

---

## EFFECTO DE COMPUESTOS FUNGISTÁTICOS SOBRE ALGUNAS CEPAS DE *SUILLUS*

---

GUADALUPE SANTIAGO-MARTÍNEZ<sup>1</sup>

ARTURO ESTRADA-TORRES<sup>1</sup>

LUCÍA VARELA<sup>2</sup>

ALEJANDRO KONG-LUZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Micología, Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Km 10.5 Carr. Texmelucan-Tlaxcala, 90120, Ixtacuixtla, Tlaxcala.

<sup>2</sup> Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Carpio y Plan de Ayala, México, D. F.

### ABSTRACT

**EFFECT OF FUNGISTATIC COMPOUNDS ON SOME STRAINS OF *SUILLUS*.** *Rev. Mex. Mic.* 13: 28-32 (1997). Fifteen strains of *Suillus* were grown on potato-dextrose-agar added with one of the following fungitoxic compounds: benomyl 10 mg/ml; cicloheximide 2 mg/ml; rose bengal 10 mg/ml; malachite green 2 mg/ml; and sodium chloride 10 mg/ml. Each fungitoxic compound was tested by triplicate. After five weeks, colonial growths were measured, compared with the control without fungitoxic, and classified as tolerant when the growth was higher than 50%, semitolerant with a growth between 20 and 50%, and sensitive with a growth lesser than 20%. All the isolates were tolerant to sodiumchloride; fourteen were tolerant and just one was semitolerant to benomyl; response to malachite green was from semitolerant to tolerant; in bengal rose, the response was variable; in cicloheximide, twelve strains were sensitive, two tolerant, and one semitolerant.

**Key words:** ectomycorrhizal fungi, benomyl, cicloheximide, rose bengal, malachite green, sodium chloride.

### RESUMEN

Se sembraron quince cepas de *Suillus* en medio de papa dextrosa agar con los siguientes compuestos tóxicos: benomil 10 mg/ml; cicloheximida 2 mg/ml; rosa de bengala 10 mg/ml; verde de malaquita 2 mg/ml; cloruro de sodio 10 mg/ml, con tres repeticiones por tratamiento. A las cinco semanas, se midió el diámetro de la colonia en cada compuesto tóxico y se comparó con el crecimiento de la cepa en el mismo medio de cultivo sin tóxicos (testigo) tomando en cuenta los siguientes criterios: tolerantes cuando el crecimiento es mayor al 50%; semitolerante con crecimiento del 20 al 50%; y sensible menos del 20% con respecto al testigo. Se observó que todas las cepas fueron tolerantes al cloruro de sodio; 14 cepas fueron tolerantes al benomil y sólo una fue semitolerante; la respuesta al verde de malaquita fue de semitolerante a tolerante; en el rosa de bengala, la respuesta fue muy variable; en la cicloheximida 12 de las cepas fueron sensibles, dos tolerantes y una semitolerante.

**Palabras clave:** hongos ectomicorrizógenos, benomil, cicloheximida, rosa de bengala, verde de malaquita, cloruro de sodio.

## Introducción

La acción de compuestos fungistáticos (compuestos químicos que inhiben o detienen de desarrollo de los hongos) ha sido propuesta como un carácter taxonómico adicional, auxiliar en la delimitación de grupos fúngicos, sobretodo en aquellos hongos de importancia médica y fitopatológica (Hall, 1979). En el

caso de los hongos ectomicorrizógenos, Hutchison (1990) ha propuesto que la acción de compuestos fungistáticos como el benomil, los colorantes rosa de bengala y verde de malaquita, el antibiótico cicloheximida y el cloruro de sodio podrían ser un valioso apoyo en la delimitación de grupos taxonómicos. Este

hecho podría ser un importante auxiliar en la identificación de géneros, grupos de especies e/o incluso especies de aislamientos realizados a partir de la ectomicorriza, en donde se carece de la estructura reproductora usualmente utilizada durante el proceso de identificación. No obstante, antes de poder utilizar rutinariamente estos caracteres fisiológicos en la identificación de hongos ectomicorrizógenos, es necesario validar su reproducibilidad usando un gran número de cepas de diferentes especies, procedencias geográficas y ecológicas.

En el cepario del Centro de Investigaciones en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (CICB) se cuenta con numerosos aislamientos de algunas especies de *Suillus*, un género fúngico frecuentemente asociado a coníferas y con un gran potencial para ser utilizado en programas de producción de plantas para fines de reforestación. El presente trabajo tuvo como objetivo analizar el efecto sobre el desarrollo micelial de los cinco compuestos fungistáticos propuestos por Hutchison (1990) y determinar su potencial como herramienta auxiliar en la identificación de taxa de hongos ectomicorrizógenos.

## Materiales y métodos

Se utilizó el medio de papa dextrosa agar (PDA, BBL, Becton Dickinson y Co., Coceysville, MD) como medio basal, el cual después de esterilizado se dejó enfriar parcialmente y antes de la gelificación se le adicionaron alícuotas de soluciones de cada compuesto tóxico con ayuda de jeringas estériles, para obtener medios con las concentraciones finales propuestos por Hutchison (1990): benomil 10 mg/ml; cicloheximida 2 mg/ml; rosa de bengala 10 mg/ml; verde de malaquita 2 mg/ml; el cloruro de sodio fue adicionado directamente en el agar antes de ser esterilizado para dar una concentración final de 10 mg/ml. Los medios así preparados se agitaron con el compuesto, vaciando 30 ml de medio a cajas de Petri de 90 mm (Hutchison, 1990).

Para el ensayo se utilizaron 15 cepas de *Suillus*, cuyas procedencias e identificaciones se muestran en la Tabla 1. Las cepas ensayadas se encuentran depositadas en el cepario de hongos ectomicorrizógenos del CICB y los materiales de referencia en el herbario TLMX de la misma institución.

Para la inoculación de cada ensayo, se cortaron con un bisturí trozos de 5 mm por lado en los márgenes de colonias recientes, los cuales fueron colocados

en el centro de cada caja Petri. Para cada compuesto, el ensayo se hizo por triplicado montando en forma simultánea el control sin fungistático. Cada caja fue sellada con papel egapac e incubado boca abajo en la oscuridad a 18°C por cinco semanas. Posteriormente, se determinó el diámetro medio (diámetro final menos el diámetro del inóculo) de cada colonia en los diferentes compuestos. Los porcentajes de crecimiento para cada aislamiento fueron calculados según los criterios de Hutchison (1990), con una relación entre los crecimientos en los medios con fungistáticos y los controles. Para cada compuesto tóxico probado los aislamientos fueron clasificados de acuerdo con su respuesta de crecimiento en tres categorías: (1) tolerante, cuando el crecimiento es mayor del 50% comparado con el control; (2) semitolerante, cuando el crecimiento lineal es de 20-50% del control; (3) sensible, cuando el crecimiento es menor del 20% del control.

## Resultados y discusiones

De acuerdo con Hutchison (1991), el género *Suillus* se caracteriza por ser tolerante al benomil, al verde de malaquita y al mismo tiempo sensible a la cicloheximida, lo que en general coincide con los resultados encontrados en el presente trabajo. En cuanto a la respuesta al rosa de bengala, dicho autor reporta una respuesta variable, desde sensible hasta tolerante, pero la mayoría de las cepas y especies presentan tolerancia a este compuesto (Hutchison, 1990;1991), Hecho que también coincide con nuestros resultados (Tabla 2). En el caso del cloruro de sodio, Hutchison (1990;1991) encontró una respuesta de semitolerante a tolerante, aunque la mayoría de las cepas y especies estudiadas correspondieron a la última categoría. En el presente trabajo, todas las cepas estudiadas mostraron tolerancia a la concentración de cloruro de sodio ensayada (Tabla 2).

En cuanto a las cepas estudiadas, la de *Suillus cothurnatus* var *hiemalis* y una de las no identificadas presentaron el mayor grado de sensibilidad a los fungistáticos, siendo ambas sensibles al rosa de bengala y a la cicloheximida, y la primera semitolerante al benomil, en tanto la segunda semitolerante al verde de malaquita. La cepa más tolerante correspondió a la TLAX 24 de *Suillus tomentosus*, no presentándose diferencias con respecto al testigo en ninguno de los compuestos probados (Tabla 2). La respuesta más frecuentemente encontrada entre las cepas estudiadas

N° de cepa	Taxa	Material de referencia	Procedencia	Vegetación
TLAX 31	<i>Suillus cothurnatus</i> var. <i>hiemalis</i> Sing.	AME 1137	2	I
TLAX 5	<i>S. glandulosipes</i> Thiers et Smith	AKL 1588	1	III
TLAX 10	<i>S. glandulosipes</i> Thiers et Smith	GSM 284	1	III
TLAX 25	<i>S. glandulosipes</i> Thiers et Smith	VCL 54	1	III
TLAX 34	<i>S. glandulosipes</i> Thiers et Smith	AKL 2267	2	I
TLAX 35	<i>S. glandulosipes</i> Thiers et Smith	AKL 2296	1	III
TLAX 40	<i>S. lakei</i> (Murr.) Smith et Thiers	AKL 2740	5	II
TLAX 9	<i>S. tomentosus</i> (Kauffm.) Singer, Snell et Dick	GSM 276	3	IV
TLAX 24	<i>S. tomentosus</i> (Kauffm.) Singer, Snell et Dick	AME 1009	3	IV
TLAX 33	<i>S. cf. pseudobrevipes</i> Smith et Thiers	AKL 2266	2	I
TLAX 36	<i>S. cf. pseudobrevipes</i> Smith et Thiers	AKL 2297	1	III
TLAX 42	<i>S. cf. unicolor</i> (Frost) Kuntze	GGF 1852	6	II
TLAX 32	<i>Suillus</i> sp.	AKL 2264	2	I
TLAX 20	<i>Suillus</i> sp.	AKL 1970	4	V
TLAX 44	<i>Suillus</i> sp.	AKL 2650	5	II

**Tabla 1.** Listado de cepas estudiadas. I: Cerro Tepeticpac, Mpio de Totolac ; 2: 2 Km al NO de Miltepec, Mpio de España; 3: Parque Nacional la Malinche, Mpio de Huamantla; 4: Cerro El Peñón, N de El Rosario, Mpio. de Tlaxco; 5: Villarreal, Mpio de Terrenate; 6: Barranca del río Zaguapan. NE de Tlaxco, Mpio de Tlaxco. I: *Pinus-Juniperus-Arbutus-Quercus*; II: *Pseudotsuga-Quercus-Pinus-Abies*; III: *Pinus-Quercus*; IV: *Pinus-Abies*; V: *Abies-Pinus-Quercus*.

fue la tolerancia a cloruro de sodio, benomil, verde de malaquita, rosa de bengala y sensibilidad a ciclo heximida (Tabla 2). Esta respuesta se presentó en tres cepas de *Suillus glandulosipes*, una de *S. lakei*, una de *Suillus* cf. *pseudobrevipes* y una cepa no identificada. Hutchison (1990) registró esta misma respuesta para *S. luteus* (L.:Fr.) S. F. Gray, *S. sinuspaulinus* (Pomerleau et Smith) Dick et Snell, *S. subluteus* (Pk.) Snell, *S. umbonatus* Dick et Snell y algunos aislamientos de *S. granulatus* (L.:Fr.) Kuntze, *S. grevillei* (Kl.: Fr.) Sing. y *S. ochraceoroseus* (Snell) Sing., por lo que al parecer no existe ninguna correlación entre esta respuesta y la ubicación taxonómica de las especies, ya que éstas pertenecen a ambos subgéneros (*Boletinus* y *Suillus*) reconocidos por Thiers (1975) y dentro de éstos a dos y tres

secciones, respectivamente, *Boletinus* y *Viscidi* en el primero, y *Suillus*, *Annulati* y *Megasporini* en el segundo. A pesar de lo anterior, parece haber constancia en al menos algunas respuestas dentro de la misma especie. Así, por ejemplo *Suillus tomentosus* parece ser consistentemente tolerante a benomil, cloruro de sodio y verde de malaquita (Hutchison, 1990;1991; Tabla 2), aunque sus respuestas son variables a la cicloheximida y al rosa de bengala. Cabe señalar que aún dentro de los aislamientos de la misma especie procedentes de la misma localidad, o incluso de la misma población, las respuestas a los fungistáticos no son constantes. Así, para los dos aislamientos de *S. tomentosus*, ambos procedentes de un bosque de *Pinus-Abies* en el Volcán la Malintzi, se encontraron las mismas respuestas para cloruro de

Cepa	Cloruro de sodio	Benomil	Verde de malaquita	Rosa de Bengala	Cicloheximida
TLAX 31	T	ST	T	S	S
TLAX 5	T	T	T	T	S
TLAX 10	T	T	T	ST	S
TLAX 25	T	T	T	T	S
TLAX 34	T	T	T	T	S
TLAX 35	T	T	T	ST	S
TLAX 40	T	T	T	T	S
TLAX 9	T	T	T	T	ST
TLAX 24	T	T	T	T	T
TLAX 33	T	T	T	T	S
TLAX 36	T	T	ST	T	T
TLAX 42	T	T	ST	T	S
TLAX 32	T	T	ST	S	S
TLAX 20	T	T	T	S	S
TLAX 44	T	T	T	T	S

**Tabla 2.** Respuesta de las Cepas a los Diferentes Compuestos Tóxicos T=Tolerante > de 50% con respecto al testigo; ST=Semitolerante del 20 al 50 %; S=Sensible del 20 % con respecto al testigo. El Testigo se consideró como el 100% y corresponde al crecimiento de la cepa sin compuestos fungistáticos.

sodio, benomil, verde de malaquita y rosa de bengala, pero no para la cicloheximida, siendo un aislamiento tolerante pero el otro semitolerante. Así mismo, se encontró que los cuatro aislamientos de *Suillus glandulosipes*, pertenecientes a la misma población del cerro Tepeticpac, eran tolerantes al cloruro de sodio, benomil y verde de malaquita, y sensibles a la cicloheximida, pero su respuesta al rosa de bengala fue variable, yendo de semitolerantes a tolerantes.

La tolerancia al cloruro de sodio presentadas por todas las cepas estudiadas podría indicarnos que la mayoría de los aislamientos de *Suillus* son potencialmente útiles para la introducción de plantas en sitios con problemas de salinidad. Asimismo, la tolerancia al benomil podría ser una característica valiosa para manejar estas cepas en viveros con problemas de "damping off", en donde este fungistático podría ser

aplicado sin afectar significativamente la micorrización de las plantas.

### Conclusiones

Como ya se había señalado previamente, el género *Suillus* parece estar bien delimitado en cuanto a sus respuestas de tolerancia al benomil, cloruro de sodio y cicloheximida, siendo generalmente tolerante a los dos primeros compuestos y sensible al último.

Aún cuando existen respuestas constantes de las diferentes especies a algunos fungistáticos, estas respuestas parecen no estar correlacionadas con los diferentes rangos infragenéricos (subgéneros, secciones o subsecciones) delimitados por Thiers (1975).

Las pruebas de tolerancia a compuestos fungistáticos pueden ser auxiliares en la determinación taxo-

nómica de aislamientos de hongos ectomicorrizógenos, pero su valor podría ser limitado si no se utilizan conjuntamente con otras pruebas (morfológicas, degradación de compuestos orgánicos, etc.).

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT por el financiamiento del proyecto SELECCIÓN DE HONGOS ECTOMICORRÍZICOS PARA PRODUCCIÓN DE INOCULANTES EN EL ESTADO DE TLAXCALA, mediante el convenio número 4690-N9406.

### Literatura citada

- Hall, R., 1979. Fungitoxicants and fungal taxonomy. **Bot. Rev.** 45: 1-14.
- Hutchison, L.J., 1990. Studies on systematics of ectomycorrhizal fungi in axenic culture. IV. The effect of some selected fungitoxic compounds upon linear growth. **Can. J. Bot.** 68: 2172-2178.
- Hutchison, L.J., 1991. Description and identification of cultures of ectomycorrhizal fungi found in North America. **Mycotaxon** 42: 387-504.
- Thiers H.D., 1975. The genus *Suillus* in the United States. *In*: Bigelow, H. E. y H. D. Thiers (ed.) Studies on higher fungi. A collection of papers dedicated to Dr. A. H. Smith the occasion of his seventieth birthday, 1975. **Beiheft Nova Hedwigia** 51: 247-278.

Recibido: 19 de noviembre, 1997. Aceptado: 10 de febrero, 1998.  
Solicitud de sobretiros: Ma. Guadalupe Santiago Martínez.