

ESTUDIOS NUTRICIONALES EN *TRAMETES TROGII* (APHYLLOPHORALES, BASIDIOMYCETES).*

Por L. LEVIN, M. S. NADAL, F. FORCHIASSIN y M. A. GALVAGNO**

Summary *Nutritional studies in* *Trametes trogii*, (Aphyllorphales, Basidiomycetes). Culture parameters influencing growth of *T. trogii* Berk. in Trog. have been studied. Thiamine was the only vitamin required for growth. Glucose and asparagine were the best carbon and nitrogen sources respectively. The most favourable carbon: nitrogen ratio was 22. The optimum culture pH was 5.2. Under the optimum conditions developed, the vegetative growth of *T. trogii* Berk. was enhanced four times over its growth in complex malt medium.

INTRODUCCION

La deslignificación es un paso esencial aunque costoso en la utilización de materiales lignocelulósicos por pulpado o hidrólisis enzimática. La degradación microbiana de lignina ha recibido mucha atención como una alternativa a los métodos químicos utilizados actualmente (Kirk *et al.*, 1979). Para poder utilizar los microorganismos degradadores de lignina en una forma práctica, es importante conocer las variables que controlan la velocidad y magnitud de su ataque al biopolímero.

Solamente un microorganismo, ha sido estudiado extensivamente en lo que respecta a los factores fisiológicos que controlan la degradación de la lignina; este organismo *Phanerochaete chrysosporium*, ha sido estudiado por Kirk y colaboradores en lo que respecta a los parámetros culturales que influyen en la degradación de la lignina *in vitro* (Kirk *et al.*, 1976; Kirk *et al.*, 1978; Keyser *et al.*, 1978; Jeffries *et al.*, 1981; Fenn y Kirk, 1981). A pesar de ello, existen muy pocos datos acerca de los parámetros nutricionales, fisiológicos y ambientales que influyen en la degradación de este biopolímero por la mayoría de los microorganismos que se sabe son capaces de hidrolizar la lignina, segundo biopolímero en abundancia sobre la tierra.

Los llamados "hongos de pudrición blanca" (white-rot fungi) son los microorganismos lignolíticos más eficientes descriptos hasta el presente. En nuestro país *Trametes trogii* Berk. in Trog., es una

de las especies de pudrición blanca más activas en la degradación de la madera de las salicáceas (Spezzazzini, 1925; Wright *et al.*, 1973). Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es examinar las condiciones nutricionales que influyen el crecimiento de esta especie, así como el efecto del pH, estrechamente relacionado con el aprovechamiento de carbono y nitrógeno (Griffin, 1984). Este es un requisito para ahondar en la fisiología de este microorganismo, con el objetivo final de optimizar las condiciones de cultivo para una eficiente degradación de la lignina *in vitro*. Desde un punto de vista práctico, las posibles aplicaciones biotecnológicas dependerán de un mejor entendimiento y control de la regulación nutricional del sistema lignolítico en esta especie.

MATERIALES Y METODOS

Organismo: se utilizó la cepa 463 (BAFC) de *Trametes trogii*, manteniéndose los cultivos stock en medio Malta a 4°C.

Medio y condiciones de cultivo: se utilizó el medio basal GA: glucosa, 15 g; asparagina, 4 g; SO₄Mg . 7H₂O, 0.5 g; PO₄H₂K, 0.6 g; PO₄HK₂, 0.5 g; biotina, 5 µg; tiamina, 100 µg; solución de micronutrientes (SO₄Cu . 5H₂O, 200 mg; Cl₂Mn . 4H₂O, 45 mg; BO₄H₃, 35 mg; MoO₄Na . 2H₂O, 10 mg; Cl₂Zn . H₂O, 1.75 g; Cl₃Fe, 500 Mg; 1000 ml agua destilada), 2 ml; agua destilada hasta 1000 ml; pH final 6.2.

A partir de este medio en sucesivas experiencias se variaron:

a. Fuentes de vitaminas: se utilizaron las siguientes vitaminas: ácido p-aminobenzoico, ácido pantoténico, riboflavina, ácido fólico, HCl-pirido-

* Lugar de trabajo: Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, (1428) Buenos Aires, Argentina.

** Investigador del CONICET.

xal, HCl-tiamina, en una concentración final de 100 $\mu\text{g/l}$, y biotina en una concentración de 5 $\mu\text{g/l}$. En algunos experimentos la concentración de tiamina se varió de 0 a 300 $\mu\text{g/l}$.

b. Fuentes de nitrógeno: las fuentes de nitrógeno utilizadas en concentraciones equivalentes a 0.75 g de N/l, fueron: $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$, ClNH_4 , $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$, $\text{CO}_3(\text{NH}_4)_2$, acetato de amonio, tartrato de amonio, NO_3NH_4 , NO_3Na , NO_3K , urea, asparagina, ácido aspártico, prolina y casaminoácidos.

c. Fuentes de carbono: las fuentes utilizadas, en cantidades equivalentes a 6 g de C/l, fueron: glucosa, sacarosa, sorbitol, sorbosa, maltosa, almidón, celobiosa, celulosa, xilosa, galactosa y acetato de sodio.

d. Relación C/N: para hallar la relación óptima C/N se varió la concentración de glucosa entre 0 y 40 g/l (16 g de C/l) y de asparagina entre 0 y 12 g (2.2 g de N/l), realizándose las combinaciones de distintas concentraciones en 56 medios de cultivo, correspondientes a 8 concentraciones de glucosa y 7 de asparagina.

e. Concentración de sulfato y fosfato: se varió la concentración de $\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ entre 0 y 1.4 g/l. Dado que el medio basal utiliza las dos especies de fosfato ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ y PO_4HK_2), se varió la concentración de éstas entre 0 y 2 g/l independientemente, utilizando una sola especie por vez. En estos casos se adicionó buffer citrato 50 mM, pH 6.2, para mantener la constancia de pH. Utilizando las dos especies simultáneamente se varió la concentración total, manteniendo la relación entre ambas.

El medio utilizado a partir de estas experiencias contiene glucosa y asparagina en las concentraciones resultantes de la experiencia d.

f. Concentración de micronutrientes: utilizando la solución de micronutrientes inicial, se varió su concentración en el medio de cultivo entre 0 y 80 ml/l.

g. pH: se varió el pH del medio entre 2 y 8, utilizando buffer citrato-fosfato-borato 20 mM.

h. Curva de crecimiento: se midió el crecimiento vegetativo en función del tiempo en el medio sintético óptimo y en medio de malta (12.5 g de extracto de malta/l de agua destilada).

Se determinó además la variación de pH del medio de cultivo (utilizando un pHmetro Photovolt) y la glucosa residual del medio por el método de Somogyi (1952) y Nelson (1944).

Los cultivos se realizaron en frascos Erlenmeyer de 250 ml con 25 ml de medio. Este fue esterilizado en autoclave a 121°C, 20 minutos, las fuentes de carbono se esterilizaron por separado. Las vitaminas y urea fueron esterilizadas por filtrado a través de membrana nitrocelulósica de 0.2 μm de poro y

se adicionaron estérilmente al medio de cultivo. Como inóculos se utilizaron cubos de 25 mm² de superficie de una colonia, crecida en agar-agua durante 5 días.

Las incubaciones se realizaron en cámara termostática a 28 °C \pm 1, en oscuridad y sin agitación. El micelio fue cosechado al 14° día.

Estimación del crecimiento: se realizó por peso seco. Los cultivos se filtraron a presión reducida, se lavaron con agua destilada y el micelio se secó en estufa a 70°C, 24 horas.

Todas las drogas utilizadas fueron de grado analítico.

Los datos de crecimiento que se presentan representan en todos los casos mg de micelio seco/25 ml de medio y corresponden al promedio de al menos dos experiencias por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSION

a) Efecto de las sustancias de crecimiento:

Al realizarse los cultivos en medio GA suplementado con todas las sustancias de crecimiento utilizadas, menos una, así como controles con todas ellas y sin la adición de ninguna, se verificó que *Trametes trogii* requiere únicamente tiamina, habiéndose obtenido crecimientos semejantes en todos los tratamientos en los que esta vitamina había sido adicionada, y únicamente trazas en los dos casos en los cuales no se suplementó el medio

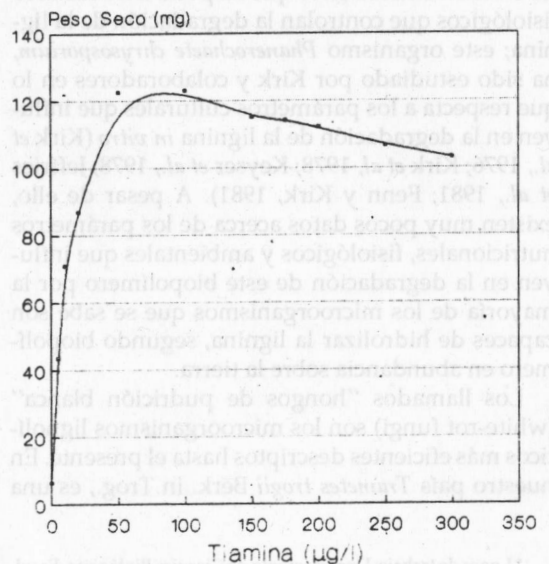


Fig. 1.-- Crecimiento de *T. trogii* en función de distintas concentraciones de tiamina. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

con dicha sustancia de crecimiento. Se determinó que la concentración óptima de tiamina para el crecimiento vegetativo es de 50 a 100 $\mu\text{g/l}$, produciéndose una leve disminución en concentraciones superiores (Fig. 1). La disminución del crecimiento luego de un óptimo es común a otros hongos estudiados: *Ramulispóra sacchari*. (Rawla y Chahal, 1975), *Ascobolus biguttulatus* (Cinto et al., 1977).

La auxoheterotrofia para tiamina es un rasgo común a muchas especies fúngicas, en especial Basidiomycetes (Lilly y Barnett, 1951); en el caso de *T. trogii* ésta resultó ser una deficiencia total y única, no requiriendo el suplemento de ningún otro factor de crecimiento para la obtención de un crecimiento óptimo.

b) Efecto de las fuentes nitrogenadas:

Se analizó el comportamiento del hongo frente a distintas fuentes nitrogenadas: nitratos, sales de amonio y compuestos orgánicos de nitrógeno. Los datos de crecimiento obtenidos (Fig. 2) indicaron que *T. trogii* es capaz de utilizar compuestos inorgánicos de amonio y nitrógeno, pero no nitratos.

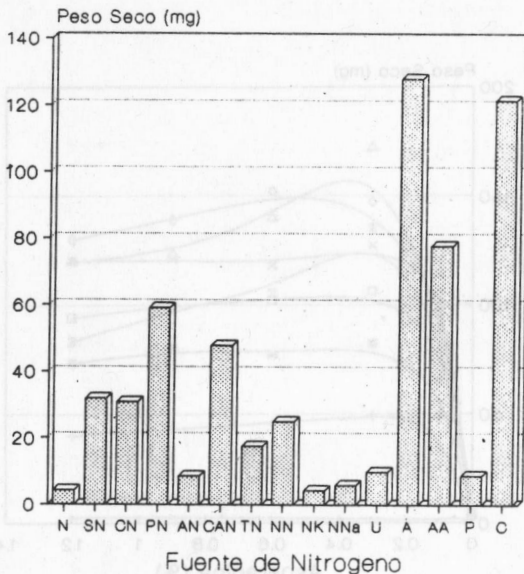


Fig. 2.-- Efecto de distintas fuentes de nitrógeno sobre el crecimiento. N: ninguna, SN: sulfato de amonio, AN: acetato de amonio, CN: cloruro de amonio, PN: fosfato de amonio, CAN: carbonato de amonio, TN: tartarato de amonio, NN: nitrato de amonio, NK: nitrato de potasio, NNa: nitrato de sodio, A: asparagina, AA: ácido aspártico, P: prolina, C: casaminoácidos. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

Los resultados obtenidos cuando se utilizaron nitratos como fuente nitrogenada indican que *T. trogii* es incapaz de utilizar el anión NO_3^- como fuente de nitrógeno dado que se obtuvieron resultados similares utilizando dos compuestos diferentes: NO_3K y NO_3Na . Estos resultados indicarían la ausencia de la enzima nitrato-reductasa en *T. trogii* (Pateman y Kinghorn, 1976). Cuando se utilizó NO_3NH_4 el crecimiento observado puede atribuirse a un aprovechamiento diferencial del amonio como fuente nitrogenada. De acuerdo a ello puede incluirse en el grupo III de Robins (1937). Lo que indicaría que *T. trogii* es capaz de utilizar compuestos de nitrógeno en los cuales el elemento se encuentra en forma "reducida". Las fuentes orgánicas: asparagina, ácido aspártico y casaminoácidos, produjeron mayor crecimiento que las fuentes inorgánicas utilizadas, de ellas la mejor aprovechada fue la asparagina. Con urea y prolina no se observó crecimiento significativo.

En la Fig. 3 se grafican las variaciones de pH registradas en cada una de las fuentes de nitrógeno utilizadas. En los ensayos con sales de amonio de ácidos fuertes (cloruro, sulfato) el pH del medio de cultivo al final del período de crecimiento descendió marcadamente, llegando a niveles que podrían inhibir el crecimiento vegetativo. En el caso de las

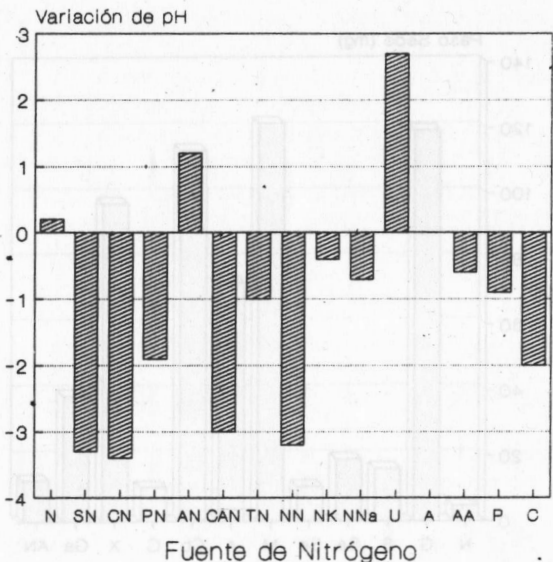


Fig. 3.-- Variación del pH con las distintas fuentes nitrogenadas. Se valoró el pH del medio de cultivo al finalizar el período de crecimiento. Cero (0) en ordenadas representa pH 6.5 (pH inicial). Las abreviaturas en abscisas corresponden a las de la fig. 2. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

sales de amonio de ácidos débiles (fosfato, tartrato) la disminución fue menos marcada. Este descenso del pH indica una efectiva utilización del ión NH_4^+ . Cuando se utilizó urea o acetato de amonio, el pH del medio se elevó alcanzando en el caso de la urea un nivel tal que podría llegar a inhibir el crecimiento del hongo, lo cual explicaría el bajo rendimiento obtenido con dicha fuente.

c) Efecto de las fuentes carbonadas:

La Fig. 4 muestra los resultados obtenidos cuando se utilizaron distintos compuestos de carbono para el crecimiento.

Se observó el máximo crecimiento al utilizar las fuentes glucosa y maltosa, mientras que el desarrollo fue muy pobre en sacarosa, sorbosa, sorbitol, acetato de sodio y celulosa, y escaso en galactosa.

El aprovechamiento del almidón es consecuente con el hecho de observarse un máximo de crecimiento con maltosa, producto de su hidrólisis, evidenciando así la capacidad de síntesis de amilasas y maltasa. En cambio, a pesar de utilizar eficientemente celobiosa, posiblemente no sea capaz de sintetizar las celulasas necesarias para despolimerizar la celulosa y utilizarla como fuente de carbono, o al ser éstas enzimas no constitutivas, necesitan un

mayor período de tiempo para su inducción. El buen crecimiento con xilosa indicaría un posible aprovechamiento de la hemicelulosa presente en los tejidos leñosos, habitat natural de este hongo.

d) Efecto de la relación C/N:

Se estudió la influencia de la relación C/N en el medio GA sobre el crecimiento vegetativo de *T. trogii*. Para cantidades variables de asparagina con distintas concentraciones de glucosa (Fig. 5) se observa que el crecimiento es prácticamente nulo en ausencia de glucosa, lo cual indica que la asparagina no es utilizada como fuente de carbono. El crecimiento aumenta con el aumento de asparagina mientras el nitrógeno es limitante y se estabiliza al hacerse limitante la glucosa, hasta una concentración de ésta del 2%. Para concentraciones mayores de glucosa el crecimiento disminuye luego de alcanzar un óptimo de asparagina. Las disminuciones de crecimiento con altas concentraciones de glucosa pueden atribuirse al aumento de la osmolaridad del medio.

De los datos obtenidos se concluye que la relación C/N más favorable para el crecimiento vege-

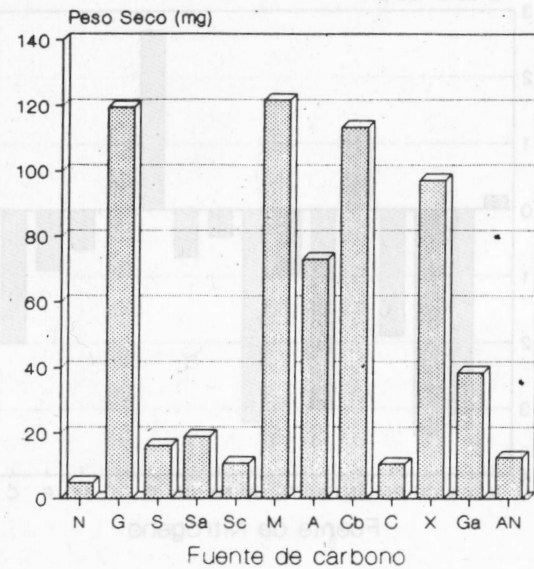


Fig. 4.-- Efecto de distintas fuentes de carbono sobre el crecimiento. N: ninguna, G: glucosa, S: sorbitol, Sa: sorbosa, Sc: sacarosa, M: maltosa, A: almidón, Cb: celobiosa, C: celulosa, X: xilosa, Ga: galactosa, AN: acetato de sodio. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

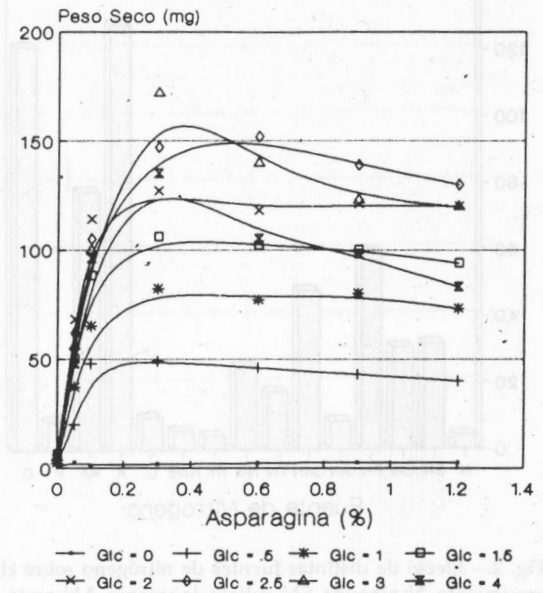


Fig. 5.-- Crecimiento en función de concentraciones crecientes de asparagina, para distintas concentraciones de glucosa. Las concentraciones de glucosa se expresan como porcentajes. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

tativo es de aproximadamente 22, equivalente a 3% de glucosa y 0.3% de asparagina.

e) Efecto de la concentración de Fosfatos y Sulfatos:

Las dos especies de fosfato utilizadas habitualmente en el medio de cultivo fueron aprovechadas de distinto modo por *T. trogii*. Al mantener la constancia del pH con buffer citrato y variar la concentración de PO_4H_2^- , se observó un crecimiento máximo con 0.25 a 0.5 g/l, ocurriendo una marcada disminución del crecimiento a concentraciones mayores. En cambio, al variar la concentración de PO_4H^- , el crecimiento aumenta de modo gradual, estabilizándose luego de 1 g/l (Fig. 6), con un rendimiento miceliano mucho menor. Cuando se varía simultáneamente la concentración de ambos fosfatos, manteniendo la relación utilizada habitualmente ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{K} : \text{PO}_4\text{HK}_2$, 1: 1.2), se observa que, a igual cantidad de PO_4H_2^- , solo o combinado con PO_4H^- , el comportamiento del hongo es semejante, demostrando que dicha fuente es la más utilizada para el crecimiento.

La importancia del fosfato para el desarrollo es bien conocida y su efecto negativo al aumentar la concentración posiblemente se deba a que estimula el transporte de cationes divalentes como Ca^{++} y

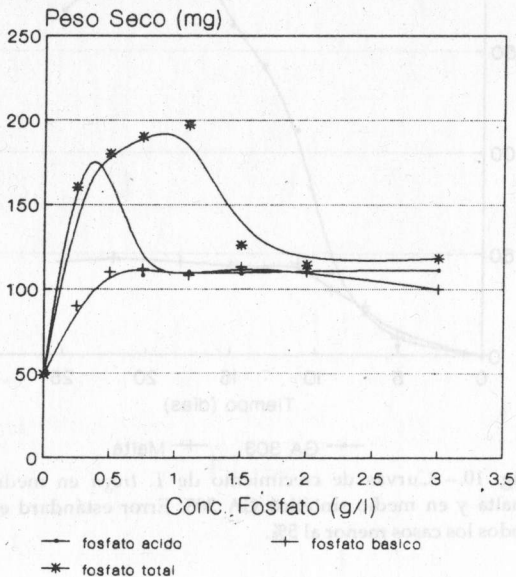


Fig. 6.-- Crecimiento en función de las distintas concentraciones de fosfatos. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

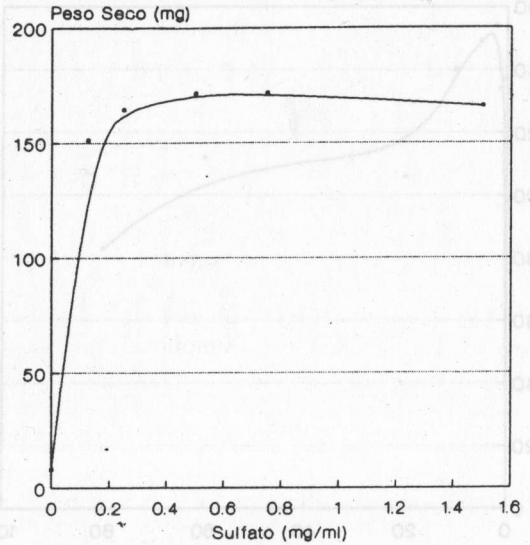


Fig. 7.-- Crecimiento en función de las distintas concentraciones de sulfato. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

Mg^{++} , pero inhibe la entrada a la célula de ciertos cationes monovalentes, con las consecuentes alteraciones del metabolismo celular. Además altas concentraciones son inhibitorias para la producción de varios metabolitos y enzimas, como la fosfatasa que cataliza la fosforilación de proteínas (Garraway y Evans, 1984).

Los resultados obtenidos indican que es suficiente con la adición de 48.8 mg/l de SO_4^{--} en forma de $\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ para obtener un crecimiento óptimo.

f) Efecto de la concentración de micronutrientes:

Al utilizar distintas cantidades de la solución de micronutrientes, se observó que el máximo crecimiento se producía utilizando entre 2 y 10 ml/l de medio GA (Fig. 8), equivalentes a: hierro, entre 0.36 y 1.84 mg/l; cobre, entre 0.1 y 0.5 mg/l y zinc, entre 1.48 y 7.43 mg/l. Estos valores están dentro del rango encontrado para otros hongos, como *Ascobolus furfuraceus* (Cinto et al., 1986), aunque los óptimos pueden sufrir grandes variaciones según las especies (Rawla y Chahal, op. cit.; Agarwala et al., 1986).

g) Efecto del pH:

Como se muestra en la Fig. 9 el pH inicial óptimo para el crecimiento de *T. trogii* es de alrededor

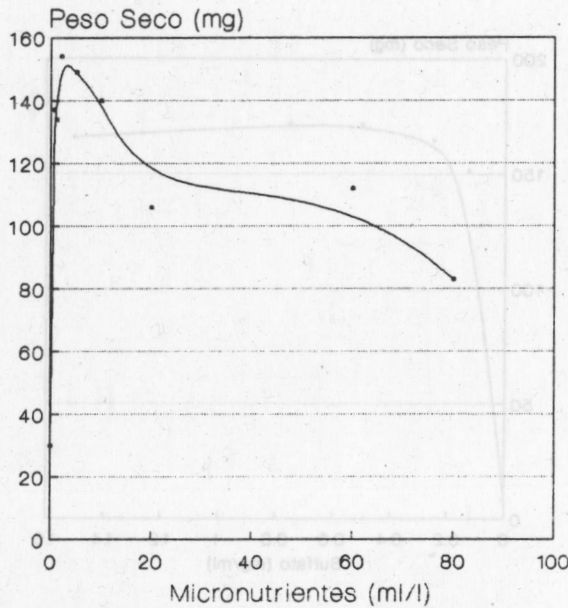


Fig. 8.-- Efecto de la concentración de micronutrientes. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

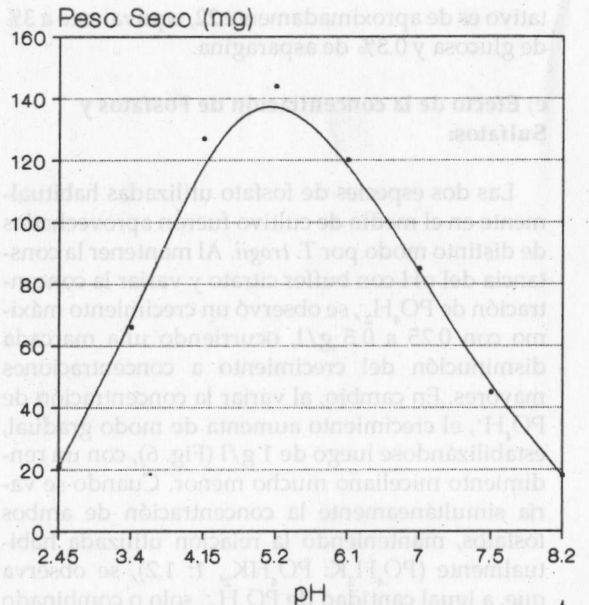


Fig. 9.-- Efecto del pH sobre el crecimiento vegetativo de *T. trogii*. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

de 5.2, registrándose un buen crecimiento entre 4 y 7, y un débil crecimiento en los valores extremos utilizados (pH 2.45 y 8.2). El efecto del grado de acidez del medio de cultivo al limitar el crecimiento fúngico, se ejerce por su acción sobre distintas actividades enzimáticas y por su influencia sobre la incorporación de varios nutrientes.

h) Cinética del crecimiento:

Al realizar las curvas de crecimiento, se observó que en medio malta, *T. trogii* creció en forma exponencial hasta el día 11° alcanzándose la fase estacionaria el día 12°, con un rendimiento miceliano máximo de 50 mg.

En el medio sintético desarrollado (GA 303), la fase de crecimiento exponencial prosiguió durante más tiempo, hasta el día 18, registrándose en la fase estacionaria, un crecimiento cuatro veces mayor con respecto al producido en el medio complejo, siendo la masa miceliana obtenida a lo largo del tiempo siempre mayor en el medio sintético (Fig. 10).

A medida que el hongo crece en el medio GA 303, se registra una disminución del pH del medio. Esta disminución podría deberse a la predominancia de los procesos de formación de ácidos en las primeras etapas del crecimiento, hecho ya comprobado en un sinnúmero de hongos (Lilly y Barnett, 1951). Se valoró la glucosa residual en el medio

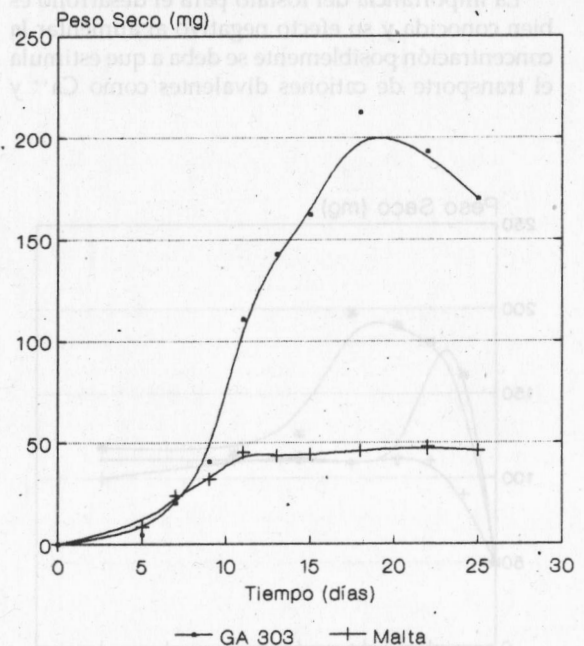


Fig. 10.-- Curvas de crecimiento de *T. trogii* en medio malta y en medio sintético GA 303. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

sintético, comprobándose que la entrada a la fase estacionaria de crecimiento coincide con el agotamiento de la fuente de carbono en el medio (Fig. 11).

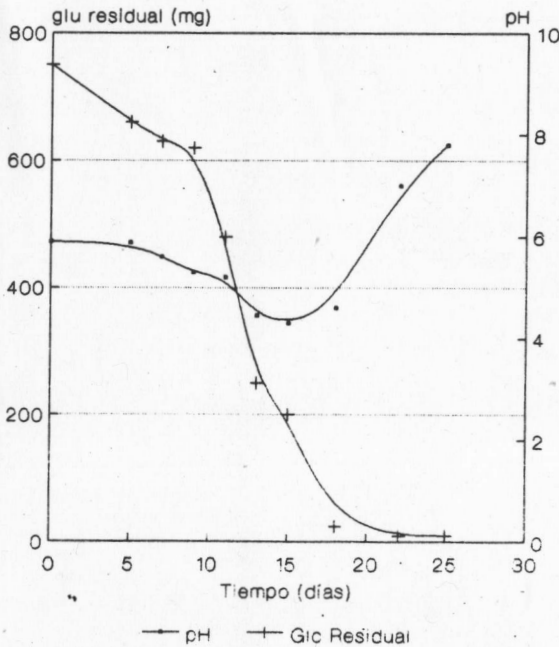


Fig. 11.-- Variación del pH y de la glucosa residual a lo largo de la curva de crecimiento en medio sintético GA 303. Error estándar en todos los casos menor al 5%.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que *T. trogii* presenta una deficiencia total y única para tiamina. Es capaz de utilizar compuestos inorgánicos de amonio y nitrógeno orgánico como fuentes de nitrógeno, pero no nitratos.

Los máximos crecimientos se obtuvieron utilizando como fuente nitrogenada asparagina y glucosa como fuente carbonada. Utilizando dichas fuentes se verificó que la relación C/N más favorable para el crecimiento vegetativo es de aproximadamente 22.

El pH inicial óptimo del medio de cultivo fue 5.2. La fuente de fosfato más utilizada resultó el PO_4H_2 , con concentraciones favorables en el rango de 0.25 a 0.5 g/l.

Con estos resultados (a los que se sumaron cantidades óptimas de sulfatos y micronutrientes) se confeccionó un medio sintético para el crecimiento vegetativo de *T. trogii*, consiguiéndose en dicho medio una fase de crecimiento exponencial más prolongada y un rendimiento miceliano cuatro veces superior al logrado con medio complejo malta.

AGRADECIMIENTOS

Al CONICET por la financiación parcial del trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- AGARWALA, S. C., N. NAUTIYAL y C. CHATTERJEE. 1986. Iron nutrition of four *Aspergillus* species. *Trans. Br. mycol. Soc.* 86: 561-569.
- CINTO, R. O., F. FORCHIASSIN, M. E. RANALLI y M. A. GALVAGNO. 1986. Relación entre las concentraciones de zinc, hierro y cobre y el crecimiento vegetativo de *Ascobolus furfuraceus* (Fungi - Ascomycetes). *Physis, Secc. C, B. A.* 44 (106): 7-18.
- , M. A. GALVAGNO, F. FORCHIASSIN y M. E. RANALLI. 1977. Estudio de la relación entre la concentración de distintas fuentes carbonadas, nitrogenadas y vitaminas y el desarrollo vegetativo de *Ascobolus biguttulatus* usando técnicas de superficies de respuesta. I. *Physis, Secc. C, B.A.* 37 (93): 281-302.
- FENN, P. y T. KIRK. 1981. Relationship of nitrogen to the onset and suppression of lignolytic activity and secondary metabolism in *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch. microbiol.* 130: 59-65.
- GARRAWAY, M. O. y R. C. EVANS. 1984. *Fungal nutrition and physiology*. J. Wiley & Sons., N. Y.
- IEFFRIES, T., S. CHOI y T. KIRK. 1981. Nutritional regulation of lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 290-296.
- KEYSER, P., T. KIRK y J. ZEIKUS. 1978. Lygnolytic enzyme system of *Phanerochaete chrysosporium*: Synthesized in the absence of lignin in response to nitrogen starvation. *J. Bacteriol.* 135: 790-797.
- KIRK, T., W. CONNORS y J. ZEIKUS: 1976. Requirement for a growth substrate during lignin decomposition by two wood-rotting fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 32: 192-194.
- , T. HIGUCHI y H. CHANG (Eds.). 1979. *Lignin biodegradation: microbiology, chemistry and applications*. CRC Press, West Palm Beach.
- , E. SCHÜLTZ, W. CONNORS, L. LORENZ y J. ZEIKUS. 1978. Influence of culture parameters on lignin metabolism by *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch. Microbiol.* 117: 277-285.
- LILLY, V. G. y H. L. BARNETT. 1951. *Physiology of the fungi*. McGraw Hill, N. Y.
- NELSON, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 153: 375-380.
- PATEMAN, J. A. y J. R. KINGHORN. 1976. Nitrogen metabolism. In J. E. Smith and D. R. Berry (Eds.) *The filamentous fungi*, Vol. 2, pp. 159-237. N. Y. Wiley.
- RAWLA, G. S. y S. S. CHAHAL. 1975. Comparative trace element and organic growth factor requirements of *Ramulispora sacchari* and *R. sorghi*. *Trans. Br. myc. Soc.* 64: 532-536.
- ROBBINS, W. J. 1937. The assimilation by plants of various forms of nitrogen. *Am. J. Bot.* 24: 243-250.
- SOMOGYI, M. 1952. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.* 195: 19-23.
- SPEGAZZINI, C. 1925. La Piptostelechia del álamo blanco. *Physis* 8: 1-11.
- WRIGHT, J. E., J. R. DESCHAMPS y G. ROVETTA. 1973. Basidiomycetes xilófilos de la región mesopotámica. I. Poliporos trametoides. *Rev. Invest. Agrop.-INTA. Serie 5. Vol. 10:* 117-174.