

Identificación del agente causal de la pudrición blanca en Morelos, México

Identification of the white rot agent in Morelos, Mexico

*Ernesto Hernández Mendieta**, *Dagoberto Guillén Sánchez***, *Víctor López Martínez***, *Irán Alia Tejacal***, *María Andrade Rodríguez***, *Oscar Gabriel Villegas Torres***, *Edgar Martínez Fernández****, *Manuel Huerta Lara*****, *Antonio Segura Miranda******

Resumen

Cepas aisladas de *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát causando pudrición blanca en especies arbóreas de amate amarillo (*Ficus petiolaris*), cirián o cuatecomate (*Crescentia alata*), guayaba (*Psidium guajava*) y sauce colorado (*Salix humboldtiana*) en los municipios de Ayala, Cuautla, Cuernavaca, Jojutla, Tepalcingo, Tlaltizapán, Tlaquiltenango y Zacatepec de Hidalgo en el estado de Morelos, México se desarrollaron en medio de cultivo agua-agar enriquecido con 2,4-D amina en concentraciones de 0, 50, 100, 150, 250, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 y 5000 ppm, con el objetivo de conocer su desarrollo en esta sal. Los mejores resultados se obtuvieron en un intervalo de 50 a 1000 ppm con un óptimo de 500 a 1000 ppm.L, las concentraciones de 2000 a 5000 ppm inhiben el desarrollo del hongo. Se confirma que las cepas aisladas de *T. versicolor* pueden emplearse como herramienta potencial de biorremediación de aguas contaminadas por ácido 2,4-D que es empleado como herbicida para el control de malezas de hoja ancha en cultivos de maíz, arroz, caña de azúcar y sorgo en la región de estudio.

Palabras clave: *Trametes versicolor*, identificación, ácido 2,4-diclorofenoxyacetico, 2,4-D.

Abstract

Trametes versicolor (L.: Fr) Pilát was identified causing white rot of hardwood tree species of amate amarillo (*Ficus petiolaris*), cuatecomate or cirián (*Crescentia alata*), guayava (*Psidium guajava*) and sauce colorado (*Salix humboldtiana*) in municipalities of Ayala, Cuautla, Cuernavaca, Jojutla Tepalcingo Tlaltizapan, Tlaquiltenango and Zacatepec de Hidalgo in the state of Morelos, Mexico. Collected strains were grown in water-agar culture medium with 2,4-D amine at concentrations of 0, 50, 100, 150, 250, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 and 5000 ppm with the aim of know their growth in this salt. The best results were found from 50 to 1000 ppm concentration with an optimum from 500 to 1000 ppm. Concentrations from 2000 to 5000 ppm inhibited fungal growth. The strains of *T. versicolor* can be used as a potential tool of bioremediation of water contaminated by 2,4-D which is wide used as a herbicide to control of broadleaf weeds in corn, rice, sugarcane and sorghum in the studied region.

Key words: *Trametes versicolor*, identification, 2,4-diclorophenoxyacetic acid, 2,4-D.

Recibido: abril 15 de 2013

Aprobado: noviembre 20 de 2013

* Maestro en Ciencias. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad No. 1001. Col. Chamilpa. 62209. Cuernavaca, Morelos, México. E-mail: granmend@prodigy.net.mx

** Doctor en Ciencias. Profesor Investigador. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad No. 1001. Col. Chamilpa. 62209. Cuernavaca, Morelos, México. E-mail: fcaposgrado2011@hotmail.com

*** Doctor en Ciencias. Profesor Investigador. Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. 62209. Cuernavaca, Morelos, México. fcaposgrado2011@hotmail.com

**** Doctor en Ciencias. Profesor Investigador. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 4 Sur No. 104. Centro Histórico. 72000. Puebla, México. E-mail: batprofessor@hotmail.com

***** Maestro en Ciencias. Profesor Investigador. Área de Plaguicidas Agrícolas. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. 56230. Chapingo, México. E-mail: trigosegura@yahoo.com.mx

Introducción

Los basidiomicetos que causan la pudrición blanca de la madera son especies con características adecuadas para ser utilizados en diferentes procesos biotecnológicos, incluidos los de biorremediación (Déley, 2010). Este tipo de hongos poseen la capacidad de degradar mayoritariamente la lignina, lo que les confiere la capacidad de descomponer los componentes de la madera hasta su total mineralización (Buswell, 1992). Además de esta característica también tienen la capacidad de degradar otros compuestos de estructura aromática, debido a la baja especificidad de las enzimas ligninolíticas que generan (Davis y Burns, 1990; Haglund, 1999). Este grupo de hongos ha mostrado ser efectivo para remover y detoxificar efluentes industriales (Kumar et al., 2007).

Varias especies de hongos han sido estudiadas para ser empleadas en procesos de biorremediación principalmente en la industria textil y de colorantes (Sayadi y Ellouz, 1995) donde es de consideración el uso de *Aspergillus fumigatus*, *T. versicolor* y *Phanerochaete chrysosporium* (Mohammad et al., 2006; Benito et al., 1997; Dhamankar, 2000; Eaton et al., 1980). Otras especies de hongos han mostrado una alta eficiencia en la eliminación de residuos de la industria papelera como es el caso de *Ceriporiopsis subvermispora*, *P. chrysosporium*, *T. versicolor*, *Rhizopus oryzae* y *Rhizomucor pusillus* (Manzanares et al., 1995; van Driessel y Christov, 2002; Nagarathnamma y Bajpai, 1999; Nagarathnamma et al., 1999; Córdoba y Ríos, 2012). El primer paso en el proceso para obtener una cepa de hongo eficiente es la identificación de un microorganismo adecuado y las condiciones de cultivo necesarias para su rápido crecimiento así como la producción de enzimas relevantes en la biorremediación (Boman et al., 1988). Diversas especies de basidiomicetos han sido estudiadas debido a su habilidad para degradar lignina y compuestos fenólicos. Uno de los hongos ligninolíticos más estudiados es *T. versicolor* (Michaela et al., 2011; Hor et al., 2011) que también es utilizado para la delignificación debido a los procesos oxidativos no específicos que incluye tres diferentes enzimas ligninolíticas para su catálisis (Lacasa, peroxidasa de la lignina y peroxidasa del manganeso)

Considerando que la lignina es un polímero no específico, el sistema involucrado en su descomposición también funciona de manera no específica (Bumpus, 1985). Esto permite que el sistema ligninolítico de los hongos de pudrición blanca reduzca una gran variedad de contaminantes aromáticos (Bumpus et al., 1987; Aust, 1990). No obstante, existe una especificidad en la eficacia de la degradación de dichos compuestos

por parte de las cepas de estos hongos (George and Neufeld, 1989; Morgan et al., 1991; Qiu and McFarland, 1991). El objetivo de la presente investigación es identificar al agente causal de la pudrición blanca de especies arbóreas latifoliadas de la región central del estado de Morelos, México asociadas a cultivos de maíz, caña de azúcar, arroz y sorgo, así como evaluar la respuesta de las cepas colectadas al crecimiento en medio de cultivo enriquecido con 2,4-D amina para su empleo futuro como agentes de biorremediación de aguas contaminadas por este herbicida.

Materiales y métodos

Colecta de basidiocarpos

Durante el ciclo primavera-verano del año 2011 y 2012 se colectaron basidiocarpos desarrollados sobre madera de especies arbóreas latifoliadas en áreas de cultivo de caña de azúcar, maíz, sorgo y arroz con síntomas de pudrición blanca en diferentes puntos geográficos del estado de Morelos, México (tabla 1). Las características morfológicas de los basidiocarpos así como de la madera en descomposición fue registrada y estos fueron llevados al Laboratorio de Fitopatología del Instituto Profesional de la Región Oriente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos para la realización de aislamientos y su identificación. A las 72 horas de que se desarrolló el micelio del basidiocarpo en placas de medio de cultivo malta-agar (MA), se hicieron reaislamientos de la periferia del crecimiento del micelio en el mismo medio de acuerdo a Hernández (1996), los cuales se incubaron nuevamente en oscuridad total y a 25°C. A las 48 horas de incubación se desarrolló el micelio con las mismas características a las del aislamiento inicial el cual fue utilizado para la medición de los parámetros estudiados.

Identificación

El huésped del cual fueron colectadas las muestras de basidiocarpos se identificó por medio de monografías de Bonilla, 1994; Bonilla y Villaseñor, 2003; Flores, 1988; Galindo, 1999; Piedra et al., 2006; Rendón y Fernández, 2007 y Rzedowski, 1992. Para el caso de los basidiocarpos, se hicieron aislamientos empleando medio de cultivo MA (Addleman et al., 1995) y el micelio se identificó por medio de las claves dicotómicas de Nobles (1965). Los aislamientos fueron sometidos a la prueba de fenol-oxidasas empleando medio MA mas ácido tánico al 0.5% w/v (Fahraeus y Reinhammar, 1967; Blanchette, 1982; Hernández, 1996). La identificación de los basidiocarpos se realizó empleando las

claves de géneros ilustrados de Fergus, 1963; Nobles, 1965; Gilbertson y Rivarden, 1987; Rajchenbert, 1996.

Preparación del medio de cultivo con ácido 2,4-diclorofenoxiacético

Como fuente de 2,4-D se empleó la marca comercial Hierbamina® (2,4-D amina) al 49.4% de ingrediente activo equivalente al 83% de ácido de 2,4-D para preparar una solución patrón de 100,000 ppm en un matraz volumétrico de 100 ml y de la cual se tomaron las cantidades necesarias para la preparación del medio de cultivo enriquecido. Se preparó medio de cultivo sólido Agua-Agar (AA) agregando 0.7 g de Agar (SIGMA®) en tubos de ensayo con capacidad de 60 ml, se adicionaron 20 ml de agua destilada precalentada a cada uno de estos y se esterilizaron a 15 lb de presión por 20 minutos. Una vez esterilizados se mantuvieron a temperatura constante de 40°C para evitar que se solidificaran y alcanzada esta temperatura, se agregaron las cantidades necesarias de la solución patrón para obtener las concentraciones de 0, 50, 100, 150, 250, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 y 5000 ppm.

Registro del desarrollo de las cepas colectadas en medio de cultivo sólido enriquecido

Discos de 6 mm de diámetro de medio de cultivo MA con crecimiento micelial de cada una de las cepas recolectadas e identificadas se sembraron en cajas Petri con medio de cultivo enriquecido y se incubaron a 25°C en oscuridad total. Cada tratamiento (concentración) tuvo tres repeticiones y el desarrollo del hongo se midió a las 48, 96, 144, 192, 240, 288 y 336 horas después de la siembra. Los datos se registraron para su posterior análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia del 1% bajo un diseño experimental completamente al azar con el paquete de análisis estadístico SAS®.

Resultados y discusión

Identificación

Los basidiocarpos colectados presentaron una consistencia blanda si se encontraban junto al suelo o coriácea si estaban menos expuestos a la humedad, de color blanco en la superficie de los poros y con zonas multicoloreadas a manera de anillos con tonalidades oscuras, blancas y ligeramente azulosas y de aspecto vellosos en el envés. Presentan ligeras ondulaciones en el margen distal del esporocarpio y bajo condiciones de poca humedad éste se dobla hacia el himenio o zona de poros. La prueba de fenol-oxidasas fue posi-

va, observándose que los cultivos desarrollados en MA + ácido tánico al 0.5% w/v mostraron un cambio de coloración en la periferia de la colonia a las 48 horas de haberse sembrado, la cual se extiende hacia la parte externa de la placa de cultivo en la caja Petri, indicando con esto que los aislamientos corresponden a una especie de macromiceto que degrada lignina y por consiguiente produce pudrición blanca de la madera (Hernández, 1996), alcanzando la colonia un diámetro de 45 mm siete días después de haberse sembrado la cepa. Para la identificación por micelio, tras un periodo de incubación de 48 hrs en el medio de cultivo MA se desarrolló un micelio de color blanco que con el tiempo toma una consistencia algodonosa conforme llena la placa, formando anillos concéntricos visibles al paso de la luz. El micelio presenta hifas con fíbulas en toda la colonia, de pared delgada, hialino en medio de cultivo MA y granuloso y fibulado en medio de cultivo de MA más ácido tánico 5% w/v, con nódulos junto a la septas en ambos medios y con basidióforos y basidiosporas en los extremos del micelio cuando se desarrolló en MA más ácido tánico.

Las características observadas en los basidiocarpos y el micelio desarrollado en medio de cultivo MA y MA + ácido tánico coinciden con la descripción taxonómica de Bavendamm (1928), Davidson *et al.* (1938), Fergus (1963), Nobles (1965), Sepúlveda (1966), Wright y Deschamps (1972), Sklark *et al.* (1989), Rajchenberg y Greslebin (1995), Hernández (1996) y Rajchenberg (1996), confirmándose la presencia de *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát en el estado de Morelos, México con un rango de altitud sobre el nivel medio del mar entre los 888 m y 1923 m sobre especies latifoliadas de amate amarillo (*Ficus petiolaris*), cirián o cuatecomate (*Crescentia alata*), guayaba (*Psidium guajava*) y sauce colorado (*Salix humboldtiana*) con un alto grado de deterioro y en zonas de cultivo de caña de azúcar, maíz, arroz y sorgo en los Municipios de Ayala, Cuautla, Cuernavaca, Jojutla, Tepalcingo, Tlaltizapán, Tlaquiltenango y Zacatepec de Hidalgo (tabla 1).

Desarrollo de las cepas en medio de cultivo enriquecido

Las cepas aisladas de el estado de Morelos presentaron el mayor desarrollo cuando el medio de cultivo enriquecido con 2,4-D presentó una concentración de 500 ppm, seguidas por las concentraciones de 250, 150, 100, 50 y 1000 ppm con diámetros de colonia de 67.73, 66.78, 64.29, 61.02, 55.20 y 54.63 mm respectivamente; mientras que en el control se registró un diámetro 35.93 mm (tabla 2). En concentración de 2000 ppm se presentó el menor desarrollo del hongo

Tabla 1. Ubicación geográficas y especies arbóreas de donde fueron colectadas las cepas de *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát en el estado de Morelos, México.

Localidad	Cepa	Especie arbórea con desarrollo de basidiocarpo	Latitud	Latitud	Altitud (msnm)
1. Ayala	Mo001	<i>Ficus petiolaris</i> , <i>Crescentia alata</i>	18°44'37.76"	98°54'33.40"	1298
2. Cuautla	Mo002	<i>Crescentia alata</i> , <i>Psidium guajava</i>	18°47'34.36"	98°58'19.43"	1254
3. Cuernavaca	Mo003	<i>Psidium guajava</i>	18°59'01.42"	99°14'15.49"	1923
4. Tlaquiltenango	Mo004	<i>Psidium guajava</i> , <i>Crescentia alata</i>	18°36'00.96"	99°10'49.87"	888
5. Tepalcingo	Mo005	<i>Salix humboltiana</i> , <i>Ficus petiolaris</i> , <i>Crescentia alata</i>	18°37'44.98"	98°50'10.00"	1217
6. Tlaltizapan(A)	Mo006	<i>Salix humboltiana</i>	18°41'28.26"	99°06'33.76"	943
7. Tlaltizapan(B)	Mo007	<i>Crescentia alata</i>	18°43'15.85"	99°06'37.30"	956
8. Jojutla	Mo008	<i>Ficus petiolaris</i> , <i>Crescentia alata</i> , <i>Salix humboltiana</i>	18°33'19.10"	99°07'16.95"	920
9. Zacatepec de Hidalgo	Mo009	<i>Crescentia alata</i> , <i>Ficus petiolaris</i> , <i>Salix humboltiana</i>	18°39'53.39"	99°10'14.07"	946

donde el promedio del diámetro fue de 6.95 mm observándose que conforme se incrementa ésta existe un incremento en el desarrollo de las cepas; sin embargo, una vez que se excede la concentración de 1000 ppm, el diámetro se reduce significativamente y se inhibe por encima de 3000, 4000 y 5000 ppm (figura 1). La respuesta de cada una de las cepas a las diferentes concentraciones de 2,4-D amina muestra que aquella que fue aislada del área de Jojutla (Mo008) es más tolerante a este herbicida registrándose el mayor diámetro de colonia; sin embargo, no hubo diferencias estadísticas significativas con las demás cepas a excepción de la encontrada en Zacatepec de Hidalgo (Mo003) la cual presentó el menor desarrollo (figura

2). Estos resultados indican que todas las cepas aisladas en el estado de Morelos presentan un desarrollo en medio de cultivo enriquecido con 2,4-D amina existiendo una correlación negativa entre el diámetro de la colonia en la caja Petri y la cantidad de este empleada ($R^2: -0.6484$) debido a que al someter a las cepas a concentraciones superiores a 1000 ppm su desarrollo se ve afectado.

El uso de hongos para limpiar suelos contaminados se inició a mediados de 1980 cuando *P. chrysosporium* fue empleado para metabolizar contaminantes orgánicos (Canet et al., 2001; Trejo et al., 2001), posteriormente esta habilidad fue demostrada con otros

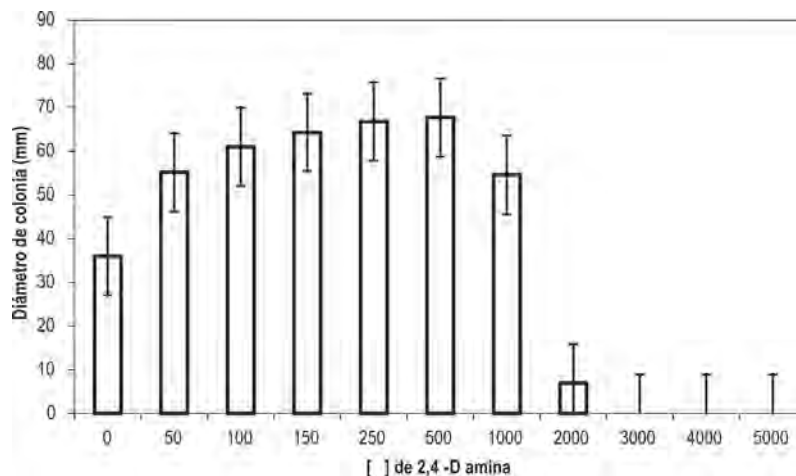


Figura 1. Distribución promedio del diámetro de colonia de las cepas aisladas de *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát en el estado de Morelos, México.

Tabla 2. Comparación de medias del diámetro de colonia (ϕ) de las cepas aisladas de *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát del estado de Morelos, México.

[]	Intervalo de Evaluación			
	48 hrs ϕ en mm	96 hrs ϕ en mm	144 hrs ϕ en mm	192 hrs ϕ en mm
0	4,30 D	12,18 D	25,79 D	39,84 D
50	10,90 C	21,72 B C	41,74 B C	70,10 C
100	13,40 B C	25,72 A B	50,73 A B	79,48 A B C
150	16,37 A B	28,65 A B	56,74 A B	85,59 A B C
250	17,41 A B	30,84 A *	62,25 A*	91,50 A B
500	19,14 A*	32,52 A	60,76 A	94,43 A*
1000	9,75 C	21,55 C D	30,46 C D	74,11 B C
2000	0,00 E	2,87 E	5,74 E	7,67 E
3000	0,00 E	0,00 F	0,00 F	0,00 F
4000	0,00 E	0,00 F	0,00 F	0,00 F
5000	0,00 E	0,00 F	0,00 F	0,00 F
[]	Intervalo de Evaluación			
	240 hrs ϕ en mm	288 hrs ϕ en mm	336 hrs ϕ en mm	Media General ϕ en mm
0	55,55 B	69,56 B	83,46 A*	35,93 C
50	86,32 A*	97,65 A*	100,00 A	55,20 A B
100	97,63 A	100,00 A	100,00 A	61,02 A B
150	98,43 A	100,00 A	100,00 A	64,29 A B
250	100,00 A	100,00 A	100,00 A	66,78 A B
500	100,00 A	100,00 A	100,00 A	67,73 A*
1000	96,04 A	100,00 A	100,00 A	54,63 B
2000	10,52 C	13,37 C	16,88 B	6,95 D
3000	0,00 D	0,00 D	0,00 C	0,00 E
4000	0,00 D	0,00 D	0,00 C	0,00 E
5000	0,00 D	0,00 D	0,00 C	0,00 E

[]: Concentración; ϕ : Diámetro de colonia

* Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales según prueba de Tukey ($\alpha=0.01$)

hongos de pudrición blanca como *T. versicolor* y *Pleurotus ostreatus* (Ghani *et al.*, 1996). Este tipo de hongos son los más ampliamente estudiados a la fecha por su actividad ligninolítica y han demostrado tener la capacidad de metabolizar compuestos como el benceno, tolueno (Demir, 2004), fenantreno (Hann *et al.*, 2004), TNT (Jackson *et al.*, 1999), atrazina y terbutylazina (Bending *et al.*, 2002). Ahora se sabe que la degradación de pesticidas por estos hongos es realizada por un complejo de enzimas que degradan lignina

(Magan *et al.*, 2010) y que existe una especificidad en cada una de las cepas de éstos hongos (George and Neufeld, 1989; Morgan *et al.*, 1991; Qiu and McFarland, 1991), con lo cual pueden ser empleados en la biorremediación de suelos y aguas contaminadas (Field *et al.*, 1992; Ka, 1992). La biodegradación de 2,4-D por microorganismos ha recibido considerable atención últimamente, no sólo debido a su amplio uso, sino también porque sirve como un modelo para entender el mecanismo de la biodegradación de otros

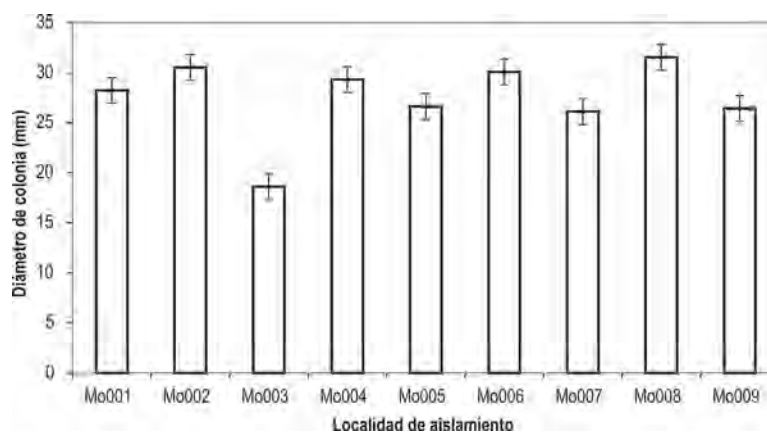


Figura 2. Distribución del diámetro de colonia (mm) de las cepas colectadas de *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát en el estado de Morelos, México.

estructuralmente relacionados (Greer *et al.*, 1990; Ka, 1992; Oh and Tuovinen, 1990; Sinton *et al.*, 1986; Yadav and Reddy, 1993). *T. versicolor* ha sido investigado en la remoción de contaminantes orgánicos del aire (Adamiak and Szklarczyk, 2001) así como para la biorremediación de suelos donde se ha mostrado que es más eficiente que *P. chrysosporium* y *Pleurotus ostreatus* degradando 25 g/kg de suelo en 12 meses (Yateem *et al.*, 1998), capacidad que las cepas aisladas en el estado de Morelos han demostrado al desarrollarse en concentraciones de 50 a 1000 ppm de 2,4-D amina (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) el cual es ampliamente utilizado como herbicida para el control de malezas de hoja ancha en cultivos de maíz, caña de azúcar, arroz y sorgo, cultivos asociados a las especies arbóreas latifoliadas en la zona de estudio de donde fueron colectadas.

Conclusiones

El hongo de pudrición blanca *T. versicolor* (L.:Fr.) Pilát está presente en el estado de Morelos, México en especies arbóreas latifoliadas de amate amarillo (*Ficus petiolaris*), cirián o cuatecomate (*Crescentia alata*), guayaba (*Psidium guajava*) y sauce colorado (*Salix humboldtiana*) en los municipios de Ayala, Cuautla, Cuernavaca, Jojutla, Tepalcingo, Tlaltizapán, Tlaquiltenango y Zacatepec de Hidalgo y se desarrolla en altitudes entre los 888 a 1923 m de altura sobre el nivel medio del mar. Las cepas aisladas presentaron una respuesta positiva al desarrollarse en medio de cultivo AA enriquecido con 2,4-D amina en un rango óptimo de concentración de 50 a 1000 ppm, mientras que cuando es expuesto a concentraciones de 2000 a 5000 ppm se inhibe su desarrollo. Estos resultados sugieren que las cepas aisladas a excepción de Mo003,

pueden emplearse como herramientas potenciales de biodegradación del ácido 2,4-diclorofenoxiacético.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y al Laboratorio de Plaguicidas Agrícolas del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

Referencias bibliográficas

- Adamiak, W. and M. Szklarczyk. 2001. Possibilities of using ligninolytic fungi for biological waste gas treatment. *Environ. Protection Eng.* 27: 45-58
- Addleman, K., Dumonceaux, T., Paice, M.G., Bourbonnais, R., and Archibald, F.S. 1995. Production and Characterization of *Trametes versicolor* Mutants unable to bleach Hardwood Kraft Pulp. *Applied and Environmental Microbiology.* 61(10): 3687-3694.
- Aust, S.D. 1990. Degradation of environmental pollutants by *Phanerochaete chrysosporium*. *Microbiological Ecology.* 20: 197-209.
- Bavendamm, W. 1928. Über das Vorkommen und den Nachweis von Oxydasen bei holzerstörenden Pilzen. I. Mitteilung. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz.* 38: 257-276.
- Bending, G.D., Friloux, M. and Walker, A. 2002. Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential. *FEMS Microbiological Letters.* 212: 59-63.
- Benito G., Pena, M. and Rodríguez, D. 1997. Decolorization of wastewater from an alcoholic fermentation process with *Trametes versicolor*. *Bioresource Technology.* 61: 33-37.
- Blanchette, R.A. 1982. Progressive stages of discoloration and decay associated with the canker-rot fungus *Inonotus obliquus* in birch. *Phytopathology.* 72: 1272-1277.
- Bonilla, B.J.R. 1994. Plantas acuáticas Ornamentales del Estado de Morelos, México. *Revista Chapingo. Serie Horticultura.* 1: 79-83.

- Bonilla, B.J.R. y Villaseñor, R.J.L. 2003. Catálogo de la Flora del Estado de Morelos. Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 129 pp.
- Boman, B. Ek., Eriksson, M.K. and Frostell, B. 1988. Some aspects on biological treatment of bleached pulp effluents. *Journal Nordic Pulp Research*. 3: 13-18.
- Bumpus, J.A., and Aust, S.D. 1987. Biodegradation of environmental pollutants by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: involvement of the lignin degrading system. *BioEssays*. 6: 166-170.
- Bumpus, J.A., Thien, M., Wright, D. and Aust, S.D. 1985. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus. *Science*. 228:1434-1436.
- Buswell J.A. 1992. Fungal degradation of lignin. In: Arora D.K., Rai B., Mukerji K.G., Knudsen G.R., eds, *Handbook of Applied Mycology*. Vol.1, Soil and Plants, Marcel Dekker Inc., New York, p. 425-480.
- Canet, R., Birnstingl, J.G., Malcolm, D.G., López-Real, J.M. and Beck, A.J. 2001. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by native microflora and combinations of white-rot fungi in a coal-tar contaminated soil. *Bioresour Technology*. 76: 113-117.
- Córdoba, M.K.A. and Ríos, H.A. 2012. Biotechnological applications and potential uses of the mushroom *Trametes versicolor*. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 19(1): 70-76
- Davis, S.G. and Burns, R. 1990. Decolorization of phenolic effluents by soluble and immobilized phenol oxidases. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 32: 3444-3450.
- Davidson, R.W., Campbell, W.A. and Bleisdell, D.J. 1938. Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. *Journal of Agricultural Research*. 57: 683-695.
- Déley, Z.A.R. 2010. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo del campamento Sacha 161 utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus*. Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador.
- Demir, G. 2004. Degradation of toluene and benzene by *Trametes versicolor*. *Journal of Environmental Biology*. 25:19-25.
- Dhamakar V.S. 2000. Towards developing a technology for the removal of caramel from sugar industry by-products. In: Proceedings of the 62 Annual convention of the Sugar Technologists association of India. Agra. India.
- Eaton D., Chang, H. and Kirk, T.K. 1980. Fungal decolorization of kraft bleach plant effluent. *Tappi J*. 63:103-106.
- Fergus, C.L. 1963. *Illustrated Genera of Wood Decay Fungi*. Burgess Publishing Company. Pennsylvania. USA.
- Fahraeus, G. and Reinhammar, B.L. 1967. Large scale production and purification of laccase from cultures of the fungus *Polyporus versicolor* and some properties of laccase. *Acta Chemical Scandinavica*. 21: 2367-2378.
- Field, J.A., Jong, E., Feijoo, G.A. and De Bont, J.A.M. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by new isolates of white rot fungi. *Applied Environmental Microbiology*. 58 (7): 2219-2226.
- Flores, C.A. 1988. Los árboles ornamentales de la ciudad de Cuernavaca, Morelos. Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 205 pp.
- Galindo, B.G. 1999. Inventario florístico del municipio Amacuzac, Morelos. Tesis licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México. 57 pp.
- George, E.J., and Neufeld, R.D. 1989. Degradation of fluorine in soil by fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Biotechnology and Bioengineering*. 33 : 1306-1310.
- Ghani, A., Wardle, D.A., Rahman, A. and Lauren, D.R. 1996. Interactions between ¹⁴C-labelled atrazina and the soil microbial biomass in relation to herbicide degradation. *Biol Fertil Soils*. 21 : 17-22.
- Gilbertson R.L. and L. Ryvarden. 1987. *North American Polypores*. Vol. 2. Fungiflora. Oslo-Norway.
- Greer, C.W., Hawari, J. and Samson, R. 1990. Influence of environmental factors on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degradation by *Pseudomonas cepacia* isolated from peat. *Arch. Microbiol*. 154 : 317-322.
- Haglund, C. 1999. Biodegradation of xenobiotic compounds by the white-rot fungus *Trametes trogii*. Master Degree Project. Biology Education Centre. Uppsala University. Sweden.
- Han, M.J., Choi, H.T. and Song, H.G. 2004. Degradation of phenanthrene by *Trametes versicolor* and its laccase. *Journal of Microbiology*. 42 : 94-98
- Hernández, M.E. 1996. Identificación del agente causal de la pudrición blanca del manzano por medio de la detección de fenoloxidasas. Tesis. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Hor, S., Ahmad, M., Farsi, E., Lim, C., Asmawi, M., Yam, M. 2011. Acute and subchronic oral toxicity of *Coriolus versicolor* standardized water extract in Sprague-Dawley rats. *J. Ethnopharmacol*. 137 (3) : 1067-1076.
- Jackson, M.M., Hou, L.H., Banerjee, H.M., Sridhar, R. and Dutta, S.K. 1999. Disappearance of 2,4-dinitrotoluene and 2-amino,4,6-dinitrotoluene by *Phanerochaete chrysosporium* under non-lignolytic conditions. *Bull Environ Contam Toxicol*. 62 : 390-396.
- Ka, J.O. 1992. A molecular approach to understanding the genetic response of 2,4-D degrading microbial populations in soil under selection. Ph.D. thesis. Michigan State University, East Lansing.
- Kumar, K., Devi, S., Krishnamurthi, K. D. and Chakrabarti, T. 2007. Decolorisation and detoxification of Direct Blue-15 by a bacterial consortium. *Bioresource Technology*. 98 : 3168-3171.
- Magan, N., Fragoeiro, S. and Bastos, C. 2010. Environmental factors and bioremediation of xenobiotics using white rot fungi. *Mycobiology*. 38 : 238-248.
- Manzanares, P., Fajardo, S. and Martin, C. 1995. Production of ligninolytic activities when treating paper pulp effluents by *Trametes versicolor*. *Journal of Biotechnology*. 43 : 125-132.
- Michaela, K., Volker, S., Manfred, A., Martin, F., Doris, S. 2011. Removal of monomer delignification products by laccase from *Trametes versicolor*. *Bioresour Technol*. 26 (104) : 298-304.
- Mohammad, P.H., Azarmidokht, M. and Fatollah, B.M. 2006. Application of response surface methodology for optimization of important parameters in decolorizing treated distillery wastewater using *Aspergillus fumigatus* U_{B2} 60. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 57 : 195-199.
- Morgan, P., Lewis, S.T. and Watkinson, R.J. 1991. Comparison of abilities of white-rot fungi to mineralize selected xenobiotic compounds. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 34 : 693-696.
- Nagarathamma R., and Bajpai, P. 1999. Decolorization and detoxification of extraction stage effluent from chlorine bleaching of kraft pulp by *Rhizopus oryzae*. *Appl. Environ Microbiol*. 65 : 1078-1082.
- Nagarathamma R., Bajpai, P. and Bajpai, P.K. 1999. Studies on decolorizing and detoxification of chlorinated lignin com-

- pounds in kraft bleaching effluents by *Ceriporiopsis subvermispora*. *Process Biochem.* 34 : 939-948.
- Nobles, M.K. 1965. Identification of culture of wood-inhabiting hymenomycetes. *Canadian Journal of Botany.* 43 : 1097-1139.
- Oh, K.H. and Touvinen, O.H. 1990. Degradation of 2,4-D dichlorophenoxyacetic acid by mixed cultures of bacteria. *J. Ind. Microbiol.* 6 : 275-278.
- Piedra, E., Ramírez, E.R. and Ibarra, G. 2006. El género *Ficus* (Moraceae) en el estado de Morelos México. *Acta Botánica Mexicana.* 75 : 45-75.
- Qiu, X., and McFarlan, M.J. 1991. Bound residue formation in PAH contaminated soil composting using *Phanerochaete chrysosporium*. *Hazard. Waste. Mater.* 8: 115-126.
- Rajchenbert, M. and Greslebin, A.G. 1995. Cultural characters, compatibility tests and taxonomic remarks of selected polypores of the Patagonian Andes forests of Argentina. *Mycotaxon.* 56: 325-346.
- Rajchenbert, M. 1996. Los hongos pudridores de *Nothofagus pumilio* (Lenga): identificación de los cultivos puros. *Bosque.* 17: 87-100.
- Rendón, C. y Fernández, N.R. 2007. Plantas con potencial ornamental del estado de Morelos, México. *Polibotánica.* 23:121-165
- Rzedowski, J. 1992. Diversidad y Origen de la Flora Fanerogámica de México. *Acta Zoológica Mexicana.* 6: 47-56.
- Sayadi, S.R.E. 1995. Roles of lignin peroxidases and manganese peroxidases from *Phanerochaete chrysosporium* in the decolorization of olive mill wastewaters. *Appl. Environ Microbiol.* 61: 1098-1103.
- Sepúlveda De León, G. 1966. Estudio preliminar sobre la familia Polyporaceae en algunas localidades de la Sierra Madre Oriental en Nuevo León. Tesis. Escuela de Ciencias Biológicas. Universidad de Nuevo León. 186 pp.
- Sinton, G.L., Fan, L.T., Erickson, L.E. and Lee, S.M. 1986. Biodegradation of 2,4-D and related xenobiotic compounds. *Enzyme Microb. Technol.* 8: 395-403.
- Szklarz, G.D., Antibus, R.K., Sinsabaugh, R.L. and Linkins, A.E. 1989. Production of phenol oxidases and peroxidases by wood-rotting fungi. *Mycologia.* 81: 234-240.
- Tien, M., and Kirk, T.K. 1983. Lignin degrading enzyme from the hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* Burds. *Science.* 221:661-663.
- Trejo, H.M.R., López, M.A. and Ramírez, R.Q. 2001. Residual compost of *Agaricus bisporus* as a source of crude laccase for enzymic oxidation of phenolic compounds. *Process Biochem.* 36: 635-639.
- Van Driessel B. and Christov, L. 2002. Adsorption of colour from bleach plant effluent using biomass and cell wall fractions from *Rhizomucor pusillus*. *J. Chem Technol Biotechnol.* 77:155-158.
- Yadav, J.S., and Reddy, C.A. 1993. Mineralization of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and mixtures of 2,4-D and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid by *Phanerochaete chrysosporium*. *App. Environ. Microbiol.* 59:2904-2908.
- Yateem, A. Balba, M.T., Al-Awadhi, N., El-Nawawy, A.S. 1998. White-rot fungi and their role in remediating oil contaminated soil. *Environ. Int.* 24: 181-187
- Wright, J.E. and Deschamps, J.R. 1972. Basidiomicetos xilófagos de los bosques andinopatagónicos. *Rev. Invest. Agropecu. INTA, Ser 5. Pat. Veg.* 9: 111-203.