función principal de mantener la integridad hidráulica del tejido – y no con la de contrarrestar un frente de

infección - como fue sugerido por distintos autores quienes en base a ello proponen reemplazar el término degradación por disfunción en el modelo CODIT (Boddy & Rayner, 1983; Rayner & Boddy, 1988; Deflorio et al., 2009).

El grado de efectividad de la zr frente a la colonización fúngica – o grado en que un hongo pueda ser compartimentalizado - depende, entre otros, de la habilidad del patógeno para superar las barreras químico-anatómicas presentes en dicha zona – capacidad para degradar gomas y/o compuestos fenólicos; utilizar un modo alternativo de ataque a la pared celular (“facultatives soft-rotters”); época del año en que ocurre la invasión del tejido – en el período de dormancia no se diferencian las zr -; del vigor, del contenido de sustancias de reserva y de las características anatómicas del hospedante - tipos de células que constituyen el tejido, abundancia y distribución, particularmente del parénquima axial - (Deflorio et al., 2009).

En referencia al tono rosado del sector interno o mi, su manifestación en la zr se corresponde con lo citado por Morse & Blanchette (2002). Según los autores, este tipo de tinción surge en respuesta a un daño, su color resulta de la oxidación de compuestos polifenólicos y se presenta con alta frecuencia en fustes, raíces (> a 5 cm diám.) y ramas (> 2.5 cm diám.) a tal punto que es utilizado para la identificación *de A. negundo*.

Lo observado en cuanto a la preferente degradación de la lignina – particularmente extendida entre las fibras -, la diferenciación de “white pockets” y la separación celular – identificada en radios y fibras de límite del anillo por delignificación centrípeta - resultan compatibles con el curso de una pudrición blanca selectiva (PBSe). En las PBSe, hemicelulosas y lignina son preferentemente atacadas. La total delignificación por sectores del tejido determina la diferenciación de “white pockets” o áreas con elevada concentración de celulosa (Blanchette, 1984a; Otjen & Blanchette, 1984; Blanchette, 1991) y separación entre células por destrucción de la laminilla media compuesta (Lmc), sector altamente lignificado. La separación celular es considerada el rasgo más significativo para el diagnóstico de este tipo de deterioro (Srebotnik & Messner, 1994; Anagnost, 1998) y está particularmente asociada al avance centrípeta de la degradación de la lignina tal como se presentó por sectores de las muestras. Robles et al. (2014) en madera de *Platanus x acerifolia* expuestas a degradación por *I. rickii*, observada con microscopio óptico, identifican separación celular poco extendida entre las fibras y frecuente en los radios y en el límite del anillo. Schwarze et al. (1995) y Baum & Schwarze (2002) describen delignificación centrípeta y consecuente separación celular en radios de *Fraxinus excelsior* y *T. platyphyllos*,

respectivamente, expuestas a degradación por *I. hispidus*. Los senderos de erosión identificados, la completa degradación de la celulosa residual y el aspecto "agujereado" del tejido también son rasgos descritos por autores como Otjen & Blanchette (1984; 1986); Anagnost (1998) y Schwarze (2007) para este tipo de pudrición blanca.

La resistencia a la delignificación observada en los vasos, fibras del límite del anillo, ángulos intercelulares y radios es compatible con sus rasgos químicos y/o anatómicos, según fue descrito en interacciones previas. Robles et al. (2014) también mencionan la resistencia de los radios en *P. x acerofolia* expuesta a este patógeno.

El adelgazamiento de paredes lignificadas, los senderos de erosión presentes en ellas como también las punteaduras erosionadas y los agujeros observados resultan compatibles con el curso de una pudrición blanca simultánea (PBSi). Anagnost (1998) considera a dichas alteraciones estructurales como caracteres para el diagnóstico de este tipo de deterioro, el cual fue desarrollado en interacciones previas (Schwarze et al., 1997; Anagnost, 1998; Schwarze, 2004; Schwarze, 2007).

La identificación de áreas con PBSe entre sectores con PBSi se corresponde con el concepto "mottled rot" o pudrición moteada definida por Otjen & Blanchette (1986), abordado en apartados previos. Según se indicó, este tipo de deterioro es frecuente entre hongos capaces de causar selectiva delignificación como lo hace *I. rickii* y distintos integrantes del género *Inonotus* (Otjen & Blanchette, 1982; Blanchette, 1984a; Robles et al., 2014).

Respecto del micelio presente en los vasos, y de la presencia de punteaduras erosionadas se corresponden con su rol de principales vías de colonización fúngica de la madera en sentido longitudinal, radial y tangencial, respectivamente (Schwarze, 2007).

A la fecha, los resultados obtenidos constituyen los primeros antecedentes respecto de la identificación y caracterización a nivel microscópico del duramen patológico en *A. negundo* naturalmente infectado por *I. rickii*; la notable agresividad que posee el patógeno en ejemplares en pie, vivos; el modo en que este patógeno supera las barreras diferenciadas por el hospedante aporta indicios acerca del modelo que rige la diferenciación de la zr en el tejido vivo del arce negundo, modelo a la fecha considerado dinámico el cual resulta compatible con la agresividad manifestada por la cepa fúngica.

Phellinus pomaceus (Pers.) Maire

Prunus cerasifera var. *pissardii* (Carrière) Koehne

Material muestreado: rama muerta, proveniente de ejemplar en pie, vivo, debilitado; de 3 cm de diámetro aprox.; con evidencias de pudrición definidas por el color blanquecino de la madera, su textura rugosa, la consistencia corchosa del tejido y la presencia de basidiocarpos; zona decolorada asociada a herida (Figura 1, fotos: a - d).

Macroscópicamente, a ojo desnudo y en vista transversal, el material presentó un sector castaño rojizo intenso asociado a una herida en corteza – zona de reacción - dispuesto excéntricamente, con desarrollo centrípeto, de textura suave, consistencia rígida y límite definido irregularmente. Circundante a este sector, se identificó madera notablemente blanquecina, de consistencia corchosa hacia la zona cortical de la rama. Por sectores, la destrucción en esta zona, incluyendo la zona cambial, fue evidente (Figura 1, foto: c). La zona de reacción desapareció progresivamente en sentido axial - de modo acrópeto - lo mismo que en sentido radial (Figura 1, foto: d).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa se identificó, tanto en vista transversal como longitudinal, la presencia de depósitos gomosos de color castaño rojizo oscuro, predominantemente en los vasos de la zona de reacción. Además, fue notable el cambio de color del material - de castaño rojizo a blanco -, en correspondencia con la disminución relativa de los contenidos - particularmente notable bajo microscopio óptico - (Figura 1, fotos: e - i), la mayor cantidad de micelio y la intensificación de la consistencia corchosa al presionar las muestras entre los dedos.

Con microscopio óptico, el rasgo saliente en preparados del sector blanquecino teñidos con safranina *fast-green*, fue la delignificación selectiva diferencial entre tipos celulares, si bien ésta se presentó con baja frecuencia. Esta característica fue identificada en las paredes de las fibras y del parénquima axial – tonalidad verdosa - (Figura 2, fotos: a, b). La delignificación progresó de modo centrífugo, desde el lumen celular, alcanzando la laminilla media compuesta (Lmc) y por último a los ángulos entre células, provocando la separación de las mismas (Figura 2, foto: b). Culminada la completa delignificación, el ataque a la celulosa residual originó zonas totalmente colapsadas y con abundante micelio (Figura 2, fotos: a, b). Interpuestos entre estas áreas con selectiva delignificación, sectores con vasos, parénquima y fibras con

paredes lignificadas – tonalidades rojizas - fueron también observados (Figura 2, fotos: a – d). En dichas zonas, el adelgazamiento, la deformación y en casos extremos el colapso de paredes lignificadas fue particularmente acentuado en fibras, parénquima axial y vasos sin contenidos (Figura 3, fotos: a, c). En los últimos estadios de degradación, sólo persistieron ángulos celulares entremezclados con micelio fúngico. En esta etapa la madera adquirió aspecto agujereado (Figura 3, fotos: b, d). El rol de los vasos como vía principal de colonización fúngica fue evidente (Figura 2, foto: d), incluso en aquellos con contenidos, depósitos también presentes en los radios.

Pudrición blanca en *Prunus ceracifera* (Ciruelo de jardín)
Aspecto general y con lupa

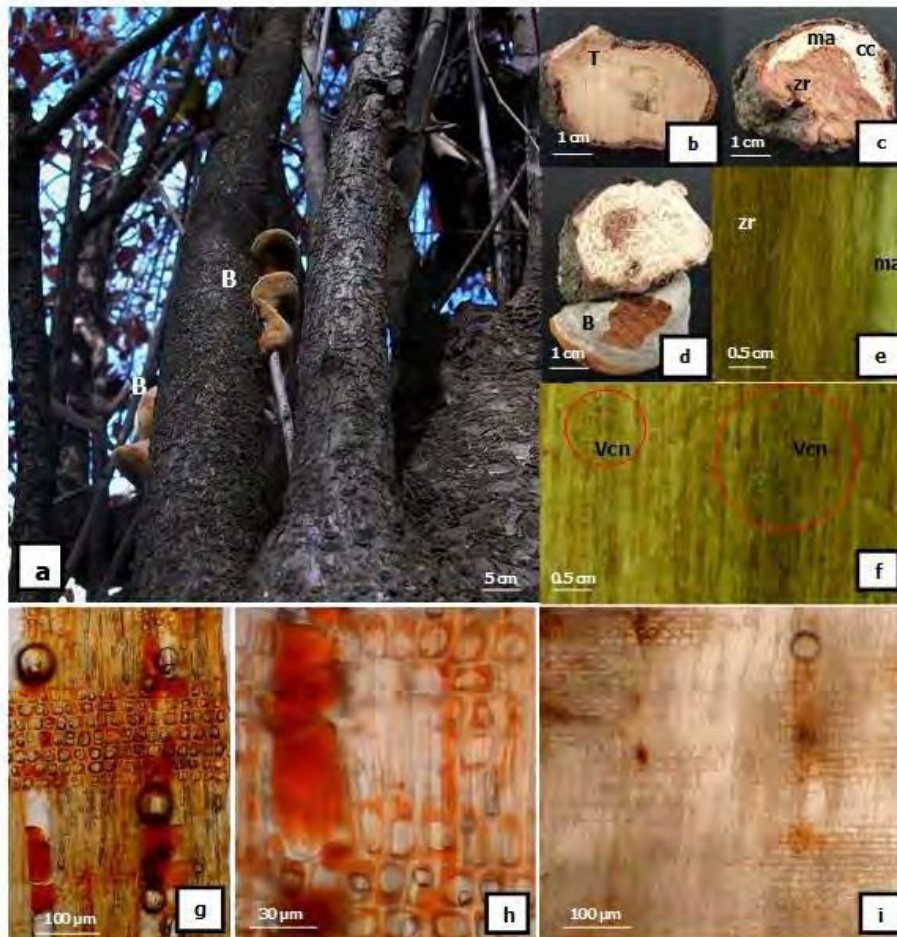


Figura 1. Fotos a - f: pudrición blanca en rama de ciruelo de jardín. Foto a: basidiomas (B) de *P. pomaceus* (signos) asociados a ramas. Fotos b - d: secciones transversales de la madera bajo estudio. Foto b: madera testigo (T). Foto c: zona de reacción (zr), madera con evidencias de deterioro (ma) y colapso a nivel cortical (cc). Foto d: basidioma (B) asociado a madera atacada. Fotos e - f: sección longitudinal de la madera bajo lupa (16x). Foto e: cambio de color, de avance centrifugo. Foto f: contenidos en vasos (Vcn) pertenecientes a los sectores identificados. Nótese, entre zonas, el cambio de color y concentración de los contenidos, también notable con microscopio óptico (MO), fotos g - i. Fotos g - i: corte longitudinal radial (CLR) con MO. Fotos g - h: zona de reacción (zr), aspecto general y detalle. Foto i: madera con evidencias de deterioro.

Ciruelo: sector blanquecino. Observaciones con MO

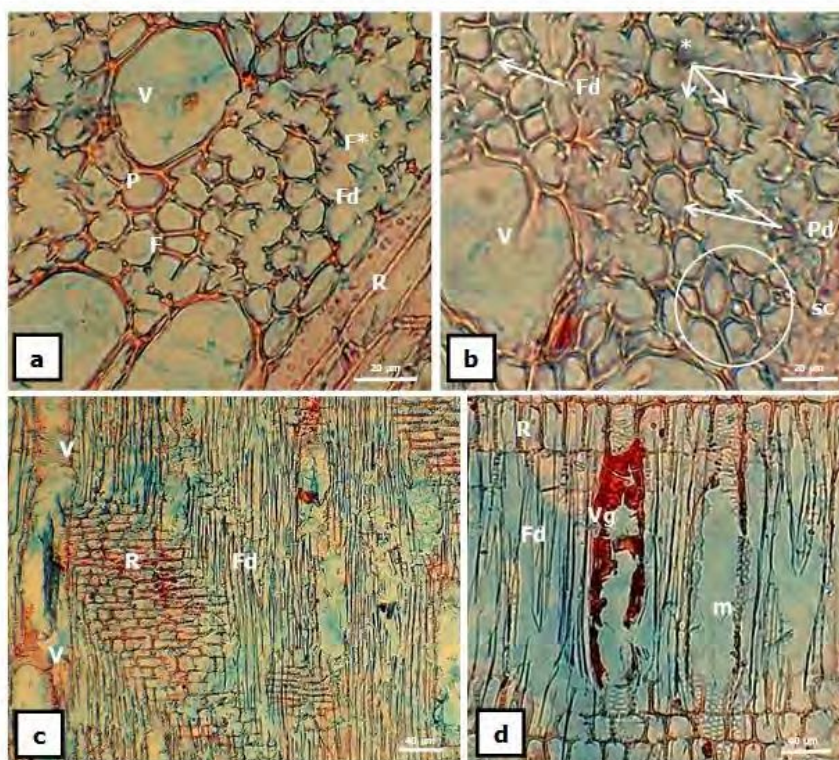


Figura 2. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - b: corte transversal (CT). Foto a: colapso y delignificación diferencial entre tipos celulares: vaso (V); fibra (F); parénquima axial (P); radio (R); fibras, colapso acentuado (F*); delignificación centrifuga en fibras (Fd). Foto b: vaso (V), deformado, lignificado; delignificación en parénquima axial (Pd) y fibras (Fd); adelgazamiento y deformación de paredes celulares delignificadas (*); separación celular (sc). Fotos c y d: corte longitudinal radial (CLR). Foto c: vista general; delignificación total en fibras (Fd); radio (R) y vaso (V) permanecen lignificados. Foto d: detalle; delignificación en fibras (Fd) y degradación de la celulosa residual; contenido gomoso en vaso (Vg); radio (R), permanece lignificado; micelio (m) en vaso.

Cinuelo: sector blanquecino. Observaciones con MO

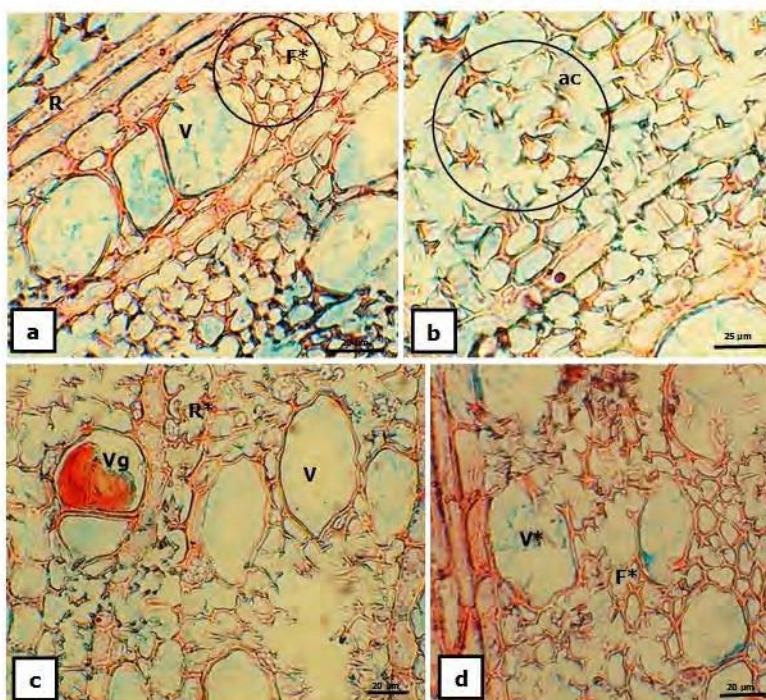


Figura 3. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca, en corte transversal (CT). Foto a: vasos (V), radio (R) y fibras (F), lignificados; adelgazamiento, deformación y colapso parcial de la pared de los vasos; colapso de fibras lignificadas (F*). Foto b: persistencia de ángulos intercelulares (ac) en áreas con degradación avanzada. Fotos c: colapso en radio (R*) lignificado; adelgazamiento y deformación pronunciada en vasos carentes de contenidos; vasos con contenidos (Vg) conservan su estructura. Foto d: colapso acentuado en fibras (F*) y vasos (V*) lignificados.

Con microscopio electrónico de barrido los sectores identificados - zona reacción y madera blanquecina - presentaron las mismas alteraciones estructurales (Figuras 4 a 6). Según lo esperado, se evidenció un colapso más pronunciado del tejido en las áreas blancas, en correspondencia con la mayor colonización fúngica, la notable disminución de los contenidos y la consistencia corchosa descrita (Figuras 5, 6). En sección transversal y por sectores de las muestras, ambas zonas evidenciaron que los elementos de vasos, incluso aquellos vasos con contenidos, predominantes en la zona de reacción, constituyeron la principal vía de colonización del leño (Figura 5, foto: a). En corte longitudinal radial, se evidenció que la colonización y degradación alcanzó a la totalidad de los tipos celulares. Los vasos, fibras, parénquima axial y radial presentaron punteaduras erosionadas, agujeros y senderos de erosión (Figura 4, fotos: b, d; Figura 5, foto: c). Entre células, el avance del micelio ocurrió particularmente a través de las punteaduras (Figura 5, foto: d). Áreas con avanzada degradación (Figura 6) – si bien poco frecuentes - se caracterizaron por su alta concentración de micelio y

el pronunciado colapso de vasos, fibras y parénquima, causando en la madera un característico aspecto fibrilar (Figura 6, fotos: a - d).

Cinuelo: zona de reacción-falso duramen. Observaciones con MEB

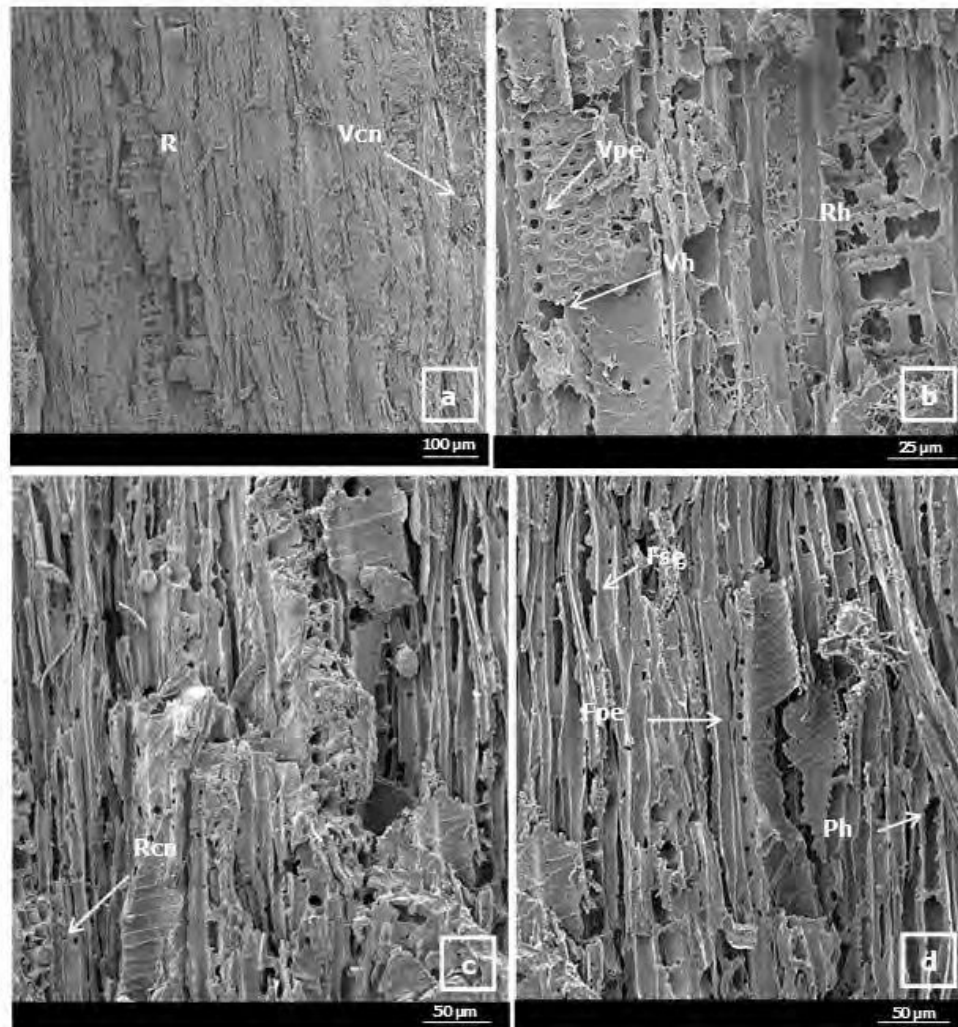


Figura 4. Fotos a - d: muestras de leño pertenecientes a zona de reacción (sector castaño rojizo). Fotos a, b: corte longitudinal radial (CLR). Foto a: aspecto general; radio (R); vaso con contenidos (Vcn). Foto b: punteadura erosionada en vaso (Vpe); agujero en vaso (Vh) y radio (Rh). Fotos c, d: corte longitudinal tangencial (CLT). Foto c: radio con contenidos (Rcn). Foto d: fibras, punteadura erosionada (Fpe) y sendero de erosión (Fse); agujero en parénquima axial (Ph).

Ciruelo: sector blanquecino. Observaciones con MEB

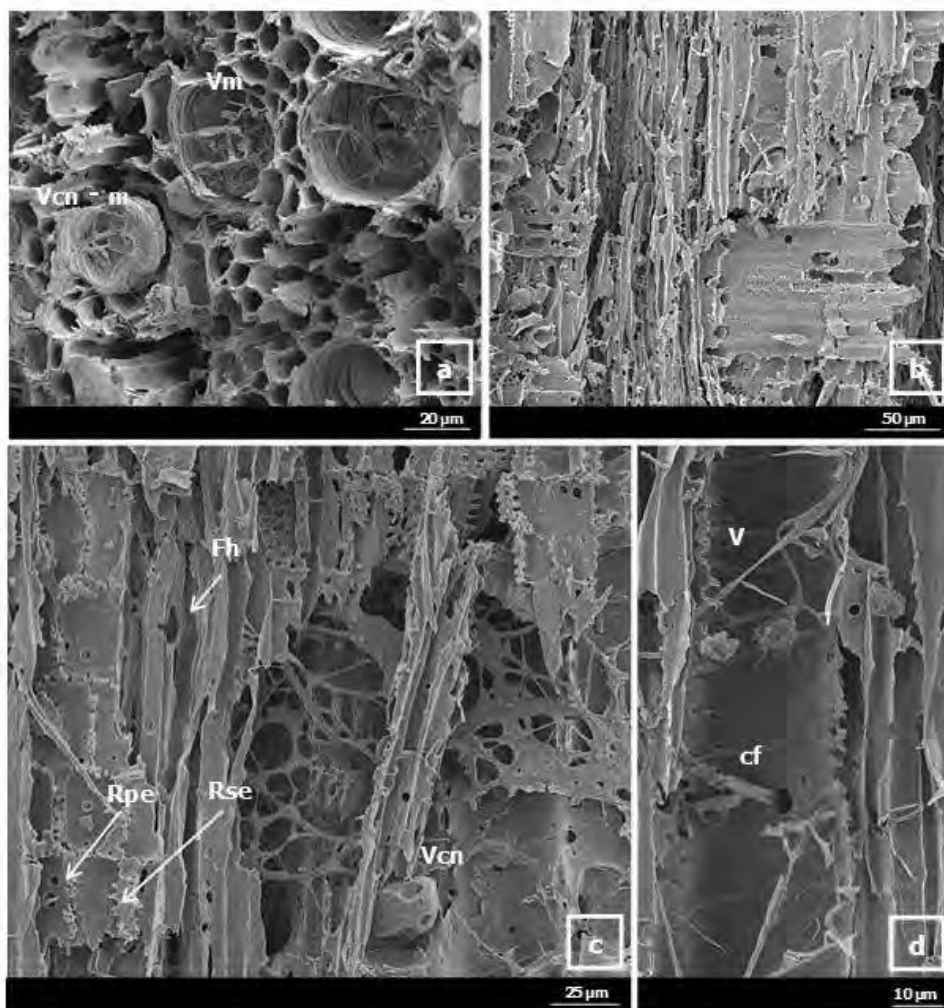


Figura 5. Fotos a - d: sector blanquecino; leño con evidencias de pudrición blanca. Foto a: corte transversal (CT); vaso con contenido colonizado por micelio fúngico (Vcn-m). Fotos b, d: corte longitudinal radial (CLR). Foto b: colapso de la pared de las células del leño; ausencia de contenidos; aspecto general. Foto c: agujero en fibra (Fh); parénquima radial, sendero de erosión (Rse) y punteadura erosionada (Fpe); vaso con resto de contenido (Vcn). Foto d: colonización fúngica (cf) a través de la punteadura erosionada de un vaso (V).

Ciruelo: sector blanquecino, pudrición avanzada. Observaciones con MEB

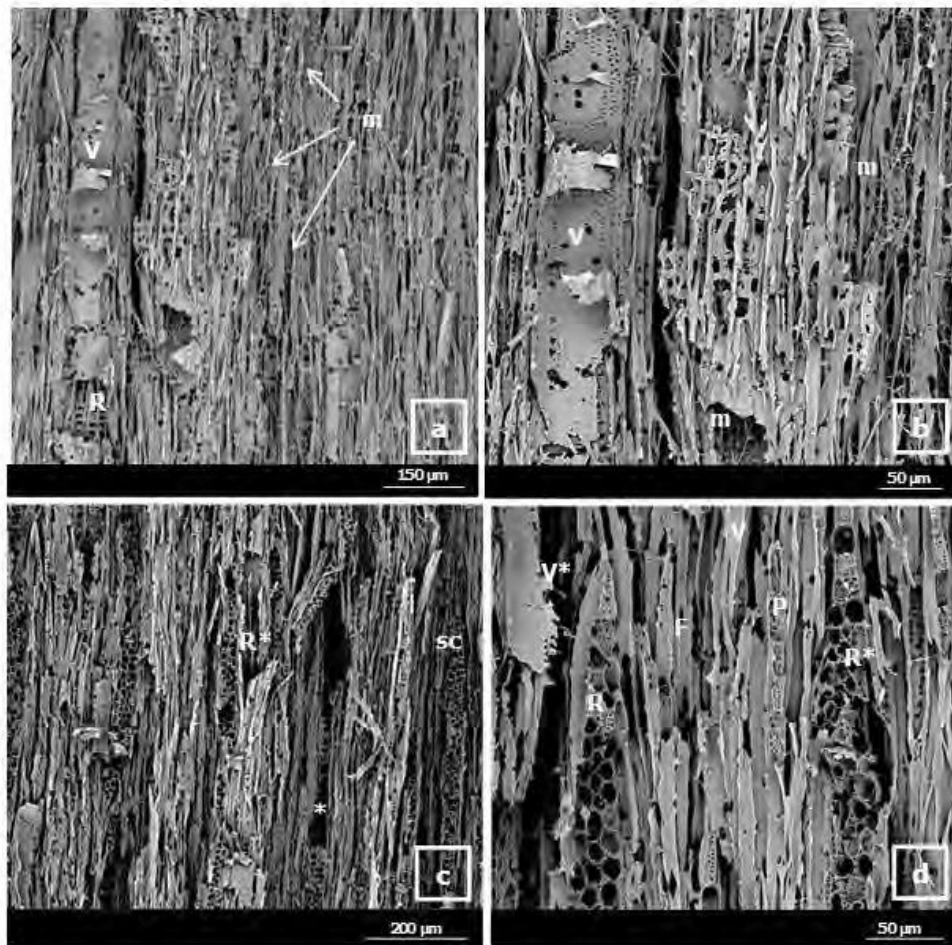


Figura 6. Fotos a - d: leño, sector blanquecino con evidencias de pudrición blanca avanzada. Fotos a, b: corte longitudinal radial (CLR), aspecto general y detalle, respectivamente; nótese el colapso pronunciado del tejido, la ausencia de contenidos en vasos (V) y radios (R) y la colonización fúngica (m) en sectores totalmente degradados. Fotos c, d: corte longitudinal tangencial (CLT); aspecto general y detalle, respectivamente. Foto c: colapso pronunciado en radios (R*) hasta su total degradación (*); separación celular (sc) y consecuente aspecto fibrilar del tejido. Foto d: ausencia de contenidos y colapso en vaso (V*); radios (R), ausencia de contenidos; adelgazamiento de la pared celular, colapso generalizado y separación celular (R*); evidencias de degradación en la pared de las fibras (F) y parénquima axial (P); separación celular entre fibras (F); aspecto fibrilar.

DISCUSIÓN

La interacción analizada, *Phellinus pomaceus* - *Prunus ceracifera*, y sus características - tipo y ubicación del deterioro en el ejemplar- resultan compatibles con los antecedentes registrados, tanto a nivel mundial como en nuestro país. *Phellinus pomaceus* es reconocido por causar pudrición blanca en fuste y copa - o "top-rot" - en ejemplares de la familia Rosaceae, particularmente *Prunus* spp (Rayner & Boddy, 1988; Karadelev et al., 2008; Urcelay et al., 2012). Si bien *P. pomaceus* es considerado "heart rot fungus", su presencia en albura se corresponde con lo mencionado para esta y otras especies de este género fúngico. Rayner & Boddy (1988) y Mattheck et al. (2015) mencionan que, en ausencia de duramen expuesto, *Phellinus* spp. puede colonizar la albura al momento de originar los basidiomas. Bajo estas circunstancias, es clave el desarrollo de una densa mata micelial que destruya el tejido del huésped – esencial para el desarrollo de patogénesis activa - para luego producir ataques localizados en la región cambial, degradar la corteza de modo centrífugo y de este modo generar vías de fructificación. El ataque al tejido fisiológicamente activo puede conducir a la muerte de la rama – tal como se presentó - o del ejemplar atacado. Schwarze et al. (2000a) atribuyen la presencia de necrosis y de hundimientos corticales asociados a basidiomas, a la extensión de las pudriciones hasta la zona cambial, tal como fue observado aquí.

La demarcación de una zona coloreada próxima a una herida concuerda con el concepto de zona de reacción (zr) o madera de herida - "wound wood" - y con la capacidad de *Prunus* spp. de responder a un daño. Como ya se comentó, la zr resulta de la reacción de la albura a un daño, por ejemplo, mediante la acumulación de extraíbles (Shigo & Hillis, 1973; Boddy & Rayner, 1983; Bamber & Fukazawa, 1985). *Prunus* spp. generan gomas en respuesta a una lesión como también en ejemplares moribundos (Hillis, 1987). Debido a la similitud de la zr con el duramen, autores como Hillis (1987) la consideran como una extensión del "duramen regular" en la albura, definiendo un "falso duramen". Rayner & Boddy (1988) mencionan en ramas de menor orden, la formación de una zona con tñides y contenidos, homóloga a la zr, a la cual denominan "heartwood wings". En correspondencia con lo expuesto, el ciruelo de jardín posee contenidos gomosos coloreados en el duramen similares a los que fueron identificados en la zr o "falso duramen". A causa de esto, la degradación progresiva de la zr evidencia la agresividad de *P. pomaceus*. Asimismo, es compatible con la estrategia "heart rot" conocida para *P. pomaceus* reflejando indirectamente su

capacidad para salvar las barreras a la colonización y degradación fúngica que presenta el duramen de *P. ceracifera*.

El color y la consistencia corchosa de la madera circundante a la zr y las características anatómicas observadas – escasas áreas con total degradación del tejido; persistencia de estructuras lignificadas - resultan compatibles con estados intermedios de pudrición blanca. De acuerdo con Zabel & Morrel (1992), en este estado de degradación el tejido presenta notables cambios en color y textura, no obstante, su estructura no está lo suficientemente alterada como para transformarlo en un material esponjoso y de aspecto fibrilar como sucede en la madera con estados avanzados de pudrición blanca. Además, la persistencia de lignina aporta rigidez (Zabel & Morrell, 1992; Blanchette, 1995; Schwarze, 2007; Daniel, 2016). La Lmc y los ángulos entre células contribuyen con la integridad del tejido e imparten resistencia a la compresión y rigidez (Schwarze et al., 2000a; Gamauf et al., 2007).

La preferente degradación de la lignina y la separación celular observada – aunque poco extendida y sólo presente en fibras y parénquima axial -, son características de pudrición blanca selectiva (PBSe). La degradación del residuo celulósico - "white pockets" o zonas con alta concentración de celulosa - también fue observada en las muestras de *Prunus ceracifera*. Esta característica es mencionada por Blanchette (1991) como rasgo frecuente en las PBSe y responsable del aspecto "agujereado" del tejido. Respecto de la resistencia de los vasos y radios a la degradación selectiva de la lignina, lo hallado coincide con sus rasgos químicos y/o anatómicos, rasgos mencionados previamente (i.e. Otjen & Blanchette, 1982; Blanchette et al., 1988; Agosín et al., 1990; Blanchette, 1995; Singh et al., 2012; Saito et al., 2012; Skyba et al., 2013; Pramod et al., 2015).

El adelgazamiento de las paredes celulares y la deformación del tejido observados, como también los senderos de erosión, agujeros, punteaduras erosionadas y la presencia de abundante micelio fúngico, son compatibles con el curso de una pudrición blanca simultánea (PBSi) (Anagnost 1998). Su origen y desarrollo se trataron previamente en este trabajo. La resistencia a la deformación y colapso identificada en los elementos de vaso con contenidos – notable respecto de lo que sucede en las fibras y el parénquima axial - se asocia al rol que ejercen dichos compuestos como barreras físicas a la colonización del sustrato, condicionando la velocidad de colonización y degradación fúngica (Schwarze et al., 1997; Schwarze, 2004; Schwarze, 2007). Si bien se registran compuestos gomosos también en el

parénquima de los radios, estas células son menos resistentes a la degradación, dadas las características químicas y estructurales ya mencionadas.

La identificación de áreas selectivamente delignificadas entre sectores con pudrición blanca simultánea define el tipo de pudrición "mottled rot" descrito por Otjen & Blanchette (1986). Luna et al. (2012) observaron este patrón moteado en madera de *Schinopsis haenkeana* infectada naturalmente por *P. chaquensis*. Según se explicó, distintos autores sostienen que las pudriciones moteadas resultan de las condiciones ambientales, de las características químico-anatómicas del sustrato y del potencial enzimático del hongo presente en la madera (Blanchette, 1984b; Dill & Kraepelin, 1986; Otejen & Blanchette, 1986; Agosín et al., 1990; Blanchette, 1991).

La presencia de micelio en vasos y la visualización de punteaduras erosionadas se corresponde con el rol de vías de colonización fúngica que ellos cumplen (Schwarze et al., 2000a).

De acuerdo con Schwarze et al., (2000a), para la madera de esta interacción, en estadios avanzados y generalizados de deterioro habría de esperarse una notable fragilidad o disminución en su resistencia a la flexión dinámica, principalmente debida a la degradación de la celulosa. No obstante, puede ser detectada cierta rigidez por la permanencia de la Lmc, rasgo que caracteriza a las PBSi en estados avanzados de deterioro, pudrición predominante en el material.

A la fecha, lo descrito constituye el primer reporte del patrón de degradación que produce *P. pomaceus* en *P. ceracifera* naturalmente infectado, y una evidencia concreta de su agresividad como patógeno por presentarse en albura degradando la zona de reacción.

Material muestreado: secciones de duramen proveniente de fuste de árbol volcado, con evidencias de pudrición en cuanto a su aspecto y consistencia. Porción del tercio superior del fuste con pérdida total del leño – ahuecamiento - en un 50% aproximadamente (Figura 1, foto: a); notable disminución del área ahuecada hacia la base (Figura 1, foto: b). Ausencia de basidiocarpos; presencia de micelio (Figura 1, fotos: c, d).

Macroscópicamente, el duramen presentó una coloración castaño rojiza (su color natural es castaño rosado según Inside Wood Database), asociado a un elevado contenido de humedad determinado al tacto (Figura 1, fotos: a, b). Se registró una textura moteada - áreas blanquecinas distribuidas azarosamente por el leño húmedo, circundante al ahuecamiento central - (Figura 1, fotos: c, d) como también consistencia corchosa – el material ofreció notable resistencia al ser presionado entre los dedos -.

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en secciones transversales y longitudinales de las muestras, se observaron depósitos oscuros en vasos, predominantemente en aquellos del leño temprano. Respecto al moteado, éste resultó de la concentración de micelio en zonas totalmente degradadas y en los vasos del leño temprano (Figura 1, fotos: e, f). Sectores con aspecto fibrilar también fueron identificados. En términos generales, en la totalidad del anillo, fue evidente la mayor resistencia al colapso de los elementos de vaso con contenidos y la de los radios (Figura 1, fotos: e, f).

Con microscopio óptico, en corte transversal, si bien fueron observadas alteraciones anatómicas en la totalidad de los tipos celulares, los más resistentes al ataque fueron los elementos de vaso de diámetro menor y con contenidos, el parénquima vasicéntrico y los radios del leño temprano (Figura 2, foto: a, b). En muestras teñidas con safranina *fast-green*, en sectores del leño temprano fue observada la delignificación selectiva en dirección centrífuga, en las paredes de las fibras y del parénquima circundante – color verdoso -, sin afectar la laminilla media compuesta (Lmc) (Figura 2, fotos: a, b). Interpuestas entre dichas áreas con preferente degradación de la lignina, además fueron identificados vasos con paredes lignificadas – color rojo -, adelgazadas y en casos extremos colapsadas (Figura 2,

fotos: a, b) como también punteaduras erosionadas y agujeros en radios (Figura 2, foto: c). Respecto del micelio, fue abundante en vasos libres de contenidos o bien escasos y en áreas con total degradación.

En cortes longitudinales radiales y tangenciales, se visualizó el colapso total por sectores del tejido el cual apareció colonizado por micelio, rasgo extendido principalmente en el leño tardío (Figura 2, foto: d; Figura 3, foto: h). En áreas menos atacadas, fueron identificados agujeros y punteaduras erosionadas en los elementos de vaso (Figura 3, foto: e), erosión también presente en el parénquima axial y las fibras (Figura 3, fotos: e, f, g). No se registró un ataque preferencial a la lignina.

Pudrición blanca moteada en *Melia azedarach* L. (Paraíso)

Aspecto general y con lupa

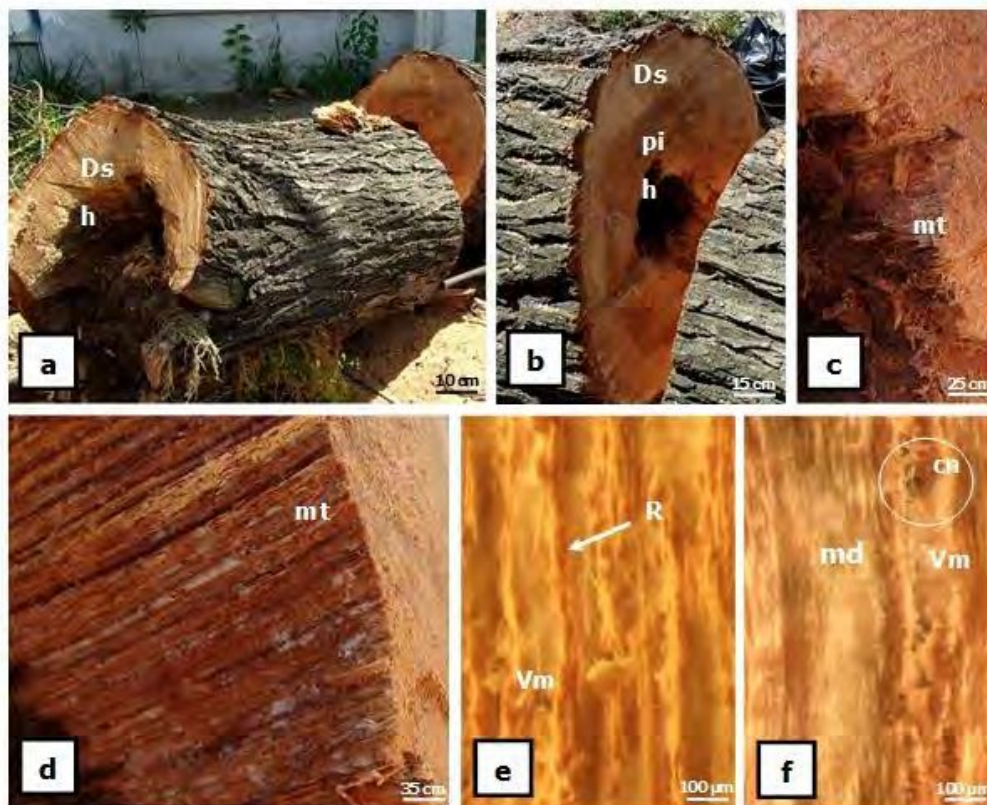


Figura 1. Fotos a - f: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a, b: ejemplar bajo estudio; duramen sano (Ds), con pudrición incipiente (pi) y ahucamiento (h). Fotos c, d: moteado por concentración miceliar; aspecto general y detalle, respectivamente. Fotos e, f: vista longitudinal del leño bajo lupa (16x). Foto e: radios (R) inalterados; concentración miceliar en vasos (Vm). Foto f: micelio (m) y contenido (cn) en vaso (V); micelio en áreas totalmente degradadas (md).

Con microscopio electrónico de barrido, en corte longitudinal radial, también fue observada la mayor resistencia a la destrucción de los elementos de vaso y radios, en particular los del leño temprano (Figura 4, fotos: a, b). Además, el tejido se caracterizó por presentar mayor concentración de micelio en áreas con total degradación y en los

vasos carentes de depósitos del leño temprano como también punteaduras erosionadas, agujeros y senderos de erosión en vasos, fibras y células parenquimáticas (Figura 4, fotos: a, c - e).

Paraíso: pudrición blanca moteada. Observaciones con MO

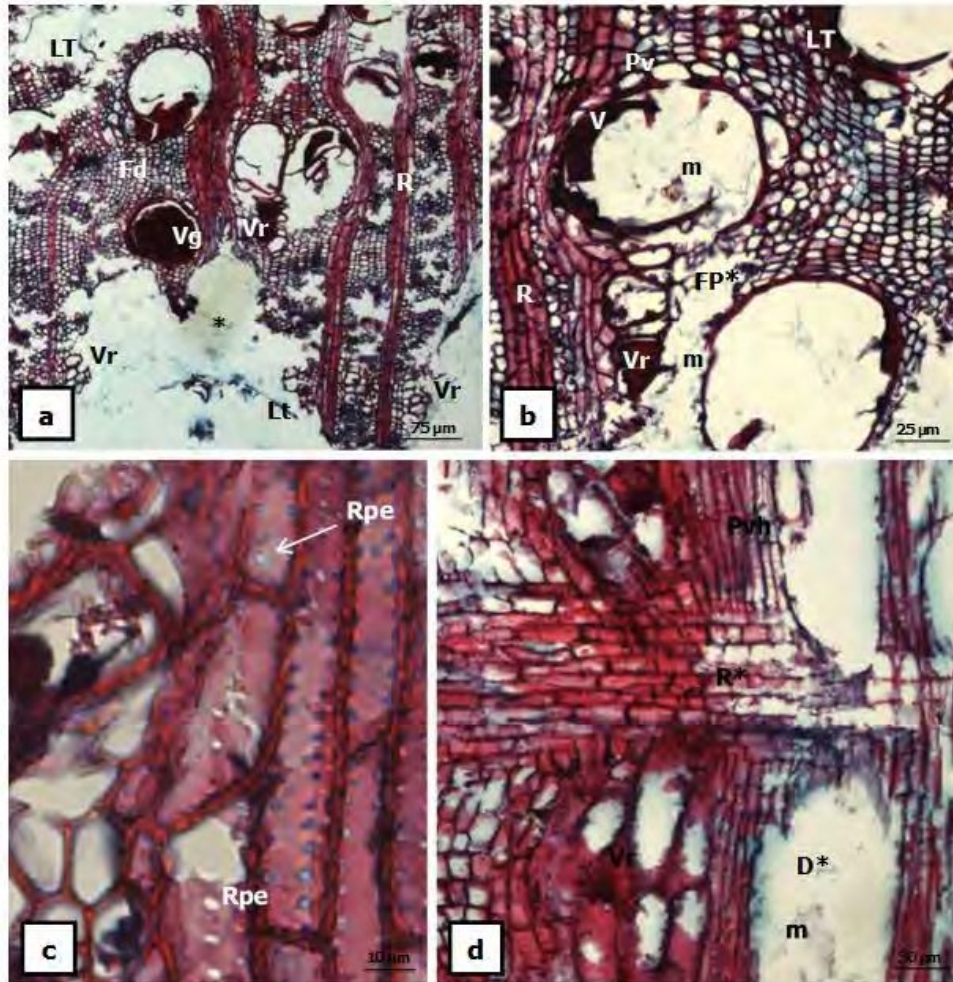


Figura 2. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: colapso diferencial entre leño temprano (LT) y tardío (Lt), acentuado (*) en Lt; delignificación diferencial entre tipos celulares; vasos (V) y radios (R) lignificados aun en zonas con total degradación (*); vasos, contenidos gomosos (Vg); vasos del Lt libres de contenidos, agrupados (Vr); fibras, delignificación (Fd); vista general. Foto b: detalle lignificación en radios (R); parénquima vasicéntrico (Pv) y vasos (V) del LT; degradación total de fibras y parénquima circundante (FP*); micelio (m) en vasos y áreas totalmente degradadas. Foto c: radio, punteaduras erosionadas (Rpe). Foto d: corte longitudinal radial (CLR); áreas del leño totalmente degradadas (D*), colonizadas por micelio (m); degradación de radios (R*); agujeros en parénquima vasicéntrico (Ph); vasos (Vr), parénquima vasicéntrico (Pv) y radios (R) conservan lignificación.

Paraíso: pudrición blanca moteada. Observaciones con MO

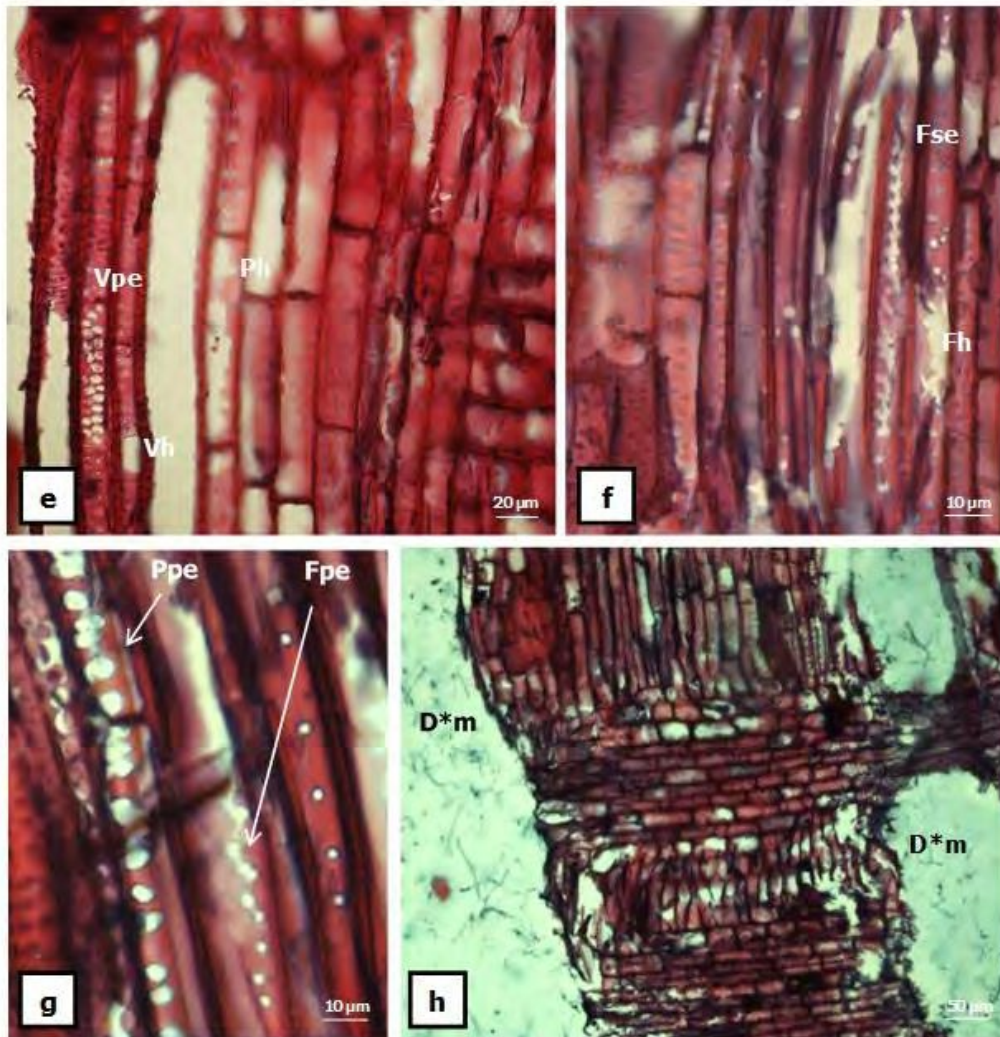


Figura 3. Fotos e - h: cortes longitudinales radiales (CLR). Foto e: vasos, punteaduras erosionadas (Vpe) y agujeros (Vh); agujeros en parénquima axial (Ph). Foto f: fibras, senderos de erosión (Pse; U-shaped otches) y agujeros (Fh). Foto g: punteaduras erosionadas en parénquima axial (Ppe); coalescencia de punteaduras erosionadas en fibras (Fpe). Foto h: degradación total del tejido (D*); colonización fúngica en áreas degradadas (m).

Paraíso: pudrición blanca moteada. Observaciones con MEB

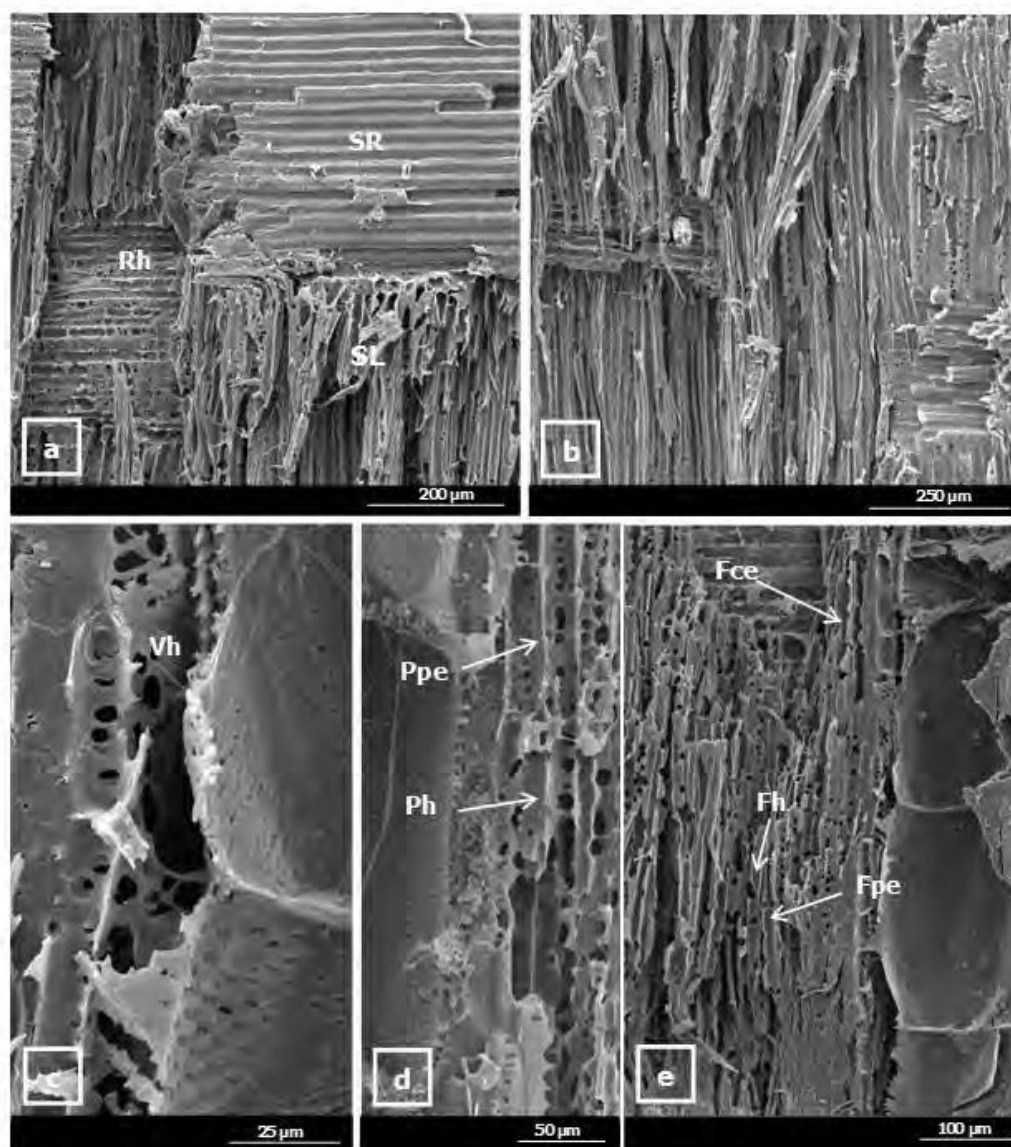


Figura 4. Fotos a - e: cortes longitudinales radiales (CLR) de leño con evidencias de pudrición blanca. Foto a: destrucción diferencial entre células del sistema radial (SR) y longitudinal (SL), aspecto general; agujeros en parénquima radial (Rh). Foto b: leño, estructura fibrilar. Foto c: agujeros en elemento de vaso (Vh). Foto d: parénquima axial, punteaduras erosionadas (Ppe) y agujeros (Ph). Foto e: punteaduras erosionadas en fibras (Fpe); canal de erosión (Fce) y agujeros (Fh).

Esta interacción también fue encontrada en rama de primer orden de otro ejemplar de paraíso (Figura 5, fotos: a, b). En esta instancia, a nivel macroscópico, la madera presentó un estado de pudrición más avanzado respecto de la pudrición moteada descrita: color blanquecino generalizado, apariencia fibrilar y consistencia esponjosa circundante a un sector central, ahuecado (Figura 5, fotos: a, b). Con lupa se determinó que el aspecto fibrilar estaba dado por la persistencia de vasos con contenidos. En sectores con pudrición menos avanzada junto a los vasos fueron visualizados radios; vasos y radios determinaron en el leño una estructura/entramado característico (Figura 5, fotos: c - e).

Pudrición blanca fibrilar en rama de *Melia azedarach* L. (Paraíso)
Aspecto general y con lupa

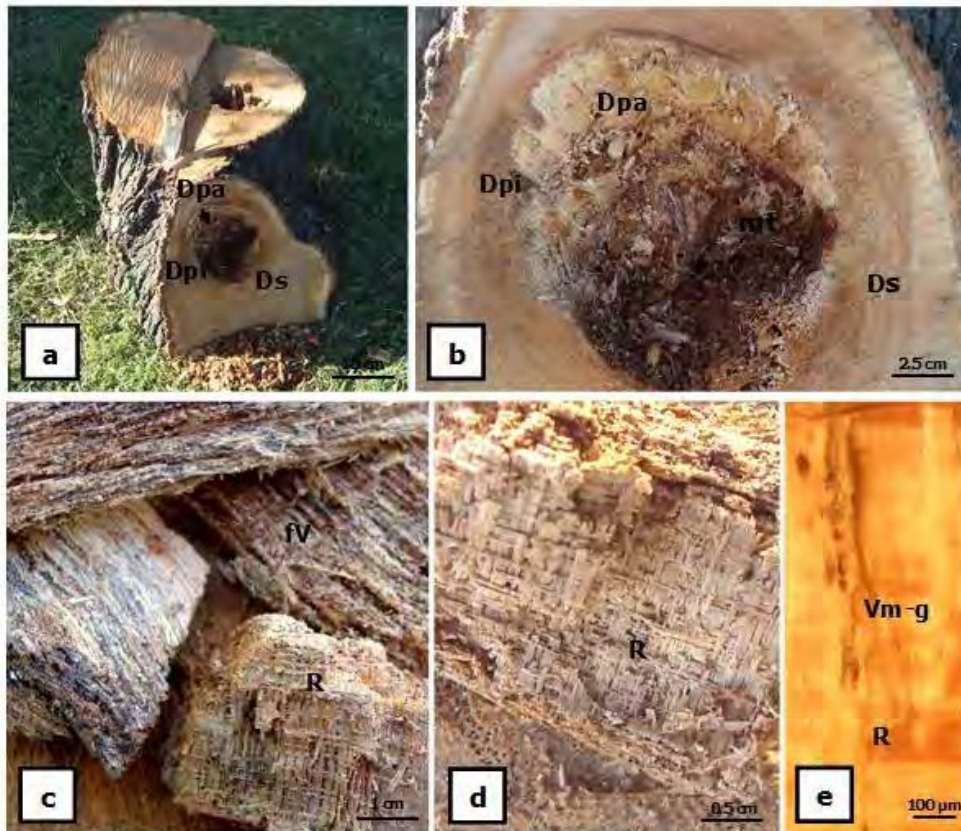


Figura 5. Fotos a - e: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a, b: duramen sano (Ds), con pudrición incipiente (pi) y avanzada (pa), aspecto general y detalle, respectivamente. Fotos c: aspecto fibrilar por persistencia de vasos (fv); entramado resultante de la persistencia de los radios (R). Foto d: resistencia de los radios (R) a la degradación, detalle a nivel macroscópico. Foto e: vista longitudinal bajo lupa (16x): vaso (v) con contenido gomoso (g) y micelio (m) y radios (R), ambos inalterados.

Estudios a nivel microscópico

En términos generales, con microscopio óptico y electrónico, en el material correspondiente a la rama se visualizó una mayor destrucción del tejido. En corte transversal y longitudinal radial, los elementos de vaso con contenidos, el parénquima vasicéntrico y radios resultaron los más resistentes al colapso y a la delignificación selectiva, principalmente por zonas del leño temprano (Figura 6, fotos: a – d, f). De acuerdo con esto, con microscopio óptico, la preferente degradación de la lignina de modo centrífugo se presentó en las fibras y el parénquima circundante, en esta instancia comprometiendo a la Lmc, con la consecuente separación entre células y posterior ataque a celulosa residual (Figura 6, fotos: b, c, e).

Con microscopio electrónico de barrido, fueron observados los mismos rasgos que en las muestras de fuste con estadios intermedios de deterioro: punteaduras erosionadas, agujeros, senderos de erosión y adelgazamiento de paredes celulares. (Figura 7, fotos: a – d).

Paraíso: pudrición blanca fibrilar en rama. Observaciones con MO

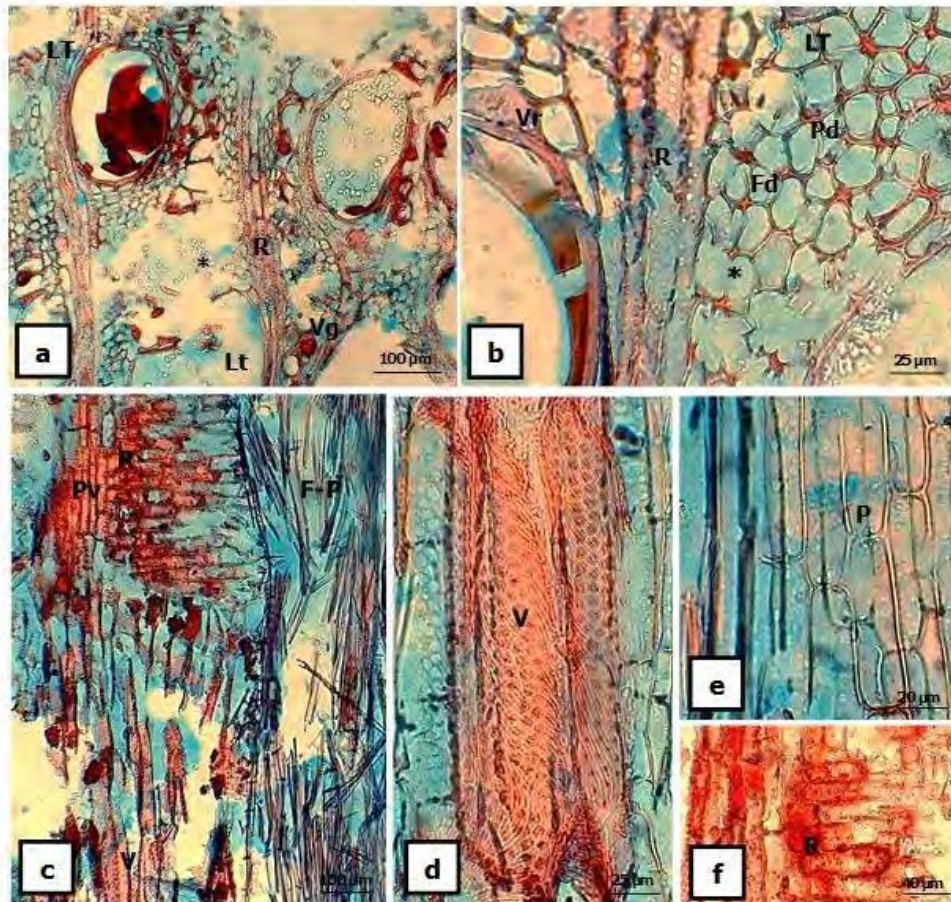


Figura 6. Fotos a - f: leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a - b: corte transversal (CT). Foto a: colapso diferencial entre leño temprano (LT) y tardío (Lt); delignificación diferencial entre tipos celulares; colapso (*) acentuado en la madera tardía (Lt); aspecto general. Foto b: lignificación en vasos en racimo (Vr) y radios (R); delignificación centrifuga en fibras (Fd) y parénquima axial (Pd); degradación de la celulosa residual y persistencia de ángulos intercelulares (*). Fotos c -f: corte longitudinal radial (CLR). Foto c: persistencia de la lignina en vasos (V), radio (R) y parénquima vasicéntrico (Pv); delignificación completa en fibras (F) y parénquima (P) circundante y aspecto fibrilar; vista general. Foto d: detalle de vasos (V) agrupados con espesamientos helicoidales y lignificados. Foto e: delignificación en parénquima axial (P); detalle. Foto f: radios xilemáticos (R) conservan la lignina aún en áreas con intenso colapso; detalle.

Paraíso: pudrición blanca fibrilar en rama. Observaciones bajo MEB

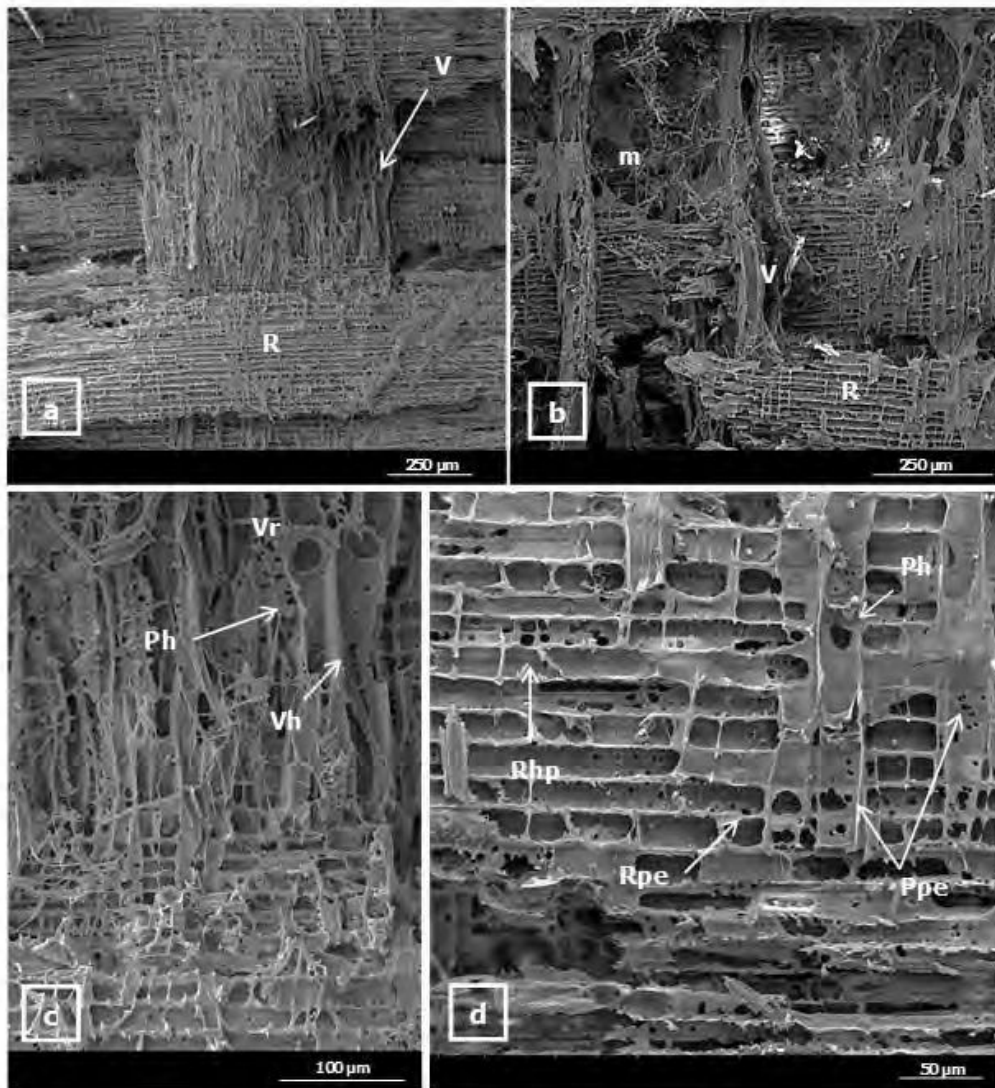


Figura 7. Fotos a - d: cortes radiales (CLR) de leño con evidencias de pudrición blanca. Fotos a, b: resistencia diferencial de los vasos y radios a la degradación, aspecto general y detalle, respectivamente. Foto c: vasos agrupados (Vr) sin contenidos, con agujeros (Vh); agujeros en parénquima vacicéntrico (Ph). Foto d: parénquima axial (P) y radial (R) con punteaduras erosionadas (pe) y agujeros (h).

DISCUSIÓN

La interacción *Phlebia brevispora* con ejemplares vivos y su estrategia “heart rot fungi” concuerda con lo mencionado por Kubayashi & Maekawa (2001) y Suhara et al. (2002). Dichos autores aportan el primer registro de su presencia en individuos vivos, en dicha oportunidad en ejemplares de *Chamaecyparis obtusa* (Sieb. et Zucc.) Endl. “ciprés japonés” causando pudrición blanca de duramen. Hasta entonces *P. brevispora* sólo era reconocida como saprótrofa, responsable de pudrición en postes de madera de angiospermas y gimnospermas (Nakasone & Eslyn, 1981). Asimismo, mencionan a una especie afín - *P. chrysocrea* (Berk. & Curt.) Burd - como patógena de *C. obtusa* como también de distintas especies de robles entre otras latifoliadas.

El aspecto y la consistencia de la madera – moteado y corchosa; fibrilar y esponjosa – es compatible con los estadios intermedios y avanzados de pudrición blanca definidos por Zabel & Morrell (1992) y Schwarze, (2007), ya descriptos aquí para otras interacciones.

En las muestras con estados intermedios de deterioro, el moteado por concentración de micelio en áreas totalmente degradadas se corresponde con el concepto de “mottled appearance” de Otjen & Blanchette (1986). Barrasa et al. (1992) y Kubayashi & Maekawa (2001) reportan una apariencia/síntoma de igual origen en otras latifoliadas naturalmente infectadas por *P. chrysocrea*. Respecto de la humedad determinada al tacto, posiblemente resulte de la mayor permeabilidad e higroscopicidad que adquieren las maderas con pudrición blanca producto de la degradación de la matriz lignocelulósica (Zabel & Morrell, 1992). En estas muestras, la consistencia corchosa es compatible con la persistencia de sectores lignificados, así como de contenidos. Tanto la lignina como los contenidos aportan rigidez a la madera (Zabel & Morrell, 1992; Blanchette, 1995; Schwarze, 2007; Daniel, 2016). Como se mencionara previamente en este Capítulo, las paredes secundarias de los vasos como también la laminilla media compuesta y los ángulos intercelulares son estructuras altamente lignificadas, constituidas por lignina tipo guayacil, de mayor resistencia a la degradación por hongos de pudrición blanca (Schwarze et al., 2000a; Gamauf et al., 2007).

Respecto de las muestras con estados avanzados de deterioro, su apariencia fibrilar y consistencia esponjosa está dada por la persistencia de vasos con contenidos, los cuales cumplen un rol de barreras físicas y/o químicas a la invasión fúngica. Los contenidos condicionan la velocidad de la colonización y degradación. Aquellos de naturaleza fenólica poseen efectos fungistáticos, inhibiendo el metabolismo de muchas

especies xilófagas (Schwarze & Fink 1997; Schwarze & Ferner, 2003; Schwarze 2004). Las características químico-anatómicas de los vasos también contribuirían con ello. Blanchette et al. (1988) mencionan el aspecto fibrilar de maderas con avanzada pudrición blanca debido a la resistencia de los vasos a la degradación fúngica. Para estos autores, su alto contenido de guayacil lignina contribuiría con ello.

La degradación preferente de la lignina identificada por sectores de las muestras es compatible con el curso de una pudrición blanca selectiva (PBSe) (Otjen & Blanchette, 1984; Blanchette, 1991; Daniel, 2016). La persistencia de la Lmc en células con evidente pérdida de lignina se corresponde con una etapa incipiente de PBSe de avance centrífugo (Srebotnik & Messner, 1994; Anagnost, 1998; Schwarze, 2004). La separación entre células y el posterior adelgazamiento de paredes delignificadas hasta su total degradación – particularmente acentuada en el leño tardío – es compatible con estados avanzados de PBSe que incluyen la remoción de la celulosa residual (Otjen & Blanchette, 1984). Según fue descrito para interacciones previas, la resistencia a la degradación preferencial de la lignina entre tipos celulares resulta de sus particularidades químicas. A diferencia de los vasos, en fibras y parénquima predomina la lignina del tipo siringyl, más susceptible al ataque por hongos de pudrición blanca (Blanchette, 1991; Saito et al., 2012; Skyba et al., 2013; Pramod et al., 2015). Respecto de los radios, lo observado sería consecuencia de su elevado contenido de Nitrógeno (Otjen & Blanchette, 1982; Dill & Kraepelin, 1986; Agosín et al., 1990; Singh et al., 2012).

El adelgazamiento de la pared de los vasos como también los senderos de erosión, agujeros, punteaduras erosionadas, rasgos presentes en células sin evidencia de delignificación selectiva, como también la presencia de abundante tejido fúngico, son compatibles con el curso de una pudrición blanca simultánea. Anagnost (1998) considera dichos rasgos como claves para el diagnóstico de este tipo de pudrición, cuyo origen y desarrollo fueron tratados previamente.

La identificación de áreas selectivamente delignificadas entre sectores con evidencias de pudrición blanca simultánea es característica del tipo de pudrición “mottled rot” definida por Otjen y Blanchette (1986). Según fue descrito, este tipo de pudrición es frecuentemente entre especies consideradas delignificadoras selectivas como lo es *P. brevispora* (Otjen et al., 1987).

La preponderancia del micelio en los vasos de diámetro mayor, con depósitos escasos-ausentes, indica su rol de principales vías de colonización fúngica del sustrato. En maderas con porosidad anular, como la de paraíso, el micelio inicialmente se

presenta en los vasos del leño temprano. La visualización de punteaduras erosionadas y de agujeros surgidos por la coalescencia de dichas punteaduras también señalan su participación en la colonización del leño (Levin & Castro, 1998; Schwarze et al., 2000a; 2003; Gao et al., 2018).

Según lo descrito, *P. brevispora* causa una intensa pudrición blanca en el duramen del paraíso, no obstante, el progreso de la colonización y degradación fúngica está condicionado por la presencia de depósitos; los vasos poseedores de contenidos persistieron en estados avanzados de pudrición.

La identificación de esta especie asociada a pudrición blanca de duramen en ejemplares de paraíso en pie, vivos, y la descripción de las alteraciones anatómicas que produce en la madera constituyen el primer registro para nuestro país y a nivel mundial.

CONCLUSIONES

En términos generales, las pudriciones blancas consideradas en esta investigación presentaron la consistencia corchosa/esponjosa, el color blanco y las alteraciones micro-estructurales características de este tipo de deterioro y por ello considerados claves para su diagnóstico. No obstante, ciertas particularidades fueron identificadas, principalmente notables en sectores de las muestras con estadios incipientes a intermedios de deterioro, particularidades compatibles con las diferencias anatómicas de las maderas y la agresividad manifestada por la cepa fúngica. En este sentido, la diferenciación o no de un verdadero duramen, el tipo, abundancia y distribución de las células que constituyen el leño, las características químico-anatómicas de dichas células, la capacidad del patógeno para salvar las barreras de tipo pasivas o bien activas presentes en sus hospedantes determinaron patrones de colonización y degradación fúngica únicos para cada combinación hospedante-patógeno. De acuerdo con ello, dentro del gran grupo de las pudriciones blancas habrá tantos patrones de degradación como combinaciones hospedante-patógeno existan - sin dejar de lado la influencia del medio en dicho proceso -, y consecuentemente, habría de esperarse diferencias en la alteración de las propiedades de resistencia mecánica, particularmente en las etapas iniciales.

Por su parte, ante la ausencia de madera podrida expuesta, la presencia de una fructificación y/ o micelio asociado a un ejemplar, su identificación y, en particular, su reacción (positiva o negativa) en ácido gálico y tánico (la reacción de oxidasa), permiten diagnosticar el tipo de pudrición que lo afecta, los perjuicios posibles de presentarse serían únicos para cada combinación y de aquí el valor de los estudios microscópicos.

2.- Pudriciones castañas

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murr.

Fraxinus pennsylvanica Marsh.

Material muestreado: madera de ramas de primer orden de ejemplar en pie, vivo, con evidencias de pudrición en cuanto a su aspecto y consistencia - se transformó en polvo al presionarla entre los dedos - en más del 50% del duramen expuesto (Figura 1, foto: a); ausencia de basidiocarpos; micelio abundante.

Macroscópicamente, a ojo desnudo, la madera presentó un cambio de color notable: de blanco-amarillento a castaño rojizo (Figura 1, fotos: b, c) con manifestación de deterioro por intemperismo - tonos grisáceos del leño -. La pudrición avanzó de modo centrífugo (Figura 1, fotos: b, c, d) provocando en el tejido la coloración descrita y un patrón de fractura cúbico dado por la diferenciación de rajaduras longitudinales y perpendiculares al eje mayor de las células; rajaduras colonizadas por micelio (Figura 1, foto: d).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en vista transversal, sectores de las muestras se caracterizaron por presentar rajaduras paralelas a los radios con abundante micelio, abarcando el ancho de los anillos (Figura 1, foto: e). Los vasos del leño temprano y tardío presentaron tñides y micelio en sus lúmenes, este último predominante en los de la madera temprana (Figura 1, fotos: e, f). En vista longitudinal, fueron observadas además pequeñas rajaduras perpendiculares al eje principal de las células (Figura 1, foto: g).

Con microscopio óptico, se observó por sectores de las muestras en corte transversal la deformación del tejido, particularmente a nivel leño temprano (Figura 2, foto: a). En cuanto a los vasos, éstos aparecieron deformados y/o colapsados, rasgos más pronunciados en los de mayor diámetro (Figura 2, fotos: a, b). Algunas fibras mostraron fracturas perpendiculares a su eje axial; otras presentaron deformación o colapso (destrucción) de la pared, esto último principalmente en aquellas próximas a los radios (Figura 2, fotos: a, b, c). En el parénquima radial se registró por sectores separación celular y colapso, definiendo rajaduras (Figura 2, foto: a). El parénquima vasicéntrico del leño temprano y tardío apareció, en términos generales, inalterado. En ocasiones, el parénquima próximo a los vasos de mayor diámetro presentó destrucción. De este modo, en términos generales, el parénquima axial y los vasos del

leño tardío no evidenciaron ataque; las fibras de ambos sectores del anillo manifestaron mayor destrucción al igual que algunos vasos del leño temprano, daño que se extendió al parénquima axial acompañante. Los radios fueron atacados por sectores mostrando un patrón muy característico de separación celular. En cortes longitudinales radiales y tangenciales, el tejido apareció contraído, adquiriendo las células un recorrido sinuoso (Figura 2, foto: d). Se identificó abundante micelio en los vasos del leño temprano. En algunos sectores se observó la destrucción total del parénquima radial, así como el colapso de los vasos, el cual se extendió al parénquima axial acompañante (Figura 2, foto: d).

Con luz polarizada, el leño temprano presentó pérdida total de birrefringencia evidenciando la degradación pronunciada de esta zona del anillo. En este sector, sólo algunos vasos mantuvieron un brillo muy tenue; en oposición, aquellos del leño tardío y el parénquima acompañante se presentaron birrefringentes. Lo descrito puso de manifiesto la descomposición diferencial de la celulosa entre tipos celulares, por sectores del anillo de crecimiento anual (Figura 2.1, fotos: c - e).

Con microscopio electrónico de barrido, en corte transversal, se observaron las siguientes características: rajaduras definiendo un patrón de fractura cúbico (Figura 3, foto: a); vasos del leño temprano y tardío con tálides y colonizados por micelio fúngico, particularmente aquellos de mayor diámetro del leño temprano (Figura 3, fotos: a, b, c); fibras con fracturas; las próximas a los radios con destrucción total de su pared, definiendo rajaduras (Figura 3, fotos: a, b, c; Figura 4, foto: e); por sectores, separación celular a la altura de los radios - entre sus células parenquimáticas - y agujeros en sus células (Figura 3, foto: d; Figura 4, foto: e). En términos generales, el parénquima axial apareció inalterado. En corte longitudinal radial y tangencial fueron observadas fracturas en radios parenquimáticos y vasos (Figura 4, foto: f); vasos del leño temprano con tálides y micelio (Figura 4, foto: e; Figura 5, foto: l); fibras con punteaduras erosionadas, agujeros y fracturas (Figura 4, foto: g; Figura 5, fotos: i, j); parénquima radial con evidencias de separación celular y agujeros (Figura 4, fotos: f, g; Figura 5, foto: i); traqueidas con agujeros y punteaduras erosionadas (Figura 4, foto: h), éstas últimas también presentes en el parénquima axial (Figura 5, foto: j); colonización fúngica a través de las punteaduras de las fibras, traqueidas y de los elementos de vaso (Figura 5, foto: k); presencia de micelio y conidios en la totalidad de los tipos celulares que constituyen el tejido, no obstante con mayor concentración en los vasos del leño temprano; tálides perforadas por hifas fúngicas (Figura 5, fotos: j,

l). No fueron visualizados "bore-holes" o pequeñas perforaciones asociadas a hifas de diámetro pequeño – ca. $1.2\ \mu\text{m}$ -.

Pudrición castaña en *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. (Fresno americano)
Aspecto general y con lupa



Figura 1. Fotos a - g: pudrición castaña en fresno americano. Foto a: ejemplar con evidencias de pudrición en fuste y cuello de ramas. Fotos b - d: pudrición en cuello de ramas de primer orden. Fotos e- g: vista de la madera con lupa (16X). Fotos e, f: vista transversal. Foto e: rajaduras paralelas a los radios, con abundante micelio. Foto f: vasos del leño temprano con tílides y micelio. Foto g: vista longitudinal; rajadura perpendicular (rp) y fracturas longitudinales (fl) al eje mayor de las células, estas últimas con abundante micelio.

Fresno americano: pudrición castaña. Observaciones con MO

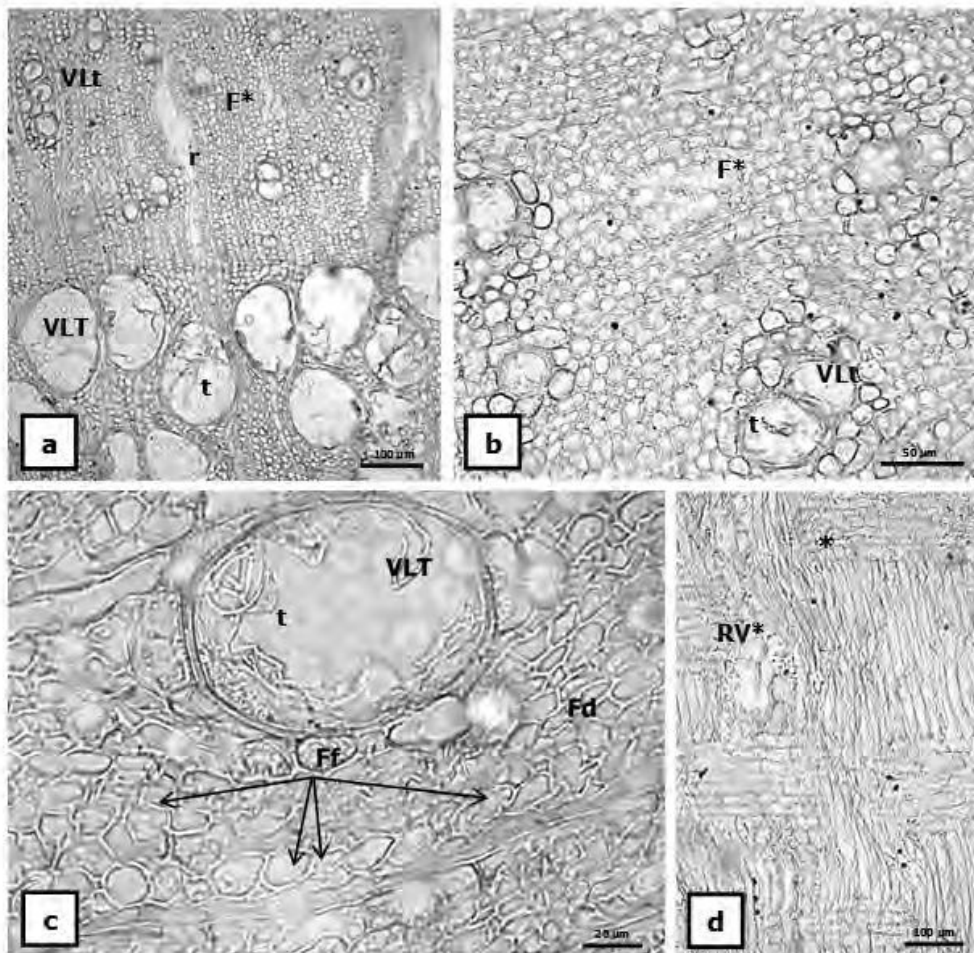


Figura 2. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición castaña. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: vasos del leño temprano (VLT) deformados y con tílides (t); colapso de las fibras (F*); apertura de radios definiendo rajaduras (r); vasos del leño tardío (VLT) inalterados. Foto b: vasos del leño tardío (VLT) turgentes, con tílides (t); colapso total de las fibras (F*). Foto c: detalle vaso del leño temprano (VLT) con tílides (t); fracturas en fibras (Ff); deformación (Fd). Foto d: corte longitudinal radial (CLR): elementos del tejido con recorrido sinuoso (*); intersección radio-vaso (RV*) con evidencias de destrucción de la pared.

Fresno americano: pudrición castaña. Observaciones con MO-Luz polarizada

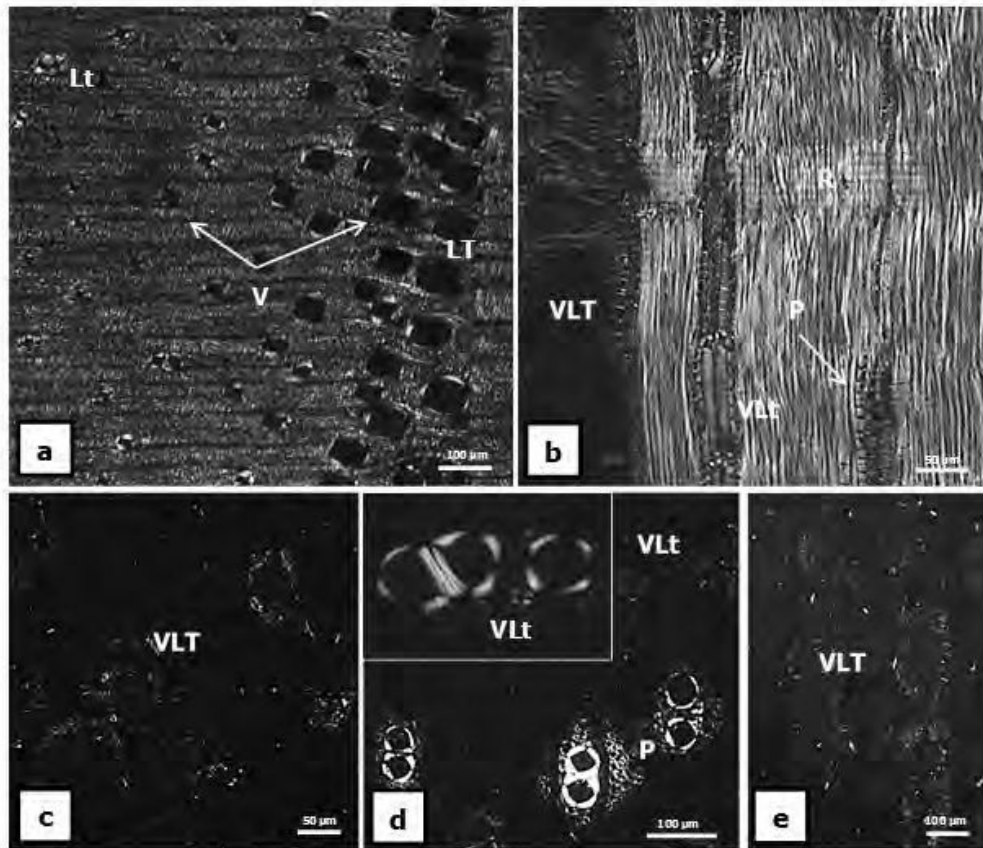


Figura 2.1. Fotos a - e: secciones de leño bajo luz polarizada. Fotos a, b: madera testigo. Foto a: corte transversal (CT); leño temprano (Lt) y tardío (LT); vasos (V). Foto b: corte longitudinal radial (CLR); vasos del leño temprano (VLT) y tardío (VLt); parénquima vasicéntrico (P); radios parenquimáticos (R). Fotos c - e: madera con evidencias de pudrición castaña. Fotos c, d: corte transversal (CT). Foto c: pérdida de birrefringencia en fibras, traqueidas y parénquima axial; birrefringencia parcial en vasos del leño temprano (VLT). Foto d: birrefringencia en vasos del leño tardío (VLt) y parénquima axial vasicéntrico (P). Foto e: corte longitudinal radial (CLR); birrefringencia parcial en vasos del leño temprano (VLT).

Fresno americano: pudrición castaña. Observaciones con MEB

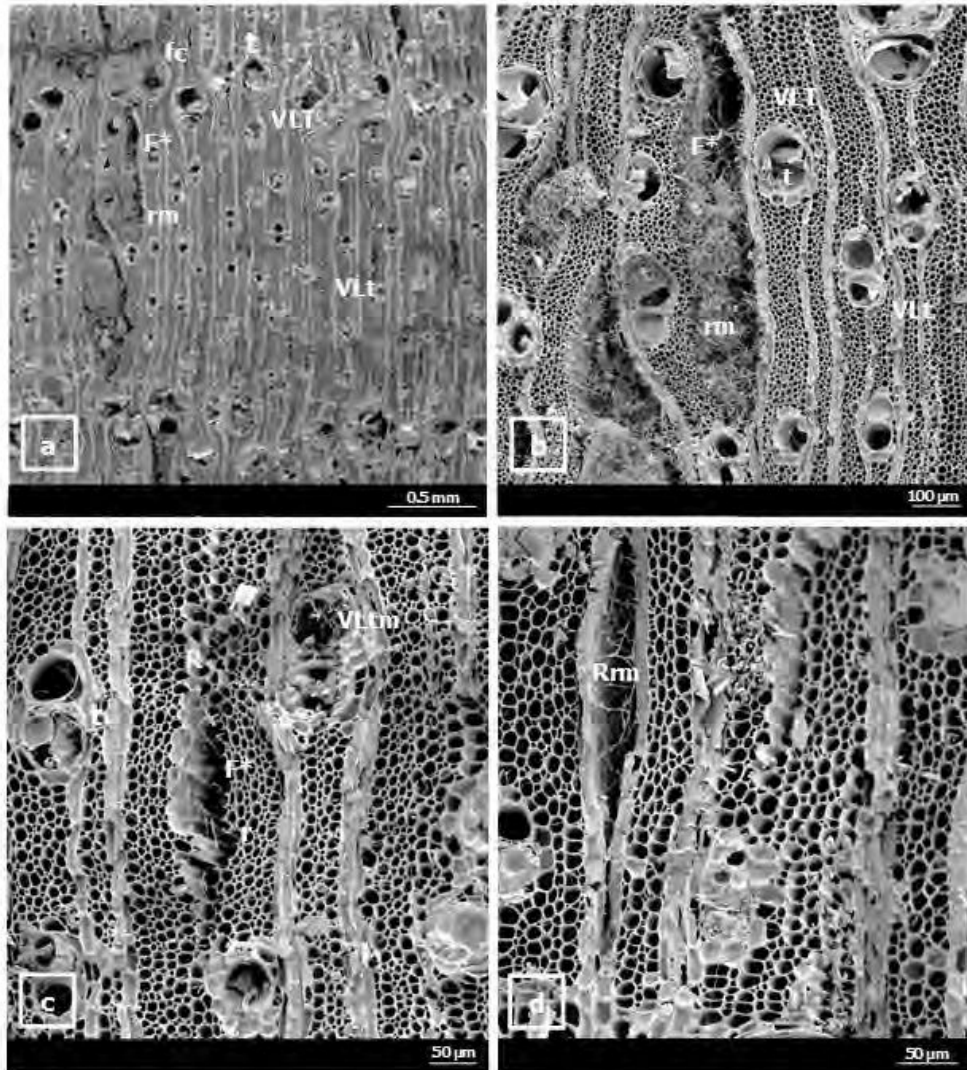


Figura 3. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición castaña; corte transversal (CT). Fotos a, b: aspecto general y detalle, respectivamente; vasos del leño temprano (VLT) y tardío (Vlt) con tilides (t); fractura con patrón cúbico (fc); rajadura paralela a los radios (r) con micelio (m), surgidas del colapso de las fibras (F*). Foto c: detalle micelio (m) en vasos del leño tardío (Vlt) y tilides (t); destrucción (colapso) de parte / totalidad de la pared de las fibras (F*) próximas a los radios (R); rajadura (r). Foto d: separación de células radiales definiendo rajaduras colonizadas por micelio (Rrm).

Fresno americano: pudrición castaña. Observaciones con MEB

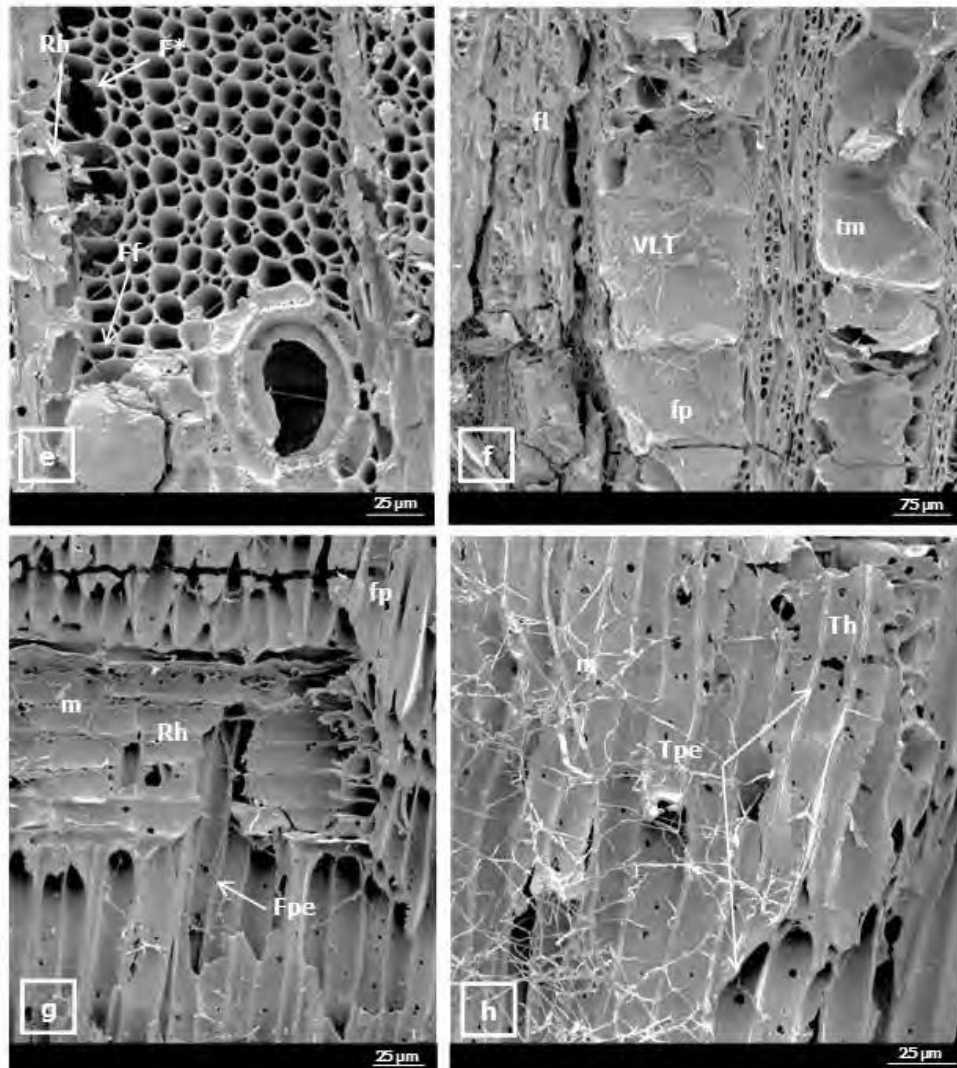


Figura 4. Foto e: corte transversal (CT). Fibras, colapso (F*) y fractura (Ff); células radiales con agujeros (Rh). Fotos f - h: corte longitudinal radial (CLR). Foto f: fractura longitudinal (fl) y perpendicular (fp) en radios y vasos; vaso del leño temprano (VLT) con tilides (t) y micelio (m). Foto g: fractura perpendicular (fp) en fibras; agujero en radio (Rh) y micelio; punteadura erosionada en fibra (Fpe). Foto h: agujeros (h), punteadura erosionada (pe) y micelio en traqueidas (T).

Fresno americano: pudrición castaña. Observaciones con MEB

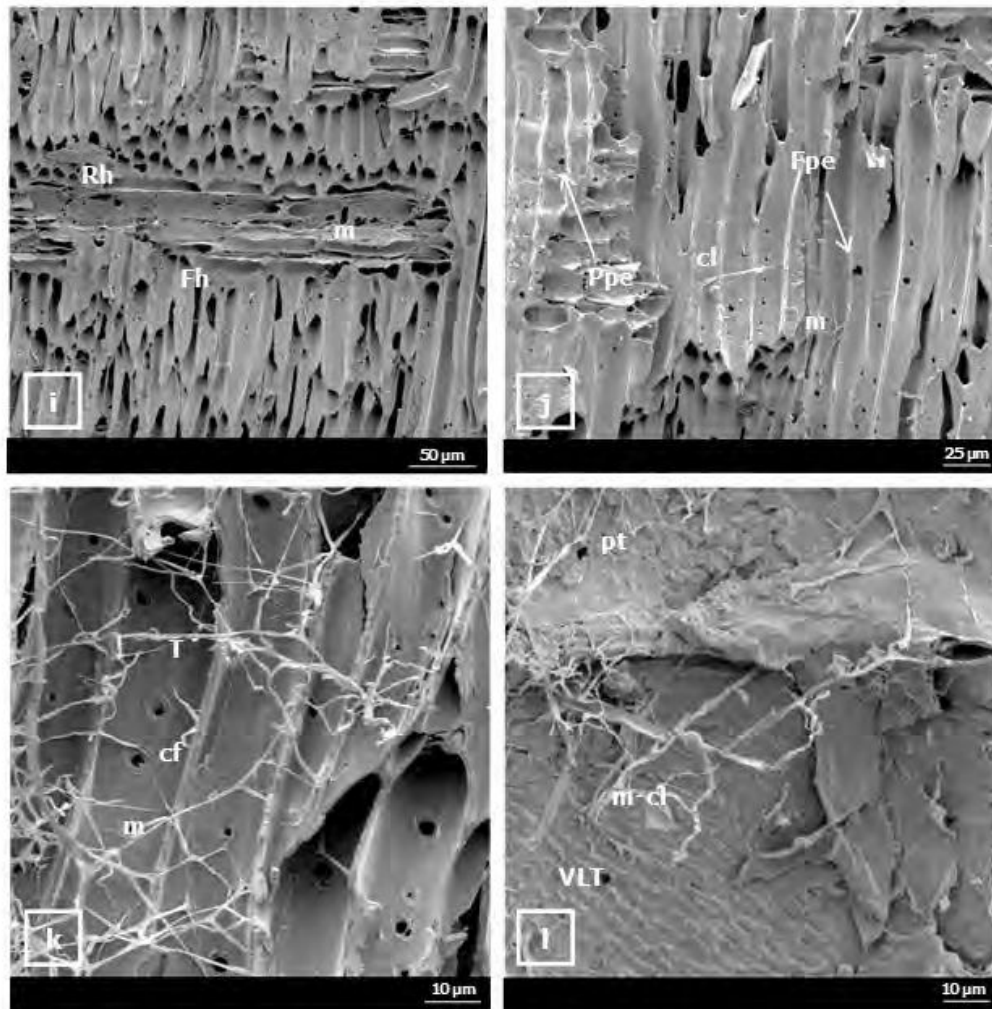


Figura 5. Fotos i - l: corte longitudinal radial (CLR). Foto i: agujeros en fibras (Fh) y radios (Rh); micelio (m) en radios. Foto j: punteaduras erosionadas en parénquima axial (Ppe) y fibras (Fpe); micelio (m) en fibras; clamidospora (cl). Foto k: pasaje de hifa fúngica (cf) a través de punteadura de traqueidas (T). Foto l: vaso del leño temprano (VLT) con tílides perforadas (pt), micelio (m) y clamidosporas (cl).

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murr.

Populus alba L.

Material muestreado: madera de ramas de primer orden de ejemplar en pie, vivo, con evidencias de pudrición en cuanto a su aspecto y consistencia - se transformó en polvo al presionarla entre los dedos - en la totalidad del duramen expuesto; presencia de basidiomas (Figura 6, fotos: a, b).

Macroscópicamente a ojo desnudo, la madera se caracterizó por su coloración castaño rojiza (Figura 6, foto: c) y patrón de fractura cúbico producto de la presencia de rajaduras longitudinales y perpendiculares a la dirección del grano, colonizadas por micelio (Figura 6, foto: c).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, el rasgo generalizado fue la presencia de fracturas y/o rajaduras colonizadas por micelio y conidios (Figura 6, fotos: d, e). En cuanto al micelio, predominó en los vasos del leño temprano, acentuando la demarcación de esta zona del anillo (Figura 6, foto: f).

Con microscopio óptico, en corte transversal y por sectores de las muestras, se observó la deformación y el colapso del tejido, comprometiendo a la totalidad de los tipos celulares (Figura 7, fotos: a, b, c). La presencia de micelio se observó en los vasos del leño temprano (predominante) y tardío (Figura 7, fotos: a, b, c). Se registraron también fracturas en vasos, radios y fibras (Figura 7, foto: c). En cortes longitudinales radiales y tangenciales, la contracción y el recorrido sinuoso de vasos, fibras y radios fueron notables (Figura 7, foto: d).

Observaciones del material con luz polarizada puso de manifiesto la descomposición diferencial de la celulosa entre tipos celulares: sólo los vasos presentaron birrefringencia (Figura 7.1, fotos: c – d).

Con microscopio electrónico de barrido, en corte transversal fue evidente la deformación en vasos y fibras, en particular en el leño temprano. Agujeros, fracturas y desarrollo de micelio en ambos tipos celulares también fueron observados (Figura 8, fotos: a, b, c). En cortes longitudinales radiales y tangenciales, sectores de las muestras presentaron: fracturas, particularmente frecuentes en fibras (Figura 8, foto: d); punteaduras erosionadas y agujeros en las intersecciones radio-vaso (Figura 9, foto: e) y radio-fibras (Figura 9, fotos: e, f, g, h). En las paredes de las fibras además

fueron visualizados senderos de erosión producto de la completa degradación de la pared (Figura 9, foto: g) así como "bore-holes" o pequeñas perforaciones asociadas a hifas de diámetro pequeño, no obstante, con baja frecuencia (Figura 8, foto d).

Pudrición castaña en *Populus alba* L. (Álamo blanco)

Aspecto general y con lupa

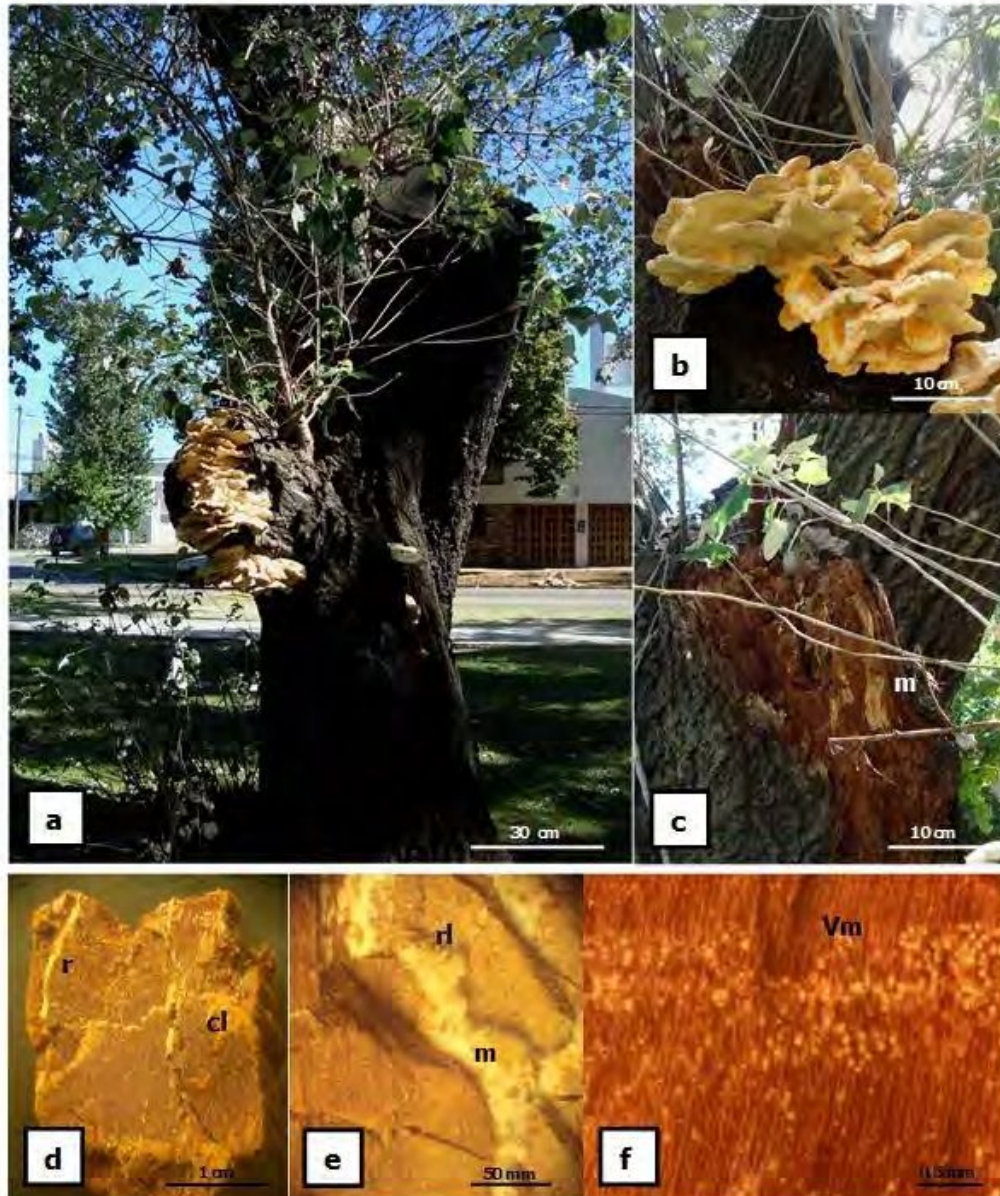


Figura 6. Foto a: ejemplar de álamo blanco con evidencias de pudrición castaña en fuste y ramas. Foto b: fructificación de *L. sulphureus* asociada a la madera podrida. Foto c: aspecto macroscópico de la madera con pudrición; coloración castaña y patrón de fractura cúbico. Fotos d - f: vista transversal de la madera con lupa (16X). Fotos d, e: rajaduras (r) colonizadas por micelio (m); clamidosporas (cl). Foto f: vasos del leño temprano con micelio (Vm).

Álamo blanco: pudrición castaña. Observaciones con MO

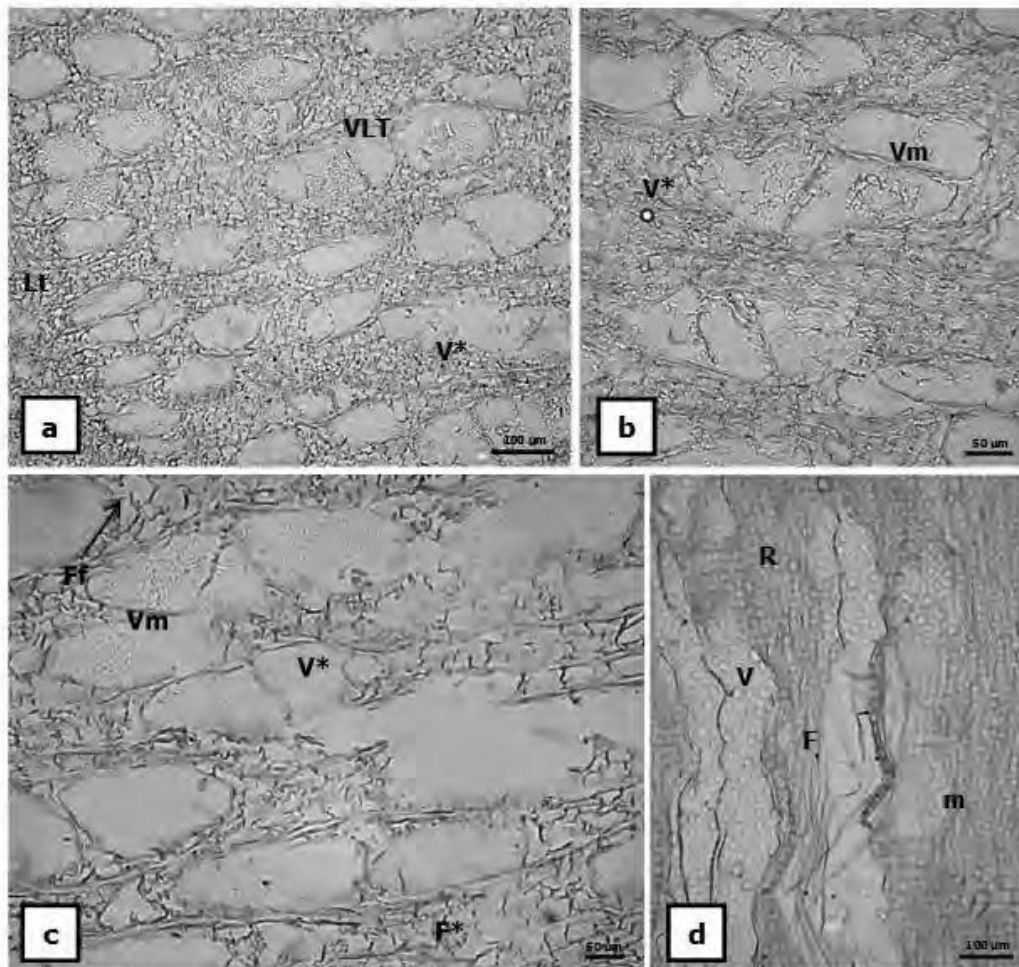


Figura 7. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición castaña. Fotos a - c: corte transversal (CT); leño tardío (Lt); vasos del leño temprano (VLT) deformados, colonizados por micelio fúngico (m) y evidencia de destrucción de la pared (V*); fracturas en fibras (Ff); fibras, colapso parcial a total (F*). Foto d: corte longitudinal radial (CLR). Vasos (V), radios (R) y fibras (F) con recorrido sinuoso; micelio (m) en vasos.

Álamo blanco: pudrición castaña. Observaciones con MO-Luz Polarizada

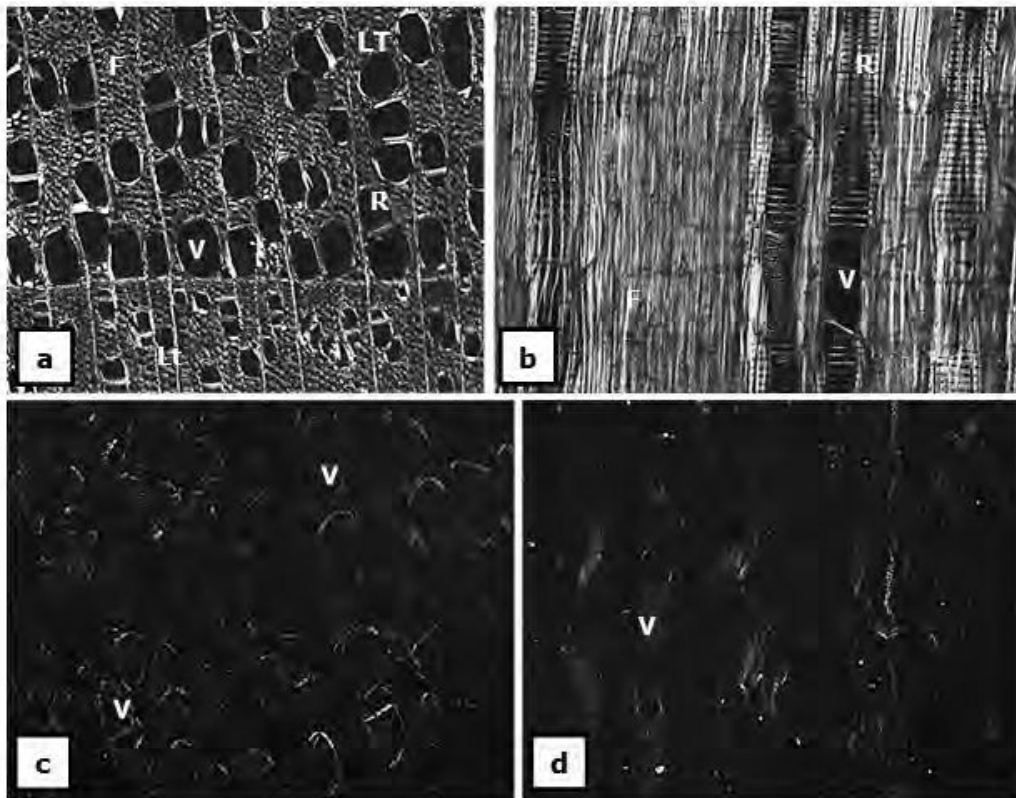


Figura 7.1 Fotos a - d: secciones de leño bajo luz polarizada. Fotos a, b: madera testigo; corte transversal (CT) y longitudinal radial (CLR), respectivamente; leño temprano (LT) y tardío (Lt); vasos (V), fibras (F) y radios (R) birrefringentes. Fotos c, d: madera con pudrición; corte transversal (CT) y longitudinal radial (CLR), respectivamente; pérdida de birrefringencia en fibras y radios; vasos birrefringentes (V). Escala: 100 μm

Álamo blanco: pudrición castaña. Observaciones con MEB

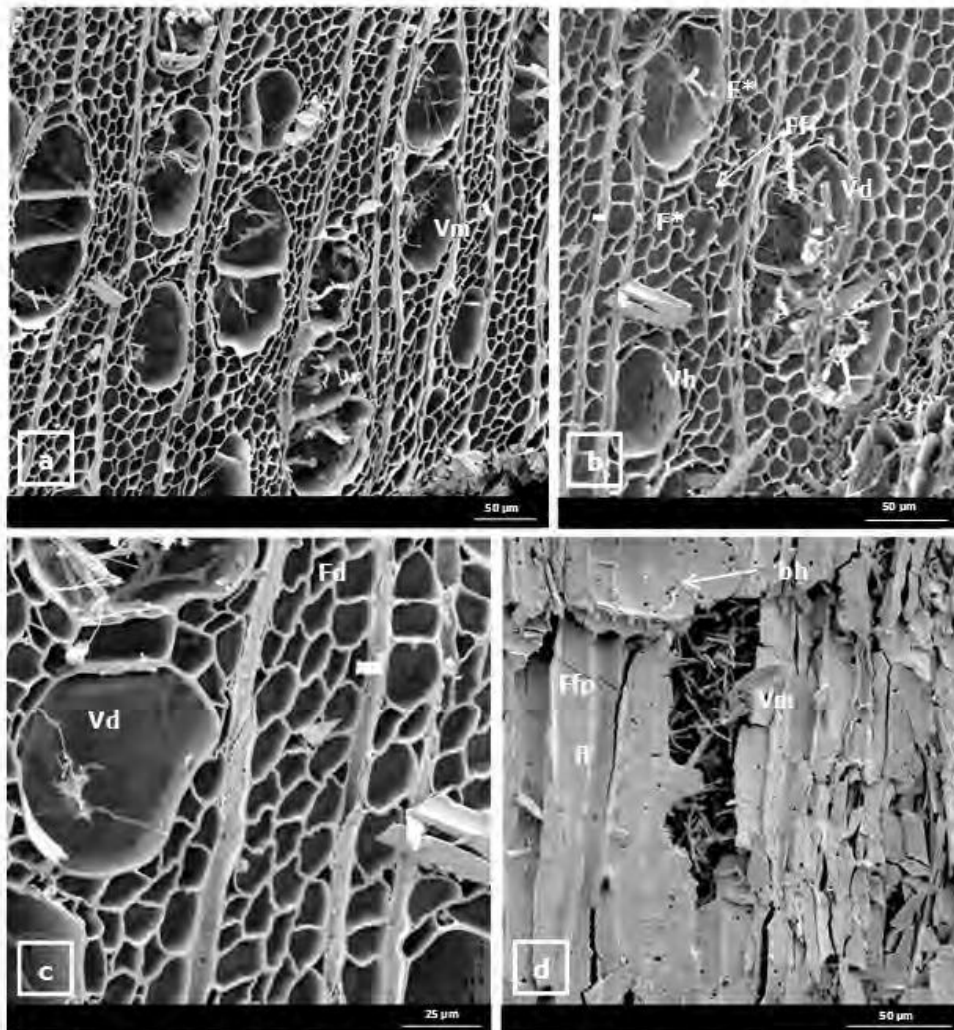


Figura 8. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición castaña. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: vasos colonizados por micelio (Vm). Foto b: agujeros en la pared de los vasos (Vh) y deformación (Vd); fibras, colapso parcial a total de la pared (F*) y fracturas (Ff). Foto c: detalle deformación de la pared de los vasos (Vd) y fibras (Fd). Foto d: corte radial (CLR). Vasos colonizados por micelio (Vm); fractura longitudinal (fl) y perpendicular en fibra (Frp); bore holes (bh).

Álamo blanco: pudrición castaña. Observaciones con MEB

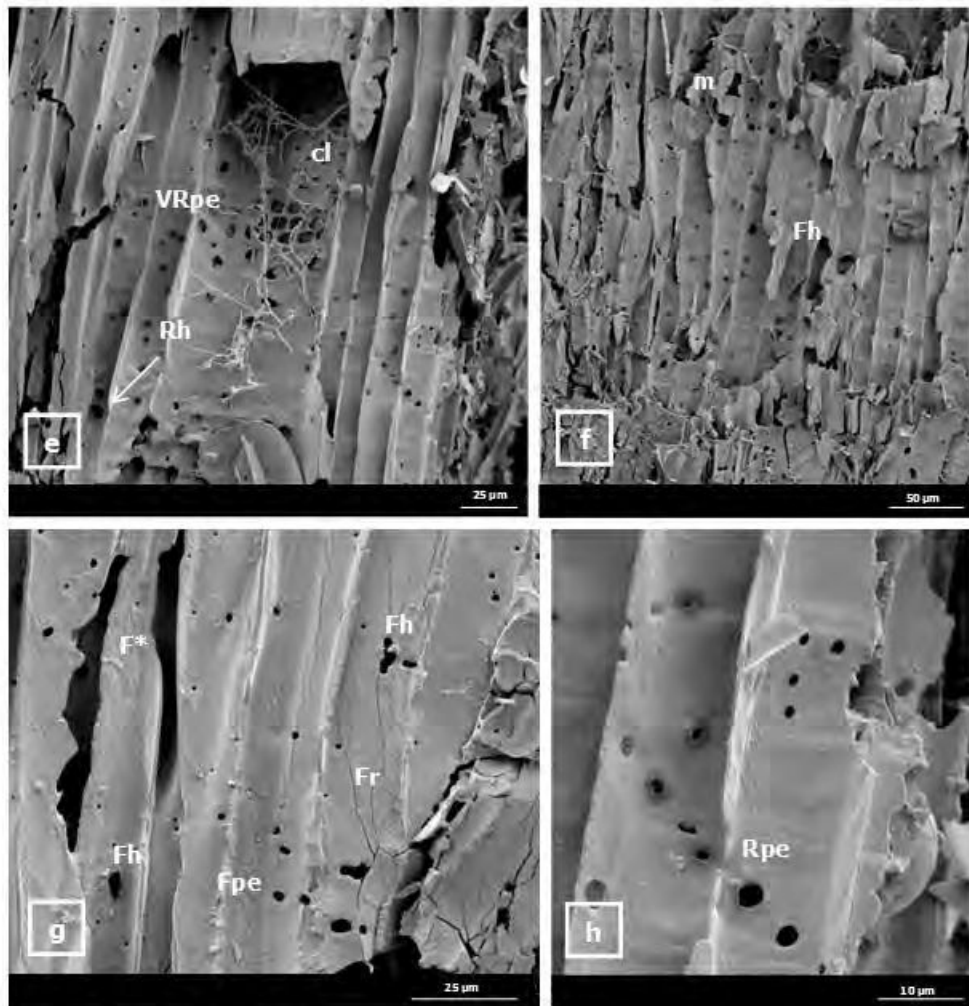


Figura 9. Fotos e - h: corte longitudinal radial (CLR). Foto e: punteaduras erosionadas en la intersección vaso-parénquima radial (VRpe); clamidospora (cl); agujeros en células radiales (Rh). Foto f: agujeros en fibras (Fh) y micelio (m). Foto g: fibras, erosión de la pared definiendo "senderos, canales" (F*) y agujeros (Fh); punteaduras erosionadas (Fpe); rajaduras (Fr). Foto h: detalle de punteadura erosionada en parénquima radial (Rpe).

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murr.

Eucalyptus tereticornis Smith

Material muestreado: leño de fuste de ejemplar en pie, vivo, con evidencias de pudrición dadas por su notable alteración estructural, consistencia frágil y presencia de abundante micelio (Figura 10, foto: a).

Macroscópicamente a ojo desnudo, el material presentó coloración castaña-rojiza (Figura 10, fotos: b, c, d), un patrón de ruptura cúbico debido a la presencia de fracturas y /o rajaduras longitudinales y perpendiculares al eje mayor de las células (Figura 10, fotos: b, c) y micelio abundante en las fracturas y/o rajaduras (Figura 10, foto: d).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en vistas transversales y longitudinales se visualizaron las fracturas con mayor detalle (Figura 10, foto: e). Las rajaduras en dirección radial mostraron abundante micelio y conidios (Figura 10, foto: e), éstos últimos estuvieron también presentes en los vasos con tílides, en particular en aquellos próximos a las rajaduras y/o fracturas colonizadas por el tejido fúngico (Figura 10, fotos: f, g, h).

Con microscopio óptico, en secciones transversales y longitudinales, si bien se identificó deformación y colapso en la totalidad de los tipos celulares, dichos rasgos estuvieron acentuados en vasos, fibras y en el parénquima radial con contenidos (Figura 11, fotos: a, b, c, d).

Con luz polarizada, se observó que sólo algunos vasos mantuvieron un brillo tenue, lo cual puso en evidencia la descomposición diferencial de la celulosa entre tipos celulares (Figura 11.1, fotos: c, d).

Pudrición castaña en *Eucalyptus tereticornis* Smith (Eucalipto colorado)
Aspecto general y con lupa

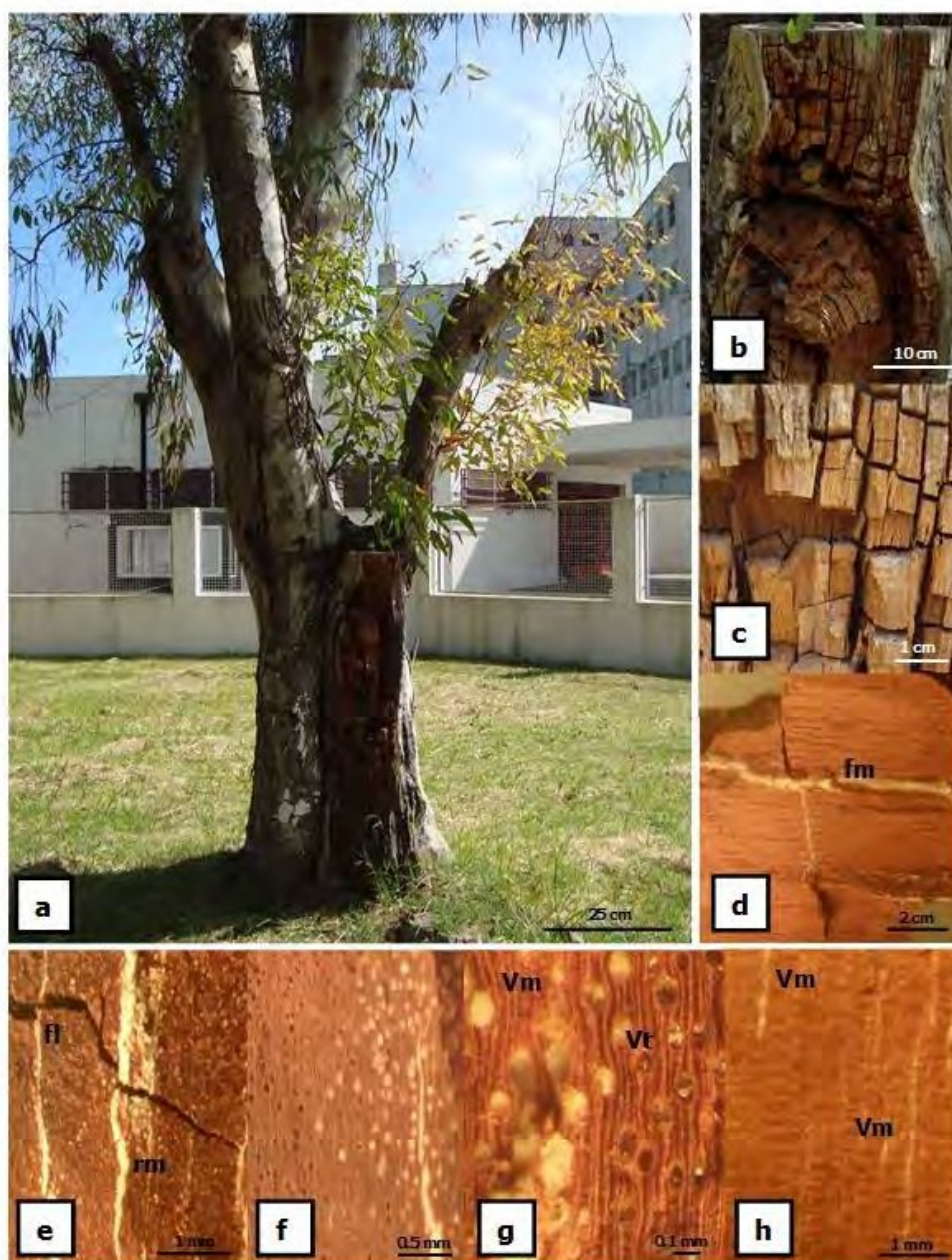


Figura 10. Fotos a - h: leño con evidencias de pudrición castaña. Foto a: ubicación. Fotos b - d: aspecto macroscópico: color, patrón de ruptura, fracturas y rajaduras con micelio (fm). Fotos e - h: vista con lupa (16X). Fotos e - g: vista transversal. Foto e: rajaduras con micelio (rm) y fractura longitudinal (fl). Fotos f, g: vasos con tílides (Vt) y micelio (Vm), aspecto general y detalle, respectivamente. Foto h: vista radial; micelio en vasos (Vm).

Eucalipto colorado: pudrición castaña. Observaciones con MO

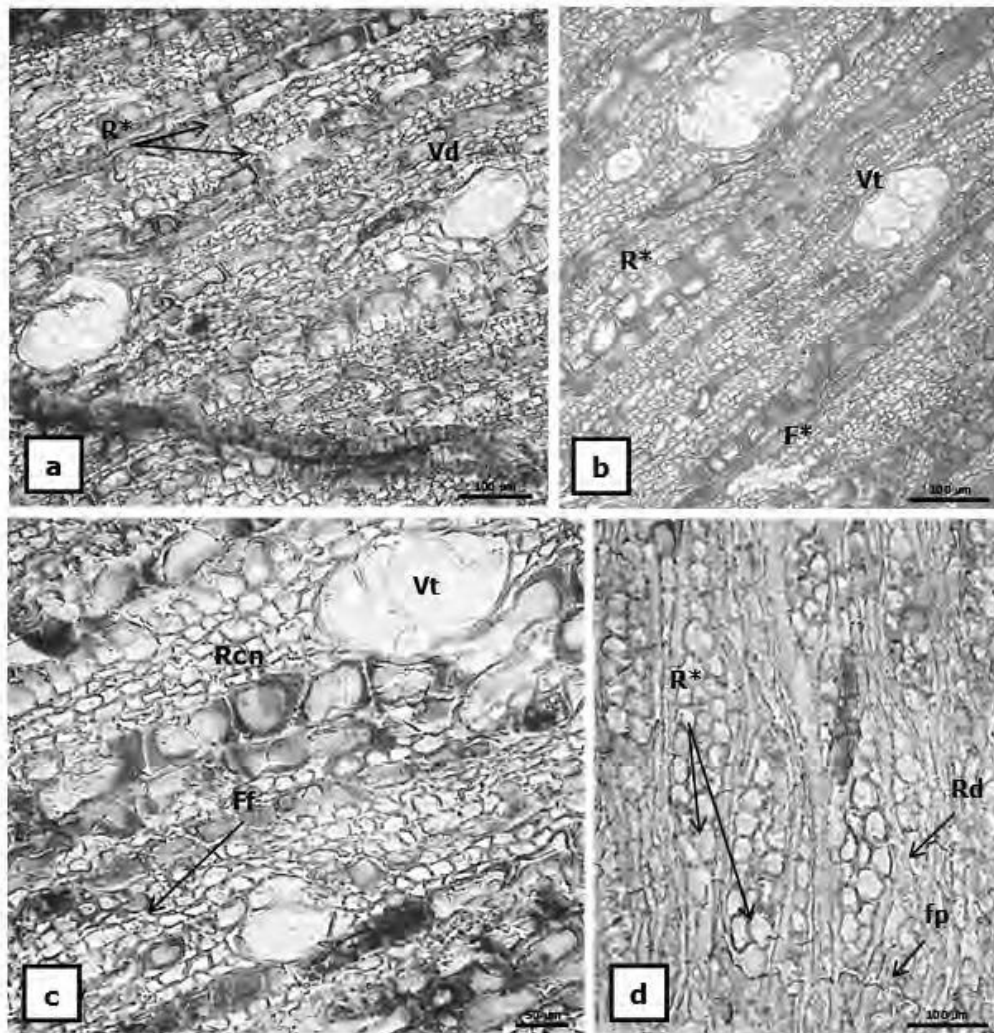


Figura 11. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición castaña. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: deformación en vaso (Vd); colapso del parénquima radial (R*). Foto b: tildes en vaso (Vt); colapso en parte / en la totalidad de la pared de las fibras (F*) y células parenquimáticas radiales (R*). Foto c: tildes en vaso (Vt), detalle; fractura en fibra (Ff); contenidos en radios (Rcn). Foto d: corte longitudinal tangencial (CLT). Fracturas perpendiculares al eje mayor de las células (fp); deformación (d) y colapso (*) de células parenquimáticas radiales (R).

Eucalipto colorado: pudrición castaña. Observaciones con MO-Luz Polarizada

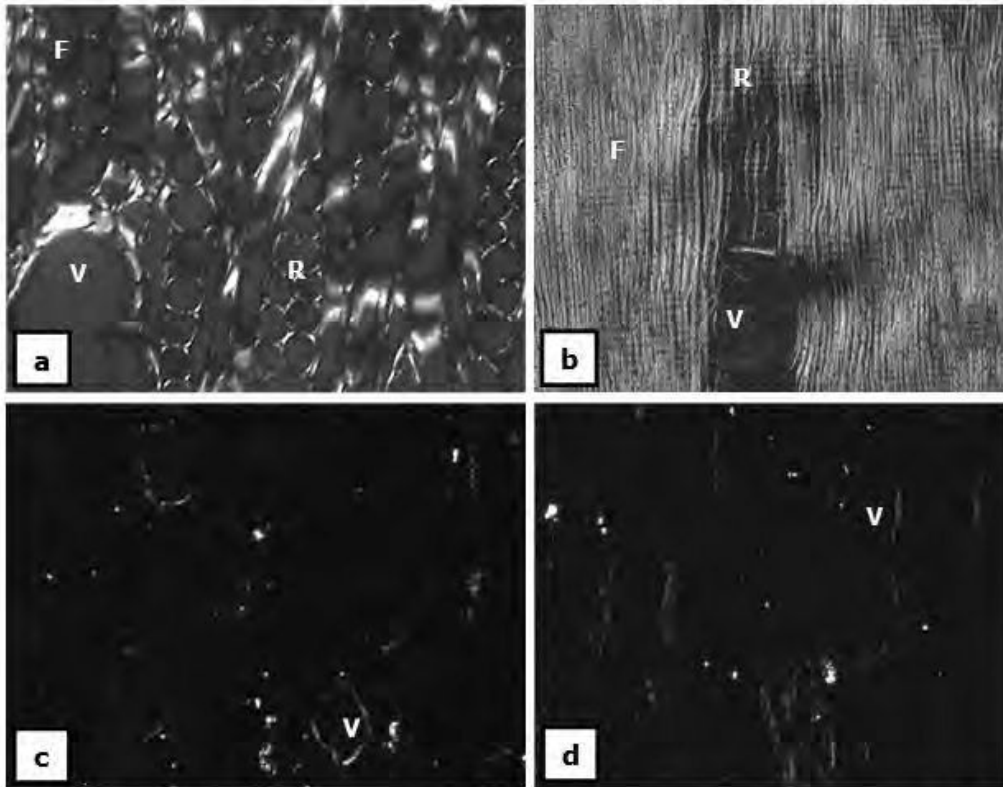


Figura 11.1. Fotos a - d: leño de eucalipto bajo luz polarizada. Fotos a, b: corte transversal (CT) y longitudinal radial (CLR) respectivamente, de madera testigo; vasos (V), fibras (F) y radios (R) birrefringentes. Fotos c, d: corte transversal (CT) y longitudinal radial (CLR) respectivamente, de madera con evidencias de pudrición; pérdida de birrefringencia en fibras y radios; vasos deformados conservan su birrefringencia (V). Escala: 100 μ m

Con microscopio electrónico de barrido, en corte transversal, se observaron los mismos rasgos identificados con microscopio óptico – deformación y colapso de los distintos tipos celulares - constatándose la presencia de micelio y clamidosporas en vasos (Figura 12, foto: a). En corte longitudinal radial y tangencial, se visualizaron fracturas en todos los tipos celulares (Figura 12, foto: b). Se identificaron además los siguientes caracteres: vasos con tálides perforadas por las hifas fúngicas y clamidosporas (Figura 12, fotos: b, c, d; Figura 13, fotos: e, f); punteaduras erosionadas y agujeros en vasos, fibras y parénquima; radios notablemente deformados (Figura 12, foto: c; Figura 13, fotos: e - h). También se identificó pasaje entre células a través de las punteaduras vaso-radio (Figura 12, foto: d) y las punteaduras de las fibras (Figura 13, foto: h). No fueron visualizados “bore-holes” o pequeñas perforaciones asociadas a hifas de diámetro pequeño (1.2 μ m).

Eucalipto colorado: pudrición castaña. Observaciones con MEB

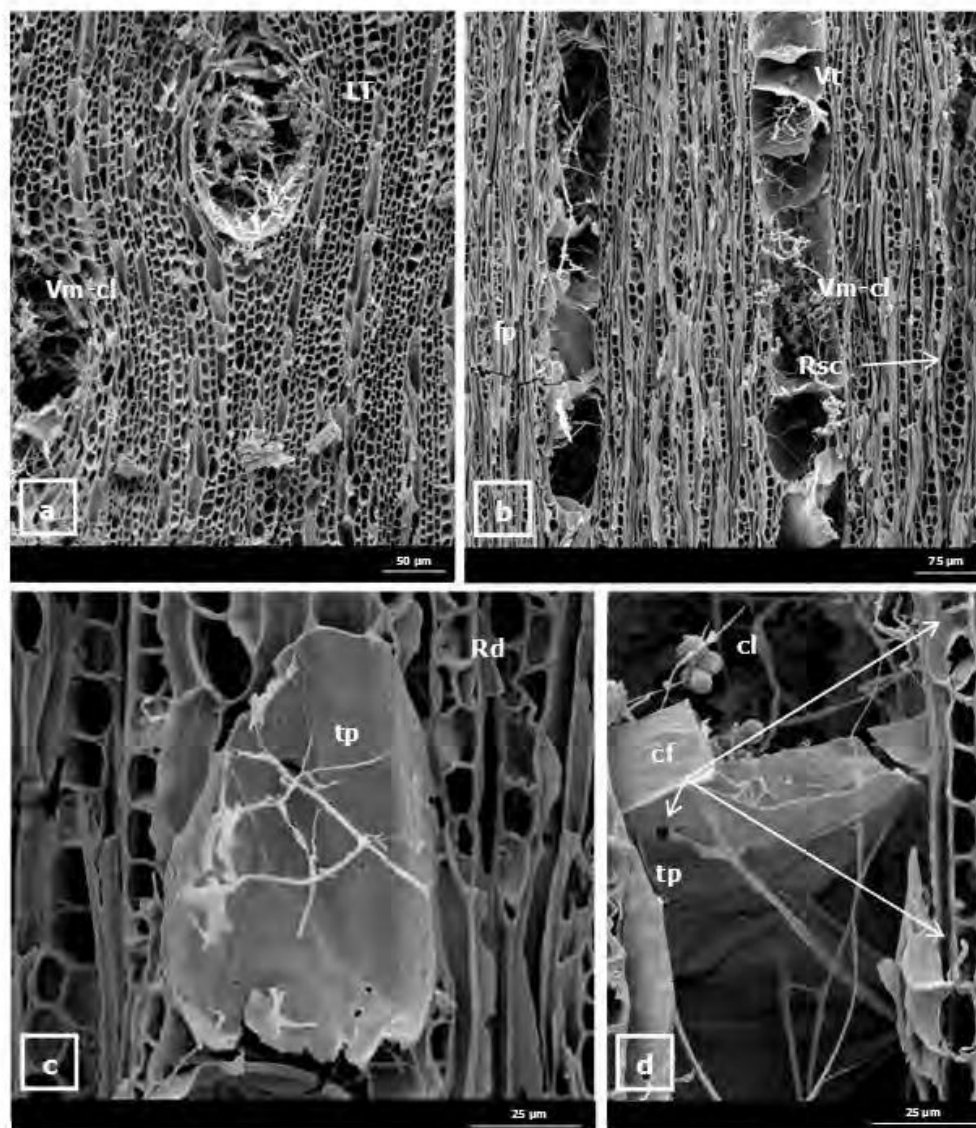


Figura 12. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición castaña. Foto a: corte transversal (CT). Vasos del leño temprano (LT) con micelio y clamidosporas (Vm-cl). Fotos b - d: corte longitudinal tangencial (CLT). Foto b: fractura perpendicular (fp); tilides (t), micelio (m) y clamidosporas (cl) en vaso; radios, separación celular (Rsc). Foto c: perforación de tilide (tp); deformación de radio (Rd). Fotos d: clamidosporas (cl); colonización fúngica (cf) por punteadura radial y tilide.

Eucalipto colorado: pudrición castaña. Observaciones con MEB

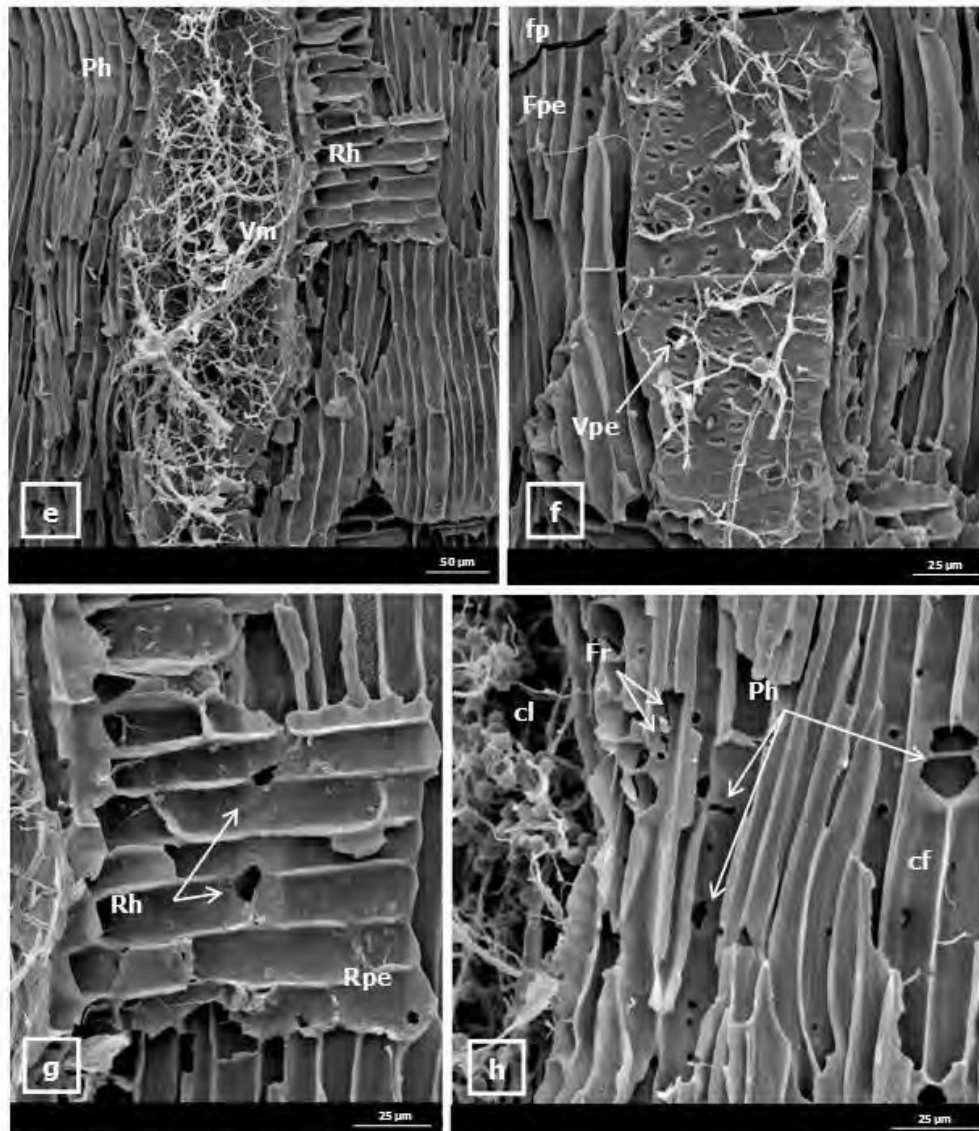


Figura 13. Fotos e - h: corte longitudinal radial (CLR). Foto e: micelio en vasos (Vm); agujeros en radio (Rh) y parénquima axial (Ph). Foto f: fractura perpendicular al eje (fp); punteaduras erosionadas en fibra (Fpe) y vaso (Vpe). Foto g: células radiales con agujeros (Rh) y punteaduras erosionadas (Rpe). Fotos h: rajaduras en fibra (Fr) a nivel pared y punteadura; agujeros en parénquima axial (Ph); clamidosporas (cl); colonización fúngica (cf) por punteadura de fibra (F).

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murr.

Eucalyptus sp.

Material muestreado: madera proveniente de raíz de ejemplar volcado, con evidencias de pudrición en cuanto a su aspecto y consistencia — se transformó en polvo bajo presión —; presencia de basidiocarpos y micelio abundante (Figura 14, fotos: a - d).

Macroscópicamente a ojo desnudo, el material se caracterizó por su color castaño-rojizo y la presencia de fracturas y /o rajaduras longitudinales y perpendiculares al eje mayor de las células determinando un patrón de fractura cúbico (Figura 14, fotos: c, d).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en vistas transversales y longitudinales de sectores de la madera se visualizó además la presencia de tílides y de micelio en vasos, como también la presencia de clamidosporas (Figura 14, fotos: e, f).

Con microscopio óptico, en corte transversal, el rasgo más relevante fue la deformación generalizada del tejido (Figura 15, foto: a). En cortes longitudinales radiales y tangenciales fueron observadas células contraídas, de recorrido sinuoso y con fracturas (Figura 15, fotos: b, c, d). Con luz polarizada se detectó birrefringencia sólo en algunos vasos, en correspondencia con lo descrito para el material proveniente de fuste.

Pudrición castaña en raíz de *Eucalyptus* sp (Eucalipto)
Aspecto general y con lupa



Figura 14. Fotos a - f: pudrición castaña en sistema radical. Foto a: ejemplar muestreado; basidiocarpio. Foto b: basidiocarpio identificado sobre el material. Fotos c, d: rasgos macroscópicos de pudrición castaña: color, patrón de ruptura, fracturas y rajaduras con micelio (fm). Fotos e, f: vista transversal de la madera con lupa (16X); micelio (m) en vasos; clamidosporas (cl).

Raíz de eucalipto: pudrición castaña. Observaciones con MO

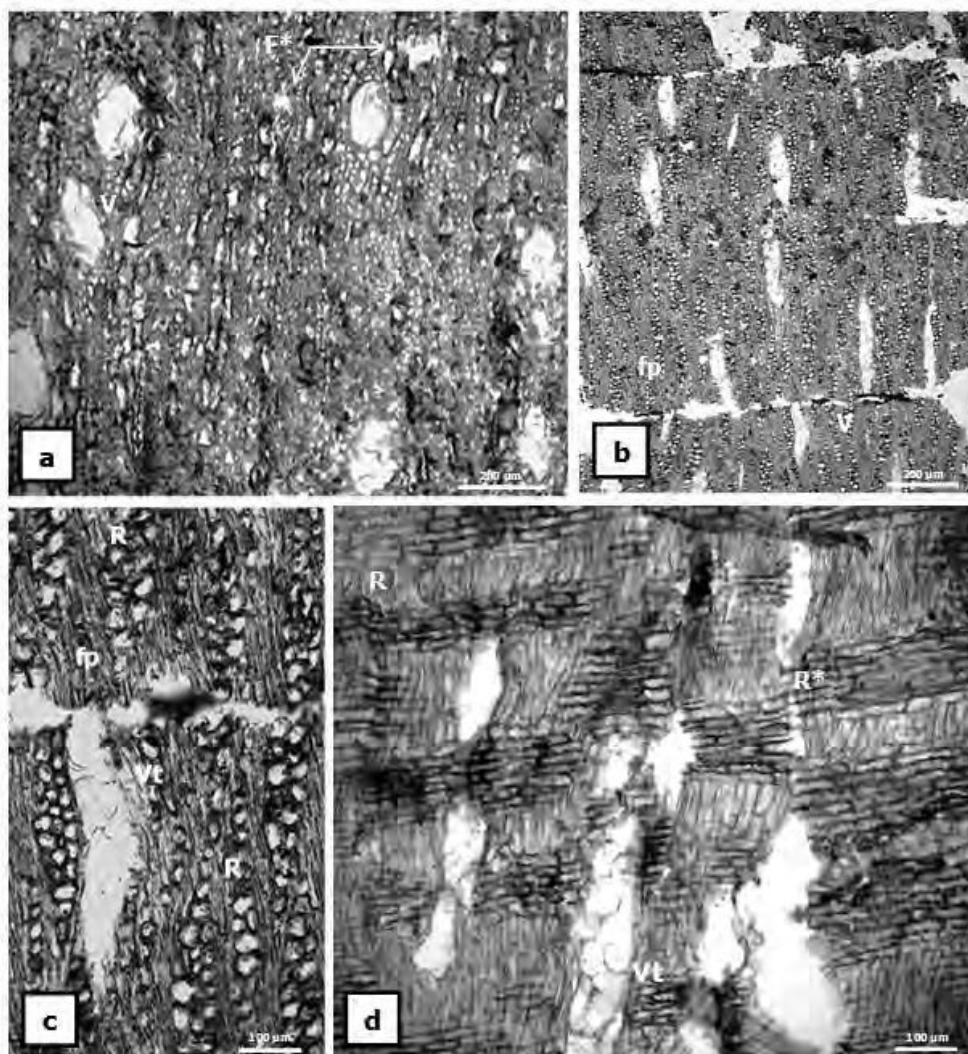


Figura 15. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición castaña. Foto a: corte transversal (CT); vaso deformado (V); colapso de fibras (F*). Fotos b, c: corte longitudinal tangencial (CLT). Foto b: vasos (V), recorrido sinuoso; fracturas perpendiculares (fp), aspecto general. Foto c: vasos con tílides deformados (Vt); deformación de radios (R); fracturas perpendiculares (fp). Foto d: corte longitudinal radial (CLR); vaso con tílides (Vt) y radios (R) de recorrido sinuoso; colapso en radio (R*).

Con microscopio electrónico de barrido, en corte transversal, fueron rasgos característicos la presencia de fracturas en las paredes de los vasos, fibras y parénquima, como así también la presencia de tílides perforadas producto del ataque fúngico (Figura 16, fotos: a, b). En cortes longitudinales tangenciales y radiales, además de los caracteres mencionados (Figura 16, foto: c; Figura 17, fotos: e, g, h) fueron identificados: la deformación y separación celular en radios (Figura 16, fotos: c, d); agujeros y micelio en la totalidad de los tipos celulares (Figura 17, fotos: f, g, h), como así también evidencias de colonización a través de sus punteaduras (Figura 17, fotos: f, h).

Raíz de eucalipto: pudrición castaña. Observaciones con MEB

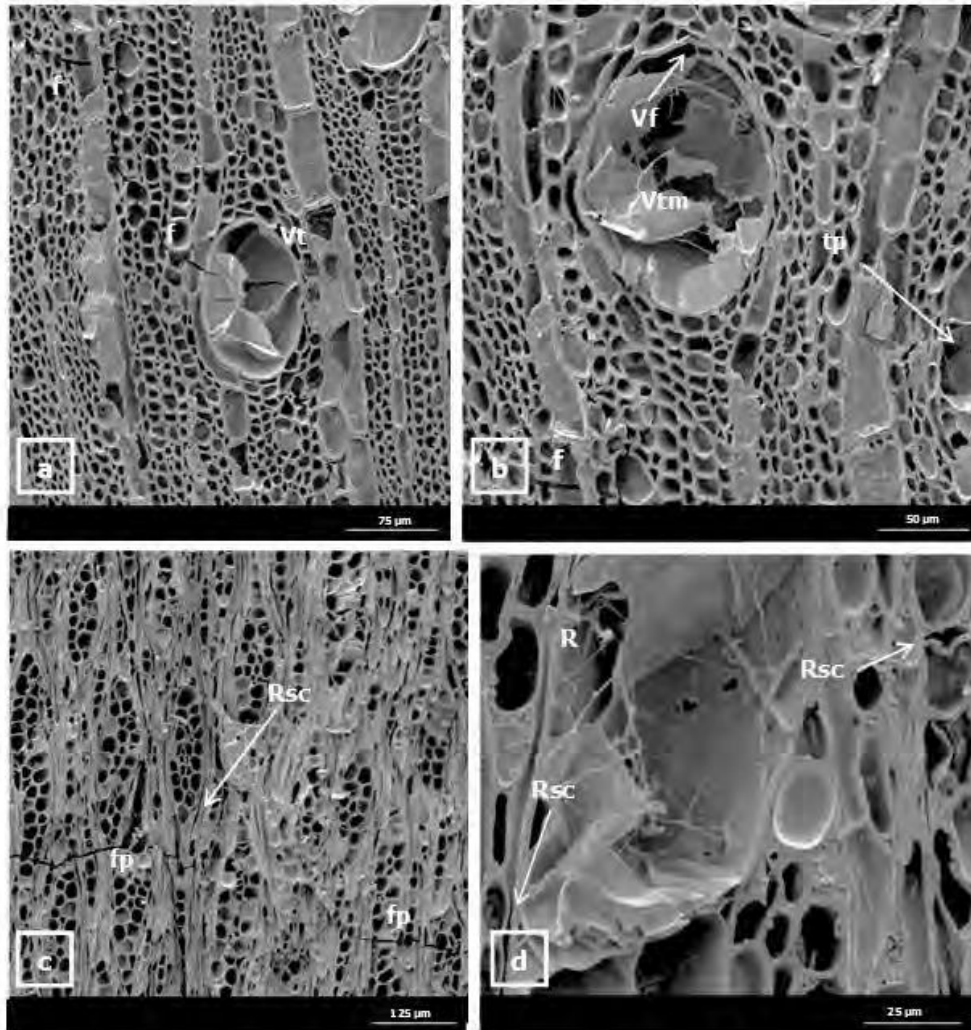


Figura 16. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición castaña. Fotos a, b: corte transversal (CT). Vasos con tildes y micelio (Vtm); tildes perforadas (tp); fracturas (f) afectando vasos, radios y fibras; fractura en la pared de vaso (Vf). Fotos c, d: corte longitudinal tangencial (CLT). Foto c: fracturas perpendiculares al grano comprometiendo la integridad estructural del tejido (fp); separación celular a la altura de los radios (Rsc). Fotos d: deformación celular en radio (R); separación celular a la altura de los radios (Rsc).

Raíz de eucalipto: pudrición castaña. Observaciones con MEB

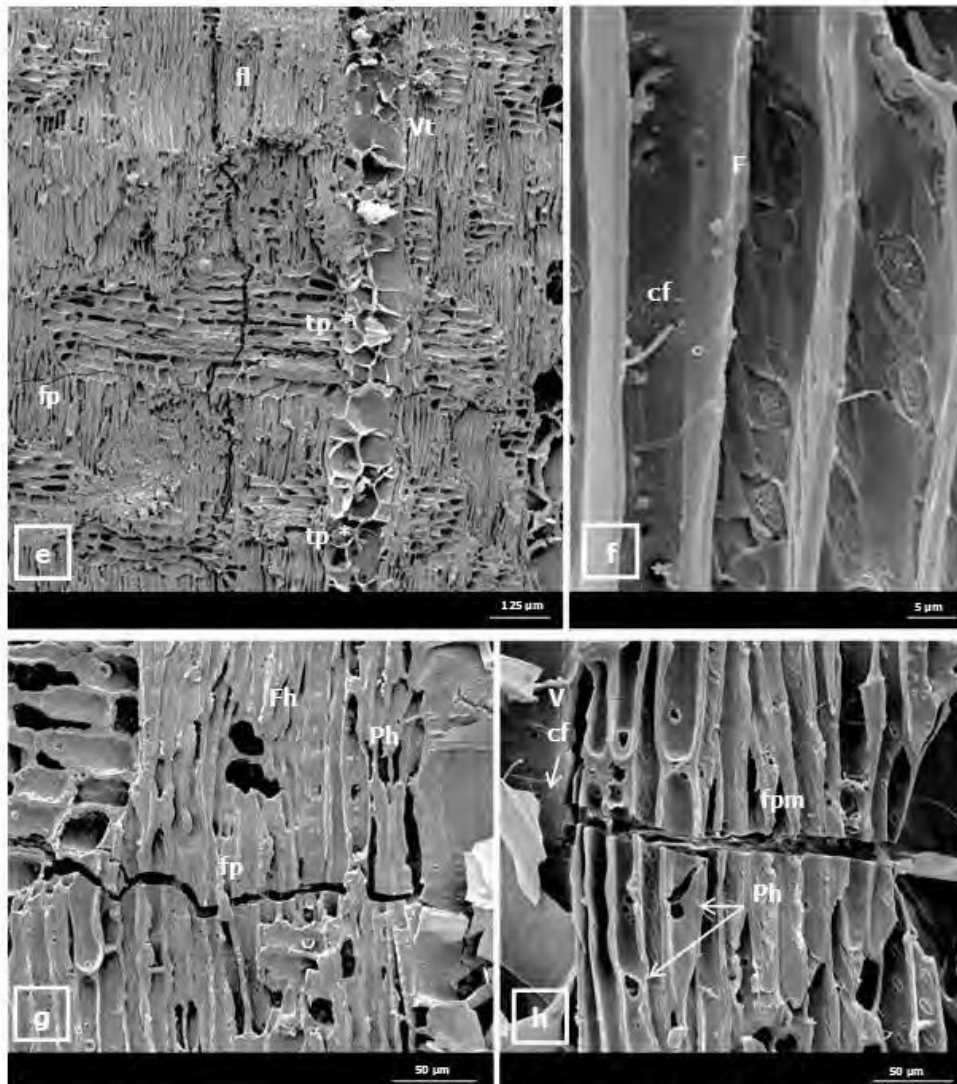


Figura 17. Fotos e a h: corte longitudinal radial (CLR) con evidencias de pudrición castaña. Foto e: vasos con tálides (Vt); fracturas paralelas (fl) y perpendiculares (fp) al grano; tálides perforadas (tp). Foto f: colonización fúngica (cf) a través de punteadura de fibra (F). Foto g: agujeros en fibras (Fh) y parénquima axial (Ph); fracturas perpendiculares al grano (fp). Foto h: fractura perpendicular al grano colonizada por micelio (fpm); agujeros en parénquima axial (Ph); colonización fúngica (cf) a través de punteadura de vaso (V).

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murr.

Melia azedarach L.

Material muestreado: madera proveniente de rama de 2do. orden con evidencias de pudrición en cuanto a su aspecto y consistencia frágil; pudrición en más del 70% del duramen expuesto; ausencia de basidiocarpos, presencia de micelio.

Macroscópicamente, a ojo desnudo, la madera presentó color castaño-rojizo, patrón de ruptura cúbico producto de la presencia de rajaduras longitudinales y perpendiculares a la dirección del grano, por sectores colonizadas por micelio; pudrición de avance centrífugo (Figura 18, foto: a).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en vista transversal, las muestras se caracterizaron por presentar rajaduras en dirección radial y tangencial. En cuanto a las radiales, se observó su origen en el leño tardío, progresando hacia el leño temprano; otras más largas y profundas abarcaron más de un anillo de crecimiento. Las rajaduras tangenciales fueron particularmente notables en la transición leño temprano-tardío, asociadas con un estado avanzado de degradación. En términos generales se evidenció una mayor destrucción en el leño tardío (Figura 18, foto: b). Otras características registradas fueron: vasos con depósitos de color marrón-rojizo oscuro, predominantes en los de mayor diámetro de la madera temprana (Figura 18, foto: c); micelio fúngico ausente a escaso, en este último caso asociado a vasos de ambos sectores del anillo sin contenidos y a las rajaduras de la madera tardía; abundantes clamidosporas. En vista longitudinal fueron visualizadas rajaduras longitudinales y perpendiculares al eje mayor de las células y los contenidos gomosos mencionados (Figura 18, fotos: d, e, f).

Con microscopio óptico, en corte transversal, fueron observadas alteraciones anatómicas – deformación, fracturas, colapso generalizado de la pared - en la totalidad de las células de ambas zonas del anillo anual, siendo mayor la destrucción en el leño tardío, en la proximidad de los vasos, afectando al parénquima y particularmente a las fibras circundantes. En cuanto a los vasos, aquellos con contenidos – rasgo predominante en el leño temprano - mantuvieron su forma (Figura 19, fotos: a, b). El micelio estuvo ausente a escaso, con mayor desarrollo en los vasos sin contenidos del leño tardío, no obstante, fueron observados depósitos con evidencias de ataque

fúngico (Figura 19, foto: c). Los rasgos descritos también se identificaron en cortes longitudinales radiales y tangenciales (Figura 19, foto: d).

Con luz polarizada, en correspondencia con lo descrito, se evidenció mayor birrefringencia en el leño temprano. En dicha zona, los vasos, las fibras y el parénquima próximo a ellos conservaron su brillo; los radios parenquimáticos perdieron completamente esta propiedad (Figura 19.1, fotos: c, d). Respecto al leño tardío, sólo algunos vasos aparecieron birrefringentes.

Pudrición castaña en *Melia azedarach* L. (Paraíso) Aspecto general y con lupa

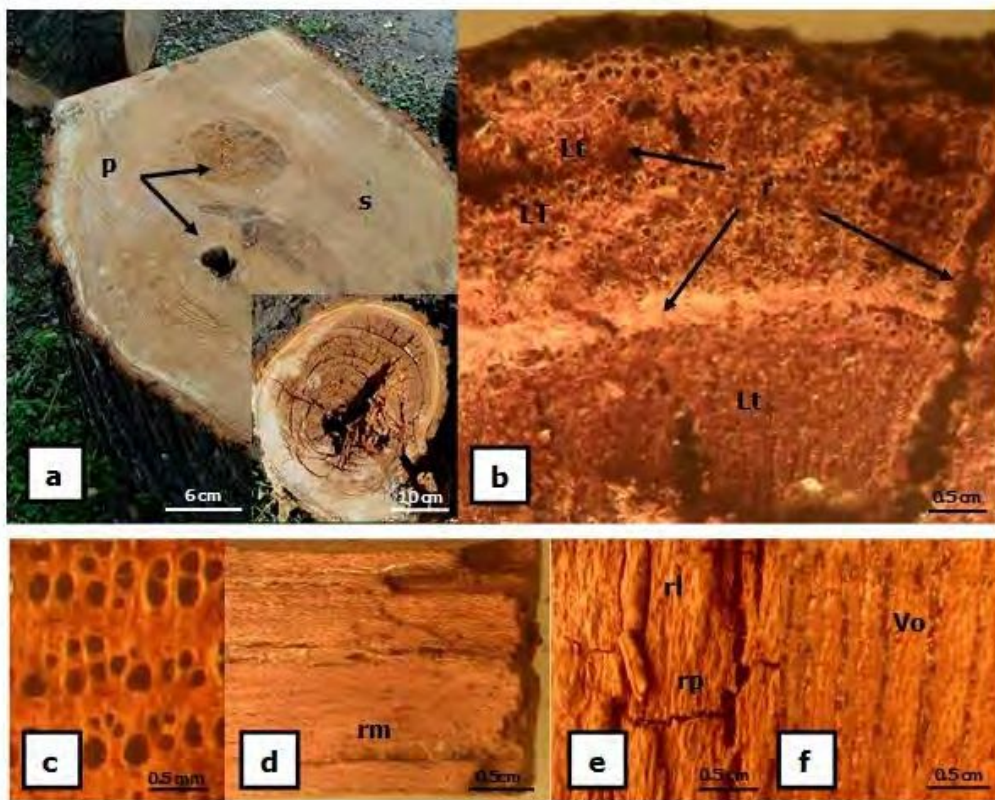


Figura 18. Fotos a - f: madera de paraíso sana y con evidencias de pudrición castaña. Foto a: color característico del duramen sano (s) e indicios de pudrición (p); sección de rama con evidencia de pudrición, aspecto general. Fotos b - f: vista de la madera con lupa (16X). Fotos b, c: vista transversal. Foto b: rajaduras en la transición leño temprano (LT) – leño tardío (Ll) y paralelas a los radios. Foto c: vasos del leño temprano obturados. Fotos d - f: vista longitudinal. Foto d: presencia de micelio (m) en rajaduras (r). Foto e: rajaduras paralelas (rl) y perpendiculares (rp) a la dirección del grano, definiendo patrón de fractura cúbico. Foto f: elementos de vaso obturados (Vo).

Paraíso: pudrición castaña. Observaciones con MO

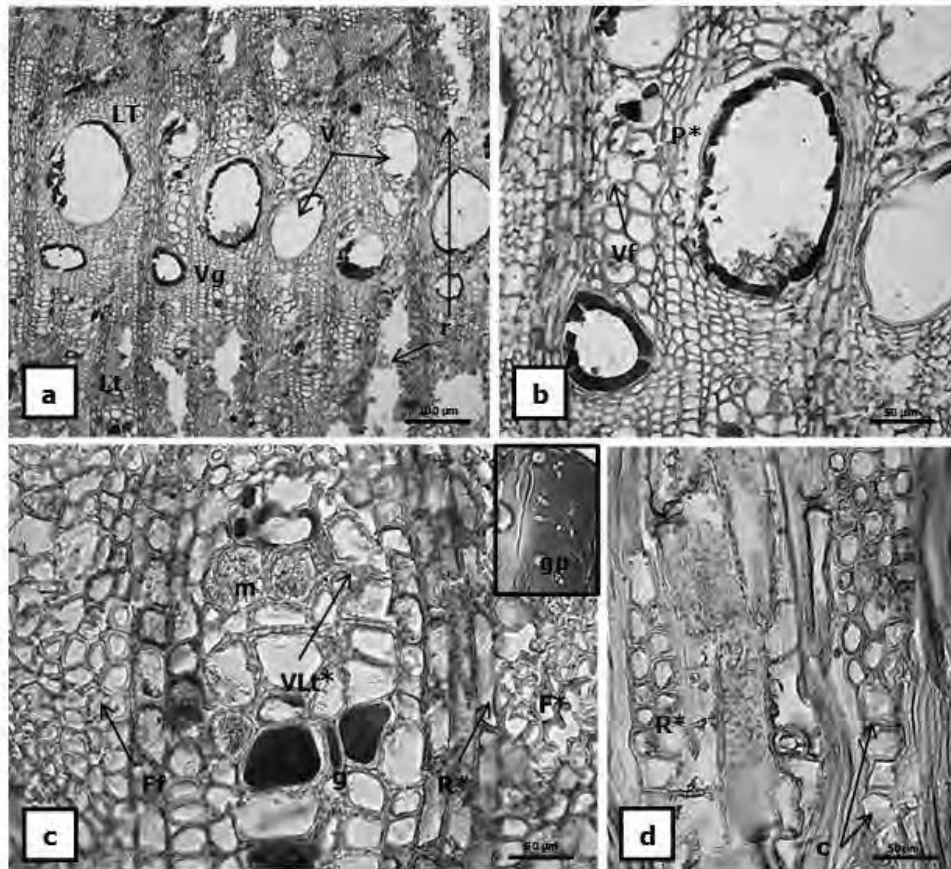


Figura 19. Fotos a – d: leño con evidencias de pudrición castaña. Fotos a – c: corte transversal (CT). Fotos a, b: leño temprano (LT) y tardío (Lt); vasos deformados (V), con contenidos (Vg) y fracturas (Vf); rajaduras por destrucción del tejido (r); colapso en parénquima axial (P*), aspecto general y detalle, respectivamente. Foto c: fracturas en fibras (Ff); colapso y deformación de la pared de las fibras (F*), radios (R*) y vasos del leño tardío (VLT*); vasos con micelio (m) y contenidos gomosos (g), éstos últimos perforados por acción fúngica (gp). Foto d: corte longitudinal tangencial (CLT). Parénquima radial con evidencias de destrucción de parte de la pared (R*); cristales (c) en parénquima axial.

Paraíso: pudrición castaña. Observaciones con MO-Luz polarizada

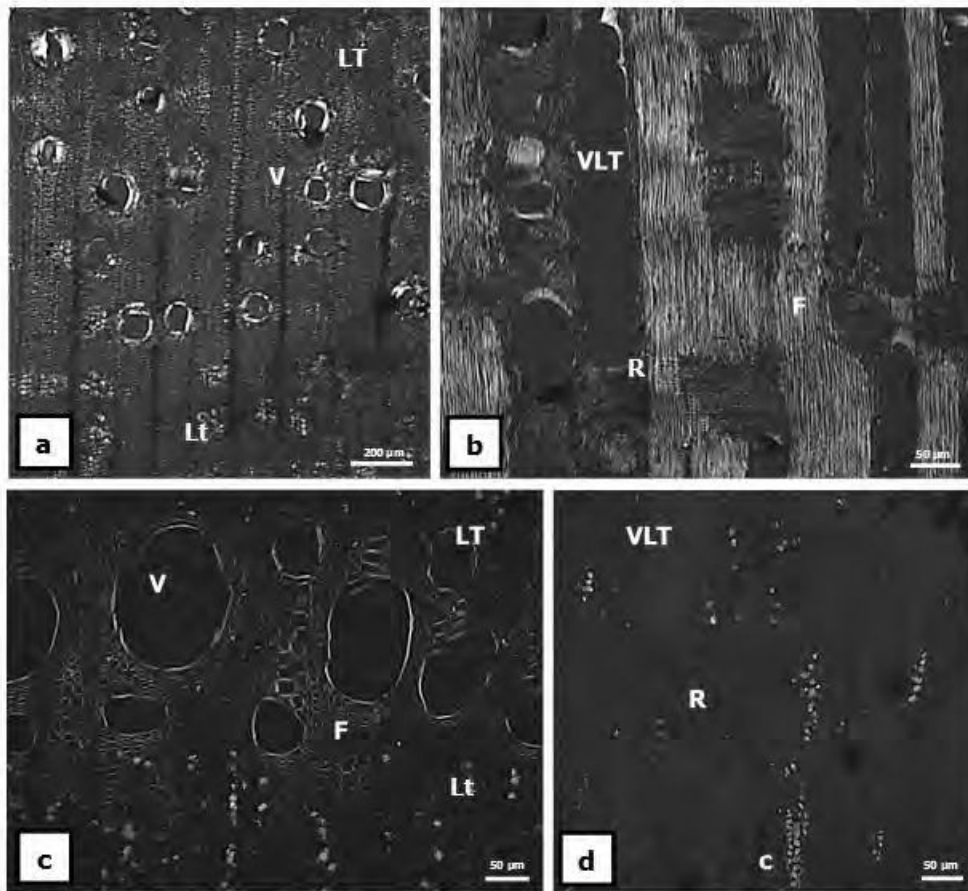


Figura 19.1. Fotos a - d: leño de paraíso bajo luz polarizada. Fotos a, b: secciones de madera testigo. Foto a: corte transversal (CT); leño temprano (LT) y tardío (Lt); vasos (V). Foto b: corte longitudinal radial (CLR); vasos del leño temprano (VLT); radios parenquimáticos (R); fibras (F). Fotos c - d: madera con evidencias de pudrición castaña. Foto c: corte transversal (CT); pérdida de birrefringencia en leño tardío (Lt); leño temprano (LT), birrefringencia en vasos y fibras; pérdida de birrefringencia en radios (R). Foto d: corte longitudinal radial (CLR); pérdida de birrefringencia en vasos del leño temprano (VLT), radios (R) y parénquima axial con cristales (c).

Con microscopio electrónico de barrido, en corte transversal, por sectores de las muestras se identificaron rajaduras con escaso micelio (Figura 20, fotos: a, b). En cuanto a los vasos, se evidenció aquí también su mayor resistencia a la degradación – en particular los de la madera temprana- respecto de las fibras y parénquima radial (Figura 20, fotos: a, b, c). El micelio fue predominante en los vasos sin contenidos y en el parénquima vasicéntrico del leño tardío, en correspondencia con su mayor destrucción en esta zona del leño; se detectaron cristales en parénquima axial (Figura 20, fotos: c, d). En cortes longitudinales radiales y tangenciales se observaron rajaduras longitudinales y perpendiculares al eje mayor de las células comprometiendo la integridad de todos los tipos celulares (Figura 21, foto: e; Figura 22, fotos: j, k); en ocasiones fueron observadas pequeñas rajaduras en la pared de las fibras con origen en las punteaduras o bien siguiendo la dirección de las microfibrillas (Figura 21, foto: g; Figura 22, fotos: l). Se registraron además punteaduras erosionadas, agujeros - producto de la coalescencia de dichas zonas erosionadas - y senderos de erosión en vasos y en parénquima axial y radial (Figura 21, fotos: f, g, h; Figura 22, fotos: i). Entre dichos tipos celulares, la colonización fúngica ocurrió a través de las punteaduras (Figura 22, foto: k). No fueron visualizados “bore-holes” o pequeñas perforaciones asociadas a hifas de diámetro pequeño (1.2 μm).

Paraíso: pudrición castaña. Observaciones con MEB

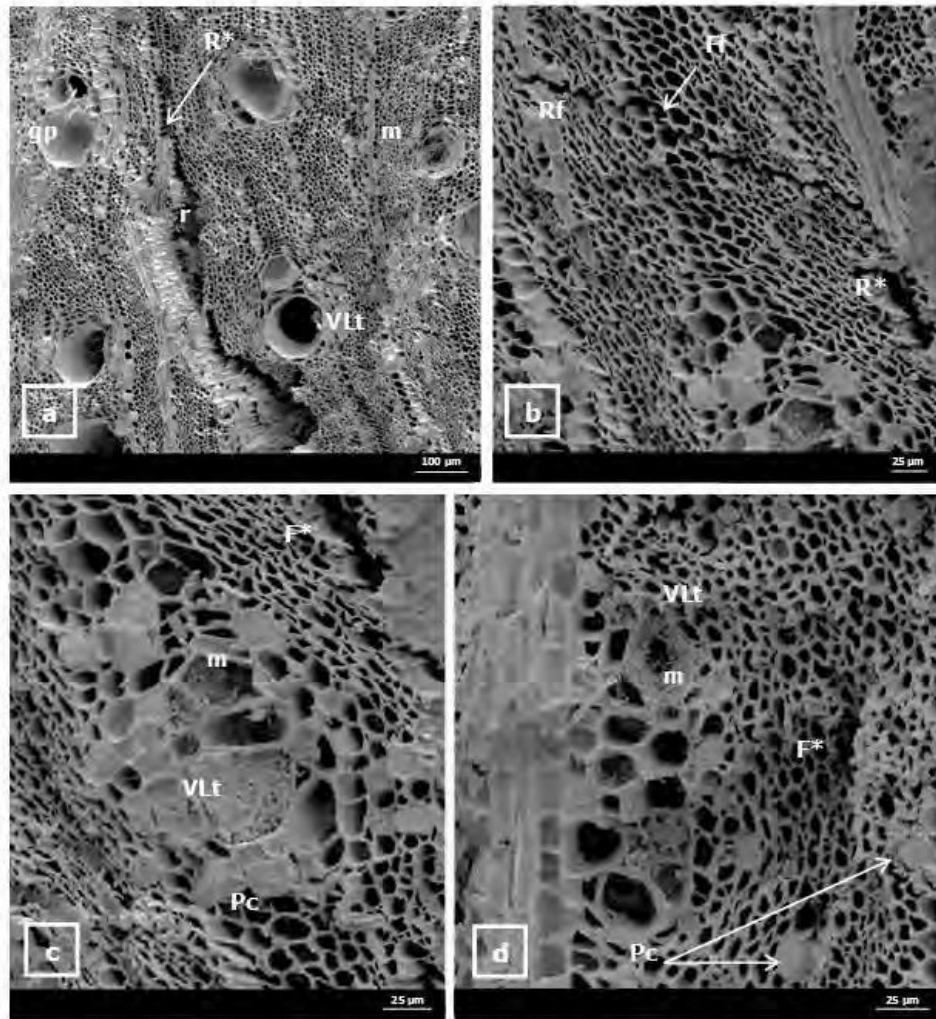


Figura 20. Fotos a - d: corte transversal (CT) de leño con evidencias de pudrición castaña. Foto a: rajadura (r); vasos del leño temprano (VLT) con contenidos gomosos perforados (gp) y micelio (m); colapso de radio (R*). Foto b: fractura (f) comprometiendo la pared del radio y de las fibras (FF); colapso del parénquima radial (R*) definiendo rajaduras incipientes. Foto c: detalle de micelio (m) en vaso del leño tardío (VLT); cristales en parénquima axial (Pc); colapso de la pared de las fibras (F*) definiendo rajadura incipiente. Foto d: detalle micelio (m) en vasos del leño tardío (VLT) y cristales en parénquima axial (Pc).

Paraíso: pudrición castaña. Observaciones con MEB

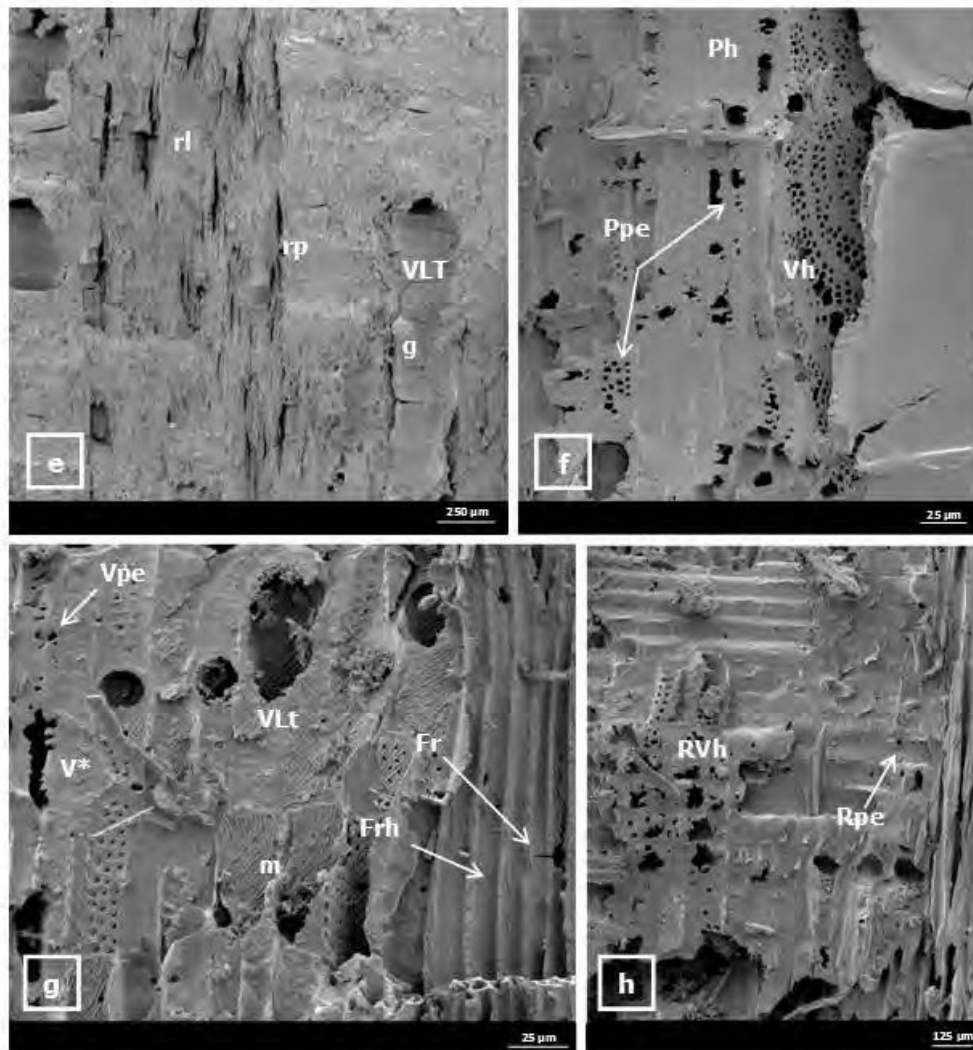


Figura 21. Fotos e - h: corte longitudinal radial (CLR) de leño con evidencias de pudrición castaña. Foto e: rajaduras longitudinales (rl) y perpendicular (rp); vasos del leño temprano (VLT) con contenidos gomosos (g). Foto f: parénquima axial, agujeros (Ph) y punteaduras erosionadas (Ppe); agujeros en vasos (Vh) por coalescencia de punteaduras erosionadas. Foto g: vasos del leño tardío (VLT) con síntomas de erosión de la pared (V*), micelio (m) y punteaduras erosionadas (pe); rajaduras en fibras (Fr; Frh: helicoidales). Foto h: agujeros en intersección radio-vaso (RVh); punteaduras erosionadas en células radiales (Rpe).

Paraíso: pudrición castaña. Observaciones con MEB

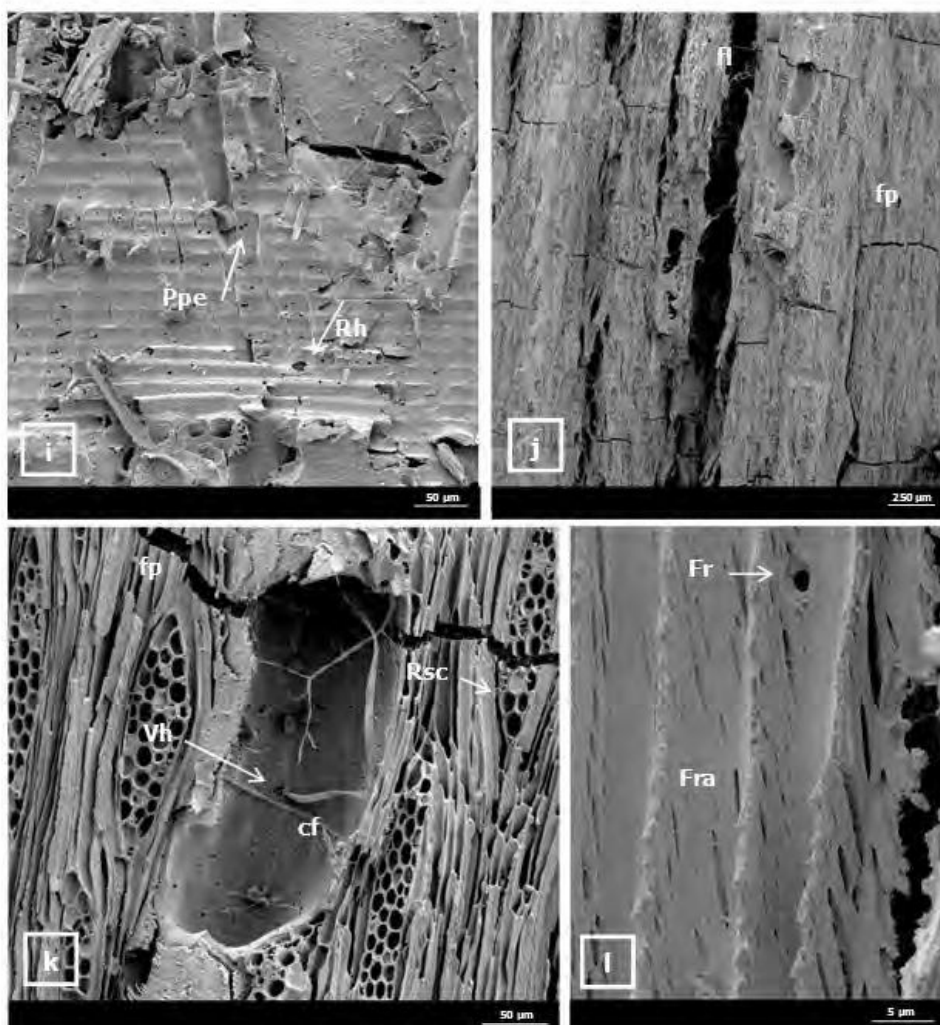


Figura 22. Fotos i - l: corte longitudinal de leño con evidencias de pudrición castaña. Foto i: corte radial (CLR); agujeros en parénquima radial (Rh); punteaduras erosionadas en parénquima axial (Ppe). Fotos i - l: corte tangencial (CLT). Foto j: fractura longitudinal (fl) y perpendicular (fp) al eje mayor de las células. Foto k: fractura perpendicular (fp) a nivel vaso, radio y fibras; agujero en vaso (Vh) por erosión de punteadura; colonización fúngica (cf); separación celular a la altura de los radios (Rsc). Foto l: fibras, rajadura a nivel punteadura (Fr); rajaduras siguiendo el ángulo microfibrilar (Fra).

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murr.

Robinia pseudoacacia L.

Material muestreado: madera proveniente de fuste de ejemplar en pie, vivo, con evidencias de deterioro en cuanto a su aspecto y consistencia, en más del 50% del duramen expuesto; ausencia de basidiomas; micelio por zonas del material (Figura 23, foto: a).

Macroscópicamente, a ojo desnudo, la madera presentó color castaño rojizo (Figura 23, foto: b) y patrón de fractura cúbico dado por la presencia de rajaduras longitudinales y perpendiculares a la dirección del grano, las cuales aparecieron colonizadas por micelio (Figura 23, foto: c).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en vistas transversales y longitudinales, se identificó escaso desarrollo micelial limitado a las rajaduras. No obstante, se registraron abundantes clamidosporas, a modo de eflorescencias pardas, ferruginosas. Los vasos presentaron tñlides en ambos sectores del anillo y aparecieron libres de colonización fúngica (Figura 23, foto: d, e, f).

Con microscopio óptico, en corte transversal, fue observada mayor deformación y colapso en vasos y células circundantes – fracturas y en casos extremos destrucción generalizada de la pared celular - por sectores del leño tardío. En la zona de la madera temprana, el parénquima evidenció mayor resistencia al ataque fúngico. El desarrollo de micelio fue muy escaso a ausente (Figura 24, fotos: a, b, c). En cortes longitudinales radiales y tangenciales, se observó el recorrido sinuoso de todos los elementos celulares, más acentuado en las fibras del leño tardío, en correspondencia con la deformación observada en corte transversal. En dicha zona fueron registradas además “islas” de destrucción total del tejido comprometiendo a los vasos, las fibras, y al parénquima axial y radial (Figura 24, foto: d).

Con luz polarizada, tanto los vasos como el parénquima axial y radial, en particular los pertenecientes al leño temprano, presentaron birrefringencia, lo cual puso de manifiesto la descomposición diferencial de la celulosa entre tipos celulares y sectores del anillo de crecimiento (Figura 24.1, fotos: c, d).

Pudrición castaña en *Robinia pseudoacacia* L. (Falsa acacia)

Aspecto general y con lupa



Figura 23. Fotos a - f: evidencias de pudrición castaña. Foto a: ejemplar con pudrición en fuste y ramas. Foto b: duramen sano (s) y con evidencias de pudrición (d). Foto c: aspecto macroscópico de la madera deteriorada; coloración castaña, patrón de fractura cúbico y micelio (m). Fotos d - f: vistas con lupa (16X). Foto d: vista transversal; micelio limitado a las rajaduras (rm). Fotos e y f: vista longitudinal. Foto e: rajaduras colonizadas por micelio (rm). Foto f: vasos con tílides (Vt), carentes de micelio.

Falsa acacia: evidencias de pudrición castaña. Observaciones con MO

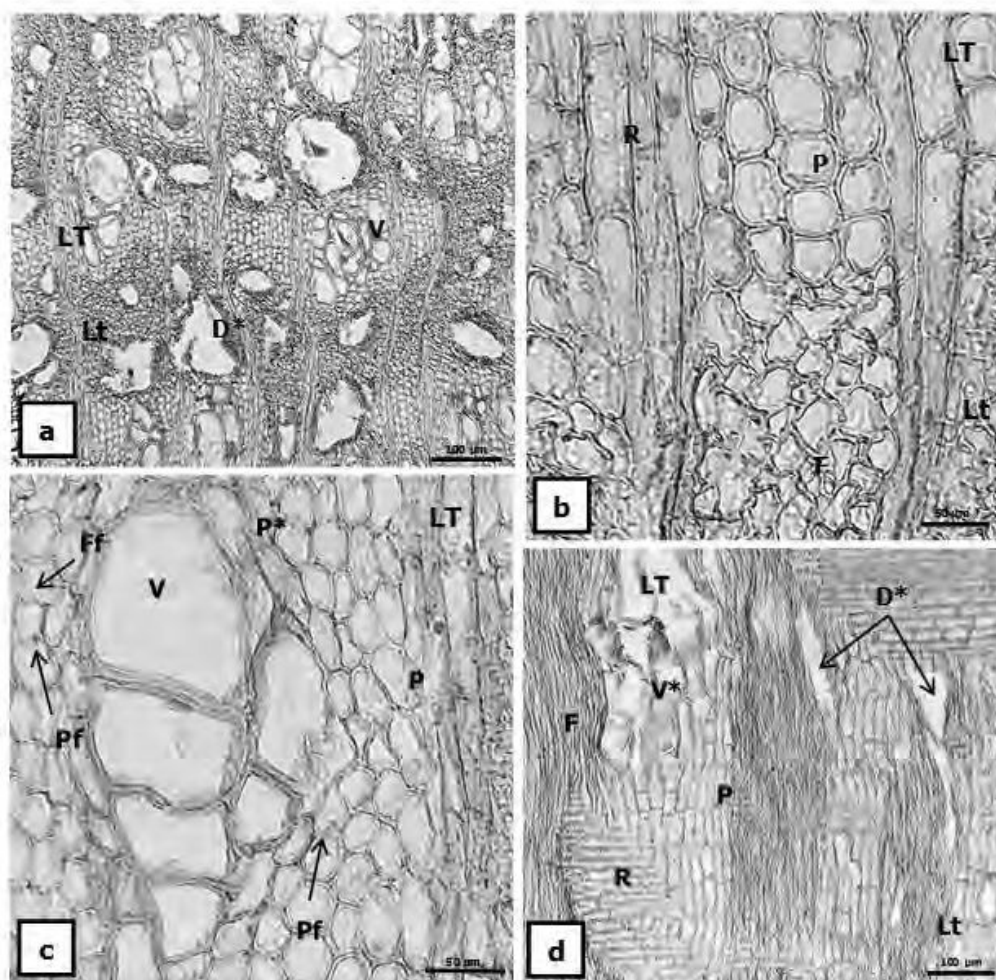


Figura 24. Fotos a – d: leño con pudrición castaña. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: deformación y colapso diferencial entre zonas del anillo, aspecto general; leño temprano (LT) y tardío (Lt); vasos deformados (V); total degradación del leño (D*). Foto b: zona de transición leño temprano (LT) y tardío (Lt), detalle; nótese deformación diferencial entre sectores y tipos celulares: parénquima axial (P) y radial (R), deformación menos pronunciada respecto de las fibras (F) y parénquima (R) del Lt. Foto c: leño temprano (LT); deformación de vasos (V) y células parenquimáticas (P); colapso parénquima vasicéntrico (P*); fractura en fibra (Ff) y parénquima (Pf). Foto d: corte longitudinal radial (CLR); recorrido sinuoso más pronunciado en las fibras (F) del leño tardío (Lt), respecto del parénquima radial (R) y axial (P) del leño temprano (LT); áreas del Lt con evidencias de completa degradación (D*); colapso de vasos (V*).

Falsa acacia: evidencias de pudrición castaña.

Observaciones con MO-Luz Polarizada

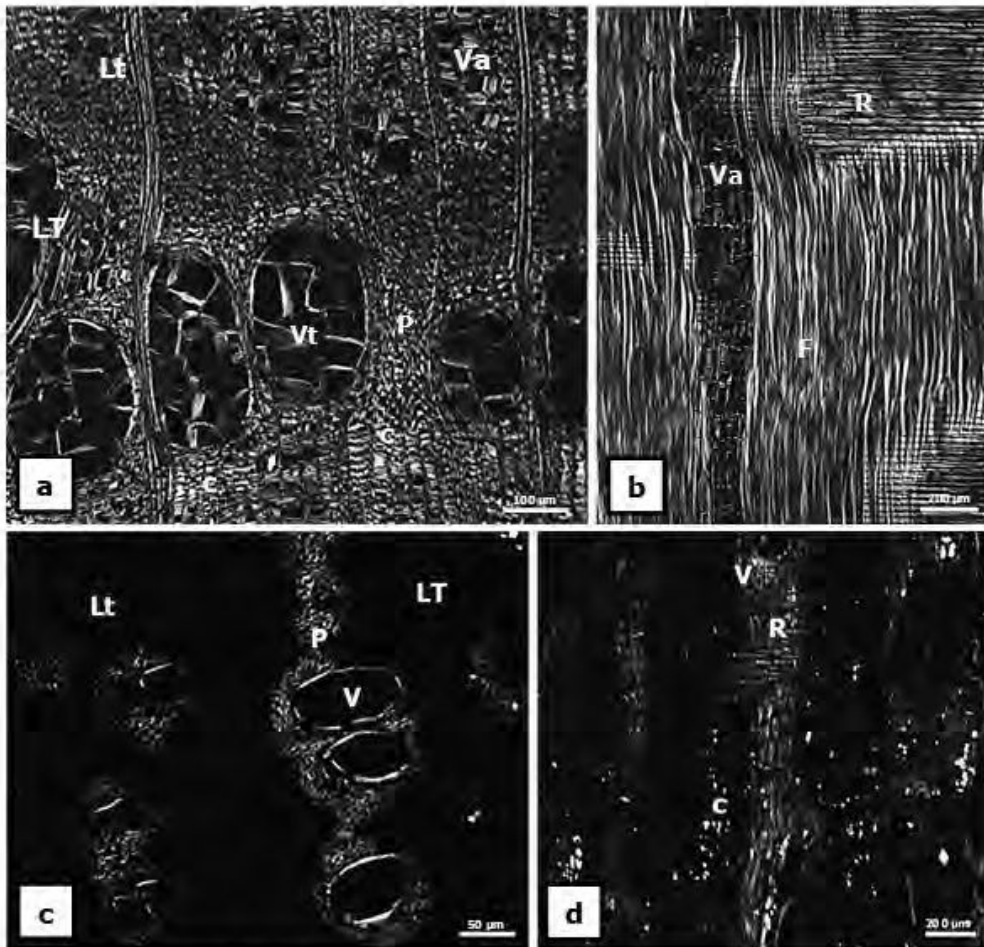


Figura 24.1. Fotos a - d: leño de falsa acacia bajo luz polarizada. Fotos a, b: corte transversal (CT) y longitudinal radial (CLR) respectivamente, de madera testigo; leño temprano (LT) y tardío (Lt); vasos solitarios con tílides (Vt), agrupados (Va), fibras (F) y radios (R) birrefringentes; cristales (c) abundantes. Fotos c, d: corte transversal (CT) y longitudinal radial (CLR) respectivamente, de madera con evidencias de pudrición; vasos (V), parénquima axial (P) y radial (R) conservan su birrefringencia; cristales (c).

Con microscopio electrónico de barrido, en corte transversal, se observó en los vasos tanto del leño temprano como del tardío escaso micelio asociado a clamidosporas y, cuando presentes, tílides perforadas por el tejido fúngico (Figura 25, foto: a). Asimismo, fracturas en la totalidad de las células (Figura 25, foto: b) y colapso celular por zonas de la madera tardía (Figura 25, foto: b). En cortes longitudinales radiales y tangenciales los vasos, las fibras y el parénquima axial y radial presentaron agujeros, fracturas y punteaduras erosionadas (Figura 25, foto: d; Figura 26, fotos: e, f). No fueron visualizados "bore-holes" o pequeñas perforaciones asociadas a hifas de diámetro pequeño ($1.2\ \mu\text{m}$). El micelio y las clamidosporas estuvieron presentes en vasos y en el parénquima axial y radial de la madera temprana y tardía.

Falsa acacia: evidencias de pudrición castaña. Observaciones con MEB

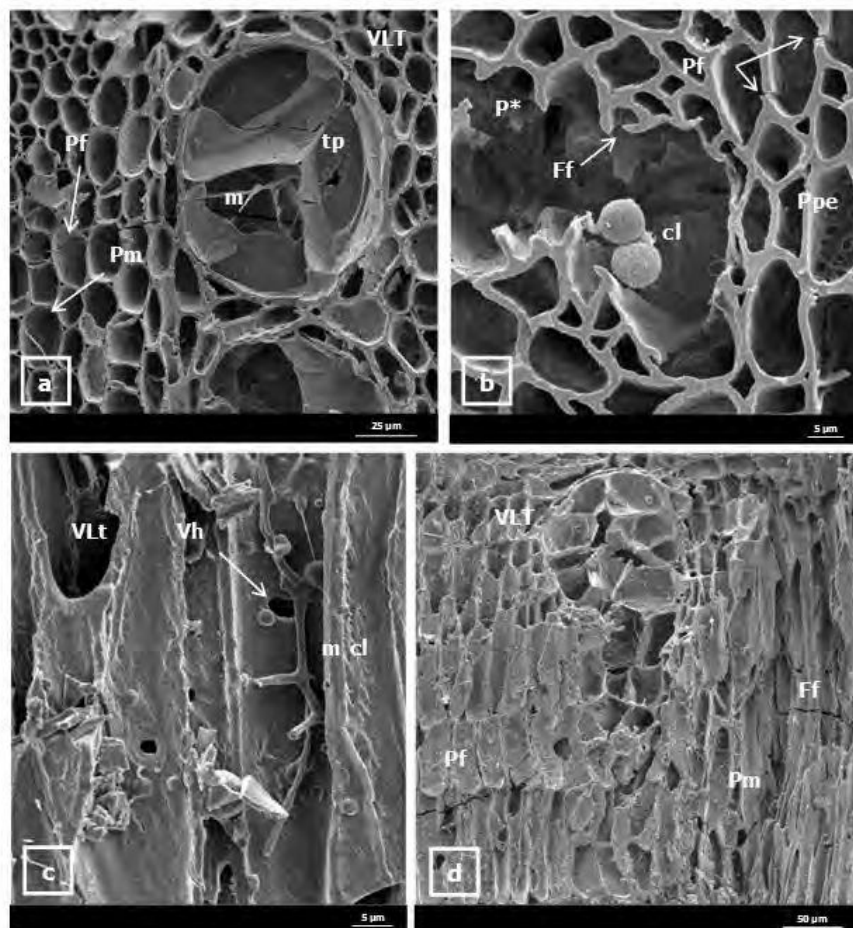


Figura 25. Fotos a – d: leño con evidencias de pudrición castaña. Fotos a - b: corte transversal (CT). Foto a: vasos del leño temprano (VLT) con tílides perforadas (tp), colonizados por micelio (m); fracturas en parénquima axial (Pf) y micelio (Pm). Foto b: fracturas en fibra (Ff); colapso del parénquima axial (P*); fracturas (Pf) y punteaduras erosionadas (Ppe) en parénquima axial; clamidosporas (cl). Fotos c - d: corte longitudinal radial (CLR). Foto c: vasos del leño tardío (VLT) colonizados por micelio (m) y clamidosporas (cl); agujero en vaso (Vh). Foto d: vaso del leño temprano (VLT) con tílides (t), colonizados por micelio (m); fracturas (f) y micelio (m) en parénquima (P); fracturas en fibras (Ff).

Falsa acacia: evidencias de pudrición castaña. Observaciones con MEB

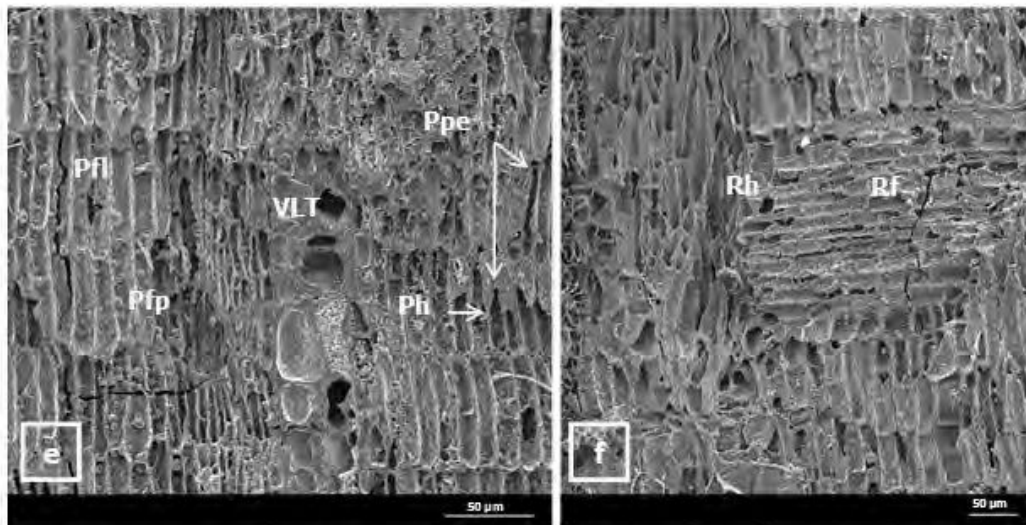


Figura 26. Fotos e, f: rasgos de pudrición castaña en corte longitudinal radial. Foto e: parénquima axial, fracturas longitudinales (Pfl) y perpendiculares (Pfp) a la dirección del grano; agujeros en la pared celular (Ph); punteaduras erosionadas (Ppe). Foto f: agujeros (h) y fracturas (f) en radios xilemáticos (R).

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murr.

Tilia x viridis (Bayer) Simonk. subsp. *moltkei* (Dippel) Xifreda

Material muestreado: madera proveniente de rama de primer orden de ejemplar volcado con evidencias de pudrición en cuanto a su aspecto y consistencia - se transformó en polvo al presionarla entre los dedos -; deterioro en la totalidad del duramen expuesto; ausencia de basidiomas; micelio en madera deteriorada.

Macroscópicamente, a ojo desnudo, la madera presentó color castaño y un patrón de fractura cúbico debido a la presencia de rajaduras longitudinales y perpendiculares a la dirección del grano, colonizadas por micelio (Figura 27, foto: a).

Estudios a nivel microscópico

Con lupa, en vistas transversales y longitudinales, el rasgo característico fue la presencia de fracturas colonizadas por micelio, el cual también fue observado en los vasos (Figura 27, fotos: b - e).

Con microscopio óptico, en corte transversal y por sectores de las muestras, se identificó la deformación de la totalidad de los tipos celulares: vasos, fibras y parénquima radial (Figura 28, fotos: a - c), los cuales además presentaron fracturas o bien colapso generalizado definiendo zonas con total destrucción (Figura 28, fotos: a - c). En cortes longitudinales radiales y tangenciales el recorrido sinuoso producto de la deformación celular fue en particular evidente en vasos y fibras (Figura 28, foto: d). La colonización fúngica se produjo principalmente a través de los vasos.

Con luz polarizada, por sectores del tejido, sólo los vasos presentaron birrefringencia lo cual puso de manifiesto la descomposición diferencial de la celulosa entre tipos celulares (Figura 28.1, fotos: c, d).

Pudrición castaña en *Tilia x viridis* subsp. *moltkei* (Tilo moltkei)
Aspecto general y con lupa

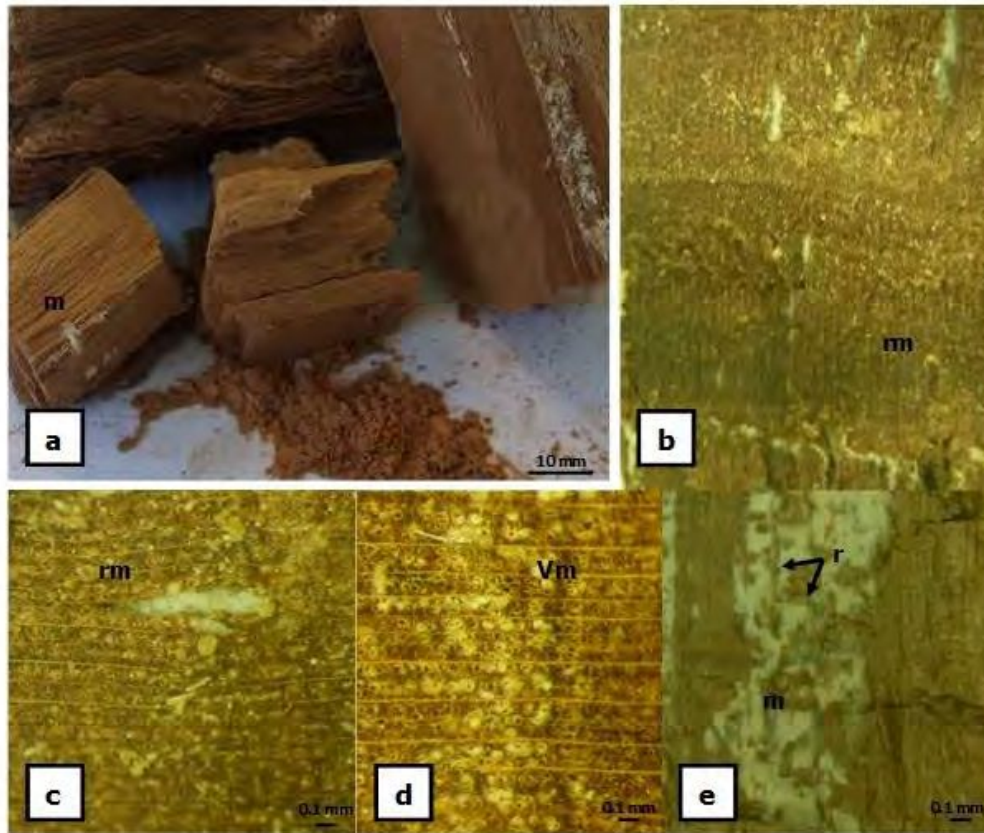


Figura 27. Fotos a – e: madera con rasgos de pudrición castaña. Foto a: aspecto macroscópico (coloración castaña, patrón de fractura cúbico, micelio en rajaduras y evidencia de su frágil consistencia; bajo presión se transformó en polvo). Fotos b - e: aspecto del leño deteriorado con lupa (16X). Fotos b - d: vista transversal. Fotos b, c: micelio en rajaduras (mr), aspecto general y detalle, respectivamente. Foto d: micelio en vasos (Vm). Foto e: vista longitudinal; micelio en zona de fractura paralela a los radios; patrón de fractura cúbico por diferenciación de rajaduras (r) paralelas y perpendiculares al eje longitudinal.

Tilo moltkei: pudrición castaña. Observaciones con MO

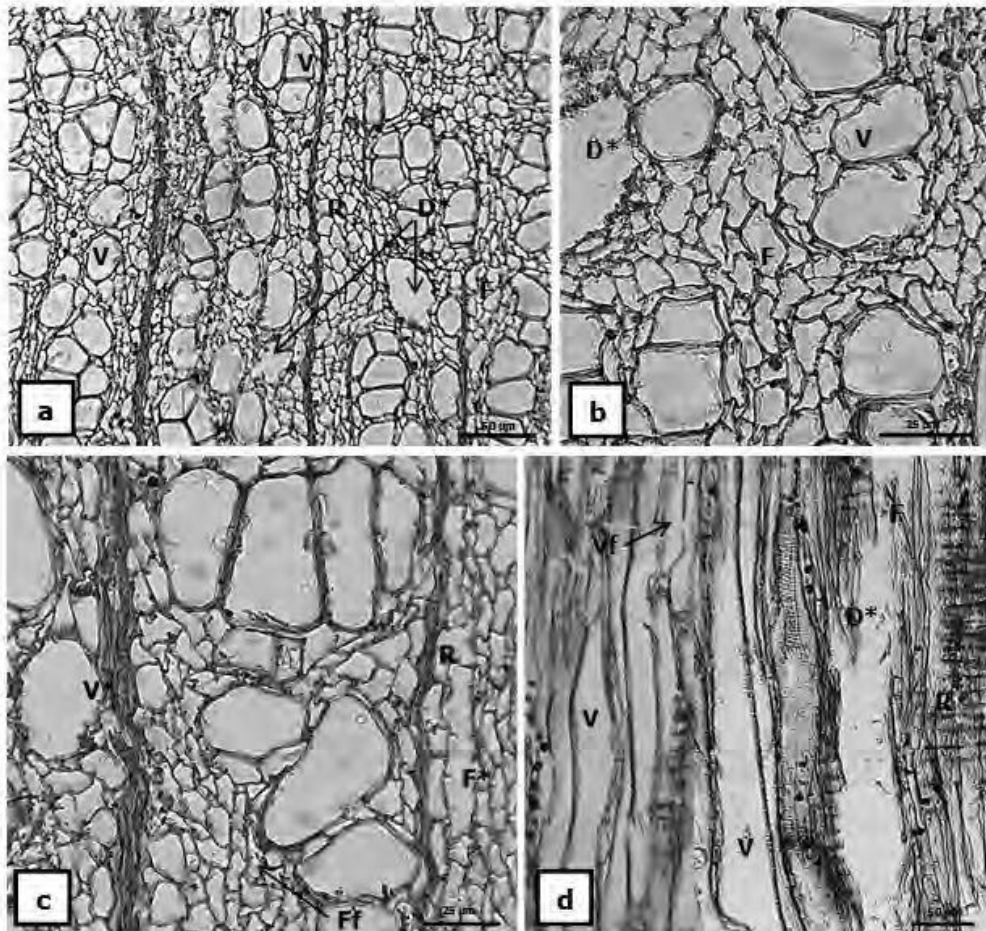


Figura 28. Fotos a - d: leño con evidencias de pudrición castaña. Fotos a - c: corte transversal (CT). Foto a: deformación generalizada del tejido; vasos (V) y fibras (F) deformados; radios (R) con recorrido sinuoso; colapso celular (D*), aspecto general. Fotos b y c: detalle CT. Foto b: deformación de la pared de los vasos (V) y fibras (F); zonas del leño totalmente colapsadas (D*). Foto c: recorrido sinuoso del parénquima radial (R); fibras, colapso (F*) y fractura (Ff) de la pared celular; colapso de vasos (V*). Foto d: corte longitudinal radial (CLR). Vasos (V), con recorrido sinuoso; fractura en vaso (Vf); colapso de radios (R); áreas con destrucción total de los distintos tipos celulares (D*).

Tilo moltkei: pudrición castaña. Observaciones con MO-Luz Polarizada

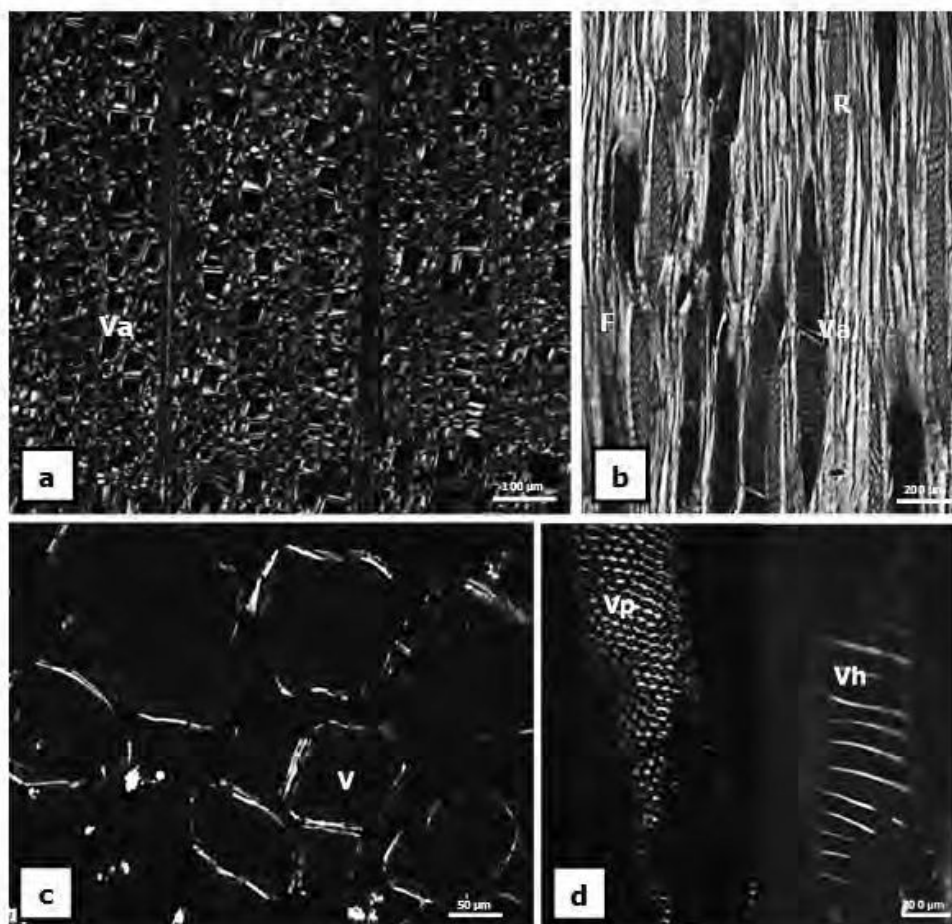
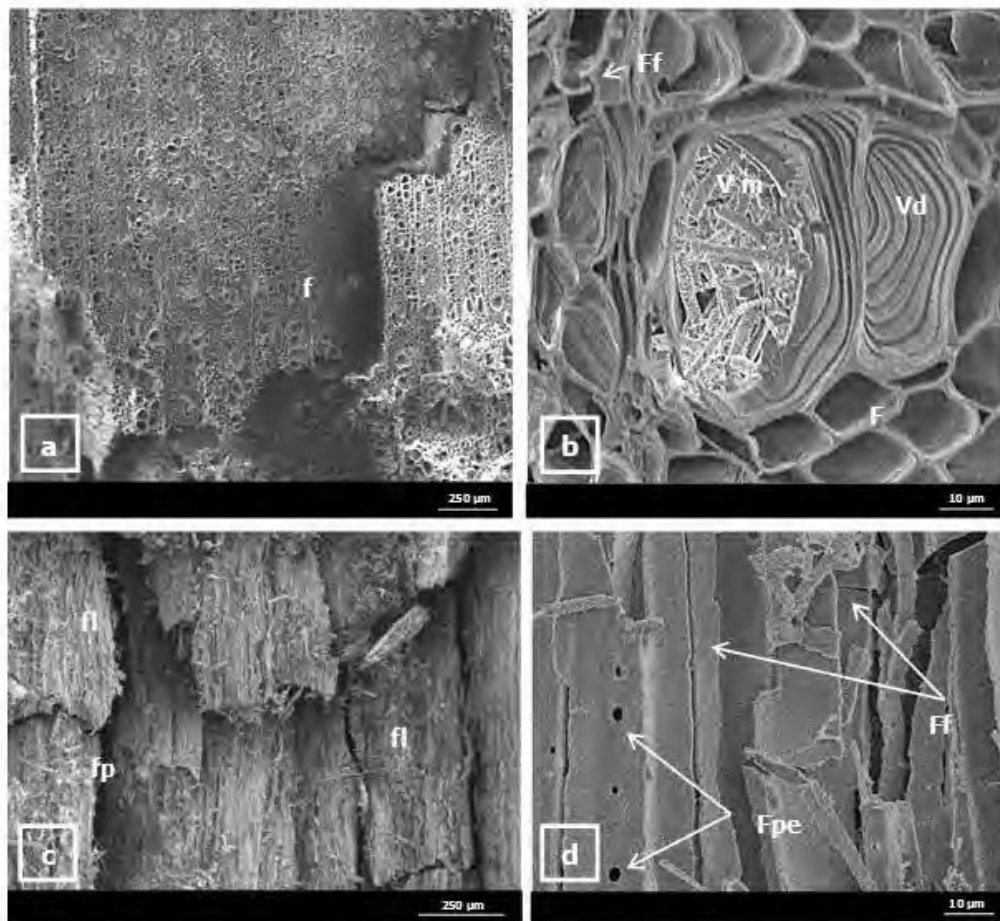


Figura 28.1. Fotos a - d: leño de tilo moltkei bajo luz polarizada. Fotos a, b: corte transversal (CT) y longitudinal tangencial (CLT) respectivamente, de madera testigo; birrefringencia en la totalidad de la muestra, particularmente notable en los vasos agrupados (Va), en sus espesamientos helicoidales, y en las fibras (F). Fotos c, d: corte transversal (CT) y longitudinal tangencial (CLT) respectivamente, de madera con evidencias de pudrición; pérdida de birrefringencia en fibras y parénquima; birrefringencia en elementos de vaso (V); birrefringencia en punteaduras (Vp) y espesamientos helicoidales (Vh).

Con microscopio electrónico de barrido, en corte transversal fue observado, como ya se indicó, el patrón de fractura cúbico del tejido, su deformación, como así también la presencia de fracturas y el colapso generalizado de vasos, fibras y parénquima (Figura 29, fotos: a, b). En cortes longitudinales radiales y tangenciales, además de las características enumeradas, punteaduras erosionadas y agujeros fueron también observados (Figura 29, foto: c, d). Si bien el micelio y las clamidosporas se presentaron en la totalidad de las células, éstos fueron particularmente abundantes en los vasos libres de tñides. No fueron visualizados "bore-holes" o pequeñas perforaciones asociadas a hifas de diámetro pequeño (1.2 μm).

Tilo moltkei: pudrición castaña. Observaciones con MEB



Fotos a – d: caracteres de diagnóstico de pudrición castaña en leño de tilo. Fotos a – b: corte transversal (CT). Foto a: patrón de fractura cúbico, aspecto general. Foto b: deformación del tejido; vasos (V) y fibras (F) deformados; micelio en vaso (Vm); fractura en fibra (Ff). Fotos c - d: corte longitudinal radial (CLR). Foto c: fracturas paralelas (fl) y perpendiculares (fp) al grano, aspecto general. Foto d: fibras, punteaduras erosionadas (Fpe) y fracturas (Ff).

DISCUSIÓN

En las especies leñosas abordadas en esta sección, fue identificado sólo el hongo xilófago *Laetiporus sulphureus* causando pudrición castaña en duramen. Lo observado en cuanto al tipo y localización de las pudriciones, se corresponde con lo citado por diversos autores sobre el daño producido por este patógeno en especies de latifoliadas y gimnospermas de otras regiones del mundo, así como en ámbitos urbanos de nuestro país (Rayner & Boddy, 1988; Sede & López, 1999; Schwarze, 2004; Urcelay et al., 2012). La ubicación de los basidiomas, la localización del deterioro, como también las heridas observadas - en particular las que evidencian prácticas de poda - son compatibles con el tipo de pudrición y la estrategia de colonización conocida para la especie. *Laetiporus sulphureus* es considerado principalmente como patógeno responsable de pudriciones de copa — ramas como lugar de origen de la pudrición y evolución descendente —, con estrategia de colonización “heart rot” - pudrición del duramen -, en la cual el establecimiento se inicia con la llegada de esporas a heridas con duramen expuesto (Rayner & Boddy, 1988).

Los caracteres macroscópicos observados en las maderas analizadas — color castaño, patrón de fractura cúbico, presencia de micelio — así como su fragilidad, son considerados indicadores de estadios avanzados de pudrición castaña (Wilcox, 1968; Anagnost, 1998; Schwarze, 2007). En este tipo de deterioro, la despolimerización de los carbohidratos provoca la deshidratación del tejido y, como consecuencia, su encogimiento y ruptura siguiendo un patrón cúbico característico. La madera degradada queda constituida por un frágil marco de lignina que se desintegra bajo presión. Por su parte, la oxidación parcial de la lignina otorga la coloración castaña – parda - que caracteriza y da el nombre a este tipo de deterioro (Zabel & Morrell, 1992; Blanchette, 1995).

A nivel macro y microscópico, la visualización de agregaciones de conidios, clamidosporas y abundante micelio en los leños analizados también es indicador de pudrición avanzada, y coincide con lo observado por Schwarze et al. (2000b) en el duramen de *Robinia pseudoacacia* naturalmente infectado por *L. sulphureus*. Según Blanchette (1995), durante los primeros estadios del proceso de degradación por cepas de pudrición castaña, las hifas son escasas y dispersas dentro de los lúmenes celulares, tornándose más abundantes a medida que la degradación avanza.

La estrategia y el patrón de colonización del hongo estarían relacionados con su capacidad enzimática y con la estructura de la madera (Zabel & Morrell, 1992).

En el presente estudio se evidenció una mayor concentración de micelio en los vasos y radios en todas las muestras (incluidos los poseedores de contenidos), con un predominio en los vasos de mayor diámetro del leño temprano en álamo, fresno y acacia, causando en las dos primeras la demarcación pronunciada de esta zona del anillo. Este patrón de colonización coincide con lo observado por Schwarze et al. (2000b) en madera de otras latifoliadas degradadas por *L. sulphureus*.

Las características del leño — tipos celulares, distribución, diámetro de los vasos, contenidos celulares, grado de lignificación — condiciona la presencia micelar (Boddy & Rayner, 1983; Schwarze et al., 1997; Schwarze & Fink, 1998; Schwarze, 2007). En términos generales, en las latifoliadas, la colonización de la madera se produce a través del sistema axial (vasos particularmente) y de las células parenquimáticas radiales (sistema radial). En especies de porosidad circular, los vasos del leño temprano constituyen una ruta rápida para la colonización axial; en oposición, en el leño tardío, el mayor espesor de la pared de las fibras afecta negativamente la dispersión radial del hongo, teniendo en cuenta que el ataque inicial a la celulosa es mediante un sistema difusible que concentra su acción en el estrato S2 de la pared (Schwarze et al., 1997; 2000b). Caracteres como la destrucción completa de la pared celular originando agujeros y la presencia de senderos de erosión - en álamo - podrían asociarse a la coalescencia de punteaduras erosionadas, también reconocidas vías de colonización del sustrato y rasgos típicos de estadios avanzados de degradación (Wilcox, 1968, 1993a, b; Anagnost, 1998).

La presencia de extraíbles en los lúmenes celulares — situación frecuente en el duramen y observada en algunas de las muestras analizadas — conforman barreras a la colonización, si bien existen antecedentes en torno a la capacidad de ciertos hongos de superarlas mediante su destrucción o con estrategias alternativas de degradación (Shigo & Marx, 1977; Boddy & Rayner, 1983; Schwarze & Fink, 1997; 1998). En la madera de paraíso, los vasos del leño temprano mostraron obstrucción por contenidos, por lo cual se infiere que el micelio se concentró en el leño tardío. No obstante, *L. sulphureus* es reconocido por su capacidad de degradar los extraíbles de la madera (Rayner & Boddy, 1988; Schwarze et al., 2000b). En este estudio, la perforación de los contenidos gomosos y de las tñides por parte del micelio constituyen evidencias de ello.

Asimismo, la deformación y el colapso del tejido resultantes de la actividad fúngica se corresponden con las particularidades anatómicas de cada leño. En este sentido, la mayor deformación y colapso observados en la madera de álamo y tilo

podrían asociarse a la ausencia de contenidos celulares, el poco espesor de las paredes de las fibras (muy delgadas, InsideWood Database) y a los estrechos radios parenquimáticos. Por su parte, la menor deformación y colapso registrados en fresno, eucalipto, acacia y paraíso coincide con la presencia de contenidos en los vasos y en el parénquima axial y radial — tñlides, compuestos gomosos, cristales —, así como con el mayor espesamiento de las paredes de sus fibras (delgadas a espesas, InsideWood, Database) y con el mayor ancho de sus radios parenquimáticos. Los contenidos celulares, el grado de lignificación y las características de los radios limitan la contracción del tejido (Hillis, 1987; Rivera & Lenton, 1999).

La separación celular es una característica observada ocasionalmente en maderas con pudrición castaña causada por distintas especies xilófagas (Wilcox, 1968; Murace et al., 2006). En el presente trabajo, la misma fue identificada en eucalipto — raíz - y en la madera de fresno a la altura de los radios parenquimáticos — entre sus células constituyentes — como también en la intersección radios/fibras circundantes, posiblemente como producto de la acción mecánica del micelio en esa zona del tejido. Schwarze et al. (2000b) también observaron colapso mecánico a nivel radios parenquimáticos en madera de *R. pseudoacacia* naturalmente infectada por *L. sulphureus*. Por su parte, Wilcox (1993a) considera que esta característica no puede ser considerada como rasgo de diagnóstico ya que no se manifiesta con regularidad, en correspondencia con lo observado en esta investigación.

En relación a la birrefringencia, la pérdida de esta propiedad fue prácticamente total en las maderas analizadas, en asociación con estadios avanzados de pudrición castaña. Autores como Wilcox (1968; 1993a; b) y Anagnost (1998) consideran la pérdida de esta característica como la evidencia más relevante para el diagnóstico de pudrición castaña. Existen antecedentes sobre el comportamiento diferencial de la degradación dentro del anillo anual, así como entre distintos tipos celulares, debidos a diferencias en el grado de lignificación de las paredes y en la disposición de las microfibrillas de celulosa. En el leño tardío, la mayor lignificación de las células conforma una barrera física que limita/retarda la difusión de los hongos de pudrición castaña, dada su actividad mediante un sistema difusible que concentra su acción sobre los carbohidratos del estrato S2 de la pared (Rayner & Boddy 1988; Schwarze et al., 2003; Schwarze, 2007). Respecto de las microfibrillas, su disposición radial en el estrato S2 de la pared de las fibras y traqueidas contribuye con la difusión de los agentes de degradación, rasgo ausente en el parénquima y en los elementos de vaso (Schwarze et al., 2000a; b; 2003). Esto permitiría explicar la pérdida de birrefringencia

en las fibras de la totalidad de los leños y, cuando presentes, en las traqueidas, en ambos sectores del anillo, y su persistencia en los vasos. Respecto del parénquima — tanto axial como radial — la pérdida de birrefringencia fue prácticamente total en las muestras analizadas lo cual también se asociaría con el avanzado estado de degradación y el rol del parénquima en la colonización fúngica (Boddy & Rayner, 1983). No obstante, en ocasiones el parénquima vasicéntrico conservó su brillo en muestras de fresno, paraíso y acacia. La pérdida de birrefringencia – celulólisis – causada por estos hongos, principalmente en las paredes de las fibras, contribuye a comprender y explicar la pérdida de resistencia de las maderas afectadas por este tipo de deterioro y a pensar en los efectos negativos en la estabilidad de un ejemplar o alguna de sus partes.

En las pudriciones castañas, la rápida e incipiente destrucción de los carbohidratos determina la disminución drástica de las propiedades de resistencia de la madera, lo cual atenta contra la estabilidad de los ejemplares, poniendo en riesgo a la población, sus bienes y servicios en el contexto urbano (Schwarze et al., 2000a). *Laetiporus sulphureus* es un patógeno frecuente del arbolado urbano, reconocido por disminuir notablemente la capacidad resistente de las maderas naturalmente infectadas (Schwarze & Fink, 1994; Schwarze, 1995, tomados de Schwarze et al., 2000b). Debe tenerse en cuenta que, ante situaciones de pudrición total del duramen, si bien el riesgo de quiebre y vuelco es elevado, éste depende de numerosos factores. En un árbol vigoroso, el cambium y la albura intacta garantizan que un árbol crezca en diámetro y de este modo sea compensada la destrucción causada por el hongo xilófago (Boddy & Rayner, 1983; Sterken, 2005).

CONCLUSIONES

Las pudriciones castañas consideradas en esta investigación resultaron homogéneas en cuanto al color, patrón de ruptura, consistencia y a las alteraciones químico/micro-estructurales que presentaron. La totalidad de las maderas presentaron el color castaño, el patrón de fractura cúbico, la consistencia frágil, evidencias de celulólisis y la contracción del tejido considerado clave para el diagnóstico de este tipo de deterioro. No obstante, cada combinación hospedante-patógeno estudiada presentó ciertas particularidades en cuanto a la distribución del micelio, su abundancia relativa, ubicación, patrón de ataque (tipo de célula y sector del anillo) y severidad del daño que se correspondieron con las características anatómicas de cada madera (porosidad;

abundancia y distribución de los tipos celulares; grado de lignificación; presencia de depósitos).

Lo hallado suma evidencias a la hipótesis que plantea que distintos hospedantes pueden ser afectados de modo diferente por la misma especie fúngica según sus rasgos anatómicos sumado a las diferencias en el potencial enzimático que pueda presentarse entre cepas fúngica y a las estrategias de colonización que dichas cepas desarrollen, todo lo cual conduce a pensar en un impacto diferente sobre la capacidad resistente de las maderas y sobre el riesgo que determina su presencia.

La identificación de este tipo de deterioro sólo en latifoliadas, se opone a lo identificado en las regiones templadas del hemisferio norte para las cuales se menciona una elevada afinidad de los hongos responsables de pudrición castaña por las Gimnospermas. No obstante, se corresponde con lo citado por Rajchember (1989) para el sur de Sud América (específicamente provincia biogeográfica subantártica), durante un relevamiento de especies fúngicas en los bosques de *Nothofagus*. Según dicho autor, el pequeño número de taxas de Gimnospermas en la zona pudo haber forzado el cambio de un grupo a otro con el tiempo.

CAPITULO III

ALTERACIONES QUIMICAS CAUSADAS POR LOS HONGOS XILOFAGOS

LA MADERA COMO SUSTRATO DE DEGRADACION FUNGICA

Fracción polimérica de la pared celular. Generalidades.

La pared de las células del xilema secundario consiste principalmente de **celulosa**, **hemicelulosas**, **pectinas** y **lignina**. Los polisacáridos - holocelulosa y sustancias pécticas - junto con la lignina forman una estructura rígida y compleja denominada lignocelulosa. De todos ellos, la celulosa y las hemicelulosas constituyen la fuente nutricional más importante de los hongos xilófagos (Gamauf et al., 2007).

La **celulosa** es el componente más abundante del leño; constituye aproximadamente el 45% del peso seco de la mayoría de los tejidos leñosos. La celulosa es un polímero de alto peso molecular - 8000 a 12000 unidades de 1,4-β-D-glucopiranosas - que forma el marco estructural o esqueleto de la pared, interpenetrado por la matriz constituida por los hidratos de carbono no celulósicos – principalmente hemicelulosas - y la lignina.

Las cadenas de celulosa se organizan en unidades visibles con microscopio óptico (MO) denominadas microfibrillas, que se disponen dejando espacios interfibrilares donde se alojan los materiales no celulósicos enumerados. Con microscopio electrónico de transmisión (TEM) puede observarse que las microfibrillas están constituidas por microfibrillas - agrupamientos de cadenas de celulosa unidas por puentes de hidrógeno -. Según se indicó, en la pared secundaria (Ps) las microfibrillas están dispuestas en forma helicoidal con respecto al eje longitudinal de la célula y con distinto ángulo en los estratos S1, S2 y S3. La disposición de las microfibrillas prácticamente paralela con respecto al eje axial – con pequeño ángulo microfibrilar – en la S2 contribuyen con la alta resistencia a la tracción de esta capa. En este sentido, las microfibrillas le aportan a la madera resistencia a la tensión, propiedad que también es debida a la longitud de las cadenas de celulosa – o grado de polimerización -. Asimismo, la celulosa tiene propiedades cristalinas debido a la disposición ordenada de

las cadenas de celulosa en las microfibrillas. Esta disposición está restringida a las zonas conocidas como micelas. La estructura cristalina determina que la pared celular sea anisótropa y birrefringente bajo luz polarizada. Entre las micelas se presentan zonas para-cristalinas - o amorfas - donde las moléculas de glucosa se disponen menos regularmente; dichas zonas son más reactivas con el agua y susceptibles a la degradación (Martínez et al., 2005; Gamauf et al., 2007; Rytioja et al., 2014).

Las **hemicelulosas** constituyen alrededor del 30% de la biomasa de la pared celular - 25-30 % en madera de coníferas; 20-43 % en madera de frondosas -. Estos carbohidratos son heteropolímeros y como tales constituidos por distintos tipos de azúcares: pentosas (D-xilosa y L-arabinosa: arabinopiranosas; arabinofuranosas), hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa) y azúcares ácidos (4-O-metilglucurónico, D-galacturónico y D-glucurónico) unidos por enlaces glucosídicos β -1,4 y ocasionalmente por enlaces β -1. El enlace entre moléculas origina cadenas cortas, ramificadas, carentes de alguna organización espacial – estructura amorfa - todo lo cual determina que sean menos recalcitrantes que la celulosa. Dichos rasgos junto a su localización expuesta alrededor de las microfibrillas de celulosa, determina que sean los primeros componentes de la pared en ser degradados por los hongos. La función más importante de estos polisacáridos es la conexión que establecen entre la lignina y las fibras de celulosa, otorgándole mayor rigidez a la red celulosa-hemicelulosas-lignina. La lignina y las hemicelulosas se mantienen unidas principalmente mediante enlaces del tipo éster entre la arabinosa y los hidroxilos de la lignina - a través de ácido ferúlico involucrando enlaces covalentes -, en tanto que la unión con la celulosa es a través de puentes de hidrógeno (Quiroz-Castañeda & Folch-Mallol, 2011). En cuanto a tipos, se reconocen como más importantes a los *xilanos*, a los *xiloglucanos* y a los (galacto) *glucomananos*, (Martínez et al., 2005; Gamauf et al., 2007).

Las **pectinas** constituyen un grupo complejo y heterogéneo de polisacáridos no celulósicos que aportan uniones adicionales entre la celulosa y hemicelulosas; aglutinan, aportan consistencia. Estos carbohidratos son amorfos, no son birrefringentes y se encuentran en mayor proporción relativa en la laminilla media (Lm) y en la pared primaria (Pp). En la Lm su concentración disminuye durante la lignificación. Desde el punto de vista químico, las pectinas se caracterizan por su contenido significativo de ácidos galacturónicos (uniones 1,4- α -D-ácidos galacturónicos) y sus derivados (Gamauf et al., 2007; Rytioja et al., 2014).

La ***lignina*** constituye entre el 15% y 36% del material lignocelulósico de la pared. Dicho componente estructural se caracteriza por ser un heteropolímero aromático, de alto peso molecular, amorfo, altamente insoluble y tridimensional que forma un entramado dentro de la pared. La lignina confiere soporte estructural, aporta rigidez y resistencia a la compresión, disminuye la permeabilidad al agua y protege a los componentes fácilmente degradables - constituye el principal obstáculo para la eficiente despolimerización de la celulosa y hemicelulosas -. La lignina y las hemicelulosas crean una matriz amorfa donde las fibras de celulosa están embebidas y protegidas de la degradación (Quiroz-Castañeda & Folch-Mallol, 2011). La lignificación ocurre luego de la incorporación de los polisacáridos, de manera centrípeta, progresa hacia el lumen celular; durante la maduración de las células de la madera la pared se impregna con lignina.

La polimerización de la lignina se da a partir de la oxidación enzimática - deshidrogenación mediada por una peroxidasa - de los precursores fenil-propanoides (o monolignoles con distinto grado de metoxilación): coniferil o guayacil propanol (precursor de las unidades G lignina), p-cumaril o p-hidroxifenilpropanol y sinapil o siringil propanol (precursor de las unidades S) a fenoxi-radicales, los que posteriormente se unen mediante enlaces C-C y aril-eter. Las Gimnospermas contienen principalmente coniferil alcohol (o unidades G) y, en menor proporción, cumaril alcohol; carecen de sinapil alcohol. Dicha composición determina la formación de la *guayacil lignina* (G) presente en dicho grupo botánico como también en algunos tipos celulares de Angiospermas. Las Latifoliadas contienen iguales cantidades de coniferil y sinapil alcohol (46%) y en menor proporción cumaril alcohol (8%) lo cual determina la formación de la *siringil-guayacil lignina* (o ligninas SG) (Schwarze et al., 2000a; Martínez et al., 2005; Gamauf et al., 2007).

La concentración y el tipo de lignina afecta la degradación de la madera por los hongos de pudrición blanca. Las unidades S son las preferentemente degradadas. A diferencia de las Gimnospermas, las Angiospermas poseen concentraciones diversas de unidades G y S entre los distintos tipos celulares: los elementos de vaso contienen altas concentraciones de G lignina; en las fibras, la Lm contiene alta concentración de G lignina y la pared secundaria de S lignina. Por su parte, si bien la S lignina es preferentemente degradada por los "white rot fungi", muchas especies de hongos de pudrición blanca están a menudo asociados con la degradación de las maderas de Gimnospermas carentes de S lignina (Blanchette, 1995).

Degradación del complejo lignocelulósico del leño. Alteraciones químicas como elementos de diagnóstico de las pudriciones blancas y castañas.

La degradación de la madera implica la descomposición de la fracción polimérica de la pared celular - lignina, celulosa y hemicelulosas - mediante procesos predominantemente enzimáticos. Estos biopolímeros no pueden ser usados por los hongos como sustrato para el crecimiento producto de su alto peso molecular y, a causa de ello, es necesaria su despolimerización a compuestos simples y difusibles. Este proceso de transformación, mediado principalmente por ectoenzimas, es llevado a cabo por hidrolasas y oxidasas (Fackler & Schwanninger, 2012; Naidu et al., 2017). Debido a que la biodegradación es un proceso ectocelular, es indispensable que el contenido de agua en la pared sea equivalente al punto de saturación de las fibras - 25% - 30% respecto del peso seco del material -, valor que posibilita la formación de una película de agua en el lumen. El agua contribuye con la difusión de las enzimas a los sitios activos de las moléculas como también con la difusión - hacia el interior de las hifas - y el transporte de los productos de la despolimerización (Zabel & Morrell, 1992; Gamauf et al., 2007). En este sentido Highley (1987) y Tuor et al. (1995) destacan el rol de las vainas hifales como estructuras que contribuyen con la liberación de los agentes de degradación y el mantenimiento de bajos valores de pH, fundamental para la degradación de la lignina y el crecimiento fúngico.

En la naturaleza, sólo los hongos superiores – en su mayoría Basidiomycota - han desarrollado un sistema que permite degradar la matriz lignocelulósica y de este modo lograr la mineralización de la madera o de algunos de sus componentes – transformación en dióxido de carbono y agua - mediante diferentes estrategias las cuales son descriptas a continuación.

1.- Hongos responsables de pudrición blanca

Los hongos responsables de pudrición blanca o "white rot" pertenecen al grupo Basidiomycota y Ascomycota (Xylariaceae). Estos "white rot fungi" se caracterizan por degradar el complejo lignocelulósico de la pared celular; su rasgo más saliente es su capacidad de mineralizar la lignina (Gamauf et al., 2007; Quiroz-Castañeda & Folch-Mallol, 2011; Fackler & Schwanninger, 2012).

Si bien muchas clasificaciones fueron utilizadas para organizar los diferentes modos de degradación producidos por los "white rot fungi", Blanchette (1991) considera que la forma más apropiada es la de agrupar a todas las especies

degradadoras de lignina en una categoría amplia de hongos de pudrición blanca. Bajo este concepto, dicho autor propone diferenciar a las especies que simultáneamente degradan la holocelulosa y la lignina – especies responsables de *pudriciones blancas simultáneas* - de aquellas que delignifican la madera – especies responsables de *pudriciones blancas selectivas* -. No obstante, una misma especie puede producir uno u otro tipo de pudrición e incluso ambos en un mismo material, comportamiento dependiente del sustrato, de las condiciones del medio y de la cepa fúngica.

Las especies responsables de las pudriciones blancas poseen un sistema ligninolítico constituido por enzimas que actúan sobre la lignina (LDE) y otras con una función auxiliar (LDA) que, si bien no atacan dicho polímero, son esenciales para completar el proceso de degradación. Dentro de las LDE, las peroxidasas o PODs: lignin peroxidasas, manganeso peroxidasas, peroxidasa versátil, peroxidasas decolorantes de tintes y las lacasas son las más importantes. Además, compuestos de bajo peso molecular como las especies de oxígeno reactivo o ROS, taninos, flavonoides, entre otros, poseen un importante papel en las etapas iniciales de este proceso (Quiroz-Castañeda & Folch-Mallol, 2011; Janusz et al., 2017; Naidu et al., 2017), ver Anexo A.

Respecto de la degradación de la holocelulosa, estos hongos poseen una extensa batería enzimática constituida por enzimas carbohidrato activas o CAZimas - endoglucanasas, celobiohidrolasas, betaglucosidasas, enzimas activas en hemicelulosas y pectinas - capaces de actuar sobre la celulosa cristalina ⁷ - y por esto considerados verdaderos celulolíticos - y demás carbohidratos de la pared (Gamauf et al., 2007; Baldrian & Valášková, 2008; Quiroz-Castañeda & Folch-Mallol, 2011), ver Anexo B. Dentro de la degradación de los carbohidratos, la descomposición de las hemicelulosas constituiría un paso esencial en el desarrollo del deterioro. Dicho proceso permitiría el acceso de las enzimas degradadoras de la lignina, de mayor peso molecular, y proveería de energía ya que la lignina no sirve como sustrato energético para el crecimiento. Por su parte, debido a que las hemicelulosas forman una cubierta incrustante alrededor de las microfibrillas, la degradación de la celulosa y la remoción de los productos resultantes dependen de su destrucción. A causa de ello también constituiría un paso crítico en el establecimiento de los hongos de pudrición castaña (Boominathan & Reddy, 1992; Tuor et al., 1995; Schmidt, 2006).

⁷ Recientemente fueron descubiertas oxidasas que contribuyen con la degradación de la celulosa, mediante una actividad enzimática auxiliar.

Proteínas conocidas como expansinas y Swo1 o swollenina también contribuyen con la degradación. Éstas inducen la extensión o relajación de la pared celular por ruptura no enzimática de los puentes de hidrógeno que unen a los filamentos de celulosa y a la celulosa con otros polisacáridos. De este modo se logra que la celulosa sea más accesible para las celulasas y, consecuentemente, se vea favorecida la degradación de la pared celular (Figura 1) (Gamauf et al., 2007; Quiroz-Castañeda & Folch-Mallol, 2011; Rytioja et al., 2014).

Los hongos de pudrición blanca atacan las fibrillas de celulosa produciendo una erosión progresiva. Sus enzimas celulolíticas atacan las moléculas en su interior mediante endoglucanasas - endo 1,4-D-glucano-4-glucanohidrolasa que catalizan en forma aleatoria la hidrólisis de los enlaces glucosídicos de la cadena de celulosa - y en los extremos no reductores mediante exoglucanasas - celobiohidrolasas; exo 1,4-D-glucano-4-celobiohidrolasa que liberan celobiosa o glucosa desde extremos no reductores de la celulosa -. Además actúan β -glucosidasas, también conocidas como celobiasas, que hidrolizan celobiosa y otras celodextrinas solubles a glucosa. Éstos despolimerizan dicho componente sólo a medida que los productos de la despolimerización son usados para cumplir con sus funciones metabólicas. Lo expuesto produce una reducción paulatina del grado de polimerización durante los distintos estados o etapas del proceso de degradación y, en consecuencia, gradualmente cambian las propiedades de solubilidad y resistencia mecánica de la madera afectada por este tipo de deterioro (Highley, 1987; Schwarze et al., 2000a; Janusz et al., 2017).

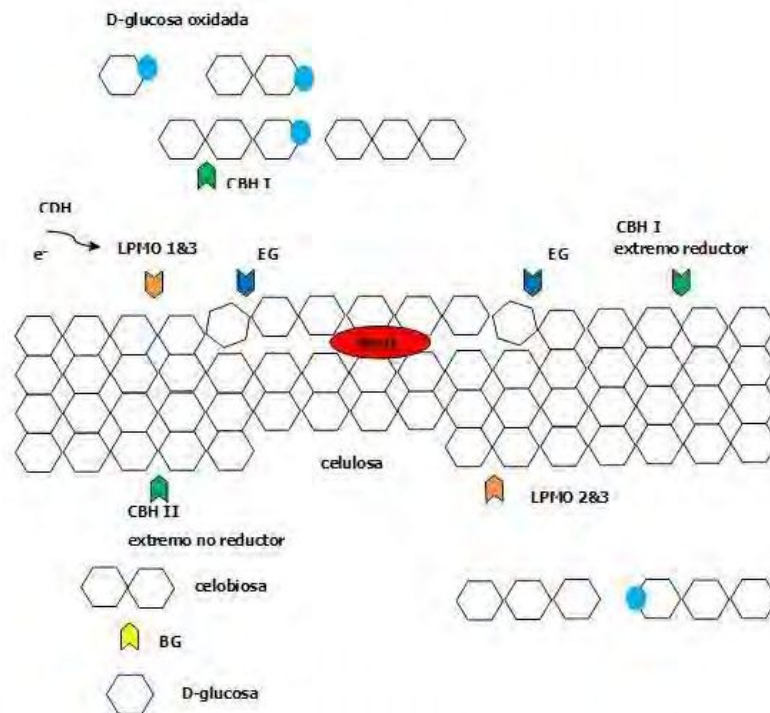


Figura 1. Esquema de la degradación enzimática de la celulosa (celulólisis). Referencias: enzimas Sw01; EGs: endoglucanasas; BGs: β-glucosidasas; CBHs: celobiohidrolasas; CDHs: celobiodeshidrogenasa; LPMOs: monooxidasa polisacáridos-lífticas; ● oxidación por oxidorreductasas (MM, adaptado de Gamauf et al., 2007).

2.- Hongos responsables de pudrición castaña

Los hongos responsables de pudrición castaña o 'brown rot' pertenecen al grupo Basidiomycota, rango taxonómico dentro del cual los Poliporales incluyen la mayor parte de las especies responsable de este tipo de deterioro (Schwarze, 2007; Gamauf et al., 2007).

Si bien las especies responsables de este tipo de pudrición son capaces de descomponer eficientemente la celulosa y hemicelulosas, sólo pueden modificar la lignina por demetilación. A causa de ello, iniciado el proceso, este heteropolímero se caracteriza por su reducción en el contenido de grupos metoxilos y aumento en el de grupos hidroxilos (Fackler et al., 2010). En términos generales los genes de estas especies fúngicas no codifican enzimas vinculadas con la degradación de la lignina - PODs y lacasas - (Riley et al., 2014). No obstante, existen antecedentes acerca de la presencia de enzimas ligninolíticas (lignin peroxidasa o LiP y manganeso peroxidasa o MnP) en algunas especies responsables de 'brown rot', entre ellas *Laetiporus sulphureus* (Kirk, 1975; Goñi et al., 1993, tomados de Schwarze, 2007; Schmidt, 2006; Mtui & Masalu, 2008). Asimismo, actividad lacasa fue encontrada en *Coniophora*

puteana (Lee et al., 2004, tomado de Schmidt, 2006), *Gloeophyllum trabeum* y *Oligoporus placenta* (Goodell, 2003, tomado de Schmidt, 2006).

Respecto del ataque a la celulosa, a diferencia de los hongos de pudrición blanca, los "brown rot fungi" despolimerizan la fracción cristalina mediante moléculas altamente oxidantes – ROS, principalmente el radical hidroxilo ($\text{OH}^\cdot$) surgido de la reacción de Fenton: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^\cdot$ (Figura 2) - que actúan conjuntamente con las endoglucanasas. Las ROS penetran la pared celular a través de sus microporos al tiempo que van quebrando/rompiendo las uniones glicosídicas de la celulosa como también de las hemicelulosas circundantes. Cortada la cadena en sus zonas cristalinas, las endoglucanasas clivan la molécula y posteriormente las glucosidasas transforman la celobiosa y los oligosacáridos en glucosa. De acuerdo con esto, la degradación de la celulosa por los "brown rot fungi" involucra dos vías/mecanismos: una vía oxidativa no enzimática y otra hidrolítica mediada por endoenzimas. La etapa no enzimática es necesaria debido al mayor tamaño de las enzimas celulolíticas respecto de los capilares de la pared celular – 3-5 nm o 0.003-0.005 μm -lo cual determina que no puedan penetrarla sin esta oxidación previa de los carbohidratos. No obstante, ensayos de laboratorio permitieron determinar la capacidad de algunas especies de producir celobiohidrolasas – CAZIs que atacan celulosa cristalina - (Yoon & Kim, 2005; Gamauf et al., 2007; Baldrian & Valaskova, 2008; Rytioja et al., 2014).

Los hongos de pudrición castaña atacan las microfibrillas de celulosa simultáneamente, a lo largo de toda su extensión. A causa de ello la despolimerización ocurre rápidamente, a altas tasas, desde los estadios iniciales del proceso, estadios en los que predomina la descomposición por sobre la utilización de los productos resultantes. La rápida e intensa destrucción de los carbohidratos se ve reflejada con el incremento de la solubilidad en álcali (NaOH al 1%) del residuo resultante y en las notables pérdidas de la capacidad resistente del material, en las primeras etapas del proceso, con bajas pérdidas de masa (Wilcox, 1978; Highley, 1987; Highley & Illiman, 1991; Zabel & Morrell, 1992; Green & Highley, 1997; Gamauf et al., 2007).

Si bien inicialmente la fuerte reducción en la resistencia de la madera era atribuida sólo a la destrucción de la celulosa, a la fecha existen numerosos antecedentes en torno a la remoción de azúcares hemicelulósicos previo a la descomposición de dicho polisacárido. En este sentido, investigaciones en torno al análisis químico de madera con este tipo de pudrición pone en evidencia que los arabinanos y galactanos son descompuestos en primer término, más rápidamente que

los mananos y xilanos. La posterior despolimerización de los glucanos - predominantes en la celulosa - queda en evidencia ante pérdidas de resistencia del 80-90%, secuencia lógica al considerar que las hemicelulosas conforman una envoltura incrustante de las microfibrillas de celulosa. De acuerdo con esto, y según se mencionó, la degradación de la celulosa depende de la previa remoción de las hemicelulosas, descomposición que constituye un paso inicial crítico para el desarrollo de estos hongos en la madera como así también queda en evidencia que la destrucción de ambos polímeros afecta la capacidad resistente del material (Highley, 1987; Winandy & Morrell, 1993; Green & Highley, 1997; Curling et al., 2002; Fackler et al., 2010).

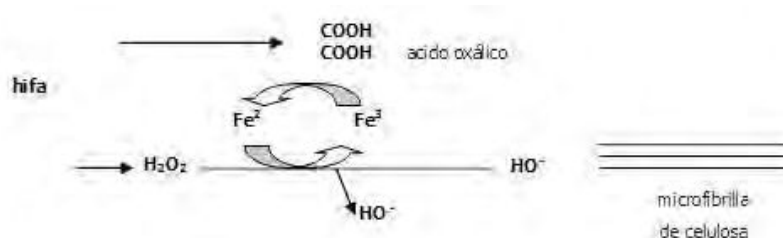


Figura 2. Origen de radicales hidroxilos a partir de la Reacción de Fenton; fragmentación oxidativa de la celulosa (MM, adaptado de Deschamps & Wright, 1997).

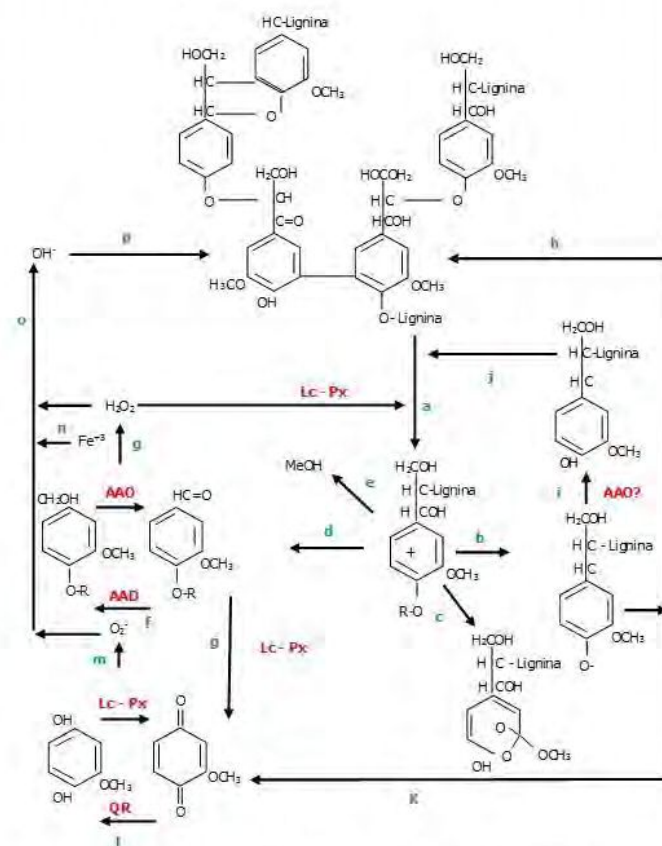
De acuerdo con lo desarrollado, existe un vasto conocimiento sobre los mecanismos de transformación química del leño por los hongos xilófagos. No obstante, a la fecha, para nuestro país, no se registran antecedentes relacionados con las alteraciones químicas que estos organismos causan en maderas naturalmente infectadas. Este conocimiento se considera de importancia a los fines de aportar información respecto del daño que los hongos causan y de este modo comprender - junto con el conocimiento de las alteraciones microestructurales que provocan - el impacto en la capacidad resistente del sustrato particularmente considerando su presencia en ejemplares en pie, vivos. Lo expuesto siempre teniendo en cuenta que en el marco del tipo de pudrición que causa una especie -blanca o castaña- existen variaciones en el modo e intensidad de la degradación determinadas por el sustrato, las condiciones del medio e incluso la cepa fúngica.

Los objetivos planteados para este capítulo son los siguientes:

- Determinar los cambios químicos que presentan las maderas afectadas por pudrición.
- Analizar las semejanzas y particularidades de los cambios químicos entre las distintas interacciones hospedante – patógeno.

ANEXO A

Ligninólisis (secuencia según Martínez et al., 2005). Las *lacasas* o bien las peroxidadas ligninolíticas (LiPs, MnPs y VP) producidas por los "*white rot fungi*" oxidan el polímero de lignina generando radicales aromáticos (a), lo cual determina/descadena diferentes reacciones no enzimáticas incluyendo el quiebre C4-eter (b), el clivaje del anillo aromático (c), el quiebre Ca-Cβ (d) y demetoxilación (e). El aldehído aromático liberado del quiebre Ca-Cβ (d) o sintetizado de *novo* por lo hongos (f, g) constituye el sustrato para la generación de H₂O₂ por la AAO mediante reacciones redox cíclicas que también involucran a la AAD. Los fenoxi radicales surgidos del clivaje C4-eter (b) pueden ser re-polimerizados sobre el polímero de la lignina (h) si no son reducidos por oxidasas (AAO) a compuestos fenólicos (i), lo cual, de ser así, dichos compuestos pueden ser nuevamente oxidados por lacasas o peroxidadas (j). Por su parte, los fenoxiradicales (b) también pueden quebrar a nivel Ca-Cβ (k) y originar p-quinonas. Las quinonas provenientes de k o g contribuyen con la activación del oxígeno en las reacciones cíclicas redox que involucran a las QR, lacasas y peroxidadas (l, m). Esto resulta en la reducción del hierro (Fe⁺³) presente en la madera (n) ya sea por el catión radical superóxido o por el radical semiquinona y su re oxidación con la concomitante reducción del H₂O₂ a radicales hidroxilos libres (OH⁻) (o). Este último es un fuerte agente oxidante que puede iniciar el ataque de la lignina (p) en las etapas iniciales del proceso de degradación de la madera, cuando el pequeño tamaño de los poros de la pared celular intacta dificulta la penetración de las enzimas ligninolíticas. Iniciado esto, la degradación de la lignina procede mediante despolimerización oxidativa mediada por las enzimas descriptas; el paso final implica la difusión de los productos resultantes a la hifa fúngica y su incorporación a la ruta catabólica intracelular.



Esquema de la degradación enzimática de la lignina. Referencias: AAO: aril alcohol oxidasa; AAD: aril alcohol deshidrogenasa; QR: quinona reductasa; PX: peroxidadas; Lc: lacasas (MMurace, adaptado de Martínez et al., 2005)

ANEXO B

La biomasa de las plantas constituye la fuente de carbono (C) renovable más abundante sobre la Tierra. Por su parte, dentro de los Basidiomicetes (Phylum Basidiomycota) se ubican los organismos considerados los degradadores más eficientes de la biomasa leñosa y por ello esenciales para el ciclo C. Estos hongos están especializados en el uso de dicha fuente de C mediante la producción de enzimas que degradan, entre otros, los polisacáridos de la matriz lignocelulósica y los transforman en azúcares metabolizables. Dichas enzimas son de gran interés en biotecnología; los productos de sus catálisis pueden ser usados como precursores en los procesos generadores de combustibles, papel, alimento y químicos. Las enzimas que degradan o bien modifican los polisacáridos de las plantas son denominadas enzimas carbohidrato activas (CAZimas). Las CAZimas están agrupadas en familias en base a su secuencia de aminoácidos y similitud estructural (Rytioja et al., 2014).

Substrate	Enzyme activity	EC no. ^a	Abbreviation	CAZyme family(ies)
Cellulose	β -1,4-Endoglucanase	3.2.1.4	EG	GH3, -5, -6, -7, -9, -11
	Cellobiohydrolase (reducing end)	3.2.1.176	CBHI	GH7
	Cellobiohydrolase (nonreducing end)	3.2.1.91	CBHII	GH6
	β -1,4-Glucosidase	3.2.1.21	BGL	GH1, -3
	Cellobiose dehydrogenase	1.1.99.18	CDH	AA3, 1, AA8
	Lytic polysaccharide monooxygenase	NA	LPMO	AA9
Xylan	β -1,4-Endoxylanase	3.2.1.8	XLN	GH10, -11
	Xylobiohydrolase	3.2.1.-	XBH	
	β -1,4-Xylosidase	3.2.1.37	XXL	GH3, -43
Galactomannan	β -1,4-Endomannanase	3.2.1.78	MAN	GH5, -26
	β -1,4-Mannosidase	3.2.1.25	MND	GH2
	β -1,4-Galactosidase	3.2.1.23	LAC	GH2, -35
	α -1,4-Galactosidase	3.2.1.22	AGL	GH27, -36
	α -Arabinofuranosidase	3.2.1.55	ABF	GH51, -54
	Galactomannan acetyl esterase	3.1.1.-	GMAE	
Xyloglucan	Xyloglucan β -1,4-endoglucanase	3.2.1.151	XEG	GH12, -74
	α -Arabinofuranosidase	3.2.1.55	ABF	GH51, -54
	α -Xylosidase	3.2.1.177	AXL	GH31
	α -Fucosidase	3.2.1.51	AFC	GH29, -95
	α -1,4-Galactosidase	3.2.1.22	AGL	GH27, -36
	β -1,4-Galactosidase	3.2.1.23	LAC	GH2, -35
Arabinoxylan	Arabinoxylan arabinofuranohydrolase/arabinofuranosidase	3.2.1.55	AXH	GH62
	α -Glucuronidase	3.2.1.139	AGU	GH67, -115
	α -1,4-Galactosidase	3.2.1.22	AGL	GH27, -36
	β -1,4-Galactosidase	3.2.1.23	LAC	GH2, -35
	Acetyl xylan esterase	3.1.1.72	AXE	CE1, -5
	Feruloyl esterase	3.1.1.73	FAE	CE1
Pectin	Endopolygalacturonases	3.2.1.15	PGA	GH28
	Exopolygalacturonases	3.2.1.67	PGX	GH28
	Xylogalacturonan hydrolase	3.2.1.-	XGH	
	Endorhamnogalacturonase	3.2.1.171	RHG	GH28
	Exorhamnogalacturonase	3.2.1.-	RHX	GH28
	Rhamnogalacturonan rhamnohydrolase	3.2.1.174	RGXB	GH28
	α -Rhamnosidase	3.2.1.40	RHA	GH78
	α -Arabinofuranosidase	3.2.1.55	ABF	GH51, -54, -62
	Endoarabinanase	3.2.1.99	ARN	GH43
	Exoarabinanase	3.2.1.-	ARX	GH93
	β -1,4-Endogalactanase	3.2.1.89	GAL	GH53
	Unsaturated glucuronyl hydrolase	3.2.1.-	UGH	GH88
	Unsaturated rhamnogalacturonan hydrolase	3.2.1.172	URH	GH105
	β -1,4-Xylosidase	3.2.1.37	XXL	GH3, -43
	β -1,4-Galactosidase	3.2.1.23	LAC	GH2, -35
	Pectin lyase	4.2.2.10	PEL	PL1
	Pectate lyase	4.2.2.2	PLY	PL1, -3, -9
	Rhamnogalacturonan lyase	4.2.2.23	RGL	PL4, -11
	Pectin methyl esterase	3.1.1.11	PME	CE8
	Pectin acetyl esterase	3.1.1.-	PAE	
	Rhamnogalacturonan acetyl esterase	3.1.1.-	RGAE	CE12
	Feruloyl esterase	3.1.1.73	FAE	CE1

^a NA, not categorized by the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB).

CAZimas involucradas en la degradación de los polisacáridos de la pared celular (tomado de Rytioja et al., 2014).

MATERIALES Y METODOS

Muestras de madera

El material de estudio consistió en muestras de madera de especies representativas de los espacios públicos de la Ciudad de La Plata y sus alrededores (Municipalidad de La Plata, 1983) (Tablas 1 y 2). Fueron muestreados aquellos ejemplares con evidencias directas de pudrición: madera podrida expuesta y/o presencia de basidiocarpos. Ante la presencia de fructificaciones como única evidencia de deterioro, el material fue obtenido con barreno de Pressler. En este caso, las muestras de madera degradada fueron tomadas según un muestreo en 4 puntos (en cruz) alrededor de la fructificación (Boyce, 1961). Respecto del testigo (madera sana), fue obtenido a la misma altura y del lado opuesto al basidioma.

Estudios químicos

El material degradado y testigo fue procesado y analizado según dos metodologías, de acuerdo a la cantidad de material obtenido y tiempo requerido para su análisis: Norma TAPPI (adaptada por Rodríguez, 1978) y Espectroscopía Infraroja Transformada de Fourier (FT-IR).

La técnica especificada por Norma TAPPI (Rodríguez, 1978) requiere mayor cantidad de material, por lo cual la mayor parte de las maderas fue analizada aplicando FT-IR.

1.- Normas TAPPI

Las maderas con evidencias de pudrición (p) y testigos (t) procesadas y analizadas según lo indica dicha normativa son enumeradas en la Tabla 1.

Tabla 1. Material analizado (especie, lugar de muestreo y tipo de pudrición) mediante normativa TAPPI

Especie	Muestreo / Pudrición*
<i>Acer negundo</i> L. "arce"	rama ejemplar en pie, vivo <i>Inonotus rickii</i> (Pat.) D.A. Reid (bl)
<i>Eucalyptus</i> sp. "eucalipto"	raíz ejemplar volcado; tocón <i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.) Murrill (c) <i>Pycnoporus sanguineus</i> (L.) Murrill (bl)
<i>Fraxinus pennsylvanica</i> Marsh. "fresno americano"	rama ejemplar en pie, vivo <i>L. sulphureus</i>
<i>Melia azedarach</i> L. "paraíso"	ejemplares volcados rama: <i>L. sulphureus</i> rama: <i>Phlebia brevispora</i> Nakas. Nakas. & Eslyn (bl)
<i>Prunus cerasifera</i> var. <i>pissardii</i> (Carrière) Koehne (= <i>P. pissardii</i>) "ciruelo de jardín"	rama de ejemplar en pie, vivo <i>Phellinus pomaceus</i> (Pers.) Maire (bl)
<i>Q. robur</i> L. "roble europeo"	raíz ejemplar volcado <i>Ganoderma resinaceum</i> Boud. (bl)
<i>Salix</i> sp "sauce"	rama muerta, ejemplar en pie vivo <i>Cerrena unicolor</i> (Bull.) Murr. (bl)

Referencias. *pudrición; bl: blanca; c: castaña

1.1 Procesamiento del material

El material (t y p) fue astillado en forma manual (empleando gubia) y luego procesado en molino Thomas Wiley Laboratory Mill Model 4 Thom, Scientific TM USA. Las muestras de aserrín obtenidas (Figura 1) fueron tamizadas entre mallas 40/60 y utilizadas para la determinación de su contenido de humedad y caracterización química según se indicó.



Figura 1. Muestras de aserrín de las maderas bajo análisis químico (Norma TAPPI); t: testigo; bl: pudrición blanca; c: pudrición castaña. Foto 1: roble europeo. Foto 2: ciruelo de jardín. Foto 3: paraíso. Foto 4: eucalipto.

1.2 Determinación del contenido de humedad

Debido a que todas las maderas tienen un contenido de humedad (CH%) variable, fue necesario su determinación para poder referir los resultados de los análisis a “peso seco” (Ps). De acuerdo con esto, un gramo (1 g) de aserrín seco al aire por madera y condición - t y p - fue colocado en recipiente de aluminio tarado, posteriormente colocado en estufa a 105 °C hasta Ps constante - obtenido al cabo de 24 horas – (Figura 2); culminada esta etapa, el CH (%) fue determinado a partir de la ecuación:

$$CH (\%) = (P2 - P3 / P2 - P1) \times 100 (1)$$

Dónde:

P1 (g): peso del recipiente vacío

P2 (g): peso del recipiente más muestra húmeda

P3 (g): peso del recipiente más muestra seca



Figura 2. Procedimiento aplicado para la determinación del contenido de humedad de las muestras. Foto 1: obtención del peso seco al aire del material. Foto 2: colocación de las muestras en estufa. Foto 3: determinación del peso seco de la madera.

1.3 Análisis químico

Las determinaciones químicas realizadas fueron las siguientes: contenido de celulosa, contenido de lignina insoluble en ácido y contenido de extraíbles en alcohol benceno y en agua caliente.

1.3.1 Determinación del contenido de extraíbles

A. Extraíbles en alcohol-benceno (alcohol-tolueno)

Determinar el contenido de solubles en alcohol-benceno implica obtener información sobre la cantidad de ceras, grasas, resinas, aceites, colorantes orgánicos (clorofila), taninos, gomas e inclusive materiales solubles en agua.

Dicha determinación fue realizada con una mezcla de 60 ml de alcohol Etilico al 95% y 120 ml de Tolueno al 100% dispensada en balón de vidrio. Paralelamente 2 g de aserrín seco al aire fueron introducidos en un dedal de extracción posteriormente cubierto con tapón de algodón para evitar pérdidas de la muestra debido a posibles salpicaduras. El dedal fue colocado dentro de un extractor Soxhlet conectado al balón de extracción con la mezcla Alcohol-Tolueno. Realizado ésto, se procedió a la extracción durante 4 - 5 horas a una velocidad que permitió que el Soxhlet se descargue 6 veces por hora. Finalizado este proceso, se dejó descansar el extracto y el solvente durante una noche. Luego, el solvente retenido en la cámara del extractor fue recuperado en el balón y dispensado en caja de Petri colocada sobre plancha calefactora a fin de su evaporación. El residuo obtenido fue llevado a estufa para su secado a 105 °C durante una hora; se dejó enfriar en un desecador de sílica gel y se pesó con una aproximación de 0.1 mg (Figura 3).

Nota: no es aconsejable secar hasta peso constante a causa de la volatilidad o cambios químicos producidos por calentamiento prolongado.

Los porcentajes de las sustancias solubles en Alcohol-Tolueno se expresaron en base al peso de la madera seca y en el cálculo se tuvo en cuenta la humedad determinada (CH %) para cada muestra. De acuerdo con esto, la ecuación utilizada fue:

$$\text{Extraíbles en Alcohol – Tolueno (\%)} = R \times 100 / W \quad (2)$$

Dónde:

R: peso del residuo (extracto)

W: peso seco de la muestra, calculado según la ecuación 3

$$\text{Peso seco (W)} = \text{peso húmedo (g)} \times 100 - \text{CH} / 100 \quad (3)$$

Se realizaron dos repeticiones por condición de material que fueron consideradas como válidas cuando la diferencia entre ambas fue $\leq$ a 0,1%; ante la obtención de diferencias mayores fueron realizadas nuevas determinaciones.



Figura 3. Secuencia de extracción de solubles en alcohol-benceno. Foto 1: madera a analizar. Foto 2: mezcla alcohol etílico 95% - tolueno (1:2) en balones de extracción. Fotos 3 a 5: dedales para extracción con aserrín molido dentro de extractores Soxhlet conectados a balones de extracción; distintas etapas del proceso. Foto 6: evaporación de solventes sobre plancha calefactora. Foto 7: residuos obtenidos (extraíbles).

B. Extraíbles en agua caliente

La técnica con agua caliente permite extraer sales orgánicas, gomas, mucílagos, pectinas tales como galactanos, porciones de taninos y pigmentos. El agua caliente hidroliza los polisacáridos e incrementa la solubilidad. Para la determinación de extractivos solubles en agua caliente se procedió a colocar una muestra de 2 g de aserrín seco al aire por condición de la madera - testigo y degradada - y 100 ml de agua destilada en un Erlenmeyer. Dicho recipiente fue colocado en un condensador a reflujo y mantenido en un baño de agua a temperatura de ebullición durante 3 horas. Cumplida esta etapa, se procedió a filtrar el material en un crisol previamente tarado y el residuo obtenido fue lavado con agua caliente, se llevó a estufa a 105 °C hasta peso constante, se dejó enfriar en desecador y finalmente fue pesado (Figura 4).

Nota: esta determinación fue indirecta, es decir, el residuo que se obtuvo al filtrar está libre de las sustancias solubles en agua caliente.

La expresión de cálculo fue:

$$\text{Solubles en agua caliente (\%)} = 100 - R \times 100 / W \quad (4)$$

Dónde:

R: es el peso del residuo seco, libre de solubles en agua caliente

W: peso seco de la madera, calculado según la ecuación (3)

Se realizaron dos repeticiones por condición de material que fueron consideradas como válidas cuando la diferencia entre ambas fue $\leq$ a 0,1%; ante la obtención de diferencias mayores fueron realizadas nuevas determinaciones.



Figura 4. Secuencia aplicada para la determinación de extraíbles en agua caliente. Foto 1: muestra de aserrín empleado. Foto 2: aserrín más 100 ml de agua destilada. Fotos 3 a 5: muestras colocadas en condensador a reflujo y expuestas a baño de agua a ebullición. Foto 6: filtrado; decantación del líquido sobrenadante con bomba de vacío. Fotos 7, 8: residuo obtenido seco en estufa a 105 °C hasta peso constante.

1.3.2 Determinación del contenido de celulosa

El contenido porcentual de celulosa fue determinado mediante el método de Kürshner – Höffer con las modificaciones siguientes: extensión a una hora del tiempo de baño María y la realización de 3, de los 4 filtrados que considera la técnica, con papel de filtro debido a que se comprobó que con esta modificación se ajustan los valores a los esperados; el cuarto filtrado fue realizado según lo indica la normativa, con crisol previamente tarado. De acuerdo con esto, un gramo de material libre de extraíbles por madera y condición - testigo y degradada - fue incorporado en un erlenmeyer junto con el agregado de 25 ml de ácido nítrico - etanol (1:4) y, posteriormente, colocado a reflujo en baño María durante una hora. Al cabo de este tiempo la muestra se dejó decantar. Este procedimiento fue realizado cuatro veces. En cuanto al filtrado, según se indicó, en los 3 primeros se consideró filtrar el sobrenadante en papel de filtro y en el cuarto, el sobrenadante más la muestra decantada en crisol tarado e incluyó el lavado del material con agua destilada caliente, luego con solución saturada de acetato de sodio y por último un nuevo lavado con agua caliente hasta reacción neutra. El sólido de este modo obtenido se puso a secar

en estufa a 105 °C hasta peso constante, se dejó enfriar en desecador y finalmente fue pesado (Figura 5).

La determinación de celulosa se realizó mediante la fórmula:

$$\text{Celulosa (\%)} = R \times 100 / W \quad (5)$$

Donde

R: Peso del residuo seco

W: Peso de la muestra seca, calculado según la ecuación (3)

Se realizaron dos repeticiones por condición de material que fueron consideradas como válidas cuando la diferencia entre ambas fue $\leq$ a 0,1%; ante la obtención de diferencias mayores fueron realizadas nuevas determinaciones.



Figura 5. Procedimiento aplicado para la determinación del contenido de celulosa. Foto 1: muestras de aserrín libres de extraíbles. Foto 2: muestras con ácido nítrico – etanol (1:4). Fotos 3, 4: aserrín más mezcla reactiva a reflujo en baño María. Foto 5: decantación de la muestra. Fotos 6, 7: embudo Buchner, kitasato y papel utilizado para el filtrado del sobrenadante, para los tres primeros filtrados de la muestra con bomba de vacío. Foto 8: residuo obtenido luego del cuarto filtrado del líquido sobrenadante con crisol filtrante. Foto 9: residuo –celulosa- seca en estufa.

1.3.3 Determinación de lignina insoluble en ácido

Para la determinación del contenido de lignina presente en las muestras, se empleó como reactivo una solución $24 \pm 0.1N$ de ácido sulfúrico la cual fue preparada colocando cuidadosamente 665 ml de ácido concentrado (95,5-96,5%, g esp. 1,84) en 300 ml de agua, se dejó enfriar y luego fue diluido a un litro. Preparado el reactivo, fue colocada la muestra (1 g de aserrín seco al aire por condición de la madera) de humedad conocida en un vaso de precipitado. Posteriormente, y en forma lenta, fue agregado el ácido (15 ml) y se procedió al macerado del material con varilla de vidrio. Luego, se cubrió el conjunto con un vidrio reloj y se mantuvo en un baño a $20^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ durante la dispersión de la muestra (dos horas agitando frecuentemente). Al cabo de este tiempo, el contenido del vaso fue pasado a un erlenmeyer, y fue diluido con agua destilada hasta obtener una concentración de ácido del 3% - correspondiente a un volumen total de 600 ml - y se hirvió durante cuatro horas a reflujo para mantener el volumen constante. Realizado esto, se dejó que el material insoluble – lignina - sedimente durante la noche y el líquido sobrenadante se decantó sobre el crisol filtrante previamente tarado. Cumplida esta etapa, se transfirió la lignina cuantitativamente al crisol filtrante usando agua caliente y varilla de vidrio. A continuación, se lavó el residuo con agua caliente hasta eliminar completamente el ácido, se procedió a secar en estufa hasta peso constante, se dejó enfriar en desecador y se pesó (Figura 6).

El contenido de lignina fue determinado sobre el residuo seco empleando las siguientes expresiones:

$$\text{Lignina (\%)} = R \times 100 / W \quad (6)$$

Donde

R: es el peso del residuo seco

W: peso seco de la muestra, calculado según la ecuación (3)

Nota: el resultado obtenido de lignina debe ser corregido por la cantidad de extraíbles tanto en agua caliente como en alcohol-benceno. Dichas determinaciones se describen a continuación:

Para calcular lignina corregida, se determina con la siguiente ecuación (7):

Lignina corregida (%):

$[100 - (\% \text{ ROH-Benceno} + \% \text{ Agua caliente}) / 100] \times \% \text{ Lignina sin corregir (6)}$

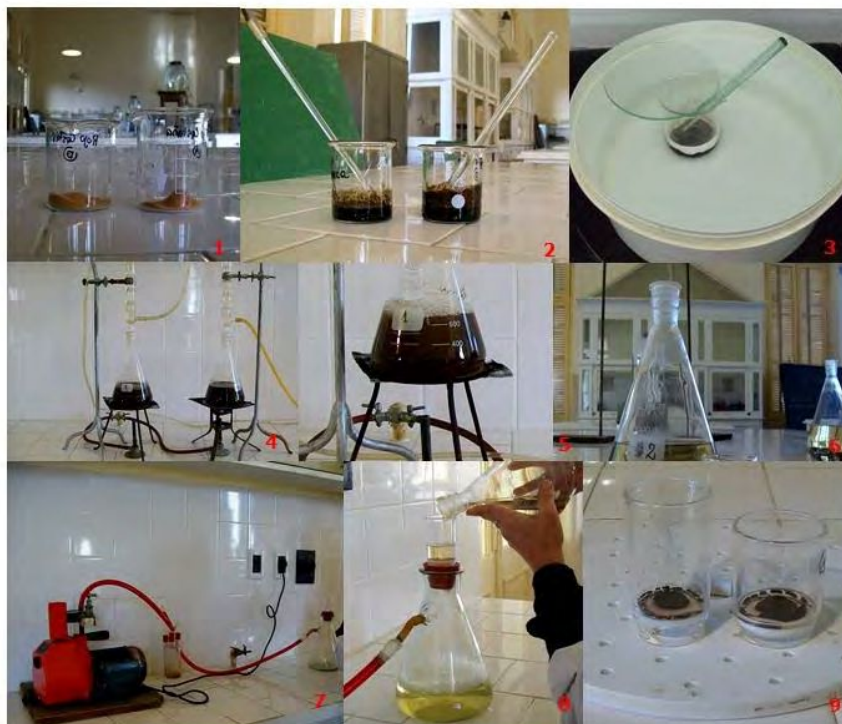


Figura 6. Procedimiento aplicado para la determinación de lignina insoluble en ácido. Foto 1: muestras de aserrín. Fotos 2, 3: maceración de las muestras en ácido sulfúrico frío colocadas en un baño a 20 ° C. Fotos 4, 5: muestra macerada y diluida expuesta a hervor a reflujo. Foto 6: lignina insoluble sedimentada y crisol filtrante. Fotos 7, 8: filtrado, decantación del líquido sobrenadante con bomba de vacío. Foto 9: lignina seca en estufa.

2.- Espectroscopia Infrarroja Transformada de Fourier (FT-IR)

En esta instancia, material particulado de cada especie y condición – testigo y con evidencias de ataque fúngico (Tabla 2) -, fue obtenido mediante lima metálica (< 0,4 mm), luego triturado con Nitrógeno líquido en un mortero de porcelana y posteriormente se homogeneizó el tamaño de sus partículas utilizando un lienzo de voile. Con el fin de eliminar los extraíbles hidro y liposolubles de cada muestra obtenida, éstas fueron expuestas a una serie de lavados secuenciales utilizando Triton X-100, agua, etanol, metanol y acetona siguiendo el procedimiento reportado por Espiñeira et al. (2011). El material resultante fue secado a 60 ° C y mantenido en una atmósfera libre de humedad hasta el momento de proceder al armado de las pastillas para FT-IR. Para obtener los espectros FT-IR fueron elaboradas pastillas de 13 mm de diámetro con 2 mg de cada muestra seca y 20 mg de bromuro de potasio grado infrarrojo, así como también pastillas blanco con sólo 22 mg de bromuro de potasio. Los espectros de absorción FT-IR fueron registrados entre 1800 y 800 cm^{-1} empleando un espectrómetro modelo *Spectrum* (Perkin- Elmer-Instruments). El análisis espectral se realizó a una velocidad de 1 cm s^{-1} con 4 cm^{-1} de resolución bajo atmósfera de aire seco (cámara con silicagel), siendo obtenido un espectro promedio resultado de 64 escaneos. Se trabajó con 3 repeticiones x muestra testigo y atacada. Para el procesamiento de los datos se utilizó el software EZ-OMNIC y se llevó a cabo la corrección de cada espectro sustrayendo automáticamente aquel correspondiente a la pastilla blanco obtenido inmediatamente antes del registro de cada muestra. Se seleccionaron bandas de referencia dentro de la región 800-1800 cm^{-1} (Cuadro N°1), que reflejan grupos funcionales característicos de los polímeros de la madera, y se estimaron sus intensidades relativas siguiendo a Luna et al. (2015) y a Pandey & Pitman (2003).

Cuadro 1. Asignación de bandas de absorción en los espectros FT-IR de las muestras de madera analizadas.

Número onda (cm ⁻¹)	Grupos funcionales	Referencia
896±3	vibraciones grupos C1-H en celulosa	(Hinterstoisser et al., 2001)
1164±3; 1158	vibraciones grupos glicosídicos C-O-C (holocelulosa)	(Saparrat et al., 2010; Fackler et al., 2010)
1268±2	vibraciones C-O del anillo guaiacyl (lignina)	(Pandey & Pitman, 2003; 2004)
1335±3	vibraciones C-O del anillo syringyl (lignina)	(Pandey & Pitman, 2003; 2004)
1420-1430	celulosa cristalina	(Polleto et al., 2014)
1508±3	vibraciones esqueletos aromáticos (lignina)	(Shi et al., 2012; Jelle & Hovde 2012; Saparrat et al., 2010)
1734	grupos carbonilos no conjugados de pectinas y hemicelulosas (xilanos)	(Luna et al., 2015)

Tabla 2. Material analizado (especie, lugar de muestreo y tipo de pudrición) mediante FT-IR.

Especie	Muestreo/Pudrición*
<i>A. negundo</i> L. "arce"	ejemplares en pie, vivos rama muerta: <i>Cerrena unicolor</i> (Bull.) Murr. (bl) rama viva: <i>Inonotus rickii</i> (Pat.) D.A. Reid (bl)
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill. "eucalipto"	fuste ejemplar en pie, vivo <i>Arambarria cognata</i> (bl)
<i>E. tereticornis</i> Sm. "eucalipto colorado"	fuste ejemplar en pie, vivo <i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.) Murrill (c)
<i>Fraxinus pennsylvanica</i> Marsh. "fresno americano"	rama ejemplar en pie, vivo <i>L. sulphureus</i>
<i>L. lucidum</i> W.T Aiton "ligustro"	fuste ejemplar en pie, muerto <i>C. unicolor</i> base fuste ejemplar en pie, vivo <i>Ganoderma resinaceum</i> Boud. (bl)
<i>M. azedarach</i> L. "paraíso"	ejemplares volcados rama: <i>L. sulphureus</i> rama y fuste: <i>Phlebia brevispora</i> Nakas. Nakas. & Eslyn (bl)
<i>P. alba</i> L. "álamo plateado"	rama ejemplar en pie, vivo <i>L. sulphureus</i>
<i>Prunus cerasífera</i> var. <i>pissardii</i> (Carrière) Koehne "ciruelo de jardín"	rama ejemplar en pie vivo <i>Phellinus pomaceus</i> (Pers.) Maire (bl)
<i>Quercus robur</i> L. "roble europeo"	raíz ejemplar volcado <i>G. resinaceum</i>
<i>Robinia pseudoacacia</i> L. "falsa acacia"	fuste ejemplar en pie vivo <i>L. sulphureus</i>
<i>Salix</i> sp. "sauce"	rama muerta ejemplar en pie, vivo <i>C. unicolor</i> fuste ejemplar volcado <i>Bjerkandera adusta</i> (Willd.:Fr.) P. Karst (bl)

Referencias. *pudrición: bl: blanca; c: castaña

RESULTADOS

La composición química de las muestras resultó compatible con su condición de material lignocelulósico y sus modificaciones (muestras p) lo fueron con el modo de degradación que poseen las especies xilófagas asociadas al material (Tablas 1 y 2). En este sentido, 2 tipos de pudriciones fueron identificados aplicando las metodologías TAPPI y FTIR: pudriciones blancas y pudriciones castañas.

Análisis químico según Normas TAPPI

1.- Pudriciones blancas

En términos generales y sin establecer relaciones entre los componentes, en las muestras p de cada combinación sustrato-hongo se registró un menor porcentaje relativo de lignina (L) - excepto en paraíso y roble - y de celulosa (C), y un mayor porcentaje relativo de extraíbles (E) particularmente los solubles en agua caliente (AC) (Tabla 3).

En cuanto a las relaciones C/L y R/A, las muestras t vs p evidenciaron la degradación preferencial de ciertos constituyentes del leño. En arce, sauce, roble y paraíso primó la degradación de C por sobre L, particularmente notable en las 2 últimas maderas. En eucalipto y ciruelo fue identificado un proceso de selectiva delignificación. En arce no se encontraron diferencias entre R/A(t) y R/A(p) que permitieran identificar la preferente degradación de un tipo de extraíbles. En eucalipto, ciruelo y sauce, un valor menor en la R/A(p) evidenció particular degradación de los solubles en alcohol benceno en correspondencia con el menor porcentaje de EROH-B(p) obtenido para cada una de ellas. En paraíso y roble, la mayor R/A(p) obtenida respecto de su correspondiente t reflejó la descomposición preferencial de los EAC, resultado compatible con el incremento en el porcentaje relativo de los EROH-B(p).

2.- Pudriciones castañas

En referencia a las pudriciones castañas (Tabla 4), para la totalidad de las muestras p, respecto de sus correspondientes t, se obtuvo una notable disminución en el porcentaje relativo de C e incrementos en los porcentajes de L y E, principalmente los solubles ROH-B. Las relaciones C/L permitieron arribar a iguales resultados. Las R/A (p) evidenciaron una tendencia hacia el ataque a la fracción soluble en AC, valores acentuados en eucalipto y paraíso. Esta última resultó la más resistente a la

degradación considerando que la totalidad de las muestras evidenciaron estadios avanzados de pudrición castaña según lo obtenido mediante los estudios anatómicos.

Tabla 3. Pudriciones blancas: resultados de las determinaciones químicas realizadas en las muestras de madera.

Muestra interacción analizada		Celulosa %	Lignina %	C/L ²	Extraíbles ³ %		R/A ⁴
					ROH-B	AC	
<i>A. negundo</i> <i>I. rickii</i>	t ¹	58.35 a ⁵	28.55 a	2.04 a	1.71 a	5.43 a	0.31 a
	p	51.39 b	27.40 b	1.87 b	2.90 b	11.96 b	0.24 a
<i>Eucalyptus</i> sp. <i>P. sanguineus</i>	t	60.87 a	30.98 a	1.96 a	6.83 a	18 a	0.38 a
	p	49.41 b	18.74 b	2.63 b	4.80 b	18.43 b	0.26 b
<i>M. azedarach</i> <i>Ph. brevispora</i>	t	47.65 a	29.63 a	1.60 a	2.21 a	6.74 a	0.33 a
	p	26.4 b	38.35 b	0.68 b	3.22 b	5.73 b	0.56 b
<i>P. pissardii</i> <i>Phellinus pomaceus</i>	t	48.08 a	23.21 a	2.07 a	5.33 a	7.03 a	0.76 a
	p	46.41 b	19.11 b	2.42 b	2.84 b	6.35 b	0.45 b
<i>Q. robur</i> <i>G. resinaceum</i>	t	60.26 a	18.11 a	3.33 a	5.7 a	12.6 a	0.45 a
	p	46.13 b	21.36 b	2.16 b	11.6 b	17.40 b	0.66 b
<i>Salix</i> sp. <i>Cerrena unicolor</i>	t	55.62 a	21.50 a	2.59 a	4.70 a	6.31 a	0.74 a
	p	50.25 b	20.89 b	2.40 b	3.87 b	12.95 b	0.30 b

Referencias. ¹: t, testigo; p, muestras con evidencias de deterioro. ²: relación celulosa / lignina. ³: ROH-B, alcohol benceno; AC, agua caliente. ⁴: relación ROH-B / AC. ⁵: letras distintas indican diferencias; no se consideran como tal, diferencias $\leq$ a 0.10 (Rodríguez, 1978; Pandey & Pitman, 2003).

Tabla 4. Pudriciones castañas: resultados de las determinaciones químicas realizadas en muestras de madera.

Muestra interacción analizada		Celulosa %	Lignina %	C/L ²	Extraíbles ³ %		R/A ⁴
					ROH-B	AC	
<i>Eucalyptus</i> sp. <i>L. sulphureus</i>	t ¹	60.87 a ⁵	30.98 a	1.96 a	6.83 a	18 a	0.38 a
	p	4.75 b ⁵	71.54 b	0.06 b	11.20 b	7.63 b	1.47 b
<i>F. pennsylvanica</i> <i>L. sulphureus</i>	t	60.30 a	24.98 a	2.41 a	5.85 a	10.58 a	0.55 a
	p	6.51 b	44.52 b	0.14 b	18.28 b	20.76 b	0.88 b
<i>M. azedarach</i> <i>L. sulphureus</i>	t	47.65 a	29.63 a	1.60 a	2.21 a	6.74 a	0.33 a
	p	13.06 b	56.64 b	0.23 b	10.33 b	7.70 b	1.34 b

Referencias. ¹: t, testigo; p, muestras con evidencias de deterioro. ²: relación celulosa / lignina. ³: ROH-B, alcohol benceno; AC, agua caliente. ⁴: relación ROH-B / AC. ⁵: letras distintas indican diferencias; no se consideran como tal, diferencias $\leq$ 0.10 (Rodríguez, 1978; Pandey & Pitman, 2003).

Espectroscopía Infrarroja Transformada de Fourier (FTIR)

1.- Pudriciones blancas

Según se detalla en la Tabla 5, la totalidad de las muestras p presentaron evidencias de ataque a la matriz lignocelulósica, no obstante, con diferente patrón entre las combinaciones consideradas - especie xilófaga/hospedante -.

En las muestras (p) correspondientes a la interacción *Beijerkandera adusta* – sauce, los índices de absorbancia relativa (IAR) I_{1508}/I_{1164} (lignina/ holocelulosa) e I_{1508}/I_{1429} (lignina/celulosa cristalina, dato no mostrado) permitieron diagnosticar un proceso de delignificación selectiva. La degradación de la lignina además quedó en evidencia a partir de las IAR I_{1508}/I_{1335} (lignina/unidades syringyl, S) e I_{1508}/I_{1268} (lignina/unidades guayacil, G). Para este polímero, si bien no se encontraron diferencias entre p y t (testigo) para el IAR I_{1335}/I_{1268} , tiende a ser mayor el ataque a las unidades S (I_{1335} , unidades syringyl). En cuanto a los carbohidratos, predominó la degradación de la celulosa amorfa (I_{896}) por sobre el resto de los constituyentes de la holocelulosa (I_{1164}).

Las muestras (p) correspondientes a las interacciones con *Cerrena unicolor* - arce negundo, ligustro y sauce - presentaron un patrón similar al descripto. La totalidad de las especies evidenciaron la preferente degradación de lignina (o tendencia en este sentido) a través de los valores de las IAR I_{1508}/I_{1164} (lignina/holocelulosa), I_{1734}/I_{1508} (hemicelulosas/lignina), I_{896}/I_{1508} (celulosa amorfa/lignina sólo en ligustro), I_{1508}/I_{1429} (lignina/celulosa cristalina, no publicados). En estas muestras el ataque a la lignina también fue diagnosticado a partir de los IAR: I_{1508}/I_{1335} (lignina/unidades syringyl, S) e I_{1508}/I_{1268} (lignina/unidades guayacil, G) -. En sauce se encontraron diferencias entre p y t para el IAR I_{1335}/I_{1268} que indicaron la degradación de las unidades S (I_{1335}) por sobre las G (I_{1268}); el resto del material presentó igual tendencia. Además, fue observado el ataque preferencial a la fracción paracristalina de las fibrillas de celulosa (I_{896}/I_{1164} ; I_{896}/I_{1734}) (Figura 7).

Respecto de las interacciones que involucran a *Ganoderma resinaceum*, en términos generales, las maderas reflejaron el ataque de los carbohidratos por sobre la lignina (o tendencia) lo cual en arce sacarino fue identificado a partir de I_{1734}/I_{1508} (hemicelulosas/lignina); en almez por las IAR: I_{896}/I_{1508} (celulosa amorfa/lignina), I_{1508}/I_{1164} (lignina/holocelulosa), I_{1734}/I_{1508} , I_{1508}/I_{1429} (lignina/ celulosa cristalina, dato no publicado); en fresno sólo a partir de I_{896}/I_{1508} ; en roble europeo por I_{896}/I_{1508} e I_{1734}/I_{1508} . En arce, fresno y roble, no se encontraron diferencias, respecto de sus correspondientes t, en los IAR: I_{1508}/I_{1164} , I_{1508}/I_{1429} , I_{1508}/I_{1335} (lignina/unidades syringyl, S), I_{1508}/I_{1268} (lignina/unidades guayacil, G) e I_{1335}/I_{1268} (unidades S/unidades G). Las muestras además reflejaron el ataque preferencial a la celulosa amorfa (I_{896}) respecto del resto de la holocelulosa (I_{1264}) y a las unidades G (I_{1268} , unidades guayacil) (esto último particularmente en almez).

Las muestras pertenecientes a las interacciones *Arambarria cognata* - eucaliptus y arce negundo - *Inonotus rickii*, manifestaron un comportamiento similar al descripto previamente en cuanto a la degradación de la celulosa amorfa por sobre la lignina (I_{896}/I_{1508}), las hemicelulosas (I_{896}/I_{1734}) y holocelulosa (I_{896}/I_{1164}) como también por la falta de diferencias, respecto del material t, en las IAR I_{1508}/I_{1164} , I_{1508}/I_{1429} , I_{1508}/I_{1335} , I_{1508}/I_{1268} , I_{1335}/I_{1268} .

En *Phellinus pomaceus* - ciruelo fue diagnosticada degradación selectiva de lignina (y tendencia en este sentido) - IAR: I_{896}/I_{1508} ; I_{1508}/I_{1164} -. Para *Phlebia brevispora* - paraíso, el valor de la IAR I_{896}/I_{1508} reflejó el ataque a la celulosa amorfa por sobre la lignina como también se presentó cierta tendencia a la preferente degradación de los carbohidratos a partir del IAR I_{1508}/I_{1164} .

Tabla 5. Pudriciones blancas: resultados de las determinaciones químicas realizadas en muestras de madera banda 1800 y 800^{cm-1}.

Interacción analizada - Tratamiento		Intensidades de Absorbancia Relativas (IAR) ¹							
		I ₈₉₆ /I ₁₁₆₄	I ₈₉₆ /I ₁₅₀₈	I ₈₉₆ /I ₁₇₃₄	I ₁₅₀₈ /I ₁₁₆₄	I ₁₇₃₄ /I ₁₅₀₈	I ₁₅₀₈ /I ₁₃₃₅	I ₁₅₀₈ /I ₁₂₆₈	I ₁₃₃₅ /I ₁₂₆₈
<i>B. adusta</i> – <i>Salix</i> sp.	t ²	0.309 a ³	0.476 a	0.512 a	0.649 a	0.930 a	0.864 a	0.805 a	0.932 a
	p	0.188 b	0.418 a	0.506 a	0.448 b	0.828 b	0.748 b	0.653 b	0.873 a
<i>C. unicolor</i>	<i>A. negundo</i>	t	0.330 a	0.446 a	0.653 a	0.745 a	0.679 a	1.074 a	0.879 a
		p	0.156 b	0.315 b	0.345 b	0.498 b	0.920 b	0.744 b	0.669 b
	<i>L. lucidum</i>	t	0.228 a	0.405 a	0.599 a	0.564 a	0.676 a	0.832 a	0.806 a
		p	0.267 a	0.517 b	0.574 a	0.516 a	0.902 b	0.768 a	0.725 a
	<i>Salix</i> sp.	t	0.309 a	0.476 a	0.512 a	0.649 a	0.930 a	0.864 a	0.805 a
		p	0.216 a	0.447 a	0.427 a	0.488 b	1.061 b	0.769 a	0.634 b
	<i>A. saccharinum</i>	t	0.330 a	0.638 a	0.536 a	0.518 a	1.190 a	0.711 a	0.626 a
		p	0.366 a	0.677 a	0.638 b	0.541 a	1.062 b	0.710 a	0.662 a
<i>G. resinaceum</i>	<i>C. australis</i>	t	0.419 a	0.885 a	0.657 a	0.474 a	1.346 a	0.658 a	0.569 a
		p	0.255 b	0.385 b	0.365 b	0.664 b	1.053 b	0.764 b	0.790 b
	<i>F. pennsylvanica</i>	t	0.485 a	0.762 a	1.181 a	0.636 a	0.645 a	0.915 a	0.798 a
		p	0.313 b	0.492 b	0.508 b	0.635 a	0.969 b	0.877 a	0.758 a
	<i>Q. robur</i>	t	0.365 a	0.648 a	0.514 a	0.563 a	1.261 a	0.768 a	0.672 a
		p	0.201 b	0.380 b	0.343 b	0.530 a	1.107 b	0.779 a	0.685 a
	<i>I. jamaicensis</i> – <i>E. globulus</i>	t	0.459 a	0.846 a	0.851 a	0.543 a	0.994 a	0.776 a	0.687 a
		p	0.323 b	0.624 b	0.553 b	0.518 a	1.129 b	0.731 a	0.664 a
<i>Irickii</i> – <i>A. negundo</i>	t	0.330 a	0.446 a	0.653 a	0.745 a	0.679 a	1.074 a	0.879 a	0.818 a
	p	0.266 a	0.371 a	0.496 b	0.717 a	0.750 a	1.053 a	0.817 a	0.776 a
<i>P. pomaceus</i> – <i>P. ceracifera</i>	t	0.487 a	0.764 a	0.630 a	0.638 a	1.212 a	0.764 a	0.720 a	0.943 a
	p	0.412 a	0.842 a	0.658 a	0.489 b	1.281 a	0.639 b	0.628 a	0.983 a
<i>P. brevispora</i> – <i>M. azedarach</i>	t	0.440 a	0.650 a	1.188 a	0.677 a	0.547 a	0.983 a	0.848 a	0.863 a
	p	0.269 b	0.371 b	0.518 b	0.724 a	0.716 b	0.930 a	0.833 a	0.895 a

Referencias. ¹: I₈₉₆/I₁₁₆₄, celulosa/holocelulosa; I₈₉₆/I₁₅₀₈, celulosa/lignina; I₈₉₆/I₁₇₃₄, celulosa/hemicelulosa; I₁₅₀₈/I₁₁₆₄, lignina/holocelulosa; I₁₇₃₄/I₁₅₀₈, hemicelulosa/lignina; I₁₅₀₈/I₁₃₃₅, lignina/syringyl (S); I₁₅₀₈/I₁₂₆₈, lignina/guaiacyl (G); I₁₃₃₅/I₁₂₆₈, syringyl (S)/guaiacyl (G). ²: t, testigo; p, madera atacada. ³: letras distintas indican diferencias significativas (> 0.10, Pandey & Pitman, 2003).

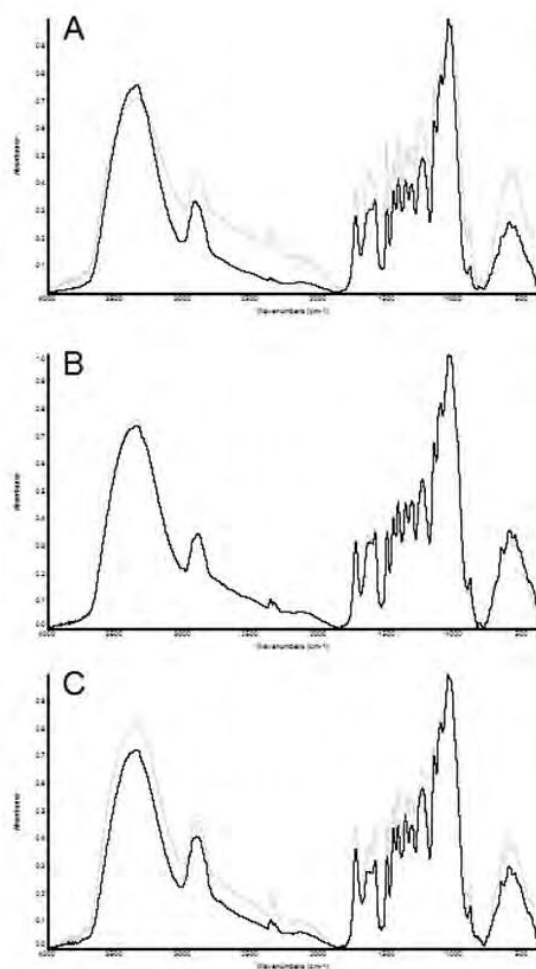


Figura 7. Espectro de absorción FTIR promedio de *Acer negundo* (A), *Ligustrum lucidum* (B) y *Salix* sp. (C) atacada por *Cerrena unicolor*. línea gris madera sana; línea negra madera degradada.

2.- Pudriciones castañas

En cuanto a las pudriciones castañas (Tabla 6), excepto en eucalipto, en las muestras p, respecto de sus correspondientes t, fue determinado un incremento en el índice de absorbancia relativa (IAR) I_{1508}/I_{1164} (lignina/holocelulosa) que evidenció el curso de un proceso de degradación acentuada de la fracción de carbohidratos de la pared. De igual modo se interpretó la reducción en la relación I_{1734}/I_{1508} (hemicelulosas/lignina) y en I_{896}/I_{1508} (celulosa amorfa/lignina) de cada muestra. En eucalipto, fresno, falsa acacia y álamo, el menor IAR para I_{896}/I_{1164} (celulosa amorfa/holocelulosa) e I_{896}/I_{1734} (celulosa amorfa/hemicelulosas) y el mayor para I_{1429}/I_{896} (celulosa cristalina/celulosa amorfa) como también en paraíso la ausencia de un registro I_{896} (celulosa amorfa) indicó la degradación de este carbohidrato por sobre el resto de la holocelulosa. En cuanto a la lignina, el tipo syringyl (S, I_{1335}) fue el preferentemente atacado, ésto puesto en evidencia por la ausencia de registros en eucalipto y fresno, por el mayor IAR I_{1508}/I_{1335} (lignina/unidades syringyl) obtenido en álamo como también por lo hallado para la relación I_{1335}/I_{1268} (unidades syringyl/guayacil).

Tabla 6. Pudriciones castañas: resultados de determinaciones químicas realizadas en muestras de madera banda 1800 y 800^{cm-1}.

Interacción analizada - Tratamiento			Intensidad de Absorbancia Relativa (IAR) ¹									
			I ₈₉₆ /I ₁₁₆₄	I ₈₉₆ /I ₁₅₀₈	I ₈₉₆ /I ₁₇₃₄	I ₁₅₀₈ /I ₁₁₆₄	I ₁₇₃₄ /I ₁₅₀₈	I ₁₅₀₈ /I ₁₃₃₅	I ₁₅₀₈ /I ₁₂₆₈	I ₁₃₃₅ /I ₁₂₆₈	I ₁₄₂₉ /I ₈₉₆	I ₁₄₂₉ /I ₁₁₆₄
<i>Laetiporus sulphureus</i>	<i>E. tereticomis</i>	t ²	0.618 a ³	0.772 a	3.170 a	0.800 a	0.244 a	0.976	1.107 a	1.134	1.297 a	0.801 a
		p	0.232 b	0.307 b	0.715 b	0.755 a	0.429 b		0.735 b		4.931 b	1.143 b
	<i>F. pennsylvanica</i>	t	0.485 a	0.762 a	1.181 a	0.636 a	0.645 a	0.915	0.797 a	0.871	1.486 a	0.744 a
		p	0.246 b	0.191 b	0.427 b	1.284 b	0.448 b		1.076 b		4.649 b	1.129 b
	<i>M. azedarach</i>	t	0.440	0.650	1.188	0.677 a	0.547 a	0.983 a	0.848 a	0.863 a	1.618	0.712 a
		p				1.136 b	0.337 b	0.986 a	0.990 b	1.004 b		1.027 b
	<i>P. alba</i>	t	0.489 a	1.101 a	1.197 a	0.444 a	0.920 a	0.596 a	0.524 a	0.878 a	1.579 a	0.773 a
		p	0.214 b	0.389 b	0.928 b	0.551 b	0.420 b	1.179 b	0.902 b	0.765 b	3.494 b	0.749 a
	<i>R. pseudoacacia</i>	t	0.334 a	0.664 a	0.563 a	0.594 a	1.180 a	0.740 a	0.637 a	0.861 a	2.011 a	0.672 a
		p	0.232 b	0.210 b	0.326 b	1.102 b	0.646 b	0.991 b	1.009 b	1.018 b	4.396 b	1.018 b

Referencias. ¹: I₈₉₆/I₁₁₆₄, celulosa/holocelulosa; I₈₉₆/I₁₅₀₈, celulosa/lignina; I₈₉₆/I₁₇₃₄, celulosa/hemicelulosa; I₁₅₀₈/I₁₁₆₄, lignina/holocelulosa; I₁₇₃₄/I₁₅₀₈, hemicelulosa/lignina; I₁₅₀₈/I₁₃₃₅, lignina/syringyl (S); I₁₅₀₈/I₁₂₆₈, lignina/guaiacyl (G); I₁₃₃₅/I₁₂₆₈, syringyl (S)/guaiacyl (G). ²: t, testigo; p, madera atacada. ³: letras distintas indican diferencias significativas (> 0.10, Pandey & Pitman, 2003).

DISCUSION

Los resultados obtenidos por ambas metodologías como lo son las alteraciones en la fracción polimérica estructural (Tablas 3 a 6), son compatibles con los de sustratos lignocelulósicos expuestos a pudrición blanca y a pudrición castaña, tipos de deterioro que originan las especies fúngicas asociadas a las maderas (Tabla 1).

Los hongos xilófagos atacan los componentes estructurales de la pared - celulosa, hemicelulosas y lignina -, de diferentes modos y en proporciones distintas lo cual determina 3 tipos principales de pudriciones: blancas, castañas y blandas – estas últimas químicamente semejantes a las pudriciones castañas y poco frecuentes en árboles en pie, vivos – (Blanchette, 1995).

Las pudriciones blancas resultan de la despolimerización simultánea del complejo lignocelulósico - pudriciones blancas simultáneas (PBSi) - o bien de un proceso de selectiva delignificación - pudriciones blancas selectivas (PBSe) - luego del cual la celulosa puede o no ser degradada. Las pudriciones castañas resultan de la degradación de los polisacáridos del leño; la lignina sólo es modificada (Martínez et al., 2005; Fackler & Schwanninger, 2012; Rytioja et al., 2014).

Pudriciones blancas

Lo obtenido mediante TAPPI (Tabla 3) en cuanto a la preferente degradación de la celulosa en arce, paraíso, roble y sauce infectados por hongos reconocidos como delignificadores selectivos (Blanchette, 1984a; b; Blanchette et al., 1985; Otjen et al., 1987; Adaskaveg et al., 1990; Robles et al., 2014), resulta compatible con la importancia de la degradación inicial de la celulosa como también de las hemicelulosas⁸ para el crecimiento fúngico y la metabolización de la lignina. Ander & Eriksson (1977) demostraron que ciertas especies son altamente dependientes de la celulosa para lograr la degradación de la lignina. *Coriolus versicolor* y *Phanerochaete chrysosporium* requieren glucosa o celulosa para metabolizar la lignina (Blanchette, 1984b). Ejechi y colaboradores (1996) obtuvieron resultados similares para las maderas *Tiplochiton scleroxylon* (samba) y *Khaya ivorensis* (caoba africana) expuestas a *Pleurotus ostreatus*, especie responsable de PBSe. Respecto de las hemicelulosas, su descomposición es considerada un paso previo esencial para la degradación de la

⁸ Se incluyen las hemicelulosas pensando en la poca precisión de la metodología; los porcentajes de celulosa determinados podrían incluir cierto porcentaje de otros carbohidratos.

lignina; facilitaría el acceso a las enzimas ligninolíticas como también proveería de energía ya que la lignina no sirve como sustrato energético para el crecimiento (Martínez et al., 2005).

Factores como el sustrato – estructura y composición química - y el medio ambiente – condiciones de humedad y temperatura – son reconocidos como determinantes de la distribución y extensión de la delignificación (Blanchette et al., 1985; Agosín et al., 1990; Blanchette, 1991; Martínez et al., 2005) y por ello, podrían estar afectando los resultados obtenidos. Asimismo, existen evidencias de procesos de delignificación que quedan enmascarados al analizar químicamente las maderas. Según Blanchette (1984a) y Otjen et al. (1987) la presencia de sectores con diferentes modos y grados de degradación serían la causa, rasgo que se identificó en estas maderas durante los estudios anatómicos: sectores con PBSe y ataque a la celulosa residual interpuestos en áreas con PBSi, tipos de deterioro que se presentaron con diferente intensidad por sectores del tejido. Este tipo de pudrición blanca, conocida como “mottled rot”, es frecuente entre especies capaces de delignificar selectivamente la madera (Otjen & Blanchette, 1986), como lo son los hongos asociados a las muestras analizadas. Por su parte, en paraíso y roble, el notable incremento en el porcentaje relativo de lignina se corresponde con lo identificado en el material: la resistencia a la delignificación que presentaron los radios (particularmente anchos y altos en paraíso), la persistencia de los elementos de vaso, tipo celular caracterizado por su alto contenido de lignina y del tipo guayacil - considerada la más resistente a la degradación – (Blanchette et al., 1988; Skyba et al., 2013; Pramod et al., 2015), el ataque a la celulosa residual y la alta densidad de la madera del paraíso.

Autores como Otjen et al. (1987) y Van Heerden et al. (2008) mencionan diferencias en los modos de degradación entre aislamientos de una misma especie fúngica; ésto también podría explicar lo obtenido.

En cuanto a la delignificación identificada en eucalipto, se corresponde con lo citado para *Pycnoporus sanguineus* (Luna et al., 2004; Levin et al., 2007; Kim et al., 2015; Naidu et al., 2017; Gao et al., 2018). Para la combinación ciruelo de jardín – *Phellinus pomaceus*, la PBSe diagnosticada es compatible con el tipo de pudrición blanca que originan distintas *Phellinus* spp. (Blanchette, 1991; Luna et al., 2012) y con las alteraciones anatómicas observadas en el material: delignificación diagnosticada por la coloración verdosa de sectores del tejido teñido con safranina *fast-green* y separación celular.

En referencia a los extraíbles, los mayores porcentajes obtenidos en las muestras p (Tabla 3) resultan compatibles con las evidencias de ataque a la fracción polimérica y con la acumulación de los productos resultantes por falta/lento consumo por parte de las cepas (Kirk & Highley, 1973). La mayor R/A en roble y paraíso, se corresponden con la conocida actividad lacasa – enzimas presentes en los hongos de PB - sobre la fracción soluble en agua caliente de las maderas y con el blanqueamiento evidenciado en las muestras (Figura 1: fotos 1 y 4). Los extraíbles en agua caliente incluyen sales orgánicas, gomas, mucílagos, pectinas tales como galactanos, porciones de taninos y pigmentos (Rodríguez, 1978; Hillis, 1987). La madera del roble y del paraíso diferencian verdadero duramen, coloreado, constituido por taninos y compuestos gomosos pigmentados (Hillis, 1987; Inside Wood Database). Las lacasas transforman compuestos fenólicos como parte de una estrategia de detoxificación para facilitar la degradación del leño como también se le atribuyen propiedades relacionadas con la decoloración de tintes, entre otras, (Nyanhongo et al., 2010). Es conocida además la capacidad que posee *Ganoderma* spp. para degradar polifenoles (Schwarze, 2007). Lo expuesto permitiría obtener maderas “blanqueadas”, con bajos contenidos de extraíbles como ocurrió en las muestras bajo estudio. Existen registros del blanqueamiento de maderas colonizadas por *Coriolus versicolor* debido a la destrucción de sus materiales pigmentados (Cartwright & Findlay, 1958, tomado de Ejechi et al., 1996).

Respecto de la técnica FTIR (Tabla 5), lo hallado en las muestras pertenecientes a las interacciones con *Beijerinckia adusta*, *C. unicolor* y *P. pomaceus* se corresponden con el curso de una PBSe, modo de ataque citado para estos hongos (Blanchette, 1984a; Blanchette et al., 1985; Otjen et al., 1987; Robles et al., 2014) e identificado anatómicamente durante el desarrollo de esta investigación.

En cuanto a las muestras que forman parte de las interacciones que incluyen a *Ganoderma resinaceum*, *Arambarria cognata*, *Inonotus rickii* y *Phlebia brevispora* – responsables de PBSe -, la preferente degradación de la fracción de polisacáridos por sobre la lignina identificada, coincide con lo mencionado previamente en cuanto a: la importancia de la degradación inicial de la celulosa y hemicelulosas para el crecimiento fúngico y la degradación y metabolización de la lignina; la influencia del sustrato y del medio ambiente en el proceso de delignificación; el desarrollo de un patrón moteado de deterioro que podría enmascarar la degradación de la lignina acentuado por el pequeño tamaño de las muestras analizadas y la presencia de diferentes estados de degradación por sectores del tejido; la persistencia de células/sectores del tejido

altamente lignificados, como lo son los vasos y laminilla media compuesta; diferencias en el modo de degradación entre aislamientos de una misma especie. Además, la generación de nuevos polímeros aromáticos, posiblemente derivados de la repolimerización de los productos de deslignificación y la síntesis eventual de melaninas fúngicas que interaccionan equivalentemente a la lignina vía FTIR, comparado con el material de partida, también puede ser la causa de los resultados detectados (Saparrat, com. pers.). En este sentido, la presencia de extraíbles en roble y paraíso como también de una zona de reacción en arce negundo, arce sacarino y eucaliptos contribuirían con la detección de niveles de absorbancia que no reflejan el contenido real de lignina en la madera.

La pronunciada degradación de la celulosa amorfa por sobre el resto de la fracción de polisacáridos es compatible con lo enunciado por distintos autores en torno al direccionamiento inicial de la actividad enzimática – endoglucanasas - hacia dicha región de la molécula reconocida por su mayor susceptibilidad a la degradación y afinidad por las moléculas de agua (Baldrian & Valášková, 2008; Quiroz-Castañeda & Folch-Mallol, 2011; Gawron et al., 2012).

Respecto de la preferente degradación de las unidades S o syringyl ligninas, distintos estudios sugieren su baja resistencia a la degradación por especies de pudrición blanca (Schwarze, 2007; Saito et al., 2012; Skyba et al., 2013). En cuanto a las reducciones relativas de las unidades G o guayacil, podría resultar de procesos de metoxilación mediados por lacasas. Distintas lacasas son reconocidas por causar la oxidación de grupos hidroxilos ($\text{OH}^\cdot$) de mono y difenoles como también de varias reacciones redox que conducen a la metoxilación y a otras alteraciones químicas en las unidades de lignina. En las unidades G, los grupos ($\text{OH}^\cdot$) son más accesibles a las lacasas que en las unidades S (Skyba et al., 2013; Munk et al., 2017).

Pudriciones castañas

En referencia a las pudriciones castañas, lo hallado mediante TAPPI (Tabla 4) en las muestras p en cuanto a la disminución, respecto de su correspondiente t, en los porcentajes relativos de celulosa y los aumentos en los de lignina y extraíbles, resulta compatible con el desarrollo de este tipo de deterioro. Los "*brown rot fungi*" despolimerizan los polisacáridos estructurales a velocidad mayor a la que los productos resultantes de la degradación pueden ser absorbidos y metabolizados – prima el clivaje por sobre su utilización -. La lignina es modificada principalmente por metoxidación/demetoxilación. A causa de ello, el residuo resultante posee un bajo

contenido de grupos metoxilos y alto de hidroxilos como también es responsable de la coloración castaña característica del material (Blanchette, 1995; Fackler et al., 2010; Rytioja et al., 2014) rasgo observado en las muestras (Figura 1, fotos: 3 y 4). La intensa despolimerización de los polisacáridos - celulosa, hemicelulosas, pectinas - determina aumentos relativos en los porcentajes de lignina y extraíbles (Kirk & Highley, 1973; Pandey & Pitman, 2003; Karppanen et al., 2008; Fackler et al., 2010), tal como fue identificado. En el caso de los extraíbles los incrementos resultan de la concentración de los carbohidratos fúngicos, de los productos resultantes de la descomposición y por la presencia de contenidos – tálides, taninos, gomas - en el duramen de las maderas (Kirk & Highley, 1973), compuestos observados en el material bajo estudio. Fabiyi y colaboradores (2011), en maderas expuestas a degradación fúngica, determinaron que la quitina de estos organismos contribuye con el incremento en el contenido de polisacáridos. Por su parte, los mayores valores obtenidos en cada una de las R/A(p) respecto de R/A(t) también se corresponden con la preferente degradación y posterior metabolización de los carbohidratos. Los extraíbles solubles en agua caliente constituyen una medida de la cantidad de sales orgánicas, gomas, taninos y pectinas (galactanos), contenidos en la madera, entre otros compuestos (Rodríguez, 1978).

La mayor resistencia a la degradación identificada en paraíso (Tabla 4) resulta compatible con sus características anatómicas. Esta especie posee compuestos gomosos pigmentados en los lúmenes de los elementos de vaso, predominantes en los del leño temprano (InsideWood Database). En las maderas con porosidad circular, como la de esta especie, los vasos del leño temprano – de diámetro mayor - conforman la principal vía de colonización fúngica. La presencia de contenidos en las cavidades celulares constituye una barrera a la colonización y degradación (Shigo & Marx, 1977; Schwarze et al., 1997; Schwarze et al., 2000a). De acuerdo con ello, estos rasgos condicionarían la colonización de esta madera, limitándola a los sectores del anillo considerados menos eficientes desde el punto de vista de la invasión fúngica – leño tardío -. Kirk & Highley (1973) mencionan la influencia del sustrato por sobre las cepas xilófagas en las tasas de remoción de los principales componentes estructurales de la pared celular. No obstante, existen antecedentes en torno a la habilidad de *L. sulphureus* para superar dichos obstáculos/barreras mediante su destrucción (Schwarze et al., 2000a; Murace et al., 2017). La capacidad de degradar extraíbles que posee esta especie, entre ellos, compuesto fenólicos (Schwarze et al., 1997; Schwarze et al., 2000a; Mtui & Masalu, 2008), también contribuye a explicar la eficiente

descomposición identificada en eucalipto – poseedora de taninos - (Hillis, 1987; InsideWood Database).

En cuanto a lo obtenido mediante FTIR (Tabla 6) – incremento relativo de la lignina respecto de la holocelulosa, celulosa amorfa y hemicelulosas en las muestras p - también es compatible con el ataque preferencial de los polisacáridos que realizan los hongos de pudrición castaña, como lo es *Laetiporus sulphureus*, mediante un sistema enzimático y no enzimático difusible – agentes oxidantes o ROS, particularmente OH⁻, que causan la despolimerización inicial de dichos compuestos -. Pandey & Pitman (2004) y Fabiyi et al. (2011) arribaron a resultados similares mediante esta técnica, utilizada para la caracterización química de leños de Latifoliadas expuestos a *Coniophora puteana* y *Gloeophyllum trabeum*, respectivamente.

La pronunciada degradación de la celulosa amorfa identificada, se corresponde con lo enunciado previamente: alta susceptibilidad a la degradación y afinidad por las moléculas de agua (Baldrian & Valášková, 2008; Quiroz-Castañeda & Folch-Mallol, 2011; Gawron et al., 2012).

El notable incremento en el índice de cristalinidad (IC) estaría asociado a la preponderancia de una fracción amorfa de polisacáridos, más susceptible a la degradación. De acuerdo con Fackler et al. (2010), si bien este tipo de deterioro reduce la cantidad de celulosa cristalina, menos de un tercio de los polisacáridos de la pared celular poseen esta propiedad. En este tipo de pudrición la intensa despolimerización de la fracción amorfa – hemicelulosa, pectinas, celulosa paracristalina –, tal como fue determinado, conduce inevitablemente a un incremento relativo del IC. Howel et al. (2009) encontró en madera de pino con 50 % de pérdida de peso incrementos en la cristalinidad relativa de dicha madera. De igual modo Hastrup et al. (2012) en madera de arce expuesta a *Gloeophyllum trabeum*.

La ausencia o disminución relativa de las unidades siringyl lignina (S) determinada podría deberse a la preferencia de *L. sulphureus* por dicho sustrato o por su oxidación. Skyba et al. (2013) sugiere que la disminución relativa de S en madera de álamo expuesta a *Coniophora puteana* – especie de pudrición castaña - podría deberse a una acentuada demetoxilación y consecuente transformación en G o guayacil lignina. Durante el curso de las pudriciones castañas la lignina es notablemente modificada por metoxilación y/o demetoxilación, entre otros mecanismos existentes de transformación de este heteropolímero aromático (Jin et al., 1990; Yelle et al., 2011). No obstante, la metoxidación/demetoxilación es considerada la principal

estrategia empleada por los hongos de pudrición castaña en la transformación inicial de la lignina (Eriksson et al., 1990; Fackler & Schwanninger, 2012).

En las maderas bajo estudio, lo hallado en torno a la degradación de los carbohidratos también se corresponde con la consistencia frágil detectada en la totalidad de las muestras y con lo observado mediante los estudios anatómicos: contracción generalizada del tejido, presencia de fracturas y pérdida de birrefringencia como indicador indirecto de celulolisis.

Laetiporus sulphureus es un patógeno frecuente en el arbolado urbano, reconocido por disminuir notablemente la capacidad resistente de las maderas naturalmente infectadas, propiedad particularmente debida a la celulosa – grado de polimerización, puentes de hidrógeno intermoleculares, estructura cristalina y por su disposición, respecto del eje longitudinal de las células, formando un pequeño ángulo microfibrilar - (Schwarze & Fink, 1994; Schwarze, 1995, tomados de Schwarze et al., 2000a; b).

CONCLUSIONES

La totalidad de las muestras – sanas y expuestas a degradación - presentaron la composición química característica de un sustrato leñoso. En las muestras atacadas, la modificación de la matriz lignocelulósica resultó acorde al tipo de pudrición que causa la cepa xilófaga integrante de la combinación hospedante-patógeno considerada.

Las pudriciones castañas, en la totalidad de las interacciones, resultaron más homogéneas en cuanto al ataque preferencial de los carbohidratos por sobre la lignina. En este tipo de deterioro las modificaciones anatómicas manifestaron igual tendencia. Las diferencias en la intensidad de la degradación de cada uno de los componentes de la pared celular se correspondieron con sus diferencias anatómicas.

En cuanto a las pudriciones blancas, los resultados obtenidos para cada una de las combinaciones analizadas fueron más variables (implicaron más especies xilófagas), en particular respecto del ataque a la lignina, esto teniendo en cuenta que todas las especies fúngicas identificadas son delignificadoras selectivas. En cada una de las muestras y por ende interacciones hongo-madera, diversos factores contribuyeron a esa variabilidad, como la intensidad de ataque por sectores del tejido (en las pudriciones moteadas), las distintas etapas o grados de pudrición registrados, factores del medio y del sustrato, la posible generación de compuestos resultantes de fenómenos de repóimerización y/o precipitación que enmascaren el ataque a la

lignina, la acentuada degradación de los polisacáridos y por último la disponibilidad de material para los análisis. Debido a ello, nuevas repeticiones aportarían información valiosa para este tipo de estudios.

Si bien ambas metodologías permiten determinar el curso y tipo de deterioro presente en un ejemplar, la técnica FTIR brinda mayor detalle con menor cantidad de muestra, respecto al modo en que ocurren las alteraciones químicas en un sustrato lignocelulósico afectado por pudrición blanca y castaña.

CONCLUSIONES FINALES

A través de este trabajo se estudian por primera vez para la Argentina interacciones entre hongos xilófagos/especies arbóreas de modo integral, incluyendo la identificación de las cepas fúngicas a nivel morfológico y molecular, la actualización nomenclatural/taxonómica, así como las alteraciones anatómicas y químicas que causan las mismas en las maderas. Excepto para las interacciones *Cerrena unicolor*/arce y *Laetiporus sulphureus*/falsa acacia, los resultados obtenidos constituyen primeros aportes a nivel mundial en torno a las alteraciones químico-estructurales en maderas naturalmente infectadas y la interpretación de dichos cambios considerando aspectos vinculados con los hospedantes y las cepas fúngicas.

Se identificaron 13 cepas xilófagas, en su mayor parte Poliporales asociadas a árboles en pie vivos, con comportamiento parásito facultativo, 12 de ellas causantes de pudrición blanca y sólo una de pudrición castaña, *L. sulphureus*. La preponderancia de *L. sulphureus* sería consecuencia de la diferenciación de abundantes clamidosporas y conidios en las maderas atacadas a lo que se suman su condición de "heart rot fungi" y como tal su ingreso via heridas que exponen al duramen - daños frecuentes en los ambientes urbanos -, su condición de patógeno generalista y agresivo (capaz de colonizar y degradar los extraíbles presentes en el tejido).

Se analizaron un total de 19 interacciones (12 correspondientes a pudrición blanca y 7 a pudrición castaña). La totalidad de las interacciones presentaron las consideradas evidencias externas de pudrición (heridas que exponen madera, basidiomas, hundimientos, deformaciones de la corteza, entre otros) corroborándose la hipótesis planteada: "*las evidencias externas permiten predecir la existencia de pudrición en los árboles...*"

Las asociaciones identificadas resultaron de la combinación hongos xilófagos responsables de pudrición blanca o bien de pudrición castaña con Latifoliadas exóticas (14 taxones del contexto urbano de la ciudad de La Plata y sus alrededores), hallándose en la zona de muestreo sólo una combinación hospedante/patógeno con Gimnospermas (*Cupressus* sp.) para la cual si bien no fue posible aislar a la cepa fúngica, dicha cepa fue considerada como responsable de pudrición castaña en base a los rasgos de la madera atacada. De acuerdo con ello la conformación de las interacciones que incluyen a *L. sulphureus* conducen a rechazar lo planteado..... "*los hongos de pudrición castaña se asocian a maderas de Gimnospermas y los de*

podrición blanca a maderas de Latifoliadas..." afinidad que sí se presenta en las regiones templadas del hemisferio norte, y es la tradicionalmente considerada. Por su parte, los resultados obtenidos se corresponden con lo citado para los bosques de *Nothofagus* ubicados en la provincia biogeográfica subantártica. En el área de muestreo considerada en esta investigación como así también en la mencionada región sur de Sud América, la baja proporción de taxa pertenecientes a las Gimnospermas contribuiría con ello.

Se menciona un nuevo hospedante para *Tyromices fissilis* en la ciudad de La Plata (*Tilia* sp.), como así también se aporta una nueva evidencia del rol patogénico que estaría cumpliendo *Phlebia brevispora*, constituyendo además un primer registro de la presencia de esta especie en nuestro país.

En los leños analizados, las pudriciones blancas (selectivas y simultáneas) y las castañas fueron identificadas a través de caracteres diagnósticos como delignificación, separación celular, adelgazamiento de paredes, agujeros, acumulación de micelio, fracturas, decoloración, pérdida de birrefringencia, entre los más relevantes. Dentro de cada tipo, las diferentes combinaciones madera-especie xilófaga mostraron patrones de colonización y degradación fúngica particulares, compatibles con las características anatómicas del sustrato, con los aspectos químico/estructurales de cada tipo celular (pared y contenidos) y la agresividad y el potencial enzimático de la especie fúngica, incluyendo la capacidad del patógeno para salvar las barreras pasivas o activas impuestas por los hospedantes, todo lo cual permitió aceptar que ...*"existen diferentes patrones de degradación para cada combinación hospedante – patógeno....."*

En las muestras con pudrición blanca, analizadas mediante TAPPI, para cada combinación sustrato-hongo se registró en general un menor porcentaje relativo de lignina - excepto en paraíso y roble - y de celulosa, y un mayor porcentaje relativo de extraíbles, particularmente los solubles en agua caliente. En referencia a las pudriciones castañas, para la totalidad de las muestras se obtuvo una notable disminución en el porcentaje relativo de celulosa e incrementos en los porcentajes de lignina y extraíbles, principalmente los solubles en alcohol benceno. Los análisis con FTIR en maderas con pudrición blanca permitieron detectar casos de delignificación selectiva, por ejemplo, en la interacción *Beijerinckia adusta* – sauce, en las interacciones *Cerrena unicolor* - arce negundo, ligustro y sauce y en la interacción *Phellinus pomaceus* – ciruelo. Muestras con pudrición castaña también evidenciaron el curso de un proceso de degradación acentuada de la fracción de carbohidratos de la pared. La rápida e incipiente destrucción de los polisacáridos determina la disminución

drástica de las propiedades de resistencia de la madera, lo cual atenta contra la estabilidad de los ejemplares, poniendo en riesgo a la población, sus bienes y servicios en el contexto urbano.

Por lo expuesto, lo hallado en este estudio suma evidencias a favor de la hipótesis que plantea que distintos hospedantes pueden ser afectados de modo diferente por la misma especie fúngica, de acuerdo a sus rasgos anatómicos particulares, a las diferencias en el potencial enzimático que pueda presentarse entre cepas fúngicas, y a las estrategias de colonización que dichas cepas desarrollen. Todo esto se traduce en distintos impactos sobre la capacidad resistente de las maderas, así como sobre el riesgo que significa la presencia de determinados hongos en el arbolado urbano. En suma lo obtenido permite aceptar que.....*“las modificaciones estructurales y químicas de la madera degradada permiten determinar el tipo y patrón de pudrición y estimar su posible influencia en la alteración de las propiedades de resistencia...”*

BIBLIOGRAFIA

- Adaskaveg, J.E. & R.L. Gilbertson. 1986. In vitro decay studies of selective delignification and simultaneous decay by the white rot fungi *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae*. Canadian Journal of Botany 64: 1611-1619.
- Adaskaveg, J.E.; R.L. Gilbertson & R.A. Blanchette. 1990. Comparative studies of delignification caused by *Ganoderma* species. Applied and Environmental Microbiology 56(6): 1932-1943.
- Agosín, E.; R.A. Blanchette; H. Silva; C.L. Kory; R. Cease; R.E. Ibach; A.R. Abad & P. Mugas. 1990. Characterization of palo podrido, a natural process of delignification in wood. Applied and Environmental Microbiology 56(1): 65-74.
- Agrios, G. 2005. Plant Pathology. 5th Edition. Elsevier Academic Press. 903 pp.
- Anagnost, S.E. 1998. Light microscopic diagnosis of wood decay. IAWA Journal 19(2): 141-167.
- Ander, P. & K. Eriksson. 1977. Selective degradation of wood components by white rot fungi. Physiol. Plant., 41: 239-248.
- Annesi, T.; R. Coppola; E. Motta. 2003. Decay and canker caused by *Inonotus rickii* spreading on more tree species. Forest Pathology 33: 405–412.
- Annesi, T.; L. D'Amico; D. Bressanin; E. Motta & G. Mazza. 2010. Characterization of Italian isolates of *Inonotus rickii*. Phytopathology Mediterranean 49: 301-308.
- Baldrian, P. & V. Valášková. 2008. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. Microbiological Review 32: 501–521.
- Bamber, R.K. & K. Fukazawa. 1985. Sapwood and heartwood: A review. Forestry Abstracts 46: 567-580.
- Banik, M.T.; D.L. Lindner & Y. Ota. 2010. Relationships among North American and Japanese *Laetiporus* isolates inferred from molecular phylogenetics and single-spore incompatibility reactions. Mycologia 102(4): 911–917.
- Baral, S.K.; F. Berningel; R. Schneider & D. Pothier. 2016. Effects of heartwood formation on sugar maple (*Acer saccharum* Marshall) discoloured wood proportion. Trees Springer September.
- Barnard, E.L. 1993. *Inonotus rickii* (anamorph: *Ptychogaster cubensis*): A wood-decaying fungus of importance to Florida hardwoods. Plant Pathology Circular No.

- 357, Fla. Dept. Agric. & Consumer Services January/February, Division of Plant Industry.
- Barnett, J.R. & G. Jeronimidis. 2003. Wood quality and its biological basis. Blackwell Publishing Ltd. Australia. 226 pp.
- Barrasa, J.M.; A.E. Gonzales & A.T. Martinez. 1992. Ultrastructural aspects of fungal delignification of chilean woods by *Ganoderma australe* and *Phlebia chrysocrea*. A study of natural and in vitro degradation. *Holzforschung* 46(1): 1-8.
- Barry, K.M.; R.B. Pearce & C.M. Mohammed. 2000. Properties of reaction zones associated with decay from pruning wounds in plantation-grown *Eucalyptus nitens*. *Forest Pathology* 30: 233-245.
- Baum, S. & F. W. M. R. Schwarze. 2002. Large-leaved lime (*Tilia platyphyllos*) has a low ability to compartmentalize decay fungi via reaction zone formation. *New Phytologist* 154: 481-490.
- Bazzalo, M.E. & J.E. Wright. 1982. A survey of the *Ganoderma lucidum* complex in Argentina. *Mycotaxon* 16(1): 293-325.
- Betucci, L. & R.T. Guerrero. 1971. Hongos xilófagos: estudio de cultivos. Univ. de la Rep. Fac. Agro. (Montevideo) 118: 1-40.
- Blanchette, R.A. 1980. Wood decomposition by *Phellinus* (Fomes) *pini*: a scanning electron microscopy study. *Canadian Journal of Botany* 58: 1496-1503.
- Blanchette, R.A. 1982a. Decay and canker formation by *Phellinus pini* in white and balsam fir. *Canadian Journal of Forest Research* 12: 538-544.
- Blanchette, R.A. 1982b. Progressive stages of discoloration and decay associated with the canker-rot fungus, *Inonotus obliquus*, in Birch. *Phytopathology* 72: 1272-1277.
- Blanchette, R.A. 1983. An unusual decay pattern in brown-rotted wood. *Mycologia* 75(3): 552-556.
- Blanchette, R. A. 1984a. Screening wood decayed by white rot fungi for preferential lignin degradation. *Applied and Environmental Microbiology* 48(3): 647-653.
- Blanchette, R.A. 1984b. Selective delignification of Eastern Hemlock by *Ganoderma tsugae*. *Phytopathology* 74(2): 153-160.
- Blanchette, R.A. 1984c. Manganese accumulation in wood decayed by white rot fungi. *Phytopathology* 74 (6): 725-730.
- Blanchette, R.A. 1991. Delignification by wood-decay fungi. *Annual Review of Phytopathology* 29: 381-398.
- Blanchette, R.A. 1995. Degradation of the lignocellulose complex in wood. *Canadian Journal of Botany* 73(Suppl. 1): 999-1010.

- Blanchette, R.A.; E.W. Krueger; J.E. Haight; M. Akhtar & D.E. Akin. 1997. Cell wall alterations in Loblolly Pine wood decayed by the white-rot fungus *Ceriporiopsis subvermispora*. *Journal of Biotechnology* 53: 203–213.
- Blanchette, R.A; J.R. Obst; J.I. Hedges & K. Weliky. 1988. Resistance of hardwood vessels to degradation by white rot Basidiomycetes. *Canadian Journal of Botany* 66: 1841-1847.
- Blanchette, R.A.; L. Otjen; M.J. Effland & W.E. Eslyn. 1985. Changes in structural and chemical components of wood delignified by fungi. *Wood Science and Technology* 19: 35-46.
- Blumenfeld, S.N. 1986. Estudios ecológicos de Basidiomycetes xilófilos en plantaciones de *Pinus elliotti* y *Pinus taeda* de la Argentina. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 24(3-4): 261-281.
- Blumenfeld, S.N. 1992. Macromycetes (Aphyllorphorales) asociados a los álamos: estudio ecológico para el Alto Valle de Rio Negro y Neuquén (Argentina). *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 28(1-2): 105-111.
- Blumenfeld, S.N; J.R. Deschamps & M. Rajchenberg. 1982. Los hongos lignívoros del noreste argentino: Estado actual de su conocimiento. *Actas de las Primeras Jornadas Técnicas sobre bosques implantados en el noreste argentino*: 240-243. Facultad de Ciencias Forestales. Eldorado, Misiones.
- Boddy, L. 1992. Development and function of fungal communities in decomposing wood. *In*: The fungal community, its organization and role in the ecosystem. Carroll & Wicklow Eds., Marcel Dekker, New York, 749-782.
- Boddy, L. 2000. Interspecific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes. *FEMS Microbiology Ecology* 31: 185-194.
- Boddy, L. 2001. Fungal community ecology and wood decomposition processes in angiosperms: from standing tree to complete decay of coarse woody debris. *Ecological Bulletins* 49: 43-56.
- Boddy, L. & A.D. M. Rayner. 1983. Origins of decay in living deciduous trees: the role of moisture content and a re-appraisal of the expanded concept of tree decay. *New Phytology* 94: 623-641.
- Boominathan, K. & C.A. Reddy. 1992. Fungal degradation of lignin: Biotechnological applications. *In*: Handbook of Applied Mycology 4, Arora, Elander & Mukerji Eds., Marcel Dekker, New York, 763-822.
- Boyce, J. S. 1961. *Forest Pathology*. 3rd Edition. Mc. Graw - Hill Book Company Inc., 572 pp.

- Burdsall, Jr. H.H. & M.T. Banik. 2001. The genus *Laetiporus* in North America. *Harvard Papers in Botany* 6(1): 43-55.
- Buswell, J.A. 1991. Fungal degradation of lignin. *In: Handbook of Applied Mycology I*, Arora, Rai, Mujerki & Knudsen Eds., Marcel Dekker, New York, 425-480.
- Chaparro, F.; D.C. Rosas & A. Varela. 2009. Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática de hongos descomponedores de madera. *Revista Iberoamericana de Micología* 26(4): 238–243.
- Cui, B.K.; C.L. Zhao; J. Vlasak & Y.C. Dai. 2014. A preliminary report on decay and canker of *Acacia richii* caused by *Inonotus rickii* in China. *Forest Pathology* 44: 82–84.
- Curling, C.; C.A. Clausen & J.E. Winandy. 2001. The effect of hemicellulose degradation on the mechanical properties of wood during brown rot decay. The International Research Group on Wood Preservation IRG/WP 01-20219. 32nd Annual Meeting Nara, Japan. Section 2, Test methodology and assessment. 10 pp.
- Curling, S; C.A. Clausen & J.E. Winandy. 2002. Experimental method to quantify progressive stages of decay of wood by Basidiomycetes fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation* 49:13–19.
- Cwielong, P. & M. Rajchenberg. 1993. Pudriciones de la Lengua (*Nothofagus pumilio*) en Patagonia. *Actas Congreso Forestal Argentino y Latinoamericano*.
- Dai, Y.C.; L. D'Amico; E. Motta & T. Annesi. 2010. First report of *Inonotus rickii* causing canker and decay on *Hevea brasiliensis* in China. *Plant Pathology* 59: 806.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. Libro de técnicas histológicas en plantas. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Daniel, G. 2016. Fungal degradation of wood cell walls. *In: Secondary Xylem Biology. Part II: Function and Pathogen Resistance of Secondary Xylem*, Chapter 8 (160p). Elsevier Inc.
- Davidson, R.W; W.A. Campbell & D.J. Blaisdell. 1938. Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. *Journal of Agricultural Research* 57(9): 683-695.
- Deflorio, G. 2006. Wood decay dynamics in the sapwood of trees - in vitro and in vivo studies on the role of the wood substrate in decay development. Tesis Doctoral. Cuvillier Verlag, Göttingen, Germany. 356 pp.
- Deflorio, G.; E. Franz; C. Beadle & C. Mohammed. 2011. Defence responses in plantation-grown *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens* after artificial fungal inoculation. *Forest Pathology* 41: 398-406.

- Deflorio, G.; C. Johnson; S. Fink; F.W. Mathew & R. Schwarze. 2008. Decay development in living sapwood of coniferous and deciduous trees inoculated with six wood decay fungi. *Forest Ecology and Management* 255: 2373–2383.
- Delucchi, G.; A. A. Julianello & R. F. Correa. 1993. Los espacios verdes y el arbolado urbano en el área de La Plata. I - Orígenes y evolución hasta el presente. *Revista Facultad de Cs. Naturales y Museo*. 5 pp.
- Deschamps, J. & J.J. Wright. 1975. Clave para el reconocimiento en cultivo de las especies xilófagas de *Basidiomycetes argentinae*. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, INTA, Bs. As., Rep. Argentina. Serie V, Patología Vegetal XII (2).
- Deschamps, J. & J.J. Wright. 1997. Patología forestal del cono sur de América. 1ra. Edic. Orientación Grafica Editora. SRL. 237 pp.
- Dill, I. & G. Kraepelin. 1986. Palo podrido: model for extensive delignification of wood by *Ganoderma applanatum*. *Applied and Environmental Microbiology* 52(6): 1305-1312.
- Dimitri, M.J. & L.R. Parodi. 1977. Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería. Ed. Acme.
- Ejechi, B.O.; C.O. Obuekwe & A.O. Ogbimi. 1996. Microchemical studies of wood degradation by brown and white rot fungi in two tropical timbers. *International Biodeterioration & Biodegradation* 38: 119-122.
- Enebak, S.A. & R.A. Blanchette. 1989. Canker formation and decay in sugar maple and paper birch infected by *Cerrena unicolor*. *Canadian Journal of Forest Research* 19(2): 225-231.
- Eriksson, K.E.L; R.A. Blanchette & P. Ander. 1990. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer, Berlin, Germany. 407 pp.
- Esau, K. Anatomía de las plantas con semilla. 1982. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Espiñeira, J.M.; E. Novo Uzal; L.V. Gómez Ros; J.S. Carrión; F. Merino; A. Ros Barceló & F. Pomar. 2011. Distribution of lignin monomers and the evolution of lignification among lower plants. *Plant Biology* 13: 59–68.
- Fabiyi J.S; McDonld, A.G.; J.J. Morrell & C. Freitag. 2011. Effects of wood species on durability and chemical changes of fungal decayed of wood plastic composites. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* 42(5): 501-510.
- Fackler, K. & M. Schwanninger. 2012. How spectroscopy and microspectroscopy of degraded wood contribute to understand fungal wood decay. *Applied Microbiology and Biotechnology* 96: 587–599.

- Fackler, K.; J.S. Stevanic; T. Ters; B. Hinterstoisser; M. Schwanninger & L. Salmén. 2010. Localization and characterization of incipient brown-rot decay within spruce wood cell walls using FT-IR imaging microscopy. *Enzyme Microbiology and Technology* 47(6): 257–267.
- Ferraz, A.; E. Esposito; R.E. Bruns & N. Duraan. 1998. The use of principal component analysis (PCA) for pattern recognition in *Eucalyptus grandis* wood biodegradation experiments. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 14: 487-490.
- Floudas, D.; B.W. Held; R. Riley; L.G. Nagy; G. Koehler; A.S. Ransdell; H. Younus; J. Chow; J. Chiniquy & A. Lipzen. 2015. Evolution of novel wood decay mechanisms in Agaricales revealed by the genome sequences of *Fistulina hepatica* and *Cylindrobasidium torrendii*. *Fungal Genetic and Biology* 76: 78–92.
- Gamauf, C.; B. Metz & B. Seiboth. 2007. Degradation of plant cell wall Polymers by fungi. *In: Environmental and Microbial Relationships*. 2nd. Edition. The Mycota IV. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 325 - 340.
- Gantz, S.; S. Steudler; H. Delenk; A. Wagenführ & T. Bley. 2017. Zone line formation on artificial media and in hardwoods by basidiomycetes for production of spalted wood. *Holzforschung* 71(10): 833 – 841.
- Gao, J.; J.S. Kim & G. Daniel. 2018. Effect of thermal modification on the micromorphology of decay of hardwoods and softwoods by the white rot fungus *Pycnoporus sanguineus*. *Holzforschung* 72(9): 1-15
- Gawron, J.; M. Szczęsna; T. Zielenkiewicz & T. Gołofit. 2012. Cellulose crystallinity index examination in oak wood originated from antique woodwork. *Drewno. Pr. Nauk. Donies. Komunik.* 55(188): 109-114.
- Gómez, C.E. 1976. Mutatoderma, un nuevo género de Corticiaceae. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 17(3-4): 345-352.
- Gómez, C.E. & M.E. Loewenbaum. 1976. El género *Peniophora* (Cooke) Donk (Basidiomycetes-Aphylllophorales) de los alrededores de Buenos Aires. *Darwiniana* 20: 89-209.
- Good, H.M.; P.M. Murray & H.M Dale. 1955. Studies on heartwood formation and staining in sugar maple, *Acer saccharum* Marsh. *Canadian Journal of Botany* 33(1): 31-41.
- Gottlieb, A.M. & J.E. Wright. 1999. Taxonomy of *Ganoderma* from southern South America: subgenus *Ganoderma*. *Mycological Research* 103(6): 661-673.
- Gottlieb, A.M; J.E. Wright & J. Moncalvo. 2002. *Inonotus* s.l. in Argentina: morphology, cultural characters and molecular analysis. *Mycological Progress* 1: 299-313.

- Green III, F. & T.L. Highley. 1997. Mechanism of Brown-rot decay: paradigm or paradox. *International Biodeterioration & Biodegradation* 39(2-3): 113-124.
- Greslebin, A. & M. Rajchemberg. 1997. Corticioid Aphyllophorales (Basidiomycota) the Patagonian Andes Forests of Argentina. 1. Lachnocladiaceae on *Nothofagus pumilio*. *Mycotaxon* 65: 197-203.
- Greslebin, A. & M. Rajchemberg. 1997. Corticioid Aphyllophorales (Basidiomycota) the Patagonian Andes Forests of Argentina. 2. *Hyphodontia decorticans* sp. nov. *Mycotaxon* 65: 205-209.
- Greslebin, A. & M. Rajchemberg. 1998. Corticioid Aphyllophorales (Basidiomycota) the Patagonian Andes Forests of Argentina. 3. The genus *Dendrothele*. *Mycotaxon* 67: 469-486.
- Gutiérrez, A. & A.T. Martínez. 1996. Mecanismo de biodegradación de la lignina. *Revista Iberoamericana de Micología* 13: 18-23.
- Hastrup, A.C.S.; C. Howell; F.H. Larsen; N. Sathitsuksanoh; B. Goodell; J. Jellison. 2012. Differences in crystalline cellulose modification due to degradation by brown and white rot fungi. *Fungal Biology* 116(10): 1052-1063.
- Heredia, F.; G. Morera; G. Robledo; L. Cagnolo & C. Urcelay. 2014. Interacciones entre hongos de la madera (Agaricomycete) y árboles nativos y exóticos de un ecosistema urbano (Córdoba, Argentina). *BOSQUE* 35(3): 391-398.
- Highley, T.L. 1987. Biochemical aspects of white rot and brown rot decay. The International Research Group on Wood Preservation. Documento N° IRG/WP/1319. 22 pp.
- Highley, T.L.; C.A. Clausen; S.C. Croan; F. Green; B. L. Illman & J.A. Micales. 1994. Research on biodeterioration of wood, 1987-1992. I. Decay mechanisms and biocontrol. USDA Forest Service, Research Paper FPL-RP-529.
- Hillis, W.E. 1987. Heartwood and tree exudates. Springer-Verlag-Berlin Heidelberg Printed in Germany. 268 pp.
- Hinterstoisser, B.; R. Jalkanen; M. Nowotny & M. Schwanninger. 2001. Lignification of Scots Pine trees from Arctic Circle up to timberline. *Buvísindi Icel. Agr. Sci.* 14: 55–59.
- Hori, C.; J. Gaskell; K. Igarashi; M. Samejima; D. Hibbett; B. Henrissat & D. Cullen. 2013. Genome wide analysis of polysaccharides degrading enzymes in 11 white- and brown-rot Poliporales provides insight into mechanisms of wood decay. *Mycologia* 105(6): 1412–1427.

- Hörnfeldt, R.; M. Drouin & L. Woxblom. 2010. False heartwood in beech: *Fagus sylvatica*, birch: *Betula pendula*, *B. papyrifera* and ash *Fraxinus excelsior* - an overview. *Ecological Bulletins* 53: 61-76.
- Iaconis, C.L. & J.E. Wright. 1953. Estudio sobre Basidiomycetes. II. Sistemática y biología de tres especies de Fomes. *An. Soc. Cient. Arg.*, 155: 106-116; pp. 134-143; *Ibid.* 156, 1953. pp. 1-16.
- IAWA COMMITTEE. 1989. List of Microscopic Features for Hardwood Identification. Wheeler, Baas & Gasson (Eds). 332 pp.
- Ibáñez, C. 1995. Contribución al estudio de hongos xilófagos en la provincia de Misiones, Argentina (Basidiomycetes, Aphyllophorales). I. Ganodermataceae e Hymenochaetaceae. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 30(3-4): 213-230.
- Ibáñez, C. 1998. Contribución al estudio de hongos xilófagos en la provincia de Misiones, Argentina (Basidiomycetes, Aphyllophorales). II. Polyporaceae. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 33(1-2): 157-169.
- Insidewood Database. 2004-onwards. Disponible en: insidewood.lib.ncsu.edu. [Acceso: Octubre del 2016].
- Wheeler, E.A. 2011. InsideWood - a web resource for hardwood anatomy. *IAWA Journal* 32 (2): 199-211.
- Intini, M. & M.L. Tello. 2003. Investigaciones sobre hongos xilófagos de árboles urbanos en Europa: primera cita de *Inonotus rickii* (Pat.) Reid en España. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 29: 277-279.
- Janusz, G.; A. Pawlik; J. Sulej; U. Swiderska-Burek; A. Jarosz-Wilkolazka & A. Paszczynski. 2017. Lignin degradation: microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. *FEMS Microbiology Reviews* 41: 941–962.
- Jelle, B.P. & P.J. Hovde. 2012. Fourier Transform Infrared Radiation Spectroscopy for wood rot decay and mould fungi growth detection. *Advances in Materials Science and Engineering Article ID 969360*, 6 pp.
- Jin, L.; D.D. Nicholas & T.K. Kirk. 1990. Mineralization of the methoxyl carbon of isolated lignin by brown-rot fungi under solid substrate conditions. *Wood Science and Technology* 24: 263–276.
- Job, D.J. 1986. Cultural and cytological studies in the genus Hymenochaetaceae. *Mycotaxon* 26: 223-234.
- Karadelev, M.; K. Rusevska & S. Stojanovska. 2008. Ecology and distribution of genus *Phellinus* (Hymenochaetaceae) in the Republic of Macedonia. *Proceedings of the III Congress of Ecologists of Macedonia*. Disponible en: www.researchgate.net

- Karppanen, O.; M. Venalainen; A. Harju & T. Laakso. 2008. The effect of brown-rot decay on water adsorption and chemical composition of scots pine heartwood. *Annals of Forest Science* 65(610): 1-8.
- Kim, S.S.; J. Gao & G. Daniel. 2015. Cytochemical and immunocytochemical characterization of wood decayed by the white rot fungus *Pycnoporus sanguineus* I. preferential lignin degradation prior to hemicelluloses in Norway Spruce wood. *International Biodeterioration & Biodegradation* 105: 30-40.
- Kirk, T.K. & T.L. Highley. 1973. Quantitative changes in structural components of conifer woods during decay by white and brown rot fungi. *Phytopathology* 63: 1338-1342.
- Klasmer, P. & P. Parra. 2011. Ecología y manejo integrado de *Tremex fuscicornis*, avispa de la madera de latifoliadas. Cuadernillo N° 13. Serie Técnica: Manejo Integrado de Plagas Forestales. Villacide & Corley (Eds.). Laboratorio de Ecología de Insectos EEA INTA Bariloche, 13 pp.
- Kubayashi, T. & N. Maekawa. 2001. Identification and pathogenicity of the fungus isolated from butt rot of Japanese Cypress, *Chamaecyparis obtusa*. *Journal of General Plant Pathology* 67: 262-267.
- Landi, L.; C. Braccini & A.R. Alsina. 2011. Primer registro de *Tremex fuscicornis* (Hymenoptera: Siricidae) para la Argentina en una plantación de álamos en Buenos Aires. *Revista Sociedad Entomológica Argentina* 70(3-4): 383-387.
- Levin, L.; L. Villalba; V. Da Re; F. Forchiassin & L. Papinutti. 2007. Comparative studies of Loblolly Pine biodegradation and enzyme production by argentinean white rot fungi focused on biopulping processes. *Process Biochemistry* 42(6): 995-1002.
- Liese, W. 1970. Ultrastructural aspects of woody tissue disintegration. *Annual Review of Phytopathology* 8: 231-258.
- López, S.E. 1983. Sucesión fúngica en madera de *Eucalyptus viminalis* (Myrtaceae). I. Basidiomycetes sobre árbol vivo y troncos en estiva. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 22(1-4): 21-39.
- López, S.E. 1988. Sucesión fúngica en madera de *Eucalyptus viminalis* (Myrtaceae). II. Basidiomycetes sobre tocones. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 25(3-4): 425-448.
- Luley, C.J. 2006. Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos. *Arborist News*. 14 pp.

- Luna, M.L.; M. Murace; G. Keil & M. Otaño. 2004. Patterns of decay by *Pycnoporus sanguineus* and *Ganoderma lucidum* (Aphyllophorales) in poplar wood. IAWA Journal 25(4): 425-433.
- Luna, M.L.; M. Murace; G. Robledo & M. Saparrat. 2007. Modificaciones anatómicas del duramen de *Schinopsis haenkeana* (Anacardiaceae) degradado por *Phellinus chaquensis* (Basidiomycota). Boletín Sociedad Argentina de Botánica 42(Supl.): 27-28.
- Luna, M.L.; M. Murace; G. Robledo & M. Saparrat. 2012. Characterization of *Schinopsis haenkeana* wood decayed by *Phellinus chaquensis* (Basidiomycota, Hymenochaetales). IAWA Journals 33(1): 91-104.
- Luna, M.L.; M. Murace & A. Perelló. 2015. Alteraciones anatómicas en el leño de especies del arbolado urbano del partido de La Plata (Buenos Aires) con pudrición castaña. Boletín Sociedad Argentina de Botánica 50(Supl.): 55.
- Luna, M.L.; J.P. Ramos Giacosa; G.E. Giudice; P.V. Fernández; M. Cincia & M. Saparrat. 2015. Structure and chemistry of the xylem of arborescent species of *Blechnum* from South America. IAWA Journal 36: 3-21.
- Lupo, S.; A. Pérez, S. Martínez, S. Simeto; F. Rivas & L. Bettucci. 2009. In vitro characterization of *Inocutis jamaicensis* and experimental inoculation of *Eucalyptus globulus* standing tree. Forest Pathology 39: 293–303.
- Marchionatto, J. 1948. Tratado de Fitopatología. Editorial Sudamericana. 537 pp.
- Martínez, S. 2005. *Inocutis jamaicensis*, the causal agent of eucalypt stem rot in Uruguay. Mycotaxon 91: 165-171.
- Martínez, S. 2006. The genera *Inocutis* *Inonotus* and (Hymenochaetales) in Uruguay. Mycotaxon 96: 1-8.
- Martínez, A.T.; M. Speranza; F.J. Ruiz-Dueñas; P. Ferreira; S. Camarero; F. Guillén; M. Martínez; A. Gutiérrez & J.C. del Río. 2005. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. International Microbiology 8: 195-204.
- Mattheck C.; K. Bethge & K. Weber. 2015. The Body Language of Trees. Encyclopedia of Visual Tree Assessment. Germany Karlsruhe Institute of Technology.
- Melo, I.; P. Ramos & M.F.F. Caetano. 2002. First record of *Inonotus rickii* (Basidiomycetes, Hymenochaetaceae) in Portugal. Portugaliae Acta Biologica 20: 265 – 269.

- Mireku, E. & J. Wilkes. 1988. Production of phenols in the sapwood of *Eucalyptus maculata* after wounding and infection. *European Journal of Forest Pathology* 18: 121-127.
- Monteolivia, S. 2010. La madera como material: estructura anatómica y propiedades. Curso de Posgrado. FCA y Forestales, UNLP.
- Morris, H.; C. Brodersen; F.W.M.R. Schwarze & S. Jansen. 2016. The parenchyma of secondary xylem and its critical role in tree defense against fungal decay in relation to the CODIT Model. *Frontiers in Plant Science* 7 (Article 1665).
- Morse, A.C. & R.A. Blanchette. 2002. Etiology of red stain in Boxelder. *Plant Management Network - Plant Health Progress* September.
- Mtui, G. & R. Masalu. 2008. Extracellular enzymes from brown-rot fungus *Laetiporus sulphureus* isolated from mangrove forests of coastal Tanzania. *Scientific Research and Essay* 3(4): 154-161.
- Municipalidad de La Plata, Dirección de Espacios Verdes. 1983. Árboles de la Ciudad de La Plata. 32 pp.
- Munk, L.; A.M. Punt; M.A. Kabel & A.S. Meyer. 2017. Laccase catalyzed grafting of –N–OH type mediators to lignin *via* radical–radical coupling. *RSC Adv.* 7: 3358 – 3368.
- Murace, M.; M.L. Luna; M.G. Ciuffani & A. Perelló. 2017. Modificaciones anatómicas y químicas en el leño de ejemplares del arbolado de la ciudad de La Plata (Buenos Aires) causadas por *Laetiporus sulphureus* (Basidiomycota, Poliporales). *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 52(4): 647-661.
- Murace, M.A.; M.L. Luna; G. Keil & N. De Cristófano. 2006. Anatomical changes in willow wood decayed by the brown rot fungus *Corirolellus malicola* (Aphyllphorales). *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 41(3-4): 159-166.
- Murace, M.; M.L. Luna; G. Robledo; N. Acosta & A. Perelló. 2016. Alteraciones anatómicas causadas por *Cerrena unicolor* (Basidiomycota, Poliporales) en el leño de ejemplares del arbolado público del partido de La Plata, Buenos Aires: nuevos aportes. XVII Jornadas Técnicas Forestales y Ambientales. Posadas, Misiones.
- Murace, M.; M.L. Luna; G. Robledo & M. Saparrat. 2011. Duramen patológico en *Schinopsis haenkeana* atacado por *Phellinus chaquensis* (Basidiomycota, Hymenochaetales). *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 46(Supl.): 223.
- Murace, M.; M.L. Luna; M. Saparrat & A. Perelló. 2014b. *Cerrena unicolor* (Basidiomycota, Poliporales) en ejemplares de *Salix* y *Acer negundo*: alteraciones anatómicas y químicas causadas por la degradación fúngica. *LILLOA* 51(Supl.): 163.

- Murace, M.; M. Saparrat; L. Maly & G. Keil. 2016. Evaluación del comportamiento de soluciones con potencialidad funguicida mediante ensayos de biodegradación en laboratorio y FT-IR. *Revista Ciencia e Investigación Forestal (INFOR Chile)* 22(2): 45-61.
- Murace, M.; E. Spavento; G. Keil & M. Saparrat. 2010. Pudrición castaña: efectos sobre las propiedades de resistencia mecánica de la madera. *Quebracho – Revista de Ciencias Forestales* 18(1,2): 37-46.
- Murace, M; E. Spavento; P. Rivas; M. Saparrat & G. Keil. 2014a. Comportamiento de la madera del pino ponderosa (*Pinus ponderosa* Dougl. ex. Laws.) expuesta a degradación por *Gloeophyllum sepiarium* (Gloeophyllales, Basidiomycota). *Quebracho- Revista de Ciencias Forestales* 22(1,2): 114-124.
- Mycobank Database, Fungal databases, Nomenclature & Species Bank. Disponible en: www.mycobank.org. V. Robert, G. Stegehuis and J. Stalpers. 2005. The MycoBank engine and related databases.
- Naidu, Y.; Y. Siddiqui; M.Y. Rafii; H.M. Saud & A.S. Idris. 2017. Investigating the effect of white-rot hymenomycetes biodegradation on basal stem rot infected oil palm wood blocks: Biochemical and anatomical characterization. *Industrial Crops and Products* 108: 872-882
- Nakasone, K.K. 1990. Cultural studies and identification of wood – inhabiting Corticiaceae and selected Hymenomycetes from North America. Berlin, J. Cramer, 412 pp.
- Nakasone, K.K; H.H. Burdsall Jr. & L.A. Noll. 1982. Species of *Phlebia* section Leptocystidiophlebia (Aphylllophorales, Corticiaceae) in North America. *Mycotaxon* 14(1): 3-12.
- Nakasone, K.K. & W.E. Eslyn. 1981. A new species, *Phlebia brevispora*, a cause of internal decay in utility poles. *Mycologia* 73(5): 803-810.
- Nobles, M.K. 1948. Studies in Forest Pathology IV. Identification of cultures of wood-rotting fungi. *Canadian Journal Research* 26: 281-431.
- Nobles, M.K. 1958. Cultural characters as a guide to the taxonomy and phylogeny of the Polyporaceae. *Canadian Journal of Botany* 36: 883-926.
- Nobles, M.K. 1965. Identification of cultures of wood – inhabiting Hymenomycetes, *Ibid.* 43:1097–1139.
- Nobles, M.K. & B.P. Frew. 1962. Studies in wood-inhabiting Hymenomycetes. V. The genus *Pycnoporus* Karst. *Canadian Journal of Botany* 40: 987-1016.

- Nyanhongo, G.S.; T. Kudanga; E. N. Prasetyo & G.M. Guebitz. 2010. Mechanistic insights into laccase-mediated functionalisation of lignocellulose material. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 27: 305-330.
- Ohman, J.H. 1968. Decay and discoloration in sugar maple. USDA Forest Service. Leaflet 110. 6 pp.
- Oses, R.; S. Valenzuela; J. Freer; J. Baeza & J. Rodríguez. 2006. Evaluation of fungal endophytes for lignocellulolytic enzyme production and wood biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation* 56: 129-135.
- Otjen, L. & R.A. Blanchette. 1982. Patterns of decay caused by *Inonotus dryophilus* (Aphyllophorales: Hymenochaetaceae) a white-pocket rot fungus of oaks. *Canadian Journal of Botany* 60: 2770-2779.
- Otjen, L. & R.A. Blanchette. 1984. *Xylobolus frustulatus* decay of Oak: Patterns of selective delignification and subsequent cellulose removal. *Applied and Environmental Microbiology* 47(4): 670-676.
- Otjen, L. & R.A. Blanchette. 1986. A discussion of microstructural changes in wood during decomposition by white rot basidiomycetes. *Canadian Journal of Botany* 64: 905-911.
- Otjen, L. & R.A. Blanchette; M. Effland & G. Leatham. 1987. Assessment of 30 white rot basidiomycetes for selective lignin degradation. *Holzforschung* 41: 343-349.
- Palma, Ma. A.; E. Valenzuela; P. Parra; M. Gutiérrez & L.T. Silva. 2005. *Cerrena unicolor* (Bull.) Murr (Basidiomycota) aislado de micangio de *Tremex fuscicornis* Fabr. (Hymenoptero, Siricidae) asociado a decaimiento y pudrición del álamo (*Populus* sp.) en Chile. *Boletín Micológico* 20: 57-61.
- Pandey, K.K. & A.J. Pitman. 2003. FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation* 52: 151-160.
- Pandey, K.K. & A.J. Pitman. 2004. Examination of the Lignin Content in a Softwood and a Hardwood Decayed by a Brown-Rot Fungus with the Acetyl Bromide Method and Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry* (42): 2340-2346.
- Pažoutová, S. & P. Šrutka. 2007. Symbiotic relationship between *Cerrena unicolor* and the horntail *Tremex fuscicornis* recorded in the Czech Republic. *Czech Mycol.*, 59(1): 83-90.
- Pearce, R.B. 1991. Reaction zone relics and the dynamics of fungal spread in the xylem of woody angiosperms. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39: 41-55.

- Pearce, R.B. 1996. Antimicrobial defences in the wood of living trees. Tansley Review No. 87. New Phytopathology 132: 203-233.
- Pearce, R.B. 2000. Decay development and its restriction in trees. Journal of Arboriculture 26(1): 1-10.
- Pearce, R.B. & S. Woodward. 1986. Compartmentalization and reaction zone barriers at the margin of decayed sapwood in *Acer saccharinum* L. Physiological and Molecular Plant Pathology 29: 197-216.
- Pérez, G.; S. Lupo & L. Bettucci. 2008. Polymorphism of the ITS region of *Inocutis jamaicensis* associated with *Eucalyptus globulus*, *Vitis vinifera* and native plants in Uruguay. Sydowia 60: 267-275.
- Poletto, M.; H.L. Ornaghi Jr. & A.J. Zattera. 2014. Native Cellulose: Structure, characterization and thermal properties. Materials 7: 6105-6119.
- Pramod, S.; R.D. Koyani; I. Bhatt; A.M. Vasava; K.S. Rao & K.S. Rajput. 2015. Histological and ultrastructural alterations in the *Ailanthus excelsa* wood cell walls by *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. International Biodeterioration & Biodegradation 100: 124-132.
- Quiroz-Castañeda, R.E. & J.L. Folch-Mallol. 2011. Proteínas que remodelan y degradan la pared celular vegetal: Perspectivas actuales. Biotecnología Aplicada 28(4): 1-11.
- Rajchenberg, M. 1982. El género *Coriolus* (Polyporaceae) en la República Argentina. Boletín Sociedad Científica Argentina 21(1-4): 17-57.
- Rajchenberg, M. 1983a. Cultural studies on Resupinates Polypores. Micotaxon 16: 500-506.
- Rajchenberg, M. 1983b. Basidiomicetos xilófilos de los Bosques Andinopatagónicos. Adiciones y Correcciones. I Boletín Sociedad Argentina de Botánica 22(1-4): 41-56.
- Rajchenberg, M. 1984. Basidiomicetos xilófilos de la Región Mesopotámica. República Argentina. V. Políporos Resupinados. Revista Investigaciones Agropecuarias, INTA 19(1): 1-105.
- Rajchenberg, M. 1986. On *Trametes aethalodes* and other species of *Daedalea* (Polyporaceae). Canadian Journal of Botany 64: 2130 -2135.
- Rajchenberg, M. 1987a. New South American Polypores. Mycotaxon 28(1): 111-118.
- Rajchenberg, M. 1987b. Xylophilus Aphyllophorales (Basidiomycetes) from the Southern Andean Forest. Additions and corrections. II. Sydowia 40: 235-249.
- Rajchenberg, M. 1989. Polyporaceae (Aphyllophorales, Basidiomycetes) from Southern South America: A mycogeographical view. Sydowia 41: 277-291.

- Rajchenberg, M. 1993. Basidiomycetos xilófilos (Aphyllphorales) de los bosques Andinopatagónicos. Adiciones y correcciones III. Boletín Sociedad Argentina de Botánica 29(1-2): 1-6.
- Rajchenberg, M. 1996. Los hongos pudridores de *Nothofagus pumilio* (Lenga): identificación de cultivos puros. Bosque 17(2): 87-100.
- Rajchenberg, M. 1998. Las pudriciones en la lenga. Patagonia Forestal. Boletín Informativo. Año IV, N° 5, octubre-noviembre, pp. 2-3.
- Rajchenberg, M. & V. Bianchinotti. 1991. *Trametes fumoso-avellanea* (Aphyllphorales): a taxonomic study. Nordic Journal of Botany - Section of Mycology 11(2): 225-230
- Rajchenberg, M.; M.B. Pildain; M.V. Bianchinotti & C. Barroetaveña. 2015. The phylogenetic position of poroid Hymenochaetaceae (Hymenochaetales, Basidiomycota) from Patagonia, Argentina. Micología 107(4): 754-767.
- Rajchenberg, M. & G. Robledo. 2013. Pathogenic polypores in Argentina. Forest Pathology 43: 171-184.
- Rajchenberg, M. & J.E. Wright. 1982. Two new american species of *Perenniporia* (Polyporaceae). Mycotaxon 15: 306-310.
- Rajchenberg, M. & J.E. Wright. 1987. Type studies of Corticiaceae and Polyporaceae (Aphyllphorales) described by C. Spegazzini. Mycologia 79(2): 246-264.
- Rajchenberg, M. & J.E. Wright. 1998. Two interesting polypore species (Hymenochaetaceae) from Argentina. Folia Cryptogamica Estonica 33: 119-122.
- Ramos, A.N.; M.F. Caetano & I. Melo. 2008. *Inonotus rickii* (Pat.) Reid: an important lignicolous basidiomycete in urban trees. Revista Ciencias Agrarias 31: 159-167.
- Rayner, A.D.M. & L. Boddy. 1988. Colonization of the standing tree. In: Fungal decomposition of wood Wiley. Chichester, England. (Capítulo 10), pp: 332 - 409.
- Reid, I.D. 1995. Biodegradation of lignin. Canadian Journal of Botany 73(Suppl.1): 1011-1018.
- Riley, R.; A.A. Salamov; D.W. Brown; L.G. Nagy; D. Floudas; B.W. Held; A. Levasseur; V. Lombard; E. Morin; R. Otillar; E. A. Lindquist; H. Sun; K.M. LaButti; J. Schmutz; D. Jabbour; H. Luo; S.E. Baker; A.G. Pisabarro; J.D. Walton; R.A. Blanchette; B. Henrissat; F. Martin; D. Cullen; D.S. Hibbett & I.V. Grigoriev. 2014. Extensive sampling of basidiomycete genomes demonstrates inadequacy of the white-rot/brown-rot paradigm for wood decay fungi. PNAS 111:111, disponible *on line* en: www.pnas.org.
- Ritschkoff, A.C. 1996. Decay mechanisms of brown-rot fungi. VTT Publications 268. Technical Research Centre of Finland, ESPOO. 67 pp.

- Rivera, S.M. & M.S. Lenton. 1999. La xilología y las propiedades mecánicas de cinco maderas nativas argentinas. *Quebracho* 7: 72-78.
- Robledo, G. & C. Urcelay. 2009. Hongos de la madera en árboles nativos del centro de Argentina. 1ra Ed., Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. 197 pp.
- Robledo, G.; C. Urcelay; L. Domínguez & M. Rajchemberg. 2006. Taxonomy, ecology and biogeography of polypores (Basidiomycetes) from Argentina *Polylepis* woodlands. *Canadian Journal of Botany* 84(10): 1561-1572.
- Robledo, G.; C. Urcelay & M. Rajchemberg. 2003a. New species causing decay on living *Polylepis australis* in Córdoba, central Argentina. *Mycologia* 95: 346-352.
- Robledo, G.; C. Urcelay; M. Rajchemberg & L. Domínguez. 2003b. Políporos (Aphyllphorales, Basidiomycota) parásitos y saprófitos de *Alnus acuminata* en el noroeste argentino. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 38: 207-224.
- Robledo, G. & M. Rajchemberg. 2007. South American polipores: First annotated checklist from Argentinean Yungas. *Mycotaxon* 100: 5-9.
- Robles, C.A.; C.C. Carmarán & S.E. López. 2011. Screening of xylophagous fungi associated with *Platanus acerifolia* in urban landscapes: Biodiversity and potential biodeterioration. *Landscape and Urban Planning* 100: 129-135.
- Robles, C.A.; C.C. Carmarán & S.E. López. 2012. Molecular techniques based on ITS analysis: Useful tools for the identification of wood decay Basidiomycetes in urban trees? *Kurtziana* 37: 9–108.
- Robles, C.A.; M.A. Castro & S.E. López. 2014. Wood decay by *Inonotus rickii* and *Bjerkandera adusta*: A micro- and ultra-structural approach. *IAWA Journal* 35(1): 51–60.
- Rodríguez, L. 1978. Métodos de Análisis empleados en la Industria papelera. Edición 1. Colombia.
- Rytioja, J.; K. Hildén; J. Yuzon; A. Hatakka; R.P. de Vries & M.R. Mäkelä. 2014. Plant-Polysaccharide-Degrading Enzymes from Basidiomycetes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 78(4): 614–649.
- Saito, K.; Y. Watanabe; M. Shirakawa; Y. Matsushita; T. Imai; T. Koike; Y. Sano; R. Funada; K. Fukazawa & K. Fukushima. 2012. Direct mapping of morphological distribution of syringyl and guaiacyl lignin in the xylem of Maple by time-of-flight secondary ion mass spectrometry. *The Plant Journal* 69: 542–552.
- Saparrat, M.C.N.; J.M. Estevez M.I. Troncozo; A. Arambarri & P. Balatti. 2010. In-vitro depolymerization of *Scutia buxifolia* leaf-litter by a dominant Ascomycota *Cillochorella* sp. *International Biodeterioration and Biodegradation* 64: 262–266.

- Saparrat, M.C.N.; G. Fermoselle; S. Stenglein; M. Aulicino & P. Balatti. 2009. *Pseudocercospora griseola* causing angular leaf spot on *Phaseolus vulgaris* produces 1,8-dihydroxynaphthalene-melanin. *Mycopathologia* 168: 41–47.
- Saparrat, M.C.N.; F. Guillén; A.M. Arambarri; A.T. Martínez & M.J. Martínez. 2002. Induction, isolation and characterization of two laccases from the white rot basidiomycete *Coriolopsis rigida*. *Applied and Environmental Microbiology* 68(4): 1534-1540.
- Sarasola, A. & M. Roca. 1975. Fitopatología. Curso Moderno. Tomo II. Editorial HemisferioSur. 374 pp.
- Sarkar, P.; E. Bosneaga & M. Auer. 2009. Plant cell walls throughout evolution: towards a molecular understanding of their design. *Principles Journal of Experimental Botany* 60 (13): 3615–3635.
- Schmidt, O. 2006. Wood and tree decay. Biology, damage, protection and use. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. 251 pp.
- Schmidt, O.; O. Gaiser & D. Dujesiefken. 2012. Molecular identification of decay fungi in the wood of urban trees. *European Journal of Forest Research* 131: 885–891.
- Schmidt, O.; U. Schmitt; U. Moreth & T. Potsch. 1997. Wood Decay by the White-Rotting Basidiomycete *Physisporinus vitreus* from a Cooling Tower. *Holzforschung* 51: 193-200.
- Schwarze, F.W.M.R. 2001. Development and prognosis of decay in the sapwood of living trees. *Arboricultural Journal* 25: 321-337.
- Schwarze, F.W.M.R. 2004. Forest Pathology: Heart Rot and Wood Decay. *In*: Burley, Evans & Youngquist (Eds.), *Encyclopedia of Forest Sciences*, Elsevier Science, 4: 808-816.
- Schwarze, F.W.M.R. 2007. Review wood decay under the microscope. *Fungal Biology Reviews* 21: 133-170.
- Schwarze, F.W.M.R. & S. Baum. 2000. Mechanisms of reaction zone penetration by decay fungi in wood of Beech (*Fagus sylvatica*). *New Phytopathology* 146: 129-140.
- Schwarze, F.W.M.R.; S. Baum & S. Fink. 2000b. Resistance of fibre regions in wood of *Acer pseudoplatanus* degraded by *Armillaria mellea*. *Mycological Research* 104(9): 1126-1132.
- Schwarze, F.W.M.R.; J. Engels & C. Mattheck. 2000a. Fungal strategies of wood decay in trees. Springer Verlag, Berlin. 184 pp.
- Schwarze, F.W.M.R. & D. Ferner. 2003. Ganoderma on Trees - Differentiation of species and studies of invasiveness. ENSPEC Pty Ltd. 21 pp.

- Schwarze, F.W.M.R. & S. Fink. 1997. Reaction zone penetration and prolonged persistence of xilem rays in London plane wood degraded by the basidiomycete *Inonotus hispidus*. Mycological Research 101(10): 1207-1214.
- Schwarze, F.W.M.R. & S. Fink. 1998. Host and cell type affect the mode of degradation by *Meripilus giganteus*. New Phytology 139: 721-731.
- Schwarze, F. W. M. R.; S. Fink & D. Deflorio. 2003. Resistance of parenchyma cells in wood to degradation by brown rot fungi. Mycological Progress 2(4): 267-274.
- Schwarze, F.W.M.R & H. Landmesser. 2000. Preferential degradation of pit membranes within tracheids by the Basidiomycete *Physisporinus vitreus*. Holzforschung 54:461-462.
- Schwarze, F.W.M.R; D. Lonsdale & S. Fink. 1995. Soft rot and multiple T-branching by the basidiomycete *Inonotus hispidus* in ash and London plane. Mycological Research 99(7): 813-820.
- Schwarze, F.W.M.R; D. Lonsdale & S. Fink. 1997. An overview of wood degradation patterns and their implications for tree hazard assessment. Arboricultural Journal., 21: 1-32.
- Sede, S. & S. López.1999. Xylophagous fungi of urban trees in Buenos Aires City. Mycologist 13(4): 173-175.
- Shain, L. 1967. Resistance of sapwood in stems of Loblolly pine to infection by *Fomes annosus*. Phytopathology 57: 1034–1045.
- Shain, L. 1971. The response of sapwood of Norway spruce to infection by *Fomes annosus*. Phytopathology 61: 301–307.
- Shain, L. 1979. Dynamic responses of differentiated sapwood to injury and infection. Phytopathology 69: 1143–1147.
- Shi, J.; D. Xing & J. Li. 2012. FTIR Studies of the Changes in Wood Chemistry from Wood Forming Tissue under Inclined Treatment. Energy Procedia 16: 758 – 762.
- Shigo, A.L. & W.E. Hillis. 1973. Heartwood, discoloured wood, and microorganism in living trees. Annual Review of Phytopathology 2: 197-222.
- Shigo, A.L. & H.G. Marx. 1977. Compartmentalization of decay in trees. USDA Forest Service, Agriculture Information Bulletin No. 405.
- Shigo, A. L. & W.C. Shortle. 1979. Compartmentalization of discolored wood in heartwood of Red Oak. Phytopathology 69(7): 710-711.
- Shortle, W. 1979. Mechanism of compartmentalizer of decay in living tree. Phytopathology 69(10): 1147-1151.

- Shortle, W. & K.T. Smith. 1990. Decay column boundary layer formation in Maple. *Biodeterioration Research* 3: 377-389.
- Singh, P., O. Sulaiman; R. Hashim; L.Ch. Peng & R.P. Singh. 2012. Biodegradation study of *Pycnoporus sanguineus* and its effects on structural and chemical features on Oil Palm biomass chips. *Lignocellulose* 1(3): 210-227.
- Skyba, O.; C.J. Douglas & S.D. Mansfielda. 2013. Syringyl-rich lignin renders poplars more resistant to degradation by wood decay fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 79(8): 2560–2571.
- Smith, K.T. 2001. Zone lines. *In*: Encyclopedia of Plant Pathology (1217-1218). EEUU (Washington): Wiley & Sons, Inc.
- Spear. M. & J. Walker. 2006. Dimensional instability in timber. *En*: Walker J.C.F. Primary wood processing. Principles and practice. Springer, The Netherlands. Second Edition, Chapter 4, 101 a 109.
- Srebotnik, E. & K. Messner. 1994. A simple method uses differential staining and light microscopy to assess the selectivity of wood delignification by white rot fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 60(4): 1383-1386.
- Stalpers, J.A. 1978. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. *Studies in Mycology* 16: 1-248. Disponible en: www.cbs.knaw.nl/publications.
- Stalper, J.A. 1984. A revision of the genus *Sporotrichum*. *Studies in Mycology* 24: 1-105.
- Sterken, P. 2005. Manual para el Análisis de Estabilidad del Arbolado Mediterráneo. Título original de la obra: A Guide For Tree-stability Analysis. Traducido al castellano por Juan Belvis y Jacobo Llorens. Royal Belgian Library. Disponible en: www.isahispana.com
- Suhara, H.; N. Maekawa; T. Kubayashi; K. Sakai & R. Kondo. 2002. Identification of the basidiomycetous fungus isolated from butt rot of the Japanese cypress. *Mycoscience* 43: 477–481.
- Terho, M. 2009. What was behind the bark? An assessment of decay among urban *Tilia*, *Betula* and *Acer* trees felled as hazardous in the Helsinki City area. *Dissertationes Forestales*. Disponible en: www.metla.fi/dissertationes.
- Terho, M. & A.M. Hallaksela. 2005. Potential hazard characteristics of *Tilia*, *Betula*, and *Acer* trees removed in the Helsinki City Area during 2001–2003. *Urban Forestry & Urban Greening* 3: 113–120.
- Terho, M. & A.M. Hallaksela. 2008. Decay characteristics of hazardous *Tilia*, *Betula*, and *Acer* trees felled by municipal urban tree managers in the Helsinki City Area.

- Institute of Chartered Foresters. Forestry: An International Journal of Forest Research 81(2): 151–159.
- Thero, M.; J. Hantula & A.M. Hallaksela. 2007. Occurrence and decay patterns of common wood-decay fungi in hazardous trees felled in the Helsinki City. Forest Pathology 37: 420-432.
- Tudor, D.; S.C. Robinson; T.L. Sage; S. Krigstin & P.A. Cooper. 2014. Microscopic investigation on fungal pigment formation and its morphology in wood substrates. The Open Mycology Journal 8: 174 – 186.
- Tuor, U.; K. Winterhalter; A. Fiechter. 1995. Enzymes of white-rot fungi involved in lignin degradation and ecological determinants for wood decay. Journal of Biotechnology 41: 1-17.
- Urcelay, C. & M. Rajchenberg. 1999. Two North American *Inonotus* (Hymenochaetaceae, Aphyllophorales) found in Argentina. Mycotaxon 72: 417-422.
- Urcelay, C. & G. Robledo. 2004. Community structure of polypores (Basidiomycota) in Andean Alder wood in Argentina. Functional groups among wood-decay fungi? Austral Ecology 29: 471-476.
- Urcelay, C.; G. Robledo; F. Heredia; G. Morera & F. García Montaña. 2012. Hongos de la madera en el arbolado urbano de Córdoba. Edición 1. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (UNC-CONICET). 104 p.
- Urcelay, C.; G. Robledo & M. Rajchenberg. 2000. *Phellinus tabaquilio* sp. nov. from Córdoba mountains central Argentina. Mycotaxon 76: 287-291.
- Van Heerden, A.; N.J. le Roux; J. Swart; S. Gardner-Lubbe & A. Botha. 2008. Assessment of wood degradation by *Pycnoporus sanguineus* when co-cultured with selected fungi. World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 2489–2497.
- Webster, J. 1980. Introduction to fungi. 2nd Edition. Cambridge University Press, Cambridge. 669 pp.
- Webster, J. & R. Weber. 2007. Introduction to fungi. 3rd Edition. Cambridge University Press. 875 pp.
- Wilcox, W.W. 1968. Changes in wood microstructure through progressive stages of decay. USDA Forest Service Research. Paper FPL 70:1-41.
- Wilcox, W.W. 1970. Anatomical changes in wood cell walls attacked by fungi and bacteria. The Botanical Review 36(1): 1-28.
- Wilcox, W.W. 1978. Review of literature on the effects of early stages of decay on wood strength. Wood and Fiber 9(4): 252–257.

- Wilcox, W.W. 1993 (a). Comparative morphology of early stages of brown-rot wood decay. IAWA Journal 14(2): 127-138.
- Wilcox, W.W. 1993 (b). Comparison of scanning electron microscopy and light microscopy for the diagnosis of early stages of brown rot decay. IAWA Journal 14(3): 219-226.
- Wilkes, J. 1985. Host attributes affecting patterns of decay in a regrowth eucalypt forest. III: The Responses of Heartwood to Injury and Infection. Holzforschung 39: 253-257.
- Winandy, J. & J. Morrell. 1993. Relationship between incipient decay, strength, and chemical composition of Douglas – Fir heartwood. Wood and Fiber Science 25(3): 278–288.
- Worrall, J.J.; S.E. Anagnost & R.A. Zabel. 1997. Comparison of wood decay among diverse lignicolous fungi. Mycologia 89(2): 199-219.
- Wright, J.E. 1948. Estudio sobre Basidiomycetes I. *Favolus squamiger* Berk. en la Argentina. Instituto Sanidad Vegetal IV (A): 44.
- Wright, J.E. 1966. The genus *Phaeotrametes*. Mycologia LVIII (4): 529-540.
- Wright, J.E. 1976. Deterioro fúngico de salicáceas en el Delta. IDIA, pp. 337-342.
- Wright, J.E. & S. Blumenfeld. 1984. New South American species of *Phellinus* (Hymenochaetaceae). Mycotaxon 21: 413-425.
- Wright, J.E. & J.R. Deschamps. 1972. Basidiomicetos xilófagos de los bosques andino-patagónicos. Revista Investigaciones Agropecuarias, INTA. Serie 5, Pat. Veg., 9(3): 111-196.
- Wright, J.E. & J.R. Deschamps. 1975. Basidiomicetos xilófilos de la Región Mesopotámica II. Los géneros *Daedalea*, *Fomitopsis*, *Heteroporus*, *Laetiporus*, *Nigroporus*, *Rigidoporus*, *Perenniporia* y *Vanderbylia*. Revista Investigaciones Agropecuarias, INTA. Serie 5, Pat. Veg., 12(3): 127-204.
- Wright, J.E. & J.R. Deschamps. 1976/77. Basidiomycetes xilófilos de la Región Mesopotámica III. Los géneros *Bjerkandera*, *Gloeoporus*, *Hirschioporus*, *Hydnopolyporus*, *Phaeocoriolellus*, *Pycnoporus* y *Xerotinus*. Revista Investigaciones Agropecuarias, INTA. Serie 5, Pat. Veg., 13(2): 27-69.
- Wright, J.E.; J.R. Deschamps & G.S. Rovetta. 1973. Basidiomicetos xilófilos de la Región Mesopotámica I. Poliporos trametoides. Revista Investigaciones Agropecuarias, INTA. Ser. 5, Pat. Veg., 10(3): 117-179.
- Wright, J.E. & C. Iaconis. 1955. Estudios sobre Basidiomycetes. III. "*Polyporus rickii*" f. sp. "*negundinis*" sobre arces vivos. Revista Investigaciones Agrícolas IX (2): 97-110.

- Wymelenberg, A.V.; J. Gaskell; M. Mozuch; S.S. BonDurant; G. Sabat; J. Ralph; O. Skyba; S.D. Mansfield; R.A. Blanchette; I.V. Grigoriev; P.J. Kersten & D. Cullen. Significant alteration of gene expression in wood decay fungi *Postia placenta* and *Phanerochaete chrysosporium* by plant species. *Applied and Environmental Microbiology* 77(13): 4499–4507.
- Yoon, J.J. & Y.K. Kim. 2005. Degradation of crystalline cellulose by the brown-rot basidiomycete *Fomitopsis palustris*. *The Journal of Microbiology* 43(6): 487-492.
- Yelle, D.J.; D. Wei; J. Ralph; K.E. Hammel. 2011. Multidimensional NMR analysis reveals truncated lignin structures in wood decayed by the brown rot basidiomycete *Postia placenta*. *Environmental Microbiology* 13: 1091–1100.
- Zabel, R.A. & J.J. Morrell. 1992. *Wood microbiology. Decay and its prevention.* Academic Press Inc. 476 pp.

PUBLICACIONES

- Murace, M.; L. Luna & A. Perelló. (en prensa). Pudrición del leño en los árboles urbanos. En: Colección Libros de Cátedra (EDULP- UNLP). Problemáticas sanitarias del arbolado urbano. Subtítulo: Parte 1: Enfermedades de los árboles de la ciudad de La Plata, con especial referencia a las de origen fúngico.
- Murace, M.A.; M.L. Luna; M.G. García Ciuffani & A. Perelló. 2017. Modificaciones anatómicas y químicas en el leño de ejemplares del arbolado de la ciudad de La Plata (Buenos Aires) causadas por *Laetiporus sulphureus* (Basidiomycota, Poliporales). Bol. Soc. Argent. Bot. 52(4): 647-661.

Actas de Congresos

- Murace, M.A.; M.L. Luna; M. Sapara & A. Perelló. 2018. Alteraciones anatómicas y químicas en madera de *Prunus cerasifera* var. *Pissardii* (Rosaceae) naturalmente infectada por *Phellinus pomaceus* (Hymenochaetaceae) en la ciudad de La Plata. Poster-Resumen publicado en actas. XX Congreso de Ciencias Morfológicas y 17 Jornadas de Educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. 25, 26 octubre. La Plata, Bs. As.
- Murace, M.A.; M.L. Luna; A.M. Aprea & A. Perelló. 2017. Modificaciones anatómicas en leño de ejemplares de *Tilia x viridis* subsp *moltkei* y de *Robinia pseudoacacia* de los espacios públicos de La Plata (Buenos Aires, Argentina) afectados por degradación fúngica. Bol. Soc. Argent. Bot. 52 (Supl.): 55.
- Murace, M.; M.L. Luna; G. Robledo; N. Acosta & A. Perelló. 2016. Alteraciones anatómicas causadas por *Cerrena unicolor* (Basidiomycota, Poliporales) en el leño de ejemplares del arbolado público del partido de La Plata, Buenos Aires: nuevos aportes. XVII Jornadas Técnicas Forestales y Ambientales. 17 al 19 de agosto. Posadas, Misiones.
- Luna, M.L.; M.A. Murace & A. Perelló. 2015. Alteraciones anatómicas en el leño de especies del arbolado urbano del partido de La Plata (Buenos Aires) con pudrición castaña. Bol. Soc. Argent. Bot. 50 (Supl.): 55. ISSN 0373-580X
- Murace, M.; M.L. Luna; M. Saparrat & A. Perello. 2014. *Cerrena unicolor* (Basidiomycota, Poliporales) en ejemplares de *Salix* y *Acer negundo*: alteraciones anatómicas y químicas causadas por la degradación fúngica. LILLOA, 51 (Supl.) pag. 163. ISSN 0075-948.
- Murace, M.A.; G. Garcia Ciuffani; M.L. Luna & A. Perello. 2013. *Laetiporus* sp. en los eucaliptos de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina. Bol. Soc. Argent. Bot. 48(Supl.) pag. 219. ISSN 0373-580X.

