# COLONIZACION DE PROBETAS DE MADERA DE *Pinus radiata* D.Don.POR CEPAS MICELIALES DE AGARICALES XILOTROFOS

(Colonization of **Pinus radiata** D.Don wood-block by mycelial strains of xilophagus **Agaricales**)

E. Valenzuela\* & I. Vives\*\*

\*Universidad Austral de Chile, Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Casilla 167. Valdivia, Chile. \*\*Universidad Austral de Chile, Instituto de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales, Casilla 567. Valdivia, Chile.

Palabras clave: Probetas de madera, *Pinus radiata*, cepas miceliales, Agaricales, colonización. Key words: wood-block, *Pinus radiata*, mycelial strains, Agaricales, colonization.

#### RESUMEN

Se realizó un estudio con 27 cepas miceliales de Agaricales xilótrofos para determinar la capacidad de colonizar probetas(trozos) de madera estériles(6 x 4 x 0.5 cm) de Pinus radiata D. Don., mediante la siembra individual de discos de agar(5 mm de diámetro) con los micelios. Inoculadas las probetas se incubaron a 23° C (70% de humedad) por 2 meses. Como controles se usaron: una cepa de Trametes versicolor (Tv) N° 52 (ATCC 20869), y una de Phanerochaete chrysosporium (Pch) BKM-F-1767 (ATCC 24725) y probetas sin inocular.

Tras el periodo de incubación se evaluó: el porcentaje del área superficial de las probetas colonizadas por el micelio, la pérdida de peso de las probetas (PSP) tras extraer el micelio superficial y secado y el peso seco micelial (PSM).

Todas las cepas en mayor o menor grado colonizaron las probetas. Las de control y 10 de las 27 ensayadas colonizaron el 100 % de su área superficial (Collybia butyracea, Descolea antarctica, Gymnopilus spectabilis, Hypholoma fasciculare, Mycena metuloidifera, M. rubromarginata, Pholiota sp, Pleuroflammula croceosanguinea, Psilocybe merdaria y Marasmiellus sp.), mientras 7 colonizaron menos del 50 % del área.

Las probetas que registraron las mayores pérdidas de PSP fueron las sembradas con las cepas Pholiota sp. (3.54 g), Marasmiellus sp. (5.25 g), C.butyracea (5.55 g), P.merdaria (5.62 g), P. croceosanguinea (5.65 g), D. antarctica (5.68 g) y M. metuloidifera (5.79 g) en comparación con probetas controles sin sembrar (7.77 g) y sembradas con los controles T.versicolor (6.13 g) y P. chrysosporium (5.98 g).

Los mayores PSM, se obtuvieron desde las probetas sembradas con las cepas C. butyracea (1.714 g), P. candolleana (1.36 g), C. disseminatus (1.22 g), P. croceosanguinea (1.020 g) y D. antarctica (1.004 g), en comparación con las cepas controles T.versicolor (0.0329 g) y P. chrysosporium (0.0132 g).

#### **SUMMARY**

A study was carried out on 27 mycelial strains of xilophagus Agaricales to determine the capacity to colonize wood-blocks of Pinus radiata. Five mm - diam agar disks with mycelium of the strain were sowed individually in sterile wood-blocks (6 x 4 x 0.5 cm) of P. radiata. Once sowed the wood-blocks were incubated at 23°C (70% humidity) for 2 months. As controls a mycelial strain of Trametes versicolor (Tv) N° 52 (ATCC 20869), a Phanerochaete chrysosporium (Pch) BKM-F-1767 (ATCC 24725) and wood-blocks without sowing were used. After the incubation periods (2 months), the percentage of the superficial area of wood-blocks colonized by the mycelium, the loss of weight of the former (PSP), after withdrawing the dried superficial mycelium and the mycelial dry wieigh (PSM) were evaluated.

All mycelial strains colonized in higher or lower degree the wood-blocks. The control strains and 10 of the 27 tested strains colonized 100% of the superficial area of the wood-blocks. These strains were: (Collybia butyracea, Descolea antarctica, Gymnopilus spectabilis, Hypholoma fasciculare, Mycena metuloidifera, M. rubromarginata, Pholiota sp, Pleuroflammula croceosanguinea, Psilocybe merdaria y Marasmiellus sp.).

Out of the 27 tested strains, 7of them colonized

less than 50% of the superficial area of the wood-blocks. Wood-blocks that showed the highest dry weight were those sowed with the strain Pholiota sp. (3.54 g), Marasmiellus sp. (5.25 g), C.butyracea (5.55 g), P.merdaria (5.62 g), P. croceosanguinea (5.65 g), D. antarctica (5.68 g) y M. metuloidifera (5.79 g) as compared with wood-block controls without sowing (7.77 g) and those sowed with the strain control T. versicolor (6.13 g) y P.chrysosporium (5.98 g). Highest

PSM were obtained from wood-blocks sowed with th strains Collibia butyracea (1.714 g), R.candolleana (1.3 g), C. disseminatus (1.22 g), R.craceosanguinea (1.02 g) and D. antarctica (1.004 g) as compared with th control strains, T. versicolor(0.0329 g) and P.chry sosporium (0.0132 g).

### INTRODUCCIÓN

En la naturaleza es frecuente observar que, específicamente en la parte aérea o sobre los restos vegetales que se depositan en el suelo de especies arbóreas de coníferas o latifoliadas, se desarrollan los cuerpos fructíferos de algunos **Agaricales** xilótrofos (Singer 1986; Wright, 1988). De acuerdo a Griffin (1981), Redhead & Ginns (1985), Worrall et al. (1997), esta especificidad se debería a que estos poseerían sistemas enzimáticos específicos para degradar los constituyentes lignocelulósicos de los restos vegetales o madera de uno u otro tipo de especies arbóreas. Yoshimura et al. (1995), indican que algunos hongos xilótrofos necesitan para formar sus cuerpos fructíferos, la presencia de compuestos específicos producidos por latifoliadas o coníferas.

Para determinar la especificidad de los Agaricales xilótrofos, es necesario en primer lugar obtener desde los basidiocarpos, sus correspondientes cepas miceliales en cultivo puro y luego realizar con ellas ensayos de colonización de maderas, determinar mediante marcha analítica la transformación de los constituyentes carbonados de éstas tras su colonización, u obtener y purificar las enzimas lignocelulolíticas a partir de las cepas fúngicas y realizar los ensayos enzimáticos respectivos.

En el Instituto de Microbiología de la Universidad Austral de Chile, se han obtenido en cultivo puro las cepas miceliales de varios **Agaricales** xilótrofos, que crecen en bosques de *Nothofagus* spp. y/o de *Pinus radiata* de la X Región de Chile. Luego de haber realizado la caracterización macro-microscópica y enzimática cualitativa de las cepas (Garnica 1995; Valenzuela & Garnica 1997), se comenzó con los ensayos para determinar su capacidad de colonizar y biodegradar diversas maderas.

El presente trabajo da a conocer los resultados obtenidos con 27 cepas miceliales de **Agaricales** que fueron inoculadas en probetas (trozos) de *P. radiata*, determinándose su grado de colonización, la pérdida de peso causada por el crecimiento fúngico y la masa micelial.

#### MATERIALES Y METODOS

#### 1. Cepas miceliales

En la Tabla 1, se indican las 27 cepas miceliales d **Agaricales** utilizadas en el presente ensayo y los taxa a l que pertenecen los basidiocarpos desde donde fuero obtenidas en cultivo puro, según la metodología señalad por Garnica (1995). Las cepas se mantienen en el cepari del Instituto de Microbiología, Universidad Austral d Chile. Como cepas controles se usaron *Trametes versicola* (Tv) N° 52 (ATCC 20869) suministrada por el Dr. L. Jurase (Pulp and Paper Research Institut of Canada) y *Phanera chaete chrysosporium* (Pch) BKM-F-1767 (ATCC 24725 suministrada por el Dr. K. Kirk (Forest Product Laborator Madison, USA.).

## 2. Siembra de cepas miceliales en probetas de *Pini* radiata y parámetros evaluados.

Desde la albura de madera de *P. radiata* de 20 año se confeccionaron probetas de 6 x 4 x 0.5 cm, éstas s depositaron individualmente en placas Petri vacías y s esterilizaron por 15 min en un autoclave (121 °C, ), dejái dose enfriar posteriormente.

Cultivos frescos de cada cepa, se sembraron ind vidualmente y por triplicado en las probetas, extrayenc discos de agar con micelio (con un sacabocado de 5 mm c diám.), los cuales se depositaron en los extremos de la car superficial de la probeta. Se sembraron 4 discos por probeta y se incubaron a 23 °C (70% de humedad) por 2 mese

Al término del ensayo se evaluaron los siguiente parámetros:

- a) Area superficial colonizada de las probetas. Susó una red cuadriculada de puntos de mica transparen milimetrada de 6 x 4 cm (que corresponde a 96 cuadrantes ésta se sobrepuso sobre la cara inoculada de la probeta, sobservó con una lupa estereoscópica y se contó el número de cuadrantes colonizados por el micelio de la cepa e ensayo. Sabiendo que 96 cuadrantes corresponden a u 100 % de colonización, se realizaron los promedio respectivos de las 3 siembras.
- b) Pérdida de peso de las probetas. A las probet se les extrajo todo el micelio superficial (con ayuda de i

Tabla 1.- Códigos asignados a las diferentes cepas miceliales en estudio Taxa Código cepa

		- ange copa
	Anthracophyllum discolor	UACHMAd-474
	Armillaria procera	UACHMAp-402
	Collybia butyracea	ÚACHMCb-442
	Conchomyces bursaeformis	UACHMCbu-310
	Coprinus comatus	UACHMCc-435
	Coprinus disseminatus	UACHMCd-403
	Descolea antarctica	UACHMDa-405
	Gymnopilus chilensis	UACHMGc-200
	Gymnopilus chilensis	UACHMGc-270
	Gymnopilus spectabilis	UACHMGs-98
	Gymnopilus spectabilis	UACHMGs-99
	Gymnopilus spectabilis	UACHMGs-467
	Hypholoma fasciculare	UACHMHf-100
	Leucoagaricus sp.	UACHMLsp-45
	Mycena capillaripes	UACHMMc-45
	Mycena galericulata	UACHMMg-250
9	Mycena metuloidifera	UACHMMn-302
	Mycena patagonica	UACHMMp-354
	Mycena rubromarginata	UACHMMr-260
	Pholiota spumosa	UACHMPhs-428
	Pholiota sp.	UACHMPhsp-44
	Pleuroflammula croceosanguinea	
	Pleurotus sp.	UACHMPsp-49
	Pleurotus sp.	UACHMPsp-56
1	Psathyrella candolleana	UACHMPc-436
,	Psilocybe merdaria	UACHMPm-299
	Marasmiellus sp.	UACHMMsp-01
П		S

bisturí) y se pesaron individualmente, obteniéndose el peso fresco, luego fueron secadas en una estufa a 105 °C por 16 h, tras lo cual fueron nuevamente pesadas, determinándose en c/u el peso seco por diferencia de peso (PSP). Igual tratamiento se realizó con probetas sin inocular que se usaron como controles (PC). De la misma forma que en (a), se sacó un promedio del PSP para cada cepa.

c) Masa micelial desarrollada por cepa. Se determinó pesando el micelio fresco, tras extraerlo de las probetas respectivas (como se señalo en el punto b) y el peso seco micelial (PSM) luego de secar los micelios en una estufa a 80 °C hasta peso constante (24 a 48 horas). Igual que en (a) se sacó un promedio del PSM para cada cepa.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

En la segunda columna de la Tabla 2, se presentan los porcentajes de colonización de las cepas miceliales ensayadas y controles inoculados en las probetas y en la Figura 1 el aspecto que presenta el micelio de algunas de las cepas ensayadas.

El porcentaje de colonización de las cepas varía entre un 100% a un 20.1%, presentando un 100% de colonización las cepas UACHMCb-442, UACHMDa-405, UACHMHf-100, UACHMMn-302, UACHMMr-260, UACHMMsp-301, UACHMPcr-280, UACHMPm-299 y UACHMPsp-444 al igual que las cepas controles Tv v Pch.(Tabla 2). En Figura 1, se aprecia que las cepas UACHMCb-442, UACHMPcr-280 y UACHMMsp-301 desarrollaron un micelio algodonoso, compacto, blanco semejante al del control Tv, por su parte las cepas UACHMMr-260, UACHMPm-299, UACHMMn-302, UACHMDa-405 v UACHMPsp-444, desarrollaron un micelio muy tenue y laxo semejante al del control Pch. Por otra parte, las cepas UACHMAp-402, UACHMCb-310, UACHMGc-200, UACHMGc-270, UACHMLsp-485, UACHMMg-250 y UACHMMp-354 colonizaron menos del 50% del área de la cara inoculada de las probetas, en comparación con ambas cepas controles. Además, presentaron un escaso desarrollo micelial (Fig. 1), entre estas UACHMAp-402 desarrolló un micelio oscuro y UACHMLsp-485 esclerocios plomizos, iguales a los presentados en los medios de cultivo agar extracto de malta (AEM al 2%) y agar papa dextrosa (PDA al 2%). La apariencia (textura y color) de los micelios desarrollados por las restantes cepas en las probetas se corresponden con lo descrito por Garnica (1995) y Valenzuela et al. (1997), para estas mismas cepas cultivadas en diferentes agares.

Entre las cepas que colonizaron el 100% del área de la cara inoculada de las probetas (Tabla 1), se encuentran UACHMHf-100 y UACHMMr-260, éstas fueron obtenidas desde basidiocarpos de **Agaricales** que se desarrollan sobre ramas, tocones y troncos en estado de degradación en bosques de *Picea*, *Pinus* y *Abies*.

Por su parte las cepas UACHMDa-405, UACHMMn-302 y UACHMPcr-280 también colonizaron el 100% del área de la cara inoculada de las probetas, pero fueron obtenidas en cultivo desde basidiocarpos de **Agaricales** que fructifican sólo en troncos o corteza de *Nothofagus* spp., esto permite suponer la posible existencia de sistemas enzimáticos para degradar tanto los constituyentes lignocelulósicos de latifoliadas y coníferas, lo cual estaría avalado por los trabajos de Lobos (1996) y Andrade (1998), quienes señalan que *P. croceosanguinea* UACHMPcr-280, es capaz de colonizar y biodegradar aserrín de *P. radiata*. Valdebenito (1997), agrega que *D. antarctica* UACHMDa-405 y *P. croceosanguinea* UACHMPcr-280 son capaces de biodegradar aserrín de *Nohofagus obliqua* y *Weinmannia trichosperma*.

Los resultados de los autores antes citados, llevarían a pensar que en la naturaleza los basidiocarpos de los **Agaricales** desde donde se obtuvieron estas tres cepas,

Tabla 2.- Cepas miceliales de Agaricales sembradas en probetas de Pinus Radiata: Porcentaje de colonización, peso seco de las probetas, y peso seco micelial a los 2 meses del ensayo

Código cepa	A (%)	PSP (g)	PSM (g)
UACHMAd-474	833	6.13	0.105
UACHMAD-402	30.2	6.66	0.036
UACHMCb-442	100	5.55	0.205
UACHMCbu-310	219	6.68	800.0
UACHMMCc-435	54.2	6.56	0.110
UACHMCd-403	91.7	6.16	1.227
UACHMDa-405	100	5.68	1.004
JACHMGc-200	20.1	5.55	0.001
UACHMGc-270	33.3	5.52	0.096
UACHMGs-98	89.5	6.20	0.067
UACHMGs-99	85.4	6.29	0.064
UACHMGs-467	68.8	3.50	0.160
UACHMHY-100	100	639	1.714
UACHMLsp-485	34.4	7.12	0.044
UACHMMsp-301	100	525	080.0
UACHIMIMC-495	53.1	6.12	0.070
UACHMMg-250	40.6	593	0.063
UACHMMn-302	100	5.79	1.060
UACHIMIMp-354	25.4	5.71	0.094
UACHMM-260	100	6.58	0.136
UACHMPhs-428	50.4	6.45	0.050
UACHMPhsp-444	100	3.54	0.012
UACHMPar-280	100	5.65	1.020
UACHMPф-499	52.1	6.65	0.117
UACHMPsp-536	583	6.03	0.034
UACHMPc-436	562	7.05	1360
UACHMPm-299	100	5.62	0.100
Tv ATTC 20869	100	6.13	0.066
Pch ATTC 24725	100	598	0.026
PC	0.00	7.77	000.0

A(%) = Porcentaje de colonización de las probetas por el micelio de las cepas. PSP (g) = peso seco de las probetas. PSN (g) = peso seco del micelio obtenido desde las probetas. Tv = (cepa control) *Trametes versicolor*. Pch = (cepa control) *Phanerichaete chrysosporium*. PC = Probeta control.

fructificarían indistintamente en restos vegetales de coníferas y latifoliadas, lo cual de acuerdo a Singer (1969, 1986), Lazo (1971), Horak (1980), Garrido (1985) y Valenzuela (1993), sería incorrecto, pues los basidiocarpos de estos hongos sólo han sido recolectados y citados desde bosques nativos de latifoliadas, como: Nothofagus spp., Eucriphia cordifolia y Myrceugenella apiculata.

En la tercera columna de la Tabla 2, se muestran los pesos secos de las probetas inoculadas con las cepas controles, ensayadas y sin inocular (PC). Se observa, que independiente del porcentaje de colonización todas las probetas registraron pesos secos menores al determinado para las PC. Los dos menores pesos secos en comparación con PC, se registraron en las probetas inoculadas indivi-

dualmente con la cepa UACHMGs-467 (3.50 g) UACHMPhsp-444 (3.54 g), las que a su vez colonizaron u 68.8% y 100% del área superficial de las probetas respectivamente.

Según Deacon (1988), Zadrazil & Reiniger (1988 Saddler (1993) y Boyle (1998), los constituyentes que sencuentran mayoritariamente en la madera son la celulos y lignina, por lo tanto las pérdidas de peso que se registra en maderas inoculadas experimentalmente con hongos deberían principalmente a la utilización de estos constituyentes. También se ha establecido que algunos hongo ocupan para su crecimiento hidratos de carbono simples otros compuestos solubles, de fácil degradación que encuentran en baja concentración en las maderas, y por tanto su utilización no incidiría mayormente en la pérdic

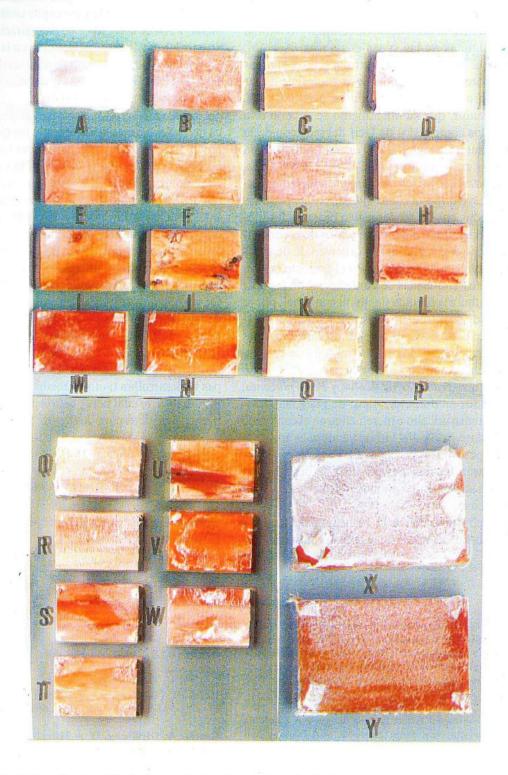


Figura 1. Aspecto de la colonización de las probetas de madera de *Pinus radiata* por cepas de Agaricales: A) UACHMCb-442; B) UACHMDa-405; C) UACHMCbu-310; D) UACHMPcr-280; E) UACHMPc-436; F) UACHMCd-403; G) UACHMMm-302; H) UACHMGs-270; I) UACHMMCc-435; J) UACHMAp-402; K) UACHMMsp-301; L) UACHMMr-260; M) UACHMPhs-428; N) UACHMMp-354; O) UACHMPm-299; P) UACHMMg-250; Q) UACHMPhsp-444; R) UACHMGs-467; S) UACHMAd-474; T) UACHMLsp-485; U) UACHMMc-495; V) UACHMPsp-499; W) UACHMPsp-536; cepas controles X) Tv ATTC 20869; Y) Pch ATTC 24725.

de peso. De acuerdo a lo anterior se podría especular que las mayores pérdidas de peso detectadas en algunas probetas se debería a la utilización de celulosa y/o lignina por parte de algunas de las cepas ensayadas. Además, como se observa en la Tabla 2, entre las cepas algunas colonizaron sobre o bajo un 50% de la superficie de las probetas, sin provocar gran pérdida de peso de éstas, pudiendose asumir, que su crecimiento se debería a la utilización de los compuestos de fácil degradación de la madera. Otros autores como Kazemi et al. (1998), indican que al ensayar con los hongos Coriolus versicolor, Coniophora puteana y Chaetomium globosum, en madera de Fagus sylvatica y Pinus sylvestris, las pérdidas de peso detectadas en las maderas y la biomasa fúngica desarrollada, dependieron en algunos casos de la concentración de oxígeno dadas al cultivo y el contenido de nitrógeno que presentaban las maderas. En el presente ensayo todas las probetas empleadas se confeccionaron a partir de la madera (albura) obtenida de un mismo árbol, por lo tanto el contenido de nitrógeno se asume debería ser constante al igual que las concentraciones de oxígeno, pues todas las probetas inoculadas y los controles, se cultivaron en las mismas condiciones. Por su parte Smith et al. (1991), señalan que *Trametes versicolor* y *Poria placenta*, tras ser cultivados en diferentes tipos de maderas, desarrollaron un extenso micelio e incrementaron el contenido de humedad relativa de estas, traduciéndose en una mayor pérdida de peso de las probetas. En nuestras probetas, las que registraron las mayores pérdidas de peso, fueron aquellas en que se determinó un mayor peso fresco y contenido de humedad.

En la cuarta columna de la Tabla 2, se muestran los pesos secos miceliales (PSM) de las cepas controles y ensayadas. En 18 de las 27 cepas se registran PSM superiores al determinado para las cepas controles. El mayor menor PSM de las cepas, en comparación con el registra do para las de control, se determinó en la cepa UACHMH 100 (1.714 g y colonizó un 100 del área de las probetas) y l cepa UACHMGc-200 (0.001 g, colonizó un 20.1% del áre de las probetas), respectivamente.

Al comparar las cepas miceliales entre sí, se obser va la tendencia que la mayoría de las que colonizaron so bre el 50.4% o más de la cara inoculada de las probeta registraron los mayores PSM, y a la inversa, la mayorí que colonizaron un 50.4% o menos, registraron los meno res PSM. El bajo PSM determinado en las cepa UACHMCbu-310 y UACHMGc-200, se podría atribuir que éstas no poseen las enzimas para degradar los const tuyentes lignocelulósicos de las probetas de madera de radiata y su crecimiento se realizaría a expensas de azúca res simples de fácil degradación. Además, estas dos cepa fueron obtenidas en cultivo puro a partir de basidiocarpo de Agaricales (Tabla 1), que fructifican exclusivamente e restos leñosos de latifoliadas. Por su parte, las cepa UACHMHf-100 (1.714 g) y UACHMPc-436 (1.360 g), regis traron los mayores PSM y los basidiocarpos de estas ce pas se desarrollan tanto en restos vegetales de coníferas latifoliadas, lo cual permitiría especular que poseen siste mas enzimáticos para degradar ambos tipos de madera aspecto que se vería reflejado por un mayor crecimiento masa micelial.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Queremos agradecer a la DID proyectos S-98-28 y S-20001 Universidad Austral de Chile.

#### REFERENCIAS

Andrade, N. (1998). Biodegradación de aserrín de Pinus radiata D. Don por micelios de Gymnopilus spectabilis (Fr.) Smith y Pleuroflammula croceosanguinea (Mont.) Sing. y su posible utilización como complemento en la fertilización. Tesis de Magister, Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Boyle, D. (1998). Nutritional factors limiting the grow of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood. Soil Biology and Biochemistry 30:817-823

Deacon, J. W. (1988). Introducción a la Micología moderna. Ed. Limusa, S.A, Mexico, D.F.

Garnica, S. (1995). Caracterización morfológica y bioquímica de micelios obtenidos en cultivo puro de basidiocarpos de Agaricales sensu lato lignocelulolíticos. Tesis de Magister, Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Garrido, N. (1985). Index Agaricalium chilensis. Biblioth. Mycol.

99:1-339

Griffin, D. H. (1981). Fungal physiology. John Wiley & Sons New York.

Horak, H. (1980). Flora criptogámica de Tierra del Fuego. Tom-11 (6):1-524. Buenos Aires, Argentina

Kazemi, S; Dickinson, D. & Murphy, R. (1998). The influent of gaseous oxygen concentration on fungal growth rates, biomas production and wood decay. Document International Research Ground Wood Preservation No. IRG-WP-98-10283, 18 pp.; 29th Annu Meeting of the IRG, Maastricht, Netherlands, 14-19 June

Lazo, W. (1971). Contribution a l'étude des macromycetes du Chil Lejeunia 61:1-30

Lobos, C. (1996). Determinación de enzimas lignolíticas en cepa de *Peniophora pini* (Schleich. ex Fr.) Boidin y *Pleuroflammula croceosanguinea* (Mont.) Sing. Proposición de un modelo de estu

Worrall, J.; Anagnost, S. & Zabel, R. (1997). Comparision of wood decay among diverse lignicolous fungi. Mycologia 89:199-219

Wright, J. (1988). Interacciones entre macromycetes (Fungi) y Nothofagus. Acad. Nac. Cs. Exactas. Fis. y Nat. Buenos Aires. Argentina. Tomo 11 (4):135-152

Yoshimura, M.; Washio, H.; Yoshida, S.; Seino, T., Otaka, M.; Matshimura, H. & Matsubara, M. (1995). Promoting effect

of wood vinegar compounds on fruit-body formation of *Pleurotus ostreatus*. Mycoscience 36:173-177

Zadrazil, F. & Reiniger, P. (1988). Treatment of lignocellulosics with whitw rot fungi. Ed. Elsevier applied Science