

**NOTA SOBRE ANALISIS DE LA VIRULENCIA DE  
*CONIOPHORA PUTEANA* (SCHUMACHER EX FRIES) KARSTEN,  
*GLOEOPHYLLUM TRABEUM* (PERSOON EX FRIES) MURRILL Y  
*POSTIA PLACENTA* (FR.) M. J. LARS. ET LOMB. EN DIFERENTES  
MEDIOS DE CULTIVO**

**M. T. TROYA**

**A. NAVARRETE**

Dpto. Industrias Forestales. CIT-INIA

Crtra. de La Coruña, km. 7. 28040 MADRID

**RESUMEN**

Los hongos utilizados en los ensayos de eficacia fungicida de los protectores de madera pueden ser susceptibles de perder su virulencia a lo largo del tiempo. Esta pérdida radica en la inhibición enzimática producida en las sucesivas resiembras en medios de cultivo artificiales. Este trabajo describe la metodología empleada para recuperar dicha virulencia desarrollando los hongos en diferentes medios de cultivo, con y sin serrín de madera, para después evaluarla mediante la pérdida de peso sufrida por probetas de *Pinus sylvestris* L.

**PALABRAS CLAVE:** Virulencia  
Basidiomicetos xilófagos

Desde hace años, el Comité Europeo de Normalización (CEN) se encarga, en base a los trabajos cooperativos entre diversos Centros de Investigación, de diseñar las normas necesarias para determinar la eficacia de los protectores de la madera contra agentes xilófagos. Entre estos agentes se encuentran hongos basidiomicetos, y la norma actualmente vigente para el estudio de la eficacia de productos contra ellos es la EN-113. («Determinación de la eficacia de protectores de madera contra hongos Basidiomicetos xilófagos cultivados en medio de agar».)

A pesar de que la metodología a seguir por los distintos centros que usan la norma EN-113 y los aislados de las especies a ensayar son las mismas, se han observado resultados diferentes debido a la pérdida de virulencia que presentan estos hongos a lo largo del tiempo (Dirol, 1986; Kerner, 1986; Navarrete, Troya, 1986). Ante la posibilidad de que la pérdida de virulencia pudiera ser debida a un cambio metabólico de los hongos, al ser mantenidos éstos en cultivos artificiales de agar-maltá, el objetivo de este trabajo ha sido estudiar la recuperación de la virulencia de las especies normalmente utilizadas en los ensayos de normalización, *Coniophora puteana*, *Postia placenta* y *Gloeophyllum trabeum*, en diferentes

---

Recibido: 6-3-90

Aceptado para su publicación: 16-10-91

medios de cultivo, y seleccionar el medio que ofrece mejores condiciones para el mantenimiento de la micoteca y para su posterior uso en los ensayos de eficacia fungicida.

Las especies de hongos fueron: *Coniophora puteana* cepa BAM Ebw 15, *Gloeophyllum trabeum* cepa BAM 109 y *Postia placenta* cepa FPRL 280. Los medios de cultivo ensayados fueron: a) **Medio A:** Agar-malta (agar, 2 p. 100; malta, 4 p. 100) con serrín de pino silvestre (1 p. 100) mezclados en condiciones estériles; b) **Medio B:** Agar-malta (agar, 2 p. 100; malta, 4 p. 100) con serrín de pino (1 p. 100) sobre la superficie del medio, una vez solidificado; c) **Medio C:** Agar-malta sin serrín. La madera utilizada fue de albura de *Pinus sylvestris* L.

Los hongos procedentes de la micoteca se sembraron en placas Petri de agar-malta (agar, 2 p. 100; malta, 4 p. 100) e inóculos tomados del micelio de avance fueron resemebrados en la superficie de los medios de cultivo (A, B y C) descritos. Los cultivos se incubaron a  $22 \pm 2^\circ \text{C}$  de temperatura, y 70 p. 100,  $\pm 5^\circ$  humedad relativa.

Se hicieron tres reinoculaciones en los mismos medios cada 28 días, y una vez pasado el último período de incubación se transfirió cada cultivo a placas Petri de agar-malta durante otros 28 días. Los hongos se resemebraron en matraces de cultivo a partir del micelio de avance de dichas placas, y una vez cubierta la superficie del medio se pusieron en contacto con probetas de albura de pino silvestre de dimensiones  $50 \times 25 \times 15$  mm. Se utilizaron ocho repeticiones por medio de cultivo y hongo, evaluándose la virulencia de las cepas mediante la determinación del porcentaje de pérdida de peso que sufrían dichas probetas tras 16 semanas de incubación en las condiciones de humedad y temperatura mencionadas.

Las medias y desviaciones típicas de los porcentajes de pérdida de peso por cada hongo y medio de cultivo ensayado están recogidas en la Tabla 1.

Las pérdidas de peso sufridas por las probetas de madera de pino silvestre en los tres medios de cultivo ensayados han puesto de manifiesto que el medio agar-malta ha sido aquél en el que los hongos han mostrado mayor virulencia, en comparación con el agar-malta y serrín mezclados y el agar-malta con serrín sobre la superficie. Dicho medio agar-malta es el tradicionalmente utilizado en el cultivo de hongos en laboratorio y el exigido en la EN-113 para el estudio de la eficacia fungicida de los protectores de madera. Este hecho parece contradecir la hipótesis de partida de que la pérdida de virulencia podría ser debida a la inhibición enzimática por no estar los hongos en contacto directo con el sustrato madera,

TABLA 1

VALORES MEDIOS Y DESVIACIONES TÍPICAS DE LAS PERDIDAS DE PESO (%) SUFRIDAS POR LAS PROBETAS TRAS EL ATAQUE DE LOS HONGOS PREVIAMENTE DESARROLLADOS EN LOS MEDIOS DE CULTIVO A, B Y C

*Percentages of averages and standard deviations of weight losses suffered by test specimens after the attack of fungi, previously developed in the culture media A, B and C*

Hongo	Pérdida de peso (%) en los medios de cultivo					
	A		B		C	
	Media	Sn-1	Media	Sn-1	Media	Sn-1
<i>Coniophora puteana</i>	11,9	(1,2)	3,1	(0,4)	8,0	(0,9)
<i>Postia placenta</i>	4,2	(0,9)	15,3	(1,1)	30,7	(1,3)
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	25,2	(1,4)	27,4	(1,9)	29,5	(1,6)

lo cual requeriría la adición de material lignocelulósico en el medio de cultivo de agar-malta.

Estos resultados vienen corroborados por los obtenidos en los Centros de Investigación: Building Research Establishment (Gran Bretaña), Centre Technique du Bois et de l'Ameublement (Francia), Eidgenössische Material prüfungs und Versuchsanstalt (Suiza), Desowag (Alemania), Bundesforschungsanstalt für Forst-und Holzwirtschaft (Alemania) y Valtion Teknillinen Tutkimuskeskus (Finlandia), a través de los trabajos presentados conjuntamente al Comité Europeo de Normalización (1988). Todo esto parece indicar la necesidad de buscar otras causas a las pérdidas de virulencia de los hongos a lo largo del tiempo.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al profesor Willeitner, del Bundesforschungsanstalt für Forst-und Holzwirtschaft de Hamburgo (Alemania), por la información suministrada para la realización de este trabajo.

### SUMMARY

**A note on the virulence study of *Coniophora puteana* (Schumacher ex Fries) Karsten, *Gloeophyllum trabeum* (Persoon ex Fries) Murrill and *Postia placenta* (Fr.) M. J. Lars. et Lomb. on different culture media**

Fungi used for tests on fungicide effectiveness of wood preservatives can lose their virulence throughout time. This loss relates to the enzymatic inhibition produced in the successive mass transfers in artificial culture media. This work describes the methodology used to restore that virulence by growing the fungi in different culture media, with or without wood sawdust which can be later evaluated by the weight loss suffered by test specimens of *Pinus sylvestris*, L.

**KEY WORDS:** Virulence  
Wood-decay fungi

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- DIROL D., 1986. Virulence tests with fungal strains used in EN-113 CEN ring test. Results with *Coniophora puteana* (Shum. ex Fr.) Karst. Inter Res. G. on Wood Preserv. Doc. IRG/WP/2249.
- KERNER W., 1986. Virulence testing of cultures of different origins of the test fungus *Coriolus versicolor* strain CTB-863 A. Inter Res. G. on Wood Preserv. Doc. IRG/WP/2267.
- NAVARRETE A., TROYA M. T., 1986. Temperature influence on the growing velocity and cellulolytic activities of *Poria placenta* strains from several locations Inter Res. G. on Wood Preserv. Doc. IRG/WP/2263.