

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
DIRECCIÓN DE POSTGRADOS  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS  
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**INFLUENCIA DE LOS HONGOS ENDÓFITOS EN LA  
BIODEGRADACIÓN DE MADERA EN ESPECIES ARBÓREAS  
DEL BOSQUE NATIVO DE CHILE**



**RÓMULO DANILO OSES PEDRAZA  
CONCEPCIÓN – CHILE**

**2013**

Profesor Guía: Jaime Rodríguez Gutiérrez  
Departamento de Silvicultura  
Facultad de Ciencias Forestales  
Universidad de Concepción

## RESUMEN

La biodegradación de madera es uno de los procesos más relevantes en la naturaleza ya que permite el ciclaje de nutrientes como carbono y nitrógeno. Los hongos de pudrición son los organismos más eficientes y especializados para degradar la madera. Recientemente, se ha sugerido que un grupo especial de hongos denominados hongos endófitos participarían en fases tempranas de la biodegradación de madera. En la literatura, existe evidencia de hongos endófitos habitando tejido leñoso, sin embargo, la relación entre los hongos endófitos y la degradación de madera no ha sido estudiada en profundidad, sin existir, hasta el momento una explicación integral que conecte los mecanismos de invasión y colonización de la madera con los mecanismos de degradación que se desarrollan tanto en árboles en pie como en madera muerta. A pesar de la investigación desarrollada aún quedan aspectos pendientes de estudiar que diluciden el rol de los hongos endófitos en la degradación de madera.

El presente trabajo de tesis se desarrolló en base al objetivo general centrado en estudiar y determinar la influencia de los hongos endófitos en la degradación de la madera presentes en forma natural en especies arbóreas del bosque nativo de Chile. La primera etapa del trabajo comprendió la adaptación de metodologías de muestreos, aislamientos dirigidos e identificación hongos endófitos asociados a tarugos de incremento provenientes de individuos de las especies *Prumnopitys andina*, *Podocarpus saligna*, *Drimys winteri* and *Nothofagus obliqua*. Utilizando técnicas y metodologías de inducción artificial de estructuras reproductivas y taxonomía clásica se logró identificar 5 morfotipos pertenecientes a la Clase Basidiomicete (una especie perteneciente al género *Inonotus* sp., una especie *Bjerkandera adusta* y 3 basidiomicetes desconocidos codificados como PA-1, DO-1 y DW-1), una morfotipo perteneciente a la Clase Ascomicete, especie del género *Xylaria* sp.), y finalmente 2 morfotipos pertenecientes a los Deuteromicetes (especie del género *Bipolaris* sp y un morfotipo del tipo *Mycelia sterilia*). El análisis de las frecuencias relativas de los aislamientos mostró que la especie del género *Xylaria* sp y la especie *B. adusta* fueron los morfotipos predominantes. Los resultados de microscopía de luz (ML), microscopía de barrido (MEB) y microscopía de transmisión (MET) indican la

presencia de infecciones latentes y colonización fúngica a lo largo de los rayos parenquimáticos en los fragmentos de tarugos de incremento. La posición y distribución de la colonización sugiere que la infección tiende a propagarse a través del parénquima durante el tiempo de incubación en condiciones favorables. La infección en los rayos xilemáticos de *N. obliqua* fue mayor que en *D. winteri*. Observaciones sobre la ultraestructura de los fragmentos de tarugo de incremento, sugieren la presencia de hifas fúngicas y propágulos adheridas a la superficie celular interna o lúmenes celulares de los elementos xilemáticos inclusive antes de los experimentos de incubación que promovieron condiciones de degradación *in situ*. Los resultados demuestran que los propágulos contenidos naturalmente en la madera pueden activarse, crecer y degradar la madera cuando condiciones como humedad y temperatura fueron adecuadas. Los resultados de microscopía MEB y MET mostraron una degradación simultánea caracterizada por un adelgazamiento de la pared celular desde el lumen celular hacia la lamela media con evidencia de degradación en un patrón típico al de un hongo de pudrición blanca de tipo no selectivo.

En una segunda etapa de trabajo, se evaluó y caracterizó la producción de enzimas lignocelulolíticas y la capacidad de degradación de madera de los hongos endófitos aislados. Inicialmente, se evaluó y caracterizó la capacidad de los hongos endófitos de producir enzimas lignocelulolíticas en medio sólido. Para ello se sometieron a evaluación cuatro hongos endófitos. Por una parte, un basidiomicete identificado como *Bjerkandera adusta*., un Deuteromicete clasificado como *Mycelia sterilia* (DW-2), ambos aislados desde madera de *D. winteri*; y por otra parte, un basidiomicete desconocido (PA-1) y un hongo tipo *Mycelia sterilia* (PA-2), ambos aislados de *P. andina*. La detección de enzimas mediante ensayos bioquímicos en medio sólido indicaron que los basidiomicetes endófitos mostraron una reacción positiva a la presencia de fenoloxidasa, celulasa y una reacción negativa para la actividad reductora de hierro. En los aislados de tipo *Mycelia sterilia*, la reacción de detección fue débil para celulasas, así como para la actividad reductora de hierro y finalmente, reacción negativa para la actividad fenoloxidasa. Posteriormente, los basidiomicetes endófitos *B. adusta* y PA-1 fueron considerados para realizar ensayos de cinética de crecimiento,

producción de enzimas ligninolíticas en medio líquido y degradación de madera. Los resultados muestran que las cinéticas de crecimiento, variación de pH de cultivo y consumo de glucosa tienden a seguir patrones similares en ambos aislados *B.adusta* y PA-1. La cinética de crecimiento de ambos endófitos se caracterizó por un incremento en biomasa, acompañado del consumo de glucosa y un descenso de pH desde 4,5 a 3,2 durante los primeros 10 días. El incremento de biomasa fue mayor en *B. adusta* que en PA-1. La máxima actividad peroxidasa fue más temprana en *B. adusta* detectándose a los 6 días mientras que en PA-1, el máximo de actividad fenoloxidasa fue registrado entre los días 6 y 15. En ambos endófitos no fue posible detectar actividad de tipo lacasa. La producción de fenoloxidasa tanto en medio sólido como en medio líquido indica la presencia de una maquinaria enzimática de un hongo de pudrición blanca.

Para evaluar la capacidad de degradación de madera en condiciones controladas se utilizó como sustrato chips de madera de *D. winteri*. Los basidiomicetes endófitos utilizados fueron los aislados *B. adusta* y PA-1. Para el caso de la degradación de madera de *D. winteri* con el endófito *B. adusta*, los resultados de pérdida de peso fueron de  $13,3 \pm 1,5$  %, y de pérdida de componentes de la madera como lignina total de  $13,2 \pm 1,2$  %, glucano de  $16,9 \pm 4,4$  %, poliosas de  $22,6 \pm 3,8$  % y extractivos  $16,0 \pm 1,7$  %. Para el ensayo de degradación de *D. winteri* con el endófito PA-1, la pérdida de peso y de componentes de la madera fueron: pérdida de peso de  $5,6 \pm 0,0$  %, lignina total de  $8,0 \pm 0,6$  %, glucano de  $7,0 \pm 0,3$  %, polioses de  $9,0 \pm 0,5$  % y extractivos  $7,7 \pm 0,1$  % para un período de 45 días. Los resultados confirman la hipótesis de trabajo planteada que señala que los hongos endófitos asociados a xilema juegan un rol relevante en la degradación de madera debido a que no solo son capaces de colonizar y sobrevivir dentro de la matriz de la madera si no que además, poseen sistemas enzimáticos susceptibles de ser activados dando inicio de degradación de madera bajo condiciones favorables.