

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Diversidad del orden Polyporales en un área de bosque intervenido y un área de bosque
primario en la Estación Científica Yasuní.**

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en

Ciencias Biológicas

CRISTINA ELIZABETH TOAPANTA ALBÁN

Quito, 2014

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la candidata Cristina Elizabeth Toapanta Albán ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

María Eugenia Ordoñez, Ph.D

Directora de la Disertación

Quito, 24 de Noviembre de 2014

A todos los seres y elementos que conforman la naturaleza. En especial a los pueblos Tagaeri y Taromenane que en un mundo globalizado aún viven en armonía con la naturaleza y luchan contra aquello que nos ha desligado de ella. Mi más profundo amor y respeto a todo aquello que está vivo y también aquello que permite que la vida siga su curso. El amor y respeto por la naturaleza y animales han sido el motor de mi vida y protegerlos será mi deber hasta el día que deje este mundo.

AGRADECIMIENTOS

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por financiar la realización de este proyecto.

A mi familia por todo el apoyo y la fuerza que me brindan día a día. A mis padres porque con su amor y ejemplo han sido los pilares de mi vida, direccionándola hacia una vida profesional y humana llena de valores. A mis hermanos Andrés, Eliana, Walter, Vanessa y Ronny por ser la mejor compañía a lo largo de la existencia.

A María Eugenia Ordoñez por haberme dado la oportunidad de realizar esta investigación. Por ser una excelente guía y directora ejemplar y, sobre todo por su apoyo y la confianza que depositó en mí.

A Verónica Crespo y Alexandra Narváez por su valioso aporte y recomendaciones para mejoras en esta investigación.

A Charlie Barnes, por el tiempo y conocimientos compartidos.

A todo el equipo que conforma el proyecto “Dinámica de Bosque Yasuní”. A Renato Valencia por permitir la realización de este estudio en la Parcela Permanente de 50 ha. A

Álvaro Pérez, Wilson Loor y Milton Pabón por la guía otorgada en el campo. A Consuelo Hernández por su tiempo e información de datos de la Parcela.

Al equipo de Microscopía Electrónica del Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación de la ciudad de Guayaquil, por permitirme realizar la microscopía electrónica para el análisis de mis muestras. A la Dra. Linda Díaz y Dr. Yasuji Amano por experiencia científica y orientación. A Carlos y Leonardo por su colaboración durante el tiempo ahí.

A mis asistentes de campo Jorge, Andrés y Carla por el trabajo y dedicación que pusieron en el campo. A todos aquellos que desde colocar parafilm en un tubo hasta macerar una muestra me extendieron su mano. A Rosita, Mishell, Andrea, Nelson, Dario y Elizabeth.

A mis amigas Carolina, Elizabeth, Gabriela, Irene, Pilar y Daniela, personas valiosas llenas de valores, por su amistad y todas las experiencias vividas.

A los profesores que confiaron en mí, por ser un ejemplo de vida y calidad humana a lo largo de mis estudios. Marta Grijalva, Ramiro Merino, Jaime Jaramillo y Andrés Merino.

A todos muchas Gracias.

TABLA DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN.....	III.
DEDICATORIA.....	IV.
AGRADECIMIENTOS.....	V.
TABLA DE CONTENIDOS	VII.
LISTA DE FIGURAS.....	X.
LISTA DE TABLAS.....	XII.
LISTA DE ANEXOS.....	XV.
1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT	3
3. INTRODUCCIÓN.....	5
3.1 TAXONOMÍA Y ORIGEN DE LOS POLYPORALES.....	5
3.2 ESTRUCTURAS MACRÓSCOPICAS Y MICROSCÓPICAS DE LOS POLYPORALES	6
3.3 FUNCIÓN DE LOS POLYPORALES EN EL BOSQUE Y TIPOS DE PUDRICIÓN	12
3.4 USOS MEDICINALES E INDRUSTRIALES DE LOS POLYPORALES	15
3.5 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	16
3.6 OBJETIVOS	18
3.6.1 OBJETIVO GENERAL	18
3.6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19

4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
4.1 SITIOS DE MUESTREO	20
4.2 COLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LOS ESPECÍMENES EN EL CAMPO...20	
4.3 OBTENCIÓN DE ESPORAS.....	22
4.4 AISLADO PURO Y ALMACENAMIENTO DE CEPAS	22
4.5 EXTRACCIÓN DE ADN Y AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN ITS DEL ADN RIBOSOMAL.....	23
4.6 ANÁLISIS DE SECUENCIAS	24
4.7 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO	25
4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	27
5. RESULTADOS	29
5.1 NÚMERO DE INDIVIDUOS COLECTADOS, FAMILIAS, GÉNEROS Y TAXONES PRESENTES EN CADA TIPO DE BOSQUE, SUSTRATO Y ESPECIES HOSPEDERAS.....	29
5.2 ANÁLISIS FILOGENÉTICO	31
5.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA	35
5.4 ÍNDICE DE SIMILITUD DE JACCARD E ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SIMPSON	35
6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	37
6.1 DIVERSIDAD Y SIMILITUD DE ESPECIES	37
6.2 SUSTRATOS Y HOSPEDEROS	39

6.3	CARÁCTERÍSTICAS DEL BOSQUE INTERVENIDO Y PRIMARIO.....	41
6.4	ANÁLISIS FILOGENÉTICO	44
6.5	MICROMORFOLOGÍA.....	47
6.6	¿POR QUÉ HAY OTROS ÓRDENES COLECTADOS?	48
6.7	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
7.	LITERATURA CITADA.....	53
8.	FIGURAS	58
9.	TABLAS	77
10.	ANEXOS.....	95

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribución de *Cecropia sciadophylla* en la Parcela Permanente dentro de la Estación Científica Yasuní.....58
- Figura 2:** Ubicación de los transectos muestreados dentro de la Parcela Permanente dentro de la Estación Científica Yasuní.....59
- Figura 3.** Número total de individuos, número de individuos Polyporales, y número de individuos Hymenochaetales por transecto, colectados en el bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.....60
- Figura 4.** Cuerpos fructíferos de hongos poliporos de las familias colectadas en la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.....61
- Figura 5:** Número de individuos y número de taxones por familia colectados en todos los transectos dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.
.....62
- Figura 6:** Géneros de Polyporales más abundantes colectados en el bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.....62
- Figura 7.** Cuerpos fructíferos de los taxa de hongos poliporos encontrados con mayor frecuencia en el muestreo realizado en la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.....63

- Figura 8:** Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras del orden Polyporales obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS.....64
- Figura 9:** Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Polyporaceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS.....66
- Figura 10:** Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Ganodermataceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS.....68
- Figura 11:** Filogenia Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Meripilaceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS.....69
- Figura 12:** Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Meruliaceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS.....70
- Figura 13:** Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Cystostereaceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario

	dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS.....	71
Figura 14:	Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras del orden Hymenochaetales obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS.....	72
Figura 15.	Fotografía electrónica de basidiosporas de Polyporales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní.....	73
Figura 16.	Fotografía electrónica de basidiosporas de Hymenochaetales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní.....	74
Figura 17.	Fotografía electrónica de cistidios de Polyporales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní.....	
Figura 18.	Fotografía electrónica de los diferentes tipos de hifas encontradas en muestras de himenio de Polyporales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní.....	75
Figura 19:	Número de taxa únicos y de taxa común de hongos colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní en bosque primario y bosque intervenido.....	76

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Secuencia de los cebadores utilizados para amplificar la región ITS del ADNr, usados para la secuenciación del ADN extraído de los hongos colectadas dentro de la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.....77
- Tabla 2.** Modelos de sustitución usados para el análisis de Máxima verosimilitud de las distintas familias y órdenes de hongos colectados dentro de la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, su respectivo grupo externo y número de secuencias usadas.....77
- Tabla 3.** Hongos colectados en el bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní. Se muestra la serie de campo, identificación taxonómica, método de identificación y sustrato de crecimiento.....78
- Tabla 4.** Características morfológicas utilizadas para la identificación taxonómica de muestras de hongos Polyporales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní.....84
- Tabla 5.** Identificación taxonómica mediante análisis molecular de la región ITS de colecciones de poliporos presentes sólo en el área de bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.....85
- Tabla 6.** Identificación taxonómica mediante análisis molecular de la región ITS de colecciones de hongos poliporos presentes sólo en el área de bosque

	intervenido dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.....	86
Tabla 7.	Identificación taxonómica mediante análisis molecular de la región ITS de colecciones de hongos poliporos encontrados en ambos tipos de bosque, dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.....	87
Tabla 8.	Especies arbóreas identificadas sobre las cuales se encontraron hongos poliporos dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní	88
Tabla 9:	Muestras de hongos colectadas dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní que fueron fotografiadas con microscopía electrónica, su identificación taxonómica, y tipo de tejido observado.....	89
Tabla 10:	Características de poros, esporas y otras estructuras microscópicas observadas de muestras colectadas dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní utilizando microscopía electrónica de barrido.....	90

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1:	Estructuras macroscópicas de Basidiomycetes.....	95
Anexo 2:	Mapa de la ubicación del Parque Nacional Yasuní.....	96
Anexo 3:	Componentes del medio de cultivo para el crecimiento de basidiomicetes y técnica de aislado a partir de cuerpo fructífero.....	97
Anexo 4:	Almacenamiento de las cepas en grano y tubo inclinado.....	99
Anexo 5:	Extracción de ADN con el protocolo de Tiocianato de Guanidina.....	101
Anexo 6:	Identificación de secuencias de la región ITS de muestras obtenidas de GenBank usadas en el análisis filogenético.....	104
Anexo 7.	Abundancia de los cuatro géneros más comunes y género más raro descrito por Valencia <i>et al.</i> , 2004 en cada transecto muestreado.....	107
Anexo 8.	Relaciones filogenéticas en Basidiomycetes.....	108
Anexo 9.	Glosario.....	109

1. RESUMEN

El orden Polyporales incluye doce familias, 437 géneros y 1800 especies descritas hasta la actualidad. Son macrohongos con basidiocarpos que exhiben un himenóforo con poros, de hábito solitario o gregario que pueden persistir en el ambiente por meses e incluso años, con crecimiento en su mayoría sobre madera, siendo muy pocos los que crecen como ectomicorrísicos anclados al suelo. Han sido usados por siglos en la medicina tradicional asiática y tienen importantes usos potenciales en biotecnología. Es un grupo en constante revisión taxonómica donde se busca relacionar características morfológicas y genéticas para su identificación.

El presente estudio se llevó a cabo en la Parcela Permanente de 50 ha. de la Estación Científica Yasuní, con el fin de comparar la diversidad y la similitud de especies de Polyporales compuestas en un área de bosque intervenido dominado por *Cecropia sciadophylla* y un área de bosque primario. La identificación de las especies o taxones se basó en secuencias de la región ITS (espaciador transcrito interno) del ADN ribosomal, así como en características macro y micro morfológicas. Se identificaron 34 taxones en el área de bosque intervenido y 29 taxones en el área de bosque primario, 10 taxones se comparten en ambas áreas de bosque. El índice de similitud de Jaccard indica que la composición de especies de hongos entre ambos tipos de bosque es diferente y el índice de diversidad de Simpson para ambas áreas de bosque es alto. Pocas especies fueron frecuentes y muchas fueron raras. La abundancia de las especies puede estar determinada por la disponibilidad de materia orgánica en descomposición para el crecimiento de Polyporales saprófitos. La mayoría de individuos no pudieron ser identificados a nivel de especie, sin embargo, se encontraron varios

taxones que pudieran ser nuevos. Este estudio preliminar de la diversidad de hongos con características lignícolas evidencia que queda trabajo por realizar para conocer estimaciones reales de la diversidad de este grupo.

Palabras clave: Basidiocarpo, diversidad, hongos, ITS, Polyporales.

2. ABSTRACT

The order Polyporales includes twelve families, 437 genera and 1800 described species until now. Polyporales are macrofungi with basidiocarps that exhibit a hymenophore with pores, of solitary or gregarious habit, that can persist in the environment for months or even years, they usually are restricted to growth on wood, very few grow as ectomycorrhizae anchored to the soil. These fungi have been used for centuries in traditional Asian medicine and have important potential applications in biotechnology. This taxonomic group constantly undergoes revisions in an attempt to relate morphological and genetic characteristics for its identification.

In order to compare the diversity and similarity of Polyporales species in an area of secondary forest dominated by *Cecropia sciadophylla* and in an area of primary forest, this study was carried out at the 50 ha. Permanent Plot at Yasuní Scientific Station. Identification of species or taxones was based on DNA sequences of the ITS (internal transcribed spacer) region of the ribosomal DNA, as well as on macro and micro morphological characteristics. 34 taxones were identified in the area of intervened forest and 29 taxones in the area of primary forest, 10 taxones are shared in both areas of forest. The Jaccard similarity index indicated that the fungal species composition between forest types was different, and the Simpson diversity index for both forest areas was high. Few species were common and many were rare. Species abundance can be determined by decomposing organic material available for the growth of saprophytic Polyporales. Most samples could not be identified to species level, however, potential new taxones were found. This preliminary study of the diversity of fungi with lignicolous characteristics shows that there is much work remaining to have more accurate estimates of the diversity of this group.

Key words: Basidiocarps, diversity, fungi, ITS, Polyporales.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 TAXONOMÍA Y ORIGEN DE LOS POLYPORALES

El orden Polyporales (Phylum Basidiomycota, Clase Agaricomycetes) incluye doce familias, 437 géneros y 1800 especies descritas hasta la actualidad (indexfungorum.org, 2014). Este grupo de hongos surge hace unos 300 millones de años en la era del Carbonífero (Ming-qi *et al.*, 2004). La clasificación “poliporos” es iniciada por Linnaeus en 1753, con un documento que incluye 10 géneros y 86 especies que presentan himenio poroso (Ming-qi *et al.*, 2004). Linnaeus usó a *Boletus* para referirse a todos los hongos con tubos o poros, si el basidiocarpo era carnoso y acosado, o leñoso y sésil (Gilbertson, 1986), en el Anexo 1 se pueden diferenciar las estructuras macroscópicas en Basidiomycetes. Fries (1821), en su obra básica “Systema Micologicum”, separa claramente a los poliporos como grupo propio en la "Tribu Polypore", aunque incluye algunos géneros que hoy están incluidos en otros grupos taxonómicos (Gilbertson, 1986). Los Polyporales que antes estuvieron incluidos en el orden Aphylloporales que fue propuesto por Rea en 1922 (Ainsworth, 1995), y después por Patouillard, se refirieron a hongos con basidiocarpos macroscópicos, donde el himenóforo se aplana (Telephoraceae), es en forma de garrote (Clavariaceae), dentado (Hydnaceae), o con tubos en el revestimiento del himenio (Polyporaceae), e incluso algunas veces en laminillas. Los himenóforos con laminillas y poros también han estado presentes en Agaricales (Ranadive, 2013). Gäumann (1928) propone la conformación del orden Polyporales, donde incluye muchas familias que en la actualidad pertenecen a otros órdenes (Corticiaceae-Corticiales, Tulasnellaceae-Cantharellales). Otros autores incluyen a varios órdenes dentro del grupo de los poliporos, como Corticiales, Hymenochaetales, Russulales y Polyporales (Gilbertson y Ryvarden, 1986; Gilbertson y Ryvarden, 1987; Ryvarden, 2004). Esta literatura

primigenia hace difícil identificar macromorfológicamente a los Polyporales. Con la adopción de técnicas de biología molecular para asistir en la taxonomía de hongos, actualmente se lleva a cabo una nueva clasificación en muchos órdenes con himenios porados, con un reordenamiento de las familias dentro del orden, usando microscopía electrónica y ADN ribosomal para el análisis de secuencias (Ming-qi *et al.*, 2004). Según Ming-qi *et al.* (2004), el orden Polyporales está compuesto por 23 familias, 298 géneros y 2253 especies sólo en China, datos que no coinciden con los proporcionados en el Index Fungorum. La investigación y clasificación de los Polyporales en China ha sido ampliamente desarrollada, sin embargo, no es fácil acceder a esa información. En la actualidad, la taxonomía del orden Polyporales se encuentra en discusión, y se desarrollan estudios moleculares y micromorfológicos para sustentarla (Toapanta, *pers. com.*).

3.2 ESTRUCTURAS MACRÓSCOPICAS Y MICROSCÓPICAS DE LOS POLYPORALES

Los Polyporales son macrohongos que presentan cuerpos fructíferos que pueden persistir durante meses o años; casi todos tienen crecimiento restringido a la madera, y muy pocos crecen como ectomicorrízicos anclados al suelo (Gilbert, *et al.*, 2002). Se distinguen porque sus basidiomas exhiben un himenóforo con poros circulares, irpiciformes, labirintiformes o laminares, de consistencia subcarnosa a leñosa, con basidiocarpos resupinados, sésiles, efuso-reflejados o pileados a estipitados, y de hábito solitario o gregario (Medina-Jaritz *et al.*, 2012). Algunos poliporos son bastante versátiles con respecto al basidiocarpo, pero para la mayoría de especies la forma, el acoplamiento del basidiocarpo al sustrato, color, y otras características, son distintivas y son caracteres taxonómicos importantes (Ryvarden, 2004).

Los basidiocarpos perennes con un predominio de hifas esqueléticas son normalmente leñosos, con sistemas trimíticos de hifas son duros y difíciles de separar. Son hongos con sistemas hifales monomíticos, son blandos o muy pegajosos y se reducen considerablemente durante el proceso de secado, a menudo acompañado por un cambio de color (Ryvarden, 2004).

En contraste con la mayoría de Agaricales, donde los basidiocarpos normalmente se desarrollan en el suelo y luego se expanden, el desarrollo del basidiocarpo entre los Polyporales está precedido por una etapa vegetativa (Ryvarden, 2004). Los Polyporales presentan una amplia variedad de formas de basidiocarpos y en la configuración del himenóforo que incluye forma de soporte (por ejemplo, *Ganoderma*, *Trametes*), muy resupinado (*Wolfiporia*, *Phlebia*), estipitado con himenio poroide (*Polyporus*) laminada (*Lentinus*) o himenóforos lisos (*Podoscypha*) (Binder *et al.*, 2013). Existen variaciones y transiciones entre los diferentes tipos de basidiocarpos, y no hay sinapomorfía morfológica que una a los Polyporales (Binder *et al.*, 2013). El basidiocarpo poroide ha evolucionado de manera convergente por lo menos 11 veces en Agaricomycetes, como por ejemplo en *Gloeophyllum* (Gloeophyllales), *Phellinus* (Hymenochaetales), *Heterobasidion* (Russulales), y otros (Binder *et al.*, 2013).

La forma, consistencia, color y accesorios del píleo son características particulares que pueden dar una idea de los sistemas hifales que lo componen. Por ejemplo, en muchas especies el píleo tiene un mismo color sin cambios durante toda la vida de la basidiocarpo. Esto es cierto para muchas especies con tejido de color marrón (Ryvarden, 2004). El color se debe, aparentemente, a los polifenoles complejos que son muy resistentes a la degradación por causas naturales (Ryvarden, 2004). En otras especies, el color puede desaparecer debido a que la intemperie destruye el pigmento en la superficie pilear, por ejemplo en *Pycnoporus*

sanguineus que presenta basidiocarpos rojizos brillantes en etapas tempranas y se vuelve opaco con el tiempo (Ryvarden, 2004). Especies de color blanco o colores claros con frecuencia se vuelven más oscuros con la edad, la capa superior de las hifas se oscurece a ocráceas y tonos marrones, lo que resulta en una zonificación distinta desde la base al margen donde las hifas nuevas se están desarrollando activamente (Ryvarden, 2004). En muchas especies con fructificaciones perennes, en cada periodo de crecimiento, un nuevo himenóforo se establece sobre el himenio viejo, por lo que estos son equivalentes a los anillos anuales de plantas vasculares (Gäumann, 1928).

La consistencia y color del estípite es normalmente la misma del píleo; sin embargo, en algunas especies, este puede ser de color diferente, como por ejemplo *Polyporus varius* y *P. melanopus* donde los estípites son más oscuros que el píleo (Ryvarden, 2004). En cuanto a la forma, para muchas especies de *Polyporus* el estípite tiene la misma anchura desde la base hasta píleo. Hay especies donde un basidiocarpo es aplanado en forma de abanico o se estrecha hacia la base, lo que hace difícil decidir si un verdadero estípite está presente o no (Ryvarden, 2004).

Pocos poliporos desarrollan un esclerocio subterráneo. Éste puede estar enterrado profundamente en el sustrato, como en *P. tuberaster* (Ryvarden, 2004). Se ha demostrado que algunas especies desarrollan basidiocarpos en madera muerta, pero pueden estar conectados a esclerocios en el suelo. Por lo tanto, la presencia o ausencia de un esclerocio no se ha utilizado como una característica clave para identificar géneros y especies (Ryvarden, 2004).

La forma y tamaño de los poros es una característica importante para la identificación de especies Polyporales. Para la mayoría de las especies el número de poros por mm o cm es un carácter bastante constante, pese a que los poros a menudo pueden ser más grandes con la edad y en especímenes grandes (Ryvarden, 2004). En ocasiones los poros también se vuelven irregulares, de sinuosos a laberínticos. El color de la superficie de los poros también es una característica taxonómica, pero puede mostrar variaciones. El himenóforo puede sufrir cambios con la edad, lo que indica que su configuración genética es débil (Ryvarden, 2004).

Los caracteres micromorfológicos también son una herramienta muy útil para identificar a nivel de especie. Ames (1913) fue el primero en darse cuenta de la importancia de las hifas, pero fue Corner's (1933), en la descripción del sistema de hifas, que dio a la micología una nueva herramienta taxonómica (Gilbertson y Ryvarden, 1986). Existen diferentes tipos de hifas que conforman el cuerpo fructífero del hongo. Las hifas generativas son delgadas (1,5-10 μm de diámetro), ramificadas, cilíndricas, indiferenciadas con pared delgada, septadas regularmente, y capaces de generar células fértiles, que son los basidios del himenio y los tejidos relacionados (Ulloa, 2004). El tipo de septación es una característica importante en la clasificación de los poliporales. La septación entre dos hifas puede ser simple o resultar en la formación de una grapa. La septación de las hifas generativas es fundamental, así como consistente a nivel de especie. En especies con septación simple, la septación en la ramificación de las hifas puede ser confundida con grapas, porque las hifas se pueden doblar hacia atrás (Gilbertson y Ryvarden, 1986). Las hifas gleopleróticas son células largas que contienen numerosas inclusiones de aceite en el citoplasma (Ulloa, 2004) y también tienen grapas. La presencia de hifas de este tipo está bastante disperso en el grupo y tienen significado sólo en el nivel específico (Gilbertson y Ryvarden, 1986). Las hifas vegetativas

por definición no poseen septos, surgen de un septo o de una grapa y pueden tener un crecimiento restringido o ilimitado, como es el caso de las hifas de unión (Ryvarden, 2004). Las hifas esqueléticas, son de pared gruesa, no ramificada, aseptada, recta o ligeramente flexuosa, con el lumen más o menos obliterado, que proporciona rigidez a los esporóforos (Ulloa, 2004). En Ganodermataceae y muchas especies de *Perenniporia* hay hifas arboriformes, que se ramifican después de 200 μm de longitud; al observar por separado los segmentos sueltos de tales hifas, fácilmente se pueden ver hifas de unión (Ryvarden, 2004). Por último, están las hifas de unión o ligazón, con pared gruesa o delgada, definitivamente ramificada, cilíndrica o tortuosa, que se entrelazan con otras hifas del mismo tipo para formar un tejido firme, pero flexible, en los esporoforos (Ulloa, 2004). Cabe mencionar que existen tres sistemas hifales: sistema monomítico, tiene hifas de un tipo que son hifas generativas ramificadas, septadas, con o sin conexiones tipo grapa, de paredes delgadas o gruesas, y de longitud ilimitada, que dan origen a otros tipos de hifas; el sistema dimítico posee dos tipos de hifas que son generativas y esqueléticas; el sistema trimítico, constituido por tres tipos diferentes de hifas: generativas, esqueléticas y de unión (Ainsworth, 1995). En Polyporaceae, hifas esqueléticas intercaladas pueden dar lugar a ramificación ligada, formando hifas de unión-esqueléticas (Ainsworth, 1995).

Los basidios son células especializadas características de los Basidiomycetes, sobre los cuales se forman las basidiosporas sostenidas por los esterigmas, después de que se lleva a cabo la cariogamia y la meiosis generando esporas exógenas (Ulloa, 2004). Los poliporales tienen un desarrollo continuo de basidios durante periodos que van desde días a años, por lo que se pueden encontrar basidios en muchas etapas de desarrollo en cualquier basidiocarpo en

esporulación activa. La mayoría de poliporos tienen cuatro basidiosporas que son más o menos de forma clavada y hialina. Su tamaño varía considerablemente de una especie a otra y puede ser una característica taxonómica importante (Ryvarden, 2004).

Las basidiosporas son básicas para la clasificación de los Basidiomycetes y poliporos. Los cuerpos fructíferos colectados durante periodos donde la esporulación no es activa pueden tener pocas basidiosporas o ninguna. Muchas especies se pueden identificar de forma fiable sin basidiosporas, pero para otras especies son necesarias, como es el caso de especies con basidiocarpo resupinado (Ryvarden, 2004). El tamaño de las basidiosporas está basado en mediciones de 10 esporas o más para cada especie, ya que algunas pueden ser de mayor o menor tamaño que el rango dado para una especie en particular. Las basidiosporas más grandes pueden ser el resultado del desarrollo de basidios con menos que cuatro basidiosporas, y las más pequeñas son a menudo inmaduras (Ryvarden, 2004). En basidiosporas con ornamentos las mediciones incluyen a estos. La mayoría de poliporales tienen basidiosporas lisas y de paredes delgadas, pero en algunos géneros están ornamentados con pequeñas verrugas, espinas o estrías longitudinales. En el caso de Ganodermataceae todas las basidiosporas tienen un color amarillento pálido, con un patrón regular de verrugas o protuberancias, distintivas de la familia (Ryvarden, 2004).

En muchos poliporales, así como en otros Basidiomycetes, órganos estériles se producen entre los basidios y son de importancia en la delimitación de los géneros y la identificación de especímenes (Ryvarden, 2004). Ellos tienen diferentes denominaciones en función de dónde proceden y su morfología. Los cistidios son células estériles, grandes, infladas, que crecen entre los basidios, y sobresalen de la capa himenial. No se conoce bien su función, aunque en

algunos casos parecen intervenir como espaciadores de los basidios (Ulloa, 2004). Existen diferentes tipos de cistidios de acuerdo al lugar donde emergen, ya sean cistidios del himenio o cistidios de la trama (Ryvarden, 2004). Los cistidioles pueden ser lisos, claviformes, del mismo tamaño que los basidios. Están en el himenio entre los basidios, y en algunas especies en gran número. Las dendrohifidias son hifas ramificadas que pueden surgir en el himenio y disepimientos de algunos poliporos, surgen de un septo, y su grado de ramificación puede variar considerablemente. Su función no está clara, sin embargo, se ha visto que pueden desempeñar un papel en la excreción de los metabolitos (Ryvarden, 2004).

Las esporas asexuales y conidios son raros en los poliporos. Se desarrollan a partir conidióforos o hifas conidiógenas indiferenciadas, a menudo en el margen de estas. Solo en algunos casos son estructuras de diagnóstico como para el género *Echinoporia* sp. (Ryvarden, 2004).

3.3 FUNCIÓN DE LOS POLYPORALES EN EL BOSQUE Y TIPOS DE PUDRICIÓN

Los poliporales son en su mayoría habitantes de madera y son capaces de utilizar los componentes de las paredes celulares de la madera como celulosa, hemicelulosa y lignina como su principal fuente de energía para el crecimiento y la reproducción (Gilbertson y Ryvarden, 1986). Son protagonistas en el ciclo del carbono, y por lo tanto juegan un papel clave en el reciclaje de nutrientes de la mayoría de los ecosistemas forestales (Binder *et al.*, 2013; Dai, 2012).

Se reconocen dos tipos de pudrición en la madera causados por los poliporales: la pudrición blanca y la café; algunas especies de poliporos pueden causar ambos tipos de pudrición, mientras que otras especies causan o pudrición blanca o café, y esto depende de la familia e incluso la especie de hongo. (Medina-Jaritz *et al.* 2012). Sólo el 6% de las especies de poliporos que degradan madera son de pudrición café, y dominan la descomposición de madera en los bosques boreales (Eastwood *et al.* 2011). Los hongos con pudrición café eliminan selectivamente la celulosa y la hemicelulosa de la madera, haciendo que ésta pierda rápidamente sus propiedades de resistencia y experimente una contracción drástica, formando grietas a través de las fibras (Gilbertson y Ryvardeen, 1986). La pudrición café inicialmente no implica un ataque enzimático sobre la pared celular de la madera, sino la generación extracelular de radicales hidroxilo (OH) a través de la reacción de Fenton: $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH} + \text{H}_2\text{O}$ (Eastwood *et al.* 2011). En las etapas avanzadas de la pudrición café la madera se reduce a residuos amorfos desmenuzables, de trozos cúbicos marrones, compuestos de lignina que ha sido ligeramente modificada. Los residuos de lignina contribuyen hasta un 30% al carbono orgánico del suelo, son de larga duración y tienen capacidad de unirse al nitrógeno y otros cationes. Estos polímeros fenólicos ocasionan los suelos ácidos y pobres en nutrientes de los bosques de coníferas del norte (Eastwood *et al.* 2011). Además, los residuos de la podredumbre café tienden a aumentar la temperatura del suelo (Gilbertson y Ryvardeen, 1986). Estas funciones ecológicas son de importancia crítica para la supervivencia y el desarrollo de las coníferas, sobre todo en los sitios donde el suelo o los factores climáticos tienden a ser demasiados severos.

Los hongos de pudrición blanca descomponen tanto la celulosa como la lignina. Pueden romper una variedad de heteropolímeros fenilpropanoides de la lignina mediante el

ataque de los radicales libres (Eastwood *et al.* 2011). La mayoría de hongos extraen la lignina y polisacáridos a la misma velocidad, y en etapas intermedias o avanzadas de degradación la madera contienen aproximadamente la misma proporción de lignina y polisacáridos así como de madera sólida. Algunos, sin embargo, eliminan la lignina a un ritmo más rápido (Gilbertson y Ryvardeen, 1986). La madera que se descompone por pudrición blanca tiende a perder paulatinamente sus propiedades de resistencia pero retiene su estructura fibrosa en etapas avanzadas. La madera se vuelve esponjosa, fibrosa, o estratificada y por lo general se blanquea, tomando un color más pálido que el color de la madera sólida. Los residuos de pudrición blanca no son componentes estables de los suelos forestales (Gilbertson y Ryvardeen, 1986).

Los hongos poliporales también pueden ser patógenos. Algunos pueden atacar a árboles vivos, pero se limitan a colonizar madera no viva “heartwood”, al invadir el tejido sin destruirlo. A estos se los conocen comúnmente como hongos de “heartrot” o pudrición del corazón. Un número relativamente pequeño de poliporales son verdaderos patógenos, y son capaces de invadir y provocar la muerte de huésped (Gilbertson y Ryvardeen, 1986). Por ejemplo, *Ganoderma lucidum* posee una amplia gama de hospederos en maderas duras (Bakshi *et al.*, 1976). El género *Ganoderma* spp. no es un patógeno agresivo, pero puede ser una enfermedad importante en palmas. Por ejemplo, en el Sureste asiático se presenta como patógeno de la palma africana, y produce importantes pérdidas económicas. Se cree que el patógeno infecta a la palma mediante esporas que ingresan en las heridas causadas por el desprendimiento de las ramas; sin embargo, la etiología de la enfermedad sigue en estudio (Paterson, 2006).

3.4 USOS MEDICINALES E INDUSTRIALES DE LOS POLYPORALES

Dentro del grupo de los Polyporales, el potencial enzimático de hongos de podredumbre blanca ha sido intensamente investigado para aplicaciones biotecnológicas, como por ejemplo en el blanqueo de papel y pulpa, la producción de biocombustibles, tinción textil, decoloración y biorremediación (Navarro *et al.*, 2012). La familia Polyporaceae incluye un gran número de especies útiles en biotecnología debido a la presencia de hifas bien desarrolladas con capas de glucano (Zimitrovich, 2010). La hifas pueden activar enzimas celulasas que permiten la bioconversión de la celulosa, proceso necesario para la obtención de biocombustible (Martínez-Anaya *et al.*, 2008; Pontón, 2008).

Varios miembros del orden exhiben propiedades medicinales y aplicaciones industriales. *G. lucidum* ha sido extensamente estudiado por su uso en la medicina tradicional asiática. Se consume, por lo general, en forma de té o diferentes extractos, ayuda en la prevención y el tratamiento de una variedad de enfermedades, y su efectividad ha sido recientemente confirmada científicamente (Harhaji *et al.*, 2009). De esta forma se ha demostrado que los extractos de *G. lucidum* a partir de esporocarpos, esporas, y micelios exhiben fuertes efectos positivos en el tratamiento de la diabetes, hepatitis, enfermedades del corazón, hipertensión, infecciones bacterianas y virales, la neurastenia, el SIDA y las diferentes formas de cáncer (Harhaji *et al.*, 2009). Los principales compuestos medicinales de *G. lucidum* son polisacáridos y triterpenoides (Harhaji *et al.*, 2009). Un extracto de metanol que contiene terpenoides totales (GLme) y un extracto de metanol purificado que contiene terpenoides principalmente ácidos (GLpme) fueron probados para la inhibición de células cancerígenas en ratones en tejido *in vitro* e *in vivo*, con resultados favorables para detener la

producción de células cancerígenas (Harhaji *et al.*, 2009). Dentro de este género, *G. applanatum* también ha exhibido propiedades antitumorales y actividad inmunomoduladora (Jeong *et al.*, 2008). Otro ejemplo en usos medicinales es *Polyporus umbellatus*, cuyo cuerpo fructífero es comestible. El esclerocio se ha usado en la medicina tradicional china durante siglos. Polisacáridos obtenidos de los esclerocios de *P. umbellatus* han mostrado actividad antitumoral e inmunomoduladora (Xing *et al.*, 2013). Pruebas de extractos crudos de *P. umbellatus* se han realizado para tratar problemas asociados a la función renal (Zhao, 2013). *Trametes hirsuta* es otro ejemplo de especie con aplicación industrial. Este degrada una amplia variedad de colorantes sintéticos de manera eficiente, lo cual hace que este biocatalizador sea muy adecuado para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil. Esta especie también ha sido utilizada en la obtención de enzimas lacasas a partir de desechos de alimentos, como la cáscara de papa (Rosales *et al.*, 2002).

3.5 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El Parque Nacional Yasuní (PNY) y el territorio indígena Huaorani adyacente, cubren 1,6 millones de hectáreas de bosque y forman el área protegida más grande de la Amazonía del Ecuador (Valencia *et al.*, 2004) (Anexo 2). El parque está casi nivelado en alrededor de 200 m.s.n.m., atravesado por numerosas crestas crecientes de 25-40 metros por encima de los arroyos del bosque. Grandes ríos fluyen al este para encontrarse con el Napo y el Amazonas. A excepción de las zonas de pantano y temporalmente inundadas de los grandes ríos, la vegetación en general es visualmente homogénea, siempre verde, ya que en bosques de tierra firme se carece de grandes disturbios y claros de bosque. El dosel del bosque inicia desde 10-

25 metros de altura hasta 40 y rara vez 50 metros de altura; también se pueden encontrar pequeños claros generados por la caída de árboles (Valencia *et al.*, 2004). El clima del PNY no presenta temporadas marcadas en cuanto a precipitación y temperatura. La precipitación media anual es de 2.826 mM, y en ninguno de los 12 meses del año la precipitación baja de <100mM; las temperaturas medias mensuales son de una máxima de 34°C y una mínima de 22°C (Valencia *et al.*, 2004).

La recolección de las muestras de hongos se realizó en la Parcela Permanente de 50 hectáreas ubicada en la Estación Científica Yasuní (ECY), misma que es operada por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. La parcela está ubicada en las coordenadas 0° 41' de latitud S, 76° 24' de longitud W, al sur del río Tiputini, con una altitud que oscila entre 216 hasta 248 m.s.n.m., e incluye dos crestas separadas por un valle. Además, hay otra sección atravesada por un valle en la frontera norte. El valle principal se inunda por períodos cortos de tiempo (Valencia *et al.*, 2004). Dentro de la parcela existen dos ambientes topográficos característicos: valle y colina. Además de los ambientes topográficos, la parcela incluye un pequeño pantano (1,7 ha) asociado a una depresión donde crece la palma *Mauritia flexuosa*. Cuenta también con una colina en el extremo suroccidental de la parcela, que presenta un parche de bosque secundario (0,48-ha) dominado por *Cecropia sciadophylla*; este parche de bosque secundario corresponde a un antiguo helipuerto abierto para facilitar la prospección petrolera alrededor del año 1987 (Valencia *et al.*, 2004). La parcela de 50 ha del proyecto “Dinámica de Bosque Yasuní” está asociada a una red mundial de parcelas permanentes (40 aproximadamente) cuyo objetivo principal es conocer la dinámica temporal y espacial de miles de especies de plantas y confrontarla con teorías ecológicas. Para la parcela existe información de identificación de cada árbol con un DAP (diámetro a la altura del pecho)

mayor a 1 cm de diámetro. Cada cinco años los árboles censados originalmente son buscados para volverlos a medir o registrar su muerte, a la vez que se incluyen los nuevos árboles con un DAP \geq a 1 cm. Esta información permite analizar la distribución espacial de las especies y sus cambios demográficos (reclutamiento, crecimiento y mortalidad), datos que proveen información a nivel de comunidad como diversidad y tasa de recambio (Valencia *et al.*, 2004).

La presente investigación pretende contribuir al conocimiento de la diversidad de hongos Polyporales en el Parque Nacional Yasuní. El estudio se enfocará en comparar la diversidad de Polyporales entre dos áreas de bosque con diferente composición de especies vegetales: la primera denominada como “área de bosque intervenido” donde domina *Cecropia sciadophylla* especie vegetal propia de bosques intervenidos y la segunda denominada “área de bosque primario” dominada por especies vegetales propias de un bosque maduro. El conocimiento sobre Polyporales en el Ecuador es escaso, y estudios acerca de su importancia en la composición y dinámica del bosque, además de los usos potenciales a nivel medicinal, y propiedades biotecnológicas, son fundamentales.

3.6 OBJETIVOS

3.6.1 OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento de la diversidad de Polyporales en el Parque Nacional Yasuní mediante la comparación de la diversidad de hongos Polyporales encontrada en un

área de bosque intervenido dominada por el género *Cecropia* con aquella encontrada en un área de bosque primario, dentro de la Estación Científica Yasuní.

3.6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Colectar hongos del grupo Polyporales en dos tipos de bosque: intervenido y primario dentro de la Estación Científica Yasuní.
- Identificar mediante el análisis de secuencias del ADN y morfología a los individuos colectados en los dos tipos de bosque.
- Determinar la diversidad de especies Polyporales en un área de bosque intervenido y un área de bosque primario.
- Comparar la similitud de especies Polyporales encontradas en el bosque intervenido y en el bosque primario.
- Conocer la relación filogenética entre las especies de Polyporales ecuatorianas identificadas con especies Polyporales de otras regiones del mundo, usando árboles filogenéticos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 SITIOS DE MUESTREO

Se establecieron seis transectos de 100 metros de largo por 10 metros de ancho dentro de la Parcela Permanente de 50 ha: tres dentro de un área de bosque intervenido dominado por el género *Cecropia*, y tres en un área de bosque primario. El área de bosque intervenido es de alrededor de 0,5 ha de tamaño y presenta una mayor densidad por área de *C. sciadophylla* que un bosque primario (Valencia *et al.*, 2004) (Figura 1). Los transectos dentro del bosque intervenido se denominaron I1, I2 e I3 (Figura 2). Los transectos dentro del área de bosque primario se escogieron al azar dentro de la zona norte de la parcela. Estos transectos se denominaron P1, P2 y P3, y poseían líneas topográficas similares al área de bosque intervenido en una zona de pendiente (Figura 2). El establecimiento de los transectos se llevó a cabo durante el mes de marzo del 2013 y su distribución se puede apreciar en la Figura 2.

4.2 COLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LOS ESPECÍMENES EN EL CAMPO

Se realizaron colectas durante los meses de junio y septiembre 2013 a lo largo de los seis transectos. Los muestreos se hicieron a nivel de sotobosque centrándose en madera que presente algún grado de descomposición, a nivel del suelo, y en las raíces de árboles vivos y muertos. Las muestras se colectaron en papel aluminio o fundas de papel y se asignó una serie de campo. Antes de coleccionar los individuos se tomó una fotografía *in situ* y se registró el tipo de sustrato; de ser posible se identificó el hospedero donde se encontraban, así como otras características morfológicas del cuerpo fructífero del hongo como color, tamaño, forma del píleo, presencia o ausencia de estípites, y también características ecológicas como número de

individuos presentes, hospedero vivo o muerto, y grado de descomposición de la madera. Las colecciones fueron realizadas durante horas de la mañana de 9:00 a 12:00, y en la tarde de 14:00 a 17:00 horas. Se obtuvieron registros fotográficos adicionales de los cuerpos fructíferos y de los poros en el laboratorio para ayudar a la identificación taxonómica.

Se tomaron muestras de aproximadamente 2 cm² del cuerpo fructífero (estípito o píleo) y se guardaron en tubos eppendorf con etanol al 98%. Para muestras muy pequeñas, y si se tenían varios individuos de una misma muestra, un individuo completo se conservó en etanol al 98%; estas muestras posteriormente fueron usadas para la extracción de ADN. Se realizaron aislados de los cuerpos fructíferos en PDA (papa dextrosa agar) según la metodología estándar que se describe en el Anexo 3. Los cultivos puros también fueron usados para la extracción de ADN.

Luego de obtener muestras de tejido y ser fotografiados, los especímenes pasaron por un proceso de secado a 40° C por 48 horas, usando una caja de cartón que en la base contenía un foco incandescente. Este método de secado se usó en muestras pequeñas, mientras que las muestras grandes se secaron usando una secadora de madera que en la base contiene una hornilla eléctrica. Las muestras secas se las guardó en fundas *ziploc* y luego fueron mantenidas a -25° C por 8 días, con el fin de eliminar insectos o parásitos de los cuerpos fructíferos colectados. Posteriormente fueron ingresadas a la colección del Fungario QCA(M) de la PUCE.

4.3 OBTENCIÓN DE ESPORAS

Durante el mes de mayo del 2014 se realizó una salida de campo a la ECY con el fin de coleccionar esporas de Polyporales que presenten una morfología similar a los individuos coleccionados en los transectos muestreados en cada tipo de bosque. Se eligieron individuos que no muestren signos de descomposición. Se colocó papel aluminio rodeando el pñe y se lo dejó durante tres días. Los aluminios con las esporas se dejaron secar abiertos en una caja de cartón. Una vez secas las esporas se guardaron los aluminios en fundas plásticas debidamente etiquetadas. Los individuos de los que se obtuvieron esporas fueron coleccionados y procesados al igual que los individuos coleccionados en los transectos de ambos tipos de bosque, con su respectivo análisis molecular.

4.4 AISLADO PURO Y ALMACENAMIENTO DE CEPAS

Los cultivos obtenidos en el campo fueron reaislados en medio de cultivo PDA con un gramo de extracto de levadura por cada 500 mililitros de preparación. Las cajas se mantuvieron a 28° C en oscuridad durante 20 días. Se reaisló el cultivo hasta obtener un solo tipo de hifas en crecimiento, evidenciando la ausencia de contaminantes. Para utilizar los cultivos puros en la extracción de ADN se dejó crecer el micelio hasta ocupar el 50% del área de la caja. Se guardó a mediano plazo (24-36 meses) una copia de este cultivo puro en grano y tubo inclinado, según los métodos descritos en el Anexo 4. Los cultivos guardados a mediano plazo pasan a formar parte de la colección viva de micelios del Fungario QCA(M) de la PUCE.

4.5 EXTRACCIÓN DE ADN Y AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN ITS DEL ADN RIBOSOMAL

Para la extracción de ADN se utilizó el protocolo estándar con Tiocianato de Guanidina descrito en el Anexo 5. Una vez extraído el ADN, se determinó la calidad y la concentración de cada muestra utilizando un espectrofotómetro Nanodrop 1000 (Thermo Scientific). Se realizaron diluciones de ADN a 20ng/ μL con agua Milli-Q para la reacción de PCR.

La identificación de los individuos colectados se realizó en base al análisis filogenético de las secuencias de la región ITS (espaciador transcrito interno) del ADN ribosomal del hongo. La región que se amplificó incluía al ITS1, 5.8s, e ITS2. Se utilizaron los cebadores ITS-1F e ITS-4B (Gardes y Bruns 1993), específicos para hongos y basidiomicetes respectivamente, y los cebadores más generales ITS-1, ITS4 e ITS5 (White *et al.*, 1990), cuyas secuencias se describen en la Tabla 1.

Se trabajó con una reacción de PCR con un volumen final de 25 μL , para la cual se dispuso de: 1 μL de ADN (20ng/ μL) de la muestra a analizarse, 18,25 μL de agua Milli-Q, y 1X PCR Buffer (Invitrogen), 3 mM MgCl_2 (Invitrogen), 0,2 mM de dNTPs (Invitrogen), 0,2 μM de cada cebador y 0,1 U/ μL de Taq polimerasa (Invitrogen), en sus respectivas concentraciones finales. La reacción se llevó a cabo en un termociclador (Multigene Labnet), con el siguiente perfil de temperaturas: para la desnaturalización inicial se utilizó un ciclo de 94° C durante tres minutos, 35 ciclos de: 94° C por 30 segundos, 54° C durante por 30 segundos para el alineamiento y 72° C por un minuto (extensión); finalmente, un ciclo de 72°

C por 10 minutos (extensión final) y 4° C para la conservación de muestras. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1% (AGAR-LE500. AXYGEN Biosciences) en 0,5X TBE p.H. 8.3 (Tris Borato EDTA), separados mediante electroforesis durante 35 minutos, con un voltaje de 100 y un miliamperaje de 500, con una fuente de poder Enduro Power Supplies 300V (Labnet International Inc.). Los geles fueron teñidos por 10-15 minutos en una solución compuesta de 100 ml de Buffer TBE 0,5X y 10 µL del colorante SYBR Safe (DNA gel stain, Invitrogen). Las bandas se visualizaron a través de un transiluminador (Safe Imager, Invitrogen), y cada resultado fue fotografiado. Las muestras que mostraban presencia de una banda de alrededor 600pb fueron enviadas a la compañía Macrogen (Seúl, Corea) para su secuenciamiento, previo a un tratamiento con la enzima Exosap IT (USB Corporation) al 20% para la degradación de residuos de cebadores y nucleótidos. Para las muestras que no presentaron una banda en la electroforésis se repitió la PCR utilizando combinaciones alternas de cebadores.

4.6 ANÁLISIS DE SECUENCIAS

Las secuencias obtenidas se editaron con el programa Geneious 6.1.8 (Bio Matters LTD. Copyright © 2014). Se obtuvieron secuencias consenso de aproximadamente 700 pb que incluían la región ITS-1, 5.8S, e ITS-2 del ADNr. Se pudo confirmar el género y la especie de algunas muestras a partir de la comparación con secuencias disponibles en GenBank a través del programa BLASTn (<http://blast.cnbi.nlm.gov>) (NCBI 2014). El porcentaje de máxima identidad para designar especies fue sobre el 98%, tanto en cobertura como en identidad. Se descargaron secuencias de Polyporales disponibles en el GenBank que poseen la ubicación de

las regiones: ITS1, 5.8s, e ITS2 como guías en la edición de las secuencias obtenidas en este muestreo; así como se incluyeron en el análisis filogenético varias secuencias de las principales familias y especies de poliporales disponibles en GenBank, ver (Anexo 6).

Se construyeron 7 árboles filogenéticos en base al criterio de Máxima verosimilitud, según el cual se selecciona el árbol que posee la mayor probabilidad para explicar los cambios nucleotídicos que se observan entre las diferentes secuencias analizadas (Freeman y Herron, 2004). El modelo utilizado para especificar el cambio evolutivo entre las distintas secuencias en cada árbol fue escogido a partir del programa JModel Test 2.0.2. Los árboles fueron contruidos en Geneious 6.1.8, bajo el modelo de Substitución de *Custom*, con un bootstrap de 100 réplicas. El modelo de sustitución obtenido en el programa JModel Test 2.0.2 para cada árbol, el grupo externo utilizado, así como el número de secuencias usadas en cada árbol se describen en la Tabla 2.

4.7 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Se obtuvieron fotografías con microscopía electrónica de barrido del himenio, poros y basidiospras de algunas muestras de hongos colectados. El microscopio electrónico (modelo Hitachi HS 430), ubicado en el Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación, en el Departamento de Microscopía Electrónica en la ciudad de Guayaquil. Se siguieron los métodos descritos por Amano y Díaz (2012). Para preparar las muestras se tomó un pedazo de himenio de 0,5 a 1 cm² y se las montó sobre un pedazo de porta objetos utilizando una cinta adherente de doble lado, o un pegamento a base de plata. Las muestras pasaron por un

recubrimiento de metal para aumentar la emisión secundaria de electrones y para prevenir la sobrecarga eléctrica. Se revistió a los especímenes con una película delgada de oro, utilizando un evaporador de vacío Jeol JFC-1200, por un tiempo de 30 segundos. Las muestras recubiertas de oro se montaron en una placa de metal para ser observadas bajo el microscopio electrónico. Las muestras de basidiosporas fueron colocadas sobre un porta objetos que contenía una cinta adhesiva de doble lado. Se utilizó un pincel delgado para dejar caer las esporas sobre la cinta adherente. Estas muestras también pasaron por el proceso de recubrimiento con oro, utilizando el mismo equipo, pero por un tiempo de 20 segundos, debido a su menor superficie comparada con las muestras de himenio. Exceder el tiempo de recubrimiento con oro puede generar imágenes sobre expuestas con mucho brillo, y esto puede generar imágenes distorsionadas (Amano y Díaz, 2012).

Una vez localizada la estructura a observarse dentro del campo visual del microscopio, se procedió a tomar una fotografía regulando el brillo y contraste. Se reguló la aceleración de voltaje para cada imagen, dependiendo del zoom con el que se trabajó: a mayor zoom se requiere mayor aceleración de voltaje y a mayor voltaje se espera una mejor resolución y contraste en la imagen (Amano y Díaz, 2012). Las fotografías tuvieron un tiempo de exposición sobre los 90-100 segundos por foto. Las fotografías se tomaron utilizando una cámara digital externa que se enfocó sobre una pantalla JEOL MP 35031.

Las muestras analizadas con microscopía electrónica fueron representativas de cada familia, e incluyeron muestras que no lograron ser determinadas mediante técnicas

moleculares. Las muestras adicionales de esporas obtenidas fueron procesadas con el fin de tener un referente de comparación para la identificación de las esporas que se visualizaron a partir de tejido del himenio. Para obtener el tamaño promedio de poros y esporas se midieron 10 poros o esporas, se sumó los valores para cada estructura en cada individuo y se dividió para el número total de poros o esporas.

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para los análisis estadísticos de similitud y diversidad se tomaron en cuenta los individuos pertenecientes a los órdenes Polyporales e Hymenochaetales que fueron identificados taxonómicamente en base a las secuencias de ADN. Los taxones que no fueron identificados mediante técnicas moleculares no se incluyeron en los análisis estadísticos.

Se calculó el índice de similitud de Jaccard que sirve para medir la similitud entre grupos de muestras diferentes. Este índice no tiene en cuenta la abundancia individual de las especies y sólo compara la presencia o ausencia de una especie en cada tipo de bosque. La fórmula utilizada para este estadístico fue: $J = C/A+B-C$, donde: C = número de especies que los grupos comparten entre sí, A = número de especies presentes en el sitio a (área de bosque intervenido) y B = número de especies presentes en el sitio b (área de bosque primario). La similitud se mide entre áreas en una escala de 0-1, donde 0 representa que no hay similitud y 1 que son iguales (Real, 1999).

El índice de diversidad está formado por dos componentes: el número de especies o riqueza de especies, y la abundancia o equilibrio de especies (Bouza y Covarrubias, 2005). Para identificar la diversidad de especies en cada sitio se utilizó el índice de diversidad de Simpson, que está representado por la fórmula: $D = \sum_{i=1}^S ni (ni - 1) / N (N - 1)$, donde: S es el número de especies, N es el total de individuos presentes y n es el número de ejemplares por especie. Este índice pertenece a la clase aditiva, donde se usa el vector de *abundancia relativa* que determina la rareza de la especie (Bouza y Covarrubias, 2005). La prueba se la llevó a cabo utilizando el programa PAST versión 2.17c (Paleontological Statistics Software Package For Education And Data Analysis), disponible en la página web <http://nhm2.uio.no/norlex/past/download.html>. Se corrió el análisis independientemente para cada tipo de bosque para evaluar la diversidad presente en cada área. Los resultados se exponen en un rango de 0-1, donde 0 representa no diversidad y 1 infinita diversidad.

5. RESULTADOS

5.1 NÚMERO DE INDIVIDUOS COLECTADOS, FAMILIAS, GÉNEROS Y TAXONES PRESENTES EN CADA TIPO DE BOSQUE, SUSTRATO Y ESPECIES HOSPEDERAS

En el presente estudio se refirió a las muestras identificadas como taxones. Este término puede representar cualquier grupo de taxones comparables, por ejemplo, una familia de organismos, individuos, o cepas de una única especie o un conjunto de genes relacionados (Perdomo, 2011).

Se colectaron un total de 114 individuos en ambos tipos de bosque (Tabla 3). Se registraron 51 individuos en el área de bosque primario, y 63 individuos en el área intervenida de bosque dominado por *Cecropia*. En ambos tipos de bosque se identificaron en base al análisis genético 63 taxones; 39 tuvieron un solo registro, 16 en el área de bosque primario y 23 en el área intervenida. Once individuos fueron identificados en base a morfología hasta género, 7 en bosque primario y 4 en el área intervenida (Tabla 4). Cinco individuos identificados por morfología a nivel de orden; y tres individuos identificados mediante morfología a nivel de familia.

En el área de bosque primario 41 individuos correspondieron al orden Polyporales y 10 al orden Hymenochaetales. De los individuos colectados en área de bosque intervenido, 52 pertenecieron al orden Polyporales y 11 al orden Hymenochaetales. En la Figura 3 se muestra el número de individuos colectados por transecto, la Figura 4 muestra ejemplos de algunos cuerpos fructíferos de representantes de cada familia.

En el área de bosque primario de los 51 individuos colectados 42 pudieron ser identificados molecularmente; se reconocieron 6 familias, 13 géneros y 29 taxones, de los cuales 19 estaban presentes únicamente en esta área de bosque (Tabla 5). De los 64 individuos colectados en el área de bosque intervenido, 54 fueron identificados molecularmente; se reconocieron 7 familias, 16 géneros y 34 taxones; 24 taxones estuvieron presentes sólo en esta área de bosque (Tabla 6). Se encontraron 10 taxones compartidos en ambos tipos de bosque (Tabla 7).

La familia Polyporaceae fue la más frecuente en los dos tipos de bosque, con 47 individuos y 22 taxones, seguida de la familia Hymenochaetaceae con 19 individuos y 11 taxones, Meripilaceae 15 individuos y seis taxones, Meruliaceae 12 individuos y siete taxones. Las familias menos abundantes fueron: Ganodermataceae con cinco individuos y cinco taxones, Cystostereaceae con tres individuos y un taxón, y Phanerochaetaceae un individuo, un taxón; esta última familia estuvo presente sólo en el área de bosque intervenido, a diferencia de las anteriores que estuvieron presentes en ambos tipos de bosque (Figura 5).

Los géneros más abundantes y que estuvieron presentes en ambos tipos de bosque fueron: *Rigidoporus* con 13 individuos (nueve en el área primaria y cuatro en el área intervenida), *Phellinus* con 12 individuos (siete en el área primaria y cinco para el área intervenida), *Polyporus* con 11 individuos (siete en el área primaria y cuatro en el área intervenida), *Flaviporus* con ocho (cinco en el área primaria y tres en el área intervenida) y

Favolus con siete individuos (cuatro en el área primaria y tres en el área intervenida) (Figura 6).

El taxón más abundante encontrado fue *Polyoraceae* sp. 2, con nueve colecciones en ambos tipos de bosque, seguido de *Rigidoporus vinctus* con seis colecciones en ambos tipos de bosque, y *Phellinus* sp. 5 con cuatro colecciones en ambos tipos de bosque (Figura 7).

Un total de 98 individuos (85%) fueron encontrados sobre madera, y únicamente 17 (15%) se registraron en el suelo, aparentemente anclados a materia vegetal en descomposición, o raíces de plantas.

Para un total de 21 colecciones de poliporos fue posible identificar 15 hospederos que representan 13 especies distintas de árboles (Tabla 8). Se registraron 7 especies de árboles en el área de bosque intervenido, siendo *C. sciadophylla* y *Bellucia pentámera* las más comunes. En el área de bosque primario se identificaron 8 especies arbóreas. *Rinorea apiculata* registró 3 individuos diferentes creciendo sobre ella. La muestra identificada como *Hymenochaetaceae* sp. 1, fue la única que se registró creciendo sobre un hospedero vivo: *Pseudopiptadenia suaveolens* (Fabaceae Lindl.).

5.2 ANÁLISIS FILOGENÉTICO

Los resultados del análisis filogenético fueron usados para identificar los taxones resultantes de este estudio. Todos los árboles filogenéticos se generaron mediante el análisis de máxima verosimilitud con los modelos de sustitución detallados en la Tabla 2. El árbol

filogenético de todas las secuencias de ITS obtenidas para el orden Polyporales se muestra en la Figura 8, donde se distinguen seis familias del orden. Para visualizar los datos de mejor manera se generaron cinco árboles filogenéticos individuales para las familias Polyporaceae (Figura 9), Ganodermataceae (Figura 10), Meripilaceae (Figura 11), Meruliaceae (Figura 12), y Cystosteraeae (Figura 13). Además, se obtuvo un árbol a partir de las secuencias correspondientes al orden Hymenochaetales (Figura 14).

El árbol correspondiente al orden Polyporales que se presenta en la Figura 3, indica que los taxones se encontraron agrupados en clados conformados por sus familias correspondientes, a excepción de algunos miembros de la familia Polyporaceae que se muestran como clados parafiléticos. Las familias Meruliaceae y Meripilaceae formaron un clado monofilético, el cual se muestra como grupo hermano del clado conformado por *Porostereum* y *Cystidiodontia*. Hubo clados que incluyeron taxones presentes en ambos tipos de bosque, y también clados con taxones que se encontraron solo en un tipo de bosque. Estos resultados se detallan a continuación en la descripción de los árboles generados para cada familia.

En el árbol de la familia Polyporaceae (Figura 9) hubo clados con especímenes hallados en ambos tipos de bosque: *Corioloipsis* sp.1, *Favolus brasiliensis*, y *Polyporus* sp. 1; clados con especímenes encontrados sólo en el área de bosque primario: Polyporaceae sp. 1, *Favolus* aff. *brasiliensis*, *Favolus* sp. 1, *Fomes fomentarius*, *Earliella scabrosa*, *Pseudofavolus* sp., *Trametes membranaceae*, *Trametes* sp. 1, y *Polyporus* sp. 5, y clados que contienen

especímenes que fueron colectados sólo en el área de bosque intervenido dominado por *Cecropia*: Polyporales sp. 1, *Favolus* sp. 2, *Polyporus* sp. 4, *Polyporus* cf. *virgatus*, *Coriolopsis caperata*, Polyporaceae sp. 2, *Polyporus* sp. 3, *Polyporus* sp. 2 y *Polyporus* cf. *dictyopus*. El clado del Polyporaceae sp. 2 tiene como grupo hermano a un clado conformado por *Dichomitus* sp. de Estados Unidos y *Dichomitus squalens* con representantes de Suecia y Rusia; el clado conformado por diferentes especies de *Favolus* se muestra como monofilético, mientras que los clados que incluyen especies de *Polyporus* y *Coriolopsis* se muestran parafiléticos.

En el árbol que representa a la familia Ganodermataceae (Figura 10) no hubo clados formados por taxones presentes en ambos tipos de bosque; el clado conformado por un individuo colectado dentro del área de bosque primario es *Amauroderma schomburgkii* junto con dos individuos ecuatorianos y uno brasileño, y *A. aff. subresinosum*. La única secuencia del área de bosque primario corresponde a *G. aff. applanatum*, el cual tiene una diferencia genética de 0,32 con *G. applanatum* de China.

En el árbol de la familia Meripilaceae (Figura 11) el único clado con individuos presentes en ambos tipos de bosque incluyó a *Rigidoporus vinctus*, que fue el segundo taxón más abundante con 6 individuos colectados en los transectos y dos colectados en los senderos de la parcela. Meripilaceae sp. 3 formó un clado con dos individuos ecuatorianos uno colectado dentro del área de bosque intervenido y otro colectado fuera de los transectos, pero

dentro de la parcela. Los clados que incluyeron especímenes presentes solo en el área de bosque primario estuvieron conformados por *R. ulmarius* y *R. microporus*.

En el árbol de la familia Meruliaceae (Figura 12) se formaron clados con secuencias de individuos colectados en ambos tipos de bosque: *Flaviporus* sp. 2, *Flaviporus* sp. 1 y *Flaviporus* cf. *liebmannii*; y clados de individuos solo presentes en área de bosque intervenido: *Junghuhnia autumanale* y *Bjerkandera* sp. 1. Ningún clado estuvo formado únicamente por individuos colectados dentro del área de bosque primario.

En el árbol de la familia Cystostereaceae (Figura 13) el único clado formado por *Cystidiodontia* sp. 1 incluyó individuos de ambos tipos de bosque; el grupo hermano con *C. laminifera* de Costa Rica tuvo una distancia genética de 0,15.

Para el orden Hymenochaetales el árbol filogenético (Figura 14) contiene un clado conformado por *Phellinus* sp. 5 que incluye individuos encontrados en ambos tipos de bosque. Los clados con individuos colectados sólo en el área de bosque intervenido incluyeron a cf. *Coltriciella*, Hymenochaetaceae sp. 1, *Phellius* sp. 4, *Hymenochaete* cf. *cyclolamellata*, *H.* cf. *subferruginea* e *H.* cf. *yunnanensis*. Los clados con individuos colectados sólo en el área de bosque primario incluyeron a *Phellinus* sp. 1, *Phellinus* sp. 2 y *Phellinus* sp. 3.

5.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Un total de 30 muestras fueron analizadas mediante Microscopia Electrónica de Barrido, 24 a partir de tejido del himenio y seis muestras de esporas (Tabla 9). El promedio del tamaño y número de poros por milímetro linear, así como la descripción de las esporas u otras estructuras observadas se registraron para cada muestra de himenio. Para las muestras de esporadas se registró el tamaño y forma de la espora (Tabla 10).

Los diferentes tipos de basidiosporas registradas para el orden Polyporales se pueden observar en la Figura 15, y en la Figura 16 se observan basidiosporas de diferentes grupos taxonómicos registradas para Hymenochaetales y *Filoboletus* sp. Los cistidios en *Flaviporus* y *Favolus* se muestran en la Figura 17. En muestras de himenio, en ciertas ocasiones, se pudieron identificar varios tipos de hifas, así como la presencia de septos o ramificaciones en las mismas (Figura 18).

5.4 ÍNDICE DE SIMILITUD DE JACCARD E ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SIMPSON

El índice de Jaccard se utilizó para medir la similitud en cuanto a especies entre ambas áreas de bosque. El valor obtenido fue de 0,1886, lo que demuestra que las dos áreas de bosque tienen pocas especies en común y su similitud es baja (Figura 19).

Al aplicar el índice de diversidad de Simpson en cada tipo de bosque se obtuvo que para el área de bosque intervenido la diversidad fue de 0,9453 y para área de bosque primario la diversidad fue de 0,9546.

.

6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Existe una alta diversidad de hongos Polyporales en el Parque Nacional Yasuní. La semejanza en la composición de especies de hongos Polyporales entre un área de bosque intervenido dominado por *C. sciadophylla* y un área de bosque primario es baja. Las pocas especies compartidas entre áreas evidencia la alta diversidad de Polyporales e Hymenochaetales en bosques tropicales. La mayoría de especies de hongos encontradas son raras y poco frecuentes. Las secuencias de Polyporales de diferentes partes del mundo fueron útiles para la ubicación y designación taxonómica en grupos más grandes de las secuencias obtenidas en este estudio; sin embargo, no fue posible determinar taxonómicamente a nivel de especies a la mayoría de muestras.

6.1 DIVERSIDAD Y SIMILITUD DE ESPECIES

En ambos tipos de bosque la diversidad de especies de hongos Polyporales e Hymenochaetales fue alta, la mayoría de taxones solo se encontró una vez y pocas especies fueron compartidas entre el bosque intervenido y el bosque primario. La diversidad de hongos reportada para zonas tropicales es mayor que la diversidad en zonas templadas (Berrin *et al.*, 2012). Los hongos Polyporales tropicales han sido poco estudiados, y su ubicación taxonómica se ha complicado, a menudo, por la identificación errónea con hongos de zonas templadas (Birren *et al.*, 2012). En bosques tropicales de todo el mundo, las distribuciones de frecuencia de especies para muchos grupos taxonómicos indican que pocas especies son

comunes, ya que la mayoría de las especies se registran una sola vez (Gilbert *et al.*, 2002). En el presente estudio, en ambos tipos de bosque el 61% de taxones se registra una sola vez y éstas se encuentran restringidas a uno de los dos tipos de bosque. Un menor porcentaje de taxones están presentes en ambos tipos de bosque (16%). Sólo *R. vinctus* y Polyporaceae sp. 2. se encontraron con frecuencias superiores a seis colectas. Incluso para a este grupo de hongos, que en su mayoría están restringidos a crecer sobre madera en descomposición, se muestra una gran diversidad en bosques húmedos tropicales (Gilbert *et al.* 2002). Estos datos concuerdan con los datos de diversidad obtenidos en el presente estudio, ya que en ambas áreas el índice de diversidad de Simpson superó el 94%. En un estudio de diversidad de Polyporales e Hymenochaetales en la Amazonía brasileña se registraron 61 especies diferentes en tres transectos de 20 x 1000 metros y con cuatro muestreos realizados (Gómez-Silva, 2009). Si comparamos nuestros resultados de diversidad con los obtenidos por Gómez-Silva (2009) podemos concluir que en los transectos muestreados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní la diversidad es mayor que la del estudio mencionado anteriormente, considerando que el tamaño de transectos y el número de muestreos en este estudio fue considerablemente menor, pero se obtuvieron un total de 53 taxones diferentes colectados en los dos tipos de bosque. Gilbert *et al.* (2002) sugieren que la diversidad de hongos lignícolas encontrados en el bosque podría no ser una simple función entre la riqueza de especies hospedadoras disponibles, sino que la estructura de la comunidad de poliporos por si misma podría jugar un rol dominante, y estos a su vez podrían ayudar a desarrollar la comunidad vegetal.

La similitud de especies entre el bosque intervenido y el bosque primario fue baja, menor al 20%. Esto concuerda con lo anteriormente mencionado acerca de la frecuencia de especies raras, ya que la mayoría de especies tienen baja frecuencia, y generalmente se las encuentra una sola vez. Mientras que, los taxones compartidos en ambos tipos de bosque son especies relativamente comunes; entonces se esperaría que los hongos comunes se caractericen por amplios rangos de hospederos vegetales (Gilbert *et al.*, 2002). También, se esperaría encontrar especies comunes creciendo sobre especies vegetales pioneras y en especies propias de un bosque primario. Gómez-Silva (2009) comparó la composición de especies de poliporos entre las Reservas Porto Velho y Rondonia en la Amazonía brasileña, y a aunque ambas reservas presentan ecosistemas similares y se encuentran cerca, no existieron semejanzas significativas en cuanto a la composición de especies de hongos poliporos.

6.2 SUSTRATOS Y HOSPEDEROS

Si bien la parcela de 50 hectáreas en la Estación Científica Yasuní tiene la identificación de las especies de plantas leñosas con un DAP mayor a 1 cm., fue difícil determinar el hospedero de cada individuo muestreado, ya que la mayoría de individuos fueron colectados en pedazos pequeños de madera o ramas caídas, siendo imposible determinar el árbol de origen de éstos. Al encontrar la mayor cantidad de individuos sobre madera en algún grado de descomposición podemos concluir que este grupo de hongos son mayormente saprofitos de madera. Sólo P339 Hymenochaetaceae sp. 1 se registró creciendo a nivel del tallo sobre un individuo vivo de *P. suaveolens*, por lo tanto es considerado como el único hongo poliporo patógeno colectado en este estudio. Según Gilbert *et al.* (2002), sólo

una pequeña parte de los poliporos que ellos colectaron fueron propensos a ser patógenos primarios; sin embargo, cuando un mayor número de especies de hongos de una población se establece dentro de un hospedero en común, se deduce que una población de hospederos densa pueden ser más susceptibles de albergar un patógeno virulento dentro de su conjunto de hongos. Es importante conocer la manera en que hongos lignícolas seleccionan su hospedero vegetal, ya que afecta a los patrones de dispersión vegetal, a la dinámica de la población que dependen de la densidad hospederos, y a su vez al mantenimiento de la diversidad biológica y función en los ecosistemas (Gilbert *et al.*, 2008). En los bosques tropicales ricos en especies, la mayoría de especies de poliporos son poco frecuentes, y existe poca evidencia de especificidad de hospederos, incluso entre especies más comunes. Se observa lo contrario en ecosistemas de manglar, donde hay pocas especies de poliporos y mucha especificidad de hospederos por parte de los hongos. Se encontró mucha especificidad de hospederos en manglares tanto en Panamá como en Micronesia y baja especificidad de hospederos en bosques tropicales donde existe alta diversidad de hospederos (Gilbert *et al.*, 2008).

Los datos obtenidos en este estudio sugieren que *R. microporus* y *Favolus* sp. 2 podrían ser hongos generalistas, ya que éstos se encontraron creciendo en dos especies arbóreas no vivas diferentes y mostraron mayor frecuencia que las especies raras; además, *Favolus* sp. 2 se colectó en ambos tipos de bosque, mientras que *R. microporus* se colectó en los tres transectos dentro del bosque primario. En un estudio realizado en el bosque tropical de Barro Colorado en Panamá se comprobó que especies comunes tenían un amplio rango de hospederos arbóreos, considerando que la dispersión a un nuevo sustrato adecuado puede ser limitada (Gilbert *et al.* 2002). Se ha propuesto que la especificidad de hospedero en poliporos

puede ser desde generalista extrema a muy específica, aunque hay muy poca información para colecciones de poliporos tropicales (Gilbert *et al.* 2002). Un ejemplo de poliporos descritos con hospederos especialistas son aquellos encontrados en pino y abeto en Escandinavia, contrario a lo que se encuentra en China donde más de la mitad de hongos políporos se consideran generalistas (Gilbert *et al.* 2008). Esto evidencia flexibilidad en la selección de hospederos vegetales dependiendo del hábitat donde se encuentran. Es difícil llegar a una conclusión certera en cuanto a la especificidad de hospedero para las especies encontradas en este estudio, ya que, como se mencionó anteriormente, no fue posible identificar taxonómicamente a la mayoría de hospederos.

Se ha propuesto que la composición y distribución de hongos con características lignícolas están relacionadas a diversos factores ambientales tales como: altitud, humedad y frecuencia de precipitaciones, como se observa en los estudios de los bosques en Costa Rica (Gomes-Silva, 2009). Esto sugiere que más importante que la presencia de hospederos específicos, es la especificidad del hábitat la que determina de la distribución de los poliporos en diversos ambientes boscosos (Gilbert *et al.*, 2008). En el presente estudio, las condiciones ambientales fueron igual para los dos tipos de bosque, por lo que éstas posiblemente no influenciaron en la diferencia en la diversidad de especies registradas para cada área.

6.3 CARÁCTERÍSTICAS DEL BOSQUE INTERVENIDO Y PRIMARIO

Luego de la perturbación de un área de bosque, el proceso de recuperación puede ser muy complejo, ya que ocurren procesos simultáneos de perturbación y recuperación que actúan en múltiples escalas temporales y espaciales. Algunos procesos de recuperación, tales como la acumulación de biomasa aérea, pueden ocurrir por décadas, mientras que otros, como la composición de especies, puede ocurrir durante siglos (Chazdon, 2003). Por ejemplo, en una parcela de 150 ha estudiada en la Isla de Barro Colorado en Panamá, para muchos considerado como "bosque primario", aun recupera su estructura y composición luego de impactos humanos que ocurrieron hace más de 300 años, y que llevaron al establecimiento de especies vegetales pioneras (Chazdon, 2003). La tala de árboles dentro del área de bosque intervenido analizado en este estudio ocurrió hace más de 27 años. Todavía se pueden observar árboles de madera dura en proceso de descomposición y la recuperación de biomasa compuesta por *C. sciadophylla* (Valencia *et al.* 2004). Gran cantidad de biomasa en descomposición, como troncos, ramas, etc., se encuentra disponible para la colonización y crecimiento de poliporos en el área de bosque intervenido, lo cual concuerda con la mayor cantidad de individuos colectados en esta área de bosque; de igual forma, en los transectos P1 y P2 en el bosque primario la mayor cantidad de colecciones de hongos se localizaron en troncos caídos en ciertos segmentos de los transectos.

Se considera a *Cecropia* el género más importante de árboles pioneros en el neotrópico, al crecer rápidamente y colonizar fácilmente claros en el bosque. La especie *C. sciadophylla* tiene una alta expectativa de vida en comparación con otras especies dentro del género, y su distribución es generalizada en toda la cuenca amazónica, la región de los Llanos de Colombia y Venezuela, y la región de Guayana, en área que presentan cierto grado de

disturbio (Zalamea *et al.* 2008). Dentro del área de bosque primario en la Parcela Permanente, también existen registros de *C. sciadophylla*. Esta especie se encuentra en zonas de pendiente, que son áreas propensas a la caída de árboles. En efecto, en los transectos P1 y P2 dentro del bosque primario se encontraron árboles caídos de manera natural, que generaron pequeños claros de bosque, brindando áreas ideales para el desarrollo de *C. sciadophylla*. Datos del censo 2002 en la Parcela Permanente de 50 ha en la ECY registran 22 *C. sciadophylla* en el transecto P2 (Anexo 7); a pesar de esto el disturbio generado en este transecto a causa de la caída natural de árboles no permiten clasificar estos claros como parte de un área intervenida o de bosque secundario.

En los transectos I1 e I3 en el bosque intervenido se registró la mayor cantidad de individuos poliporos, esto se puede relacionar con la mayor cantidad de árboles caídos en esta área. Al ser este grupo de hongos principalmente saprófitos, la presencia de una gran cantidad de troncos caídos brinda amplias superficies para colonización. Además, dependiendo de la calidad de la madera, estos troncos pueden persistir por décadas hasta que se concluya su degradación. Un menor número de individuos se encontraron en el transecto P3 dentro del bosque primario, en el cual no se observaron árboles caídos y el paisaje fue menos denso que los otros transectos muestreados dentro de área denominada como primaria. Existe un solo registro de *C. sciadophylla* en este transecto y se ubica en la zona baja de la colina. La cantidad de biomasa distribuida en el suelo en forma de ramas o troncos era menor que para los otros transectos muestreados dentro del área de bosque maduro, con el 50% de los hongos colectados en este transecto se hallaron anclados al suelo. Estos resultados sugieren que existe una mayor probabilidad de encontrar hongos poliporos en zonas con más cantidad de troncos

caídos. Así mismo, en el transecto P3 se encontró un menor número de individuos para los cuatro géneros vegetales considerados más abundantes dentro del Parcela (Anexo 7) (Valencia *et al.*, 2004), lo cual concuerda con las observaciones de menor densidad de especies arbóreas en ese transecto. La cantidad de Polyporales de características lignícolas e Hymenochaetales ectomicorrísicos fue muy similar en el transecto P3.

6.4 ANÁLISIS FILOGENÉTICO

El análisis molecular fue la herramienta taxonómica más importante en este estudio. Se utilizó a la región ITS para obtener una secuencia que permitió determinar los taxones de las colecciones de hongos obtenidas en cada tipo de bosque. Esta región se utiliza ampliamente como código de barras para hongos y es la región de elección para la exploración de la diversidad fúngica en muestras ambientales (Schoch *et al.*, 2012). La región ITS tiene un alto grado de variación y se amplifica fácilmente aún a partir de una pequeña cantidad de ADN (Koljalg *et al.*, 2013; Schoch *et al.*, 2012). En el presente estudio se obtuvo un buen porcentaje de éxito con el uso de esta región ya que se logró amplificar el ADN de la mayoría de las muestras de hongos obtenidos en el campo. Sin embargo, no fue posible designar especie a la mayoría de muestras en base al análisis molecular; esto surge de dos problemas recurrentes en la asignación taxonómica de secuencias de hongos tropicales generadas a partir de esta región: 1, debido a la carencia de datos publicados fiables, la asignación taxonómica de muchas secuencias cambia constantemente en la página del NCBI; y, 2, la falta de un nombre en latín disponible para muchas secuencias de hongos (Koljalg *et al.*, 2013). Esto se puede deber a que existe una carencia de estudios moleculares de hongos Polyporales en los trópicos,

por lo tanto, no hay suficiente información disponible en las bases de datos públicas como GenBank, para comparar con las muestras obtenidas en este estudio. Aquellas secuencias en las que se pudo determinar el género y la especie, fueron comprobadas con porcentajes de cobertura e identidad con valores superiores al 98%. Los problemas con el uso de secuencias de la región del ITS para determinar muestras ha sido mencionado por otros autores como Koljalg *et al.* (2013), donde la mayoría de secuencias que ellos analizaron no pudieron ser determinadas hasta nivel de especie.

Si bien la mayoría de individuos no pudieron ser descritos hasta nivel de especie, las relaciones filogenéticas mostraron clados con buen soporte dentro de las filogenias obtenidas. No fue el objetivo del presente estudio llegar a una identificación a nivel de especie de las muestras, sino determinar la diversidad de hongos Polyporales presentes en el área de estudio. Las designaciones taxonómicas dadas a las muestras fueron adecuadas para poder realizar los análisis de diversidad y similitud deseados. Dada la edad del reino de hongos y la alta diversidad genética, es poco probable que un sistema de código de barras de un solo marcador sea capaz de identificar cada muestra o cultivo de hongos a nivel de especie (Schoch *et al.*, 2012). En la actualidad, el aumento de la disponibilidad de datos a nivel del genoma de hongos ha transformado la micología. Ahora existen un mayor número genes que se pueden usar para abordar cuestiones ecológicas y sistemáticas, resolviendo la evolución de genes o familias de genes, como por ejemplo el de enzimas implicadas en la descomposición de la madera. Esto dará lugar a una mejor caracterización de aquellos hongos que degradan madera, como Polyporales (Binder *et al.*, 2013). Sería recomendable, en un futuro, realizar estudios

que incluyan loci adicionales para la identificación taxonómica de Polyporales, y tener un mejor estimado de la diversidad del grupo.

Las filogenias se mostraron consistentes al agrupar taxones pertenecientes a una misma familia; sin embargo, para P327M muestra ubicada en el clado de la familia Polyporaceae junto al género *Trametes* (Figura 8) la morfología no coincide con el resultado de su secuencia, la cual proviene de ADN a partir de un cultivo puro. Algo semejante se observó con P231 *Polyporus* sp. 5, que se encuentra agrupado en el mismo clado de *Trametes*; tanto en el árbol filogenético Polyporales (Figura 8) como en el árbol filogenético Polyporaceae (Figura 9). El resultado de la comparación de secuencias en BLAST obtenido para P231 y P327M dieron un alto porcentaje de similitud con *Trametes*, 90% de identidad y 91% de cobertura para P231 y 99% de identidad y 95% de cobertura para P327M; sin embargo, para ninguna de las muestras mencionadas anteriormente las características morfológicas no coinciden con las descritas para *Trametes*. Según Justo y Hibbett (2011) la morfología de *Trametes* no incluye un basidiocarpo estipitado y presentan pudrición blanca. Las muestras P231 y P3227M sí presentaron estípites. Sin embargo, Corner (1986) tuvo un concepto más amplio de *Trametes* e incluyó basidiocarpos estipitados de otros 15 géneros de los Polyporales que presentaban pudrición café. En la actualidad el clado Trametoide incluye géneros como *Pycnoporus*, *Coriolopsis* y *Lenzites*, que carecen de estípites. El análisis filogenético de estos géneros incluyen más de un marcador molecular y se propone el uso de un único nombre genérico “*Trametes*” para determinar todo el clado trametoide. Por lo tanto, se busca dividir el grupo en cinco o más géneros, pero los caracteres morfológicos son conflictivos. La taxonomía de este grupo sigue en discusión y más estudios se llevan a cabo

para un reordenamiento taxonómico que incluya análisis genético y morfológico (Justo y Hibbett, 2011). Sería prudente utilizar marcadores moleculares adicionales y realizar un análisis microscópico a nivel de hifas (buscando observar un sistema trimítico propio de *Trametes*) y de esporas para P231 y P3227M, con el fin de dar una asignación taxonómica adecuada.

Para 11 individuos de este estudio, no se pudo amplificar la región ITS. No se logró obtener ADN de alta calidad, lo que dificultó su amplificación. Esto pudo deberse a que el ADN fue extraído a partir de cuerpos fructíferos viejos. No se consideró prudente no coleccionar estos individuos y excluirlos del estudio por mostrarse viejos, ya que la comparación de diversidad y abundancia entre tipos de bosque hubiese presentado sesgo. Sin embargo, al no lograr amplificar la región ITS estos individuos no formaron parte del análisis estadístico. Se buscó determinar taxonómicamente a estas muestras usando microscopía electrónica, pero la calidad del cuerpo fructífero dificultó la identificación de estructuras que ayuden a una determinación taxonómica.

6.5 MICROMORFOLOGÍA

El uso de características micromorfológicas ha sido un recurso taxonómico importante desde hace mucho tiempo para la determinación taxonómica de hongos a nivel de especie. Las características ultraestructurales de la ornamentación de basidiosporas se consideran importantes en la delimitación de taxones de hongos (Yanaga *et al.*, 2012). Por ejemplo, para

la determinación de *G. lucidum* se utilizan las características morfológicas de las esporas y las hifas que componen el cuerpo fructífero (Adaskaveg y Gilbertson, 1986), características que sin una herramienta adecuada (microscopio) serían imposibles identificar. Se eligió la microscopía electrónica de barrido (SEM) por el detalle de las estructuras que se pueden visualizar en imágenes en 3D, como los ornamentos presentes en basidiosporas. Con este tipo de tecnología se puede hacer una búsqueda exhaustiva de las superficies de los himenios, y obtener una imagen de alta calidad en formato digital (Amano y Díaz, 2012). Además, fue una ventaja contar con la disponibilidad del equipo en el Departamento de Microscopía Electrónica en el INSPI ubicado en la ciudad de Guayaquil.

Mediante imágenes SEM fue posible identificar varias muestras colectadas, como por ejemplo Polyporaceae sp. 2. Las esporas encontradas sirvieron para determinar su ubicación dentro de la familia. Este taxón no pudo ser identificado hasta género. Las esporas de la familia Polyporaceae se caracterizan por ser hialinas, cilíndricas a elipsoides (Gilbertson, 1961), mismas características que fueron observadas bajo el microscopio electrónico en las muestras MICRO, P256, y P323. Es recomendable que para aprovechar de mejor manera el recurso de microscopía electrónica, las muestras a analizarse estén en un estado de esporulación activa.

6.6 ¿POR QUÉ HAY OTROS ÓRDENES COLECTADOS?

Durante las recolecciones de campo realizadas se encontraron individuos de los órdenes Hymenochaetales, Russulales y Corticiales. Estos órdenes están cercanamente relacionados a los Polyporales y presentan varias características similares, por lo que al momento de la colección se pensó que eran Polyporales. Análisis filogenéticos ubican a los Polyporales dentro del clado Homobasidiomycetes, con los órdenes antes mencionados formando un grupo monofilético (Matheny *et al.*, 2007) (Anexo 8). El basidiocarpo poroso y su asociación a madera viva o muerta fue una de las características principales que se tomó en cuenta al momento de coleccionar los hongos en el campo; sin embargo, el tipo de basidiocarpo poroso no es una característica exclusiva de los Polyporales, y está presente tanto en Hymenochaetales, Russulales y Corticiales (Binder *et al.*, 2013). El orden Hymenochaetales incluyen hongos con basidiocarpos resupinados y porosos, muy similares a los Polyporales, pero sus diferencias se dan a nivel microscópico, específicamente en la morfología de los cistidios (Matheny *et al.*, 2007). Los Polyporales en general tienden a ser especies de pudrición blanca (Eastwood *et al.* 2011), mientras que los Hymenochaetales tienden a ser especies de pudrición café (Larsson *et al.*, 2006). Si bien los Polyporales se clasifican como especies saprófitas en su mayoría (Binder *et al.*, 2013), los Hymenochaetales comúnmente colonizan árboles vivos, y pueden mostrar una estrategia de vida del tipo parasitaria (Larsson *et al.*, 2006). Esto se evidencia con P339 Hymenochaetaceae sp. 1 que se encontró creciendo sobre el tallo de un hospedero vivo.

Debido a las similitudes morfológicas y ecológicas, así como a la importancia a nivel económico en la producción de metabolitos secundarios usados en la producción de fármacos, y otros usos a nivel biotecnológico (Larsson *et al.*, 2006), se incluyó a los Hymenochaetales

dentro del análisis estadístico. Se recalca la relevancia de realizar futuros estudios centrados en este orden, ya que según los análisis filogenéticos descritos en la presente investigación, se observó que muchas especies no han sido descritas, lo que deja mucho por explorar dentro de los Hymenochaetales.

6.7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La diversidad de Polyporales en la Estación Científica Yasuní es alta, y se esperaría que aún se puedan identificar un mayor número de especies, tomando en cuenta que sólo se muestrearon seis transectos de 10 x 100 metros y que se encontraron diferentes taxones presentes en colecciones realizadas fuera de los transectos en cada tipo de bosque.

Las herramientas moleculares y morfológicas para la determinación taxonómica fueron de utilidad para identificar los taxones presentes en cada tipo de bosque. A pesar de esto no se logró identificar la totalidad de muestras colectadas, por lo que se sugiere utilizar marcadores moleculares adicionales, así como técnicas microscópicas en futuras investigaciones, para lograr la identificación de todos los individuos muestreados.

Se encontraron varias especies potencialmente nuevas de Polyporales e Hymenochaetales para el Ecuador, y se consideran especies potencialmente nuevas debido a que sus secuencias no coinciden con otras disponibles en el GenBank, que forman clados

separados y que su morfología presenta poca concordancia con otras descritas en otras regiones del mundo. Estas especies podrían ser descritas en futuras investigaciones.

El bosque primario y el bosque intervenido presentaron alta diversidad de especies, la frecuencia de la mayoría de especies es baja. La abundancia de las especies puede estar determinada por la disponibilidad de materia orgánica en descomposición para el crecimiento de Polyporales saprófitos.

Hubo poca similitud de especies entre ambos tipos de bosque. Se sugiere más muestreos dirigidos hacia especies de hongos creciendo en especies arbóreas pioneras y en especies arbóreas propias de bosques primarios, para determinar si existe asociación de los hongos con el tipo de bosque.

Se evidencia la carencia de investigación a nivel molecular de Polyporales e Hymenochaetales en el neotrópico, ya que la mayoría de secuencias disponibles en GenBank provienen del continente asiático.

Pocos estudios se han llevado a cabo en cuanto a la taxonomía de Polyporales en el Ecuador y tomando en cuenta la alta diversidad y los potenciales usos medicinales y biotecnológicos, así como el importante rol como descomponedores que desempeñan en

sistemas forestales donde promueven el ciclo de nutrientes, se sugiere la continuidad de investigaciones de este grupo de hongos.

Este estudio representa un primer aporte al conocimiento de la diversidad de Polyporales e Hymenochaetales presentes en una región de la Amazonía ecuatoriana, pero poco o nada se sabe de la diversidad de estos órdenes en otros ecosistemas forestales en otras regiones del Ecuador.

7. LITERATURA CITADA

- Adaskaveg, J.E. & Gilbertson, R.L. 1986. Culture studies and genetics of sexuality of *Ganoderma lucidum* and *G. tsuagae* in relation to the taxonomy of the *G. lucidum* complex. **Mycologia** 78 (5): 694-705.
- Ainsworth, G.C., Benny, G.L., Cannon, P.F., Demoulin, V., Dick, M.J., Elsie, W.C., Lichtwardt, R.W., Longcore, J.E., Mordue, J.E.M., Pando, M.F., Tavares, I.I., & Williams, M.A.J., 1995. Dictionary of the Fungi, International Mycological Institute. Oxon-UK.
- Amano, Y.J., & Diaz, L. 2012. Introducción a la Microscopia Electrónica: Principios y Aplicaciones. Instituto de Higiene y Medicina Tropical. Guayaquil-Ecuador.
- Bakshi, B. K., Reddy, M. A. & Singh, S. 1976. *Ganoderma* root rot mortality in khair (*Acacia catechu* Willd.) in reforested stands. **Europe Journal for Pathology** 6: 30-38
- Berrin, J.G., Navarro, D., Couturier, M., Olivé, C., Grisel, S., Haon, M., Taussac, S., Lechat, C., Courtecuisse, R., Favel, A., Coutinho, P.M., & Lesage-Meessen, L. 2012. Exploring the natural fungal biodiversity of tropical and temperate forest toward improvement of biomass conversion. **Applied and Environmental Microbiology** 78 (18): 6483–6490.
- Binder, M., Justo, A., Riley, R., Lopez-Giraldes, F., Sjökvist, E., Copeland, A., Larsson, E., Larsson, K.H., Townsend, J., Grigoriev, I.V., & Hibbett, D. 2013. Phylogenetic and phylogenomic overview of Polyporales. **Mycologia** 105(6):1350-1373.

- Brown, S. & Lugo, A.E. 1990. Tropical Secondary Forest. **Journal of Tropical Ecology** 6 (1): 1-36.
- Gardes, M., and T. D. Bruns. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. **Molecular Ecology** 2: 113-118.
- Gäumann, E.A. 1928. Comparative Morphology of Fungi, McGraw-Hill Book Company, Inc. New York-United States of America.
- Gilbert, G.S., Gorospe, J., & Ryvarden, L. 2008. Host and habit preferences of polypore fungi in Micronesian tropical flooded forest. **Mycological Research** 112: 674-680.
- Gilbert, G., Ferrer, A., & Carranza, J. 2002. Polypore fungal diversity and host density in a moist tropical forest. **Biodiversity and Conservation** 11: 947-957.
- Gilbertson, R.L., & Ryvarden, L. 1986. North America Polypores Volume 1, Fungiflora A/S. Norway.
- Gomes-Silva, A.C. 2009. Ecological aspects of poroid fungi (Hymenochaetales and Polyporales) in areas of the Amazonian forest, Porto Velho, Rondonia, Brazil. Anais do III Congresso Latino Americano de Ecología. Sao Lourenço-MG.
- Harhaji, L.M., Mijatovic, S.A., Maksimovic-Ivanic, D.D., Stojanovic, I.D., & Momcilovic, M.B. 2009. Anticancer properties of Ganoderma Lucidum Methanol Extracts in vitro and in vivo. **Nutrition and Cancer** 61(5):696-707.

- Jeong, Y.T., Yang, B.K., Jeong, S.C., Kim, S.M., & Song, C.H. 2008. *Ganoderma applanatum*: A promising mushroom for antitumor and immunomodulating activity. **Phytotherapy Research** 22:614-619.
- Justo, A. & Hibbett, D. S. 2011. Phylogenetic classification of *Trametes* (Basidiomycota, Polyporales) based on a five-marker dataset. **TAXON** 60 (6): 1567–1583.
- Koljalg, U., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Tedersoo, L., Taylor, A., Bahram, M., Bates, S.T., Bruns, T.D., Bengtsson-Palme, J., Callaghan, T.M., Douglas, B., Drenkhan, T., Eberhardt, U., Dueñas, M., Grebenc, T., Griffith, G.W., Hartmann, M., Kirk, P.M., Kohout, P., Larsson, E., Lindahl, B., Lücking, R., Martín, M.P., Matheny, P.B., Nguyen, N.H., Niskanen, T., Kabir, J.O., Peintner, U., Peterson, M., Poldmaa, K., Saag, L., Saar, I., Schüßler, A., Scott, J.A., Senés, C., Smith, M.E., Suija, A., Taylor, D.L., Telleria, T., Weiss, M., & Larsson, K.H. 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. **Molecular Ecology** 22:5271-5277.
- Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A.M. 2009. The phylogenetic handbook: A practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing. Cambridge University Press. New York- Estados Unidos.
- Martínez-Anaya, C., Balcázar, E., Datán, E., & Da Folch, J. 2008 Celulasas fúngicas: Aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética. **Revista Latinoamericana de Microbiología** 50 (3) (4): 119-131.
- Paterson, R.R.M. 2006. *Ganoderma* disease of oil palm – A white rot perspective necessary for integrated control. **Crop Protection** 26: 1369-1376.

- Pontón, J. 2008. La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. **Revista Iberoamericana de Micología** 25: 79-92.
- Ranadive, K.R. 2013. An overview of Aphylloporales (wood rotting fungi) from India, **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences** 2(12):112-139.
- Rosales, E., Rodríguez, S., & Sanromán, A. 2002. New uses of food waste: application to laccase production by *Trametes hirsuta*. **Biotechnology Letters** 24: 701–704.
- Ryvarden, L. 2004. Neotropical Polypores. Part 1. Introduction, Hymenochaetaceae and Ganodermataceae. 1:8-50.
- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L, Levesque, C.A., Chen, W., & Fungal Barcoding Consortium. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. **PNAS** 109 (16): 6241–6246.
- Valencia, R., Foster, R.B., Villa, G., Condit, R., Svennings, J.C., Hernández, C., Romoleroux, K., Losos, E., Magards, E., & Balslev, H. 2004. Tree species distributions and local habitat variation in the Amazon: large forest plot in eastern Ecuador. **Journal of Ecology**. 92:214-229.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White. Academic Press, Inc., New York.

- Xing, X., Ma, X., Hart, M., Wang, A., & Gou, S. 2013. Genetic diversity and evolution of Chinese traditional medicinal fungus *Polyporus umbellatus* (Polyporales, Basidiomycota). **Plos One** 8(3): eS8807.
- Zalamea, P.C., Stevenson, P.R., Madriñán, S., Aubert, P.M., & Heuret, P. 2008. Growth pattern and age determination for *Cecropia Sciadophylla* (Urticaceae). **American Journal of Botany**, 95 (3): 263-271.
- Zimitrovich, I.V. 2010. The taxonomical and nomenclatural characteristics of medicinal mushrooms in some genera of Polyporaceae. International Journal of Medicinal Mushrooms 12(1):87-89. **American Journal of Botany**. 95(3): 263–271.
- Zhao, Y. 2013. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetic and quality control of *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries: a review. **Journal of Ethnopharmacology**. 149(1):35–48.

8. FIGURAS

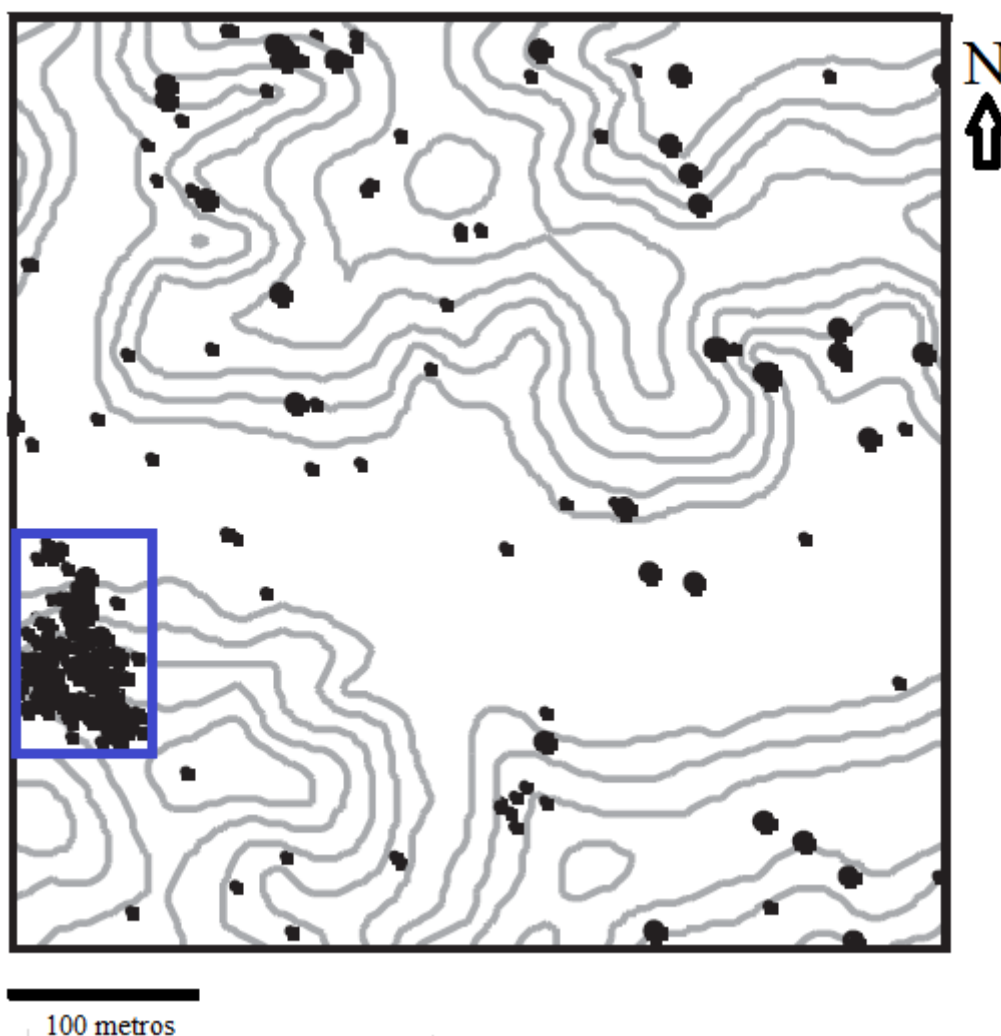


Figura 1. Distribución de *Cecropia sciadophylla* en la Parcela Permanente dentro de la Estación Científica Yasuní. Los puntos negros indican la ubicación de cada árbol de *C. sciadophylla*. El recuadro azul delimita el área de bosque intervenido donde se establecieron 3 transectos de 100x10 metros. Modificado de Valencia *et al.*, 2004, para ver más detalle (http://www.puce.edu.ec/sitios/yasuni/documentos/19_Valencia-2004-tree_species_dist.pdf).

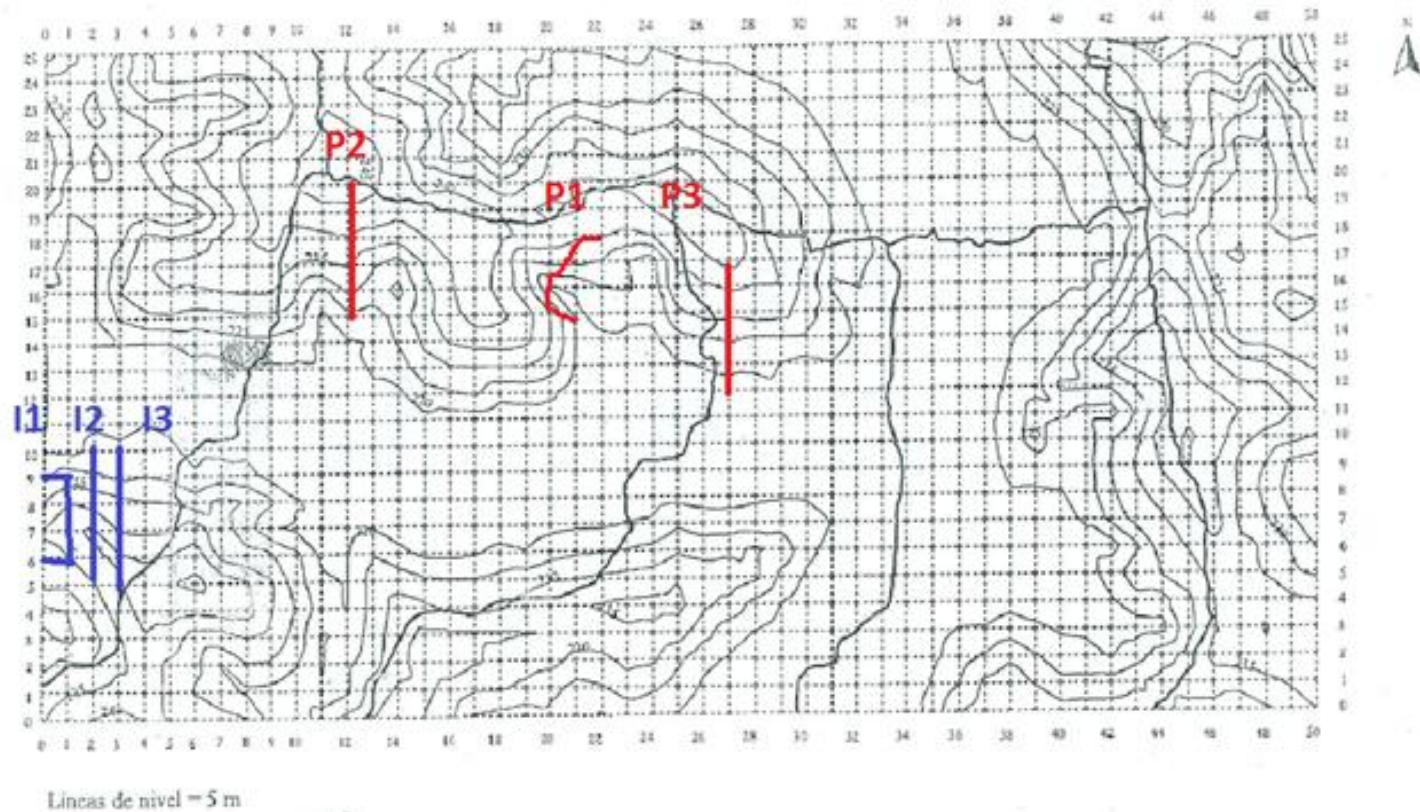


Figura 2: Ubicación de los transectos muestreados dentro de la Parcela Permanente dentro de la Estación Científica Yasuní. En azul se muestran los transectos que corresponden al área intervenida y en rojo los transectos del área de bosque primario. Las líneas entrecortadas representan cuadrantes de 20x20 metros. Mapa modificado del Proyecto Dinámica de Bosque Yasuní.

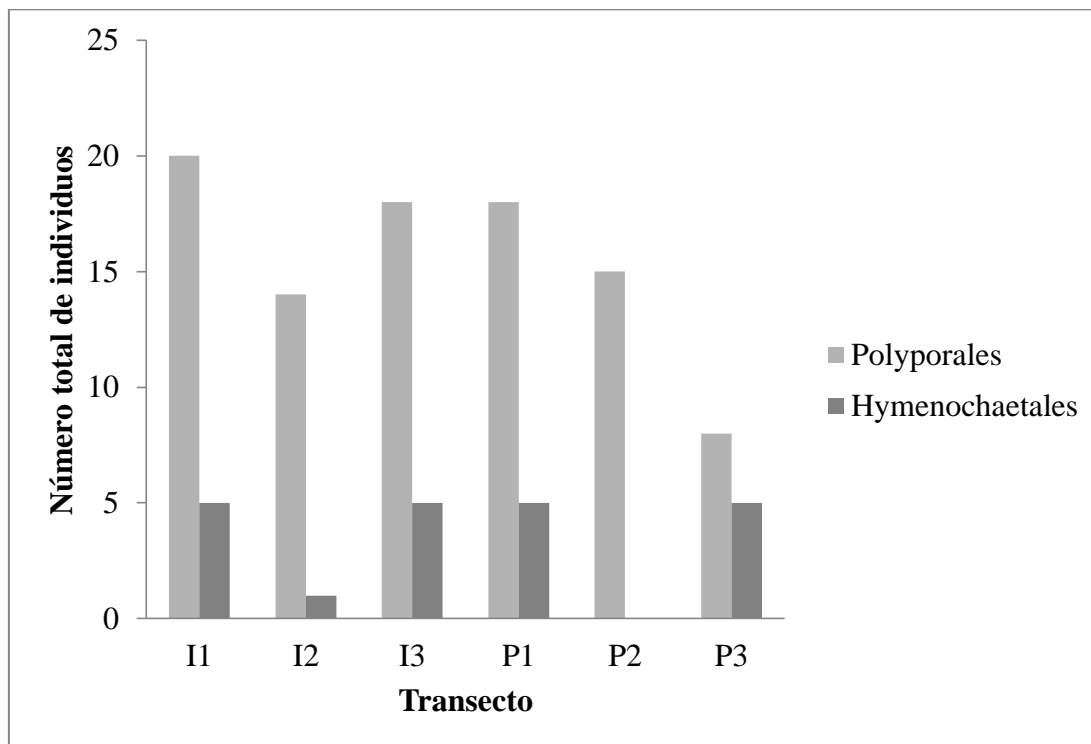


Figura 3. Número total de individuos pertenecientes a Polyporales por transecto, y número total de individuos Hymenochaetales por transecto, colectados en el bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní. Transectos dentro del bosque intervenido: I1, I2, I3; transectos dentro del bosque primario: P1, P2, P3.

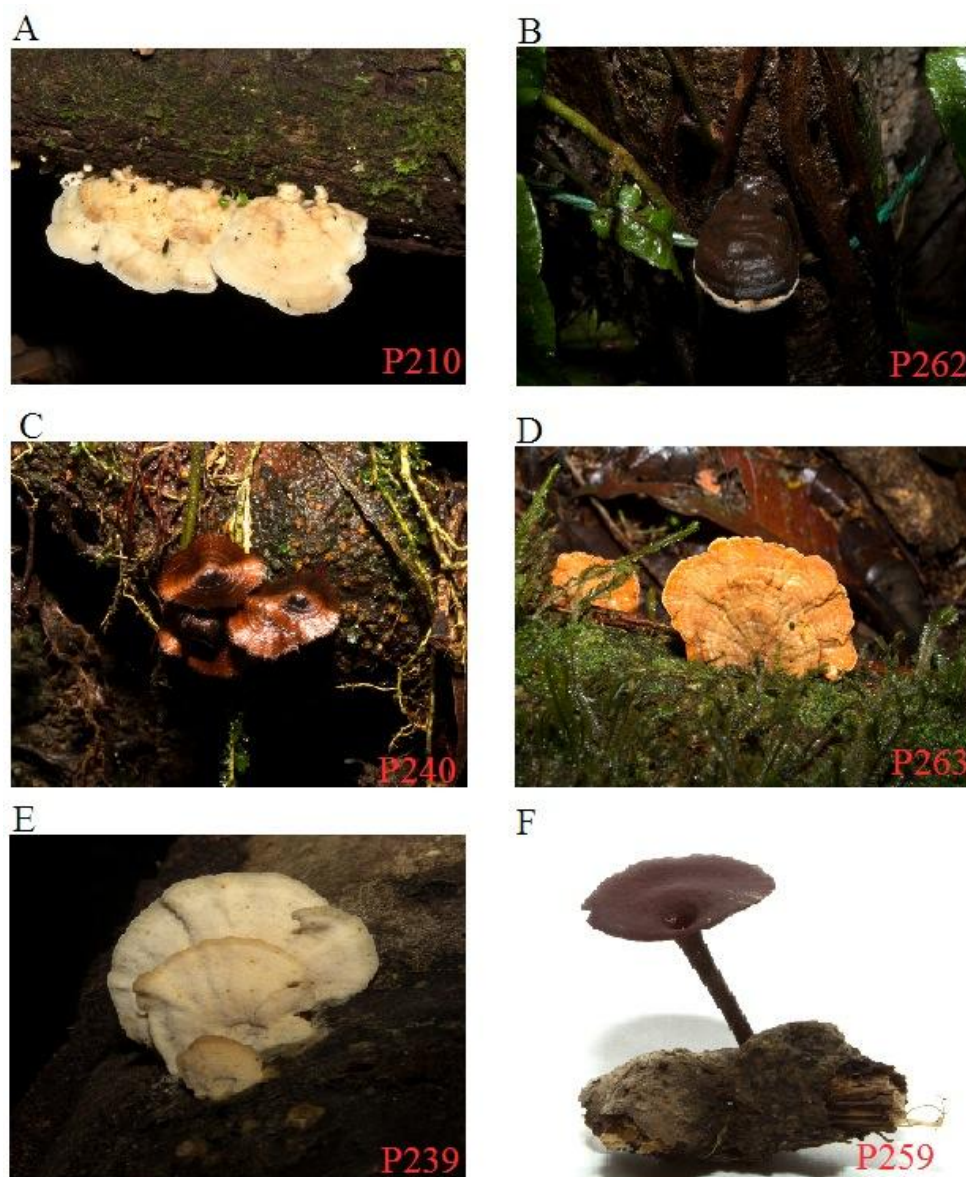


Figura 4. Ejemplos de algunos cuerpos fructíferos de hongos políporos de las familias colectadas en la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní. A. *Cystidiodontia* sp., familia Cystosteraceae; B. *Ganoderma* aff. *applanatum*, familia Ganodermataceae; C. cf. *Coltriciella*, familia Hymenochaetaceae; D. *Rigidoporus* aff. *vinctus*, familia Meripilaceae; E. *Junghuhnia autumnale*, familia Meruliaceae; F. *Polyporus* cf. *dictyopus*, familia Polyporaceae. Números en rojo representan la serie de campo.

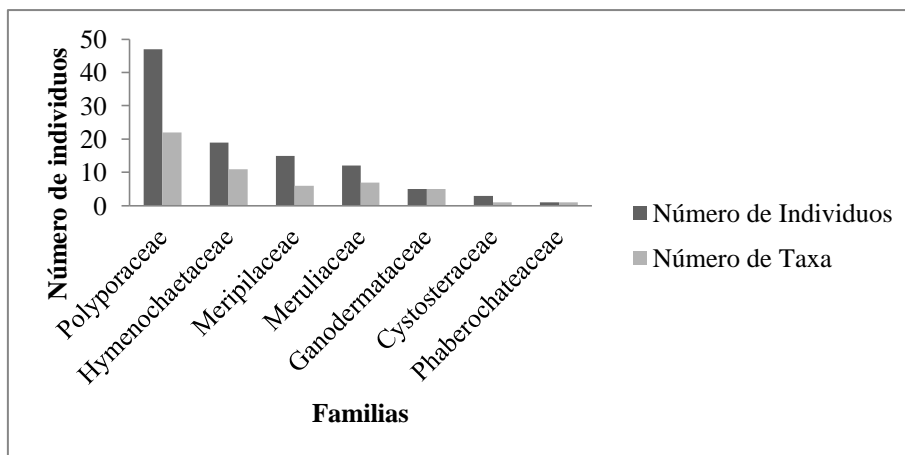


Figura 5: Número de individuos y número de taxones por familia colectados en todos los transectos dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.

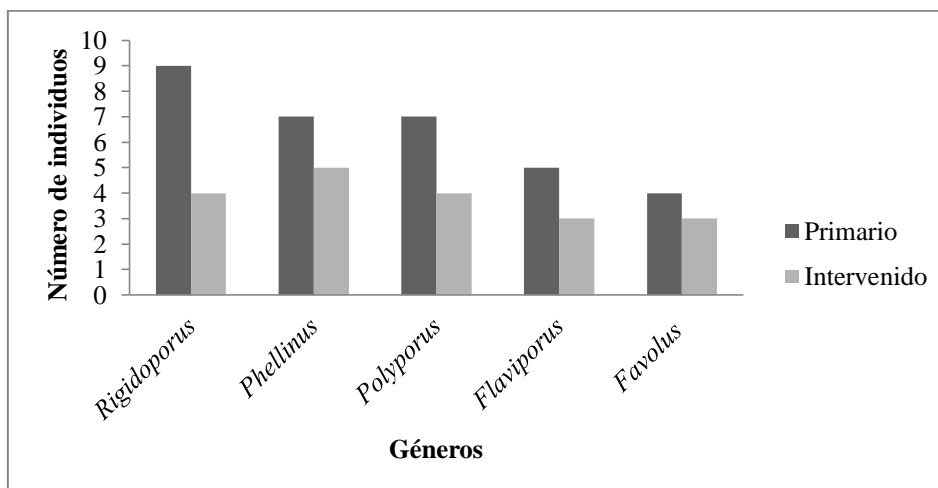


Figura 6: Géneros de Polyporales más abundantes colectados en el bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.

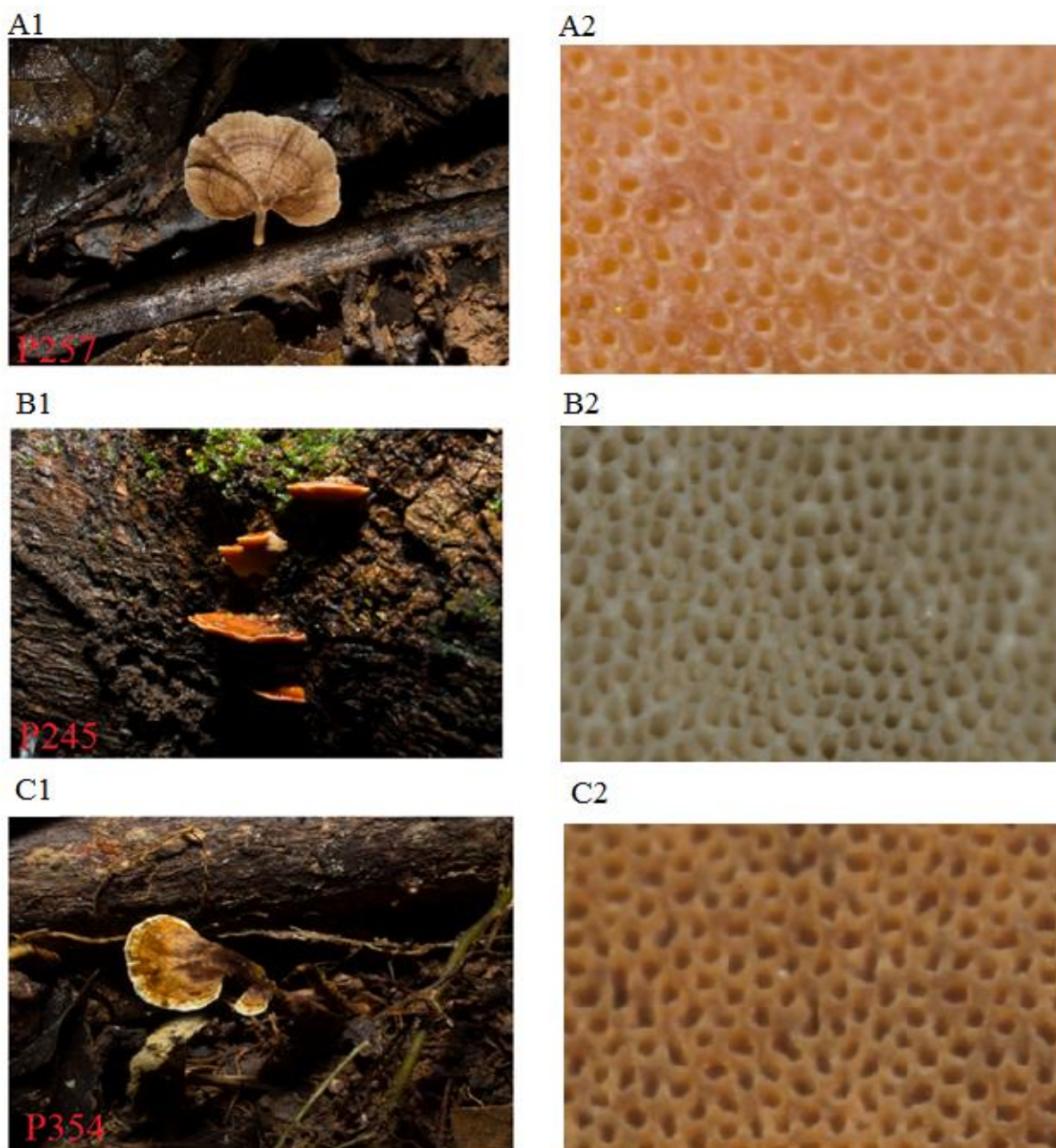


Figura 7. Cuerpos fructíferos de los taxones de hongos poliporos encontrados con mayor frecuencia en el muestreo realizado en la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní. A. Polyporaceae sp. A1 cuerpo fructífero y A2 superficie del himenio; B. *Rigidoporus vinctus*, B1 cuerpo fructífero y B2 superficie del himenio; C. *Phellinus* sp. 5, C1 cuerpo fructífero y C2 superficie del himenio. Números en rojo representan la serie de campo.

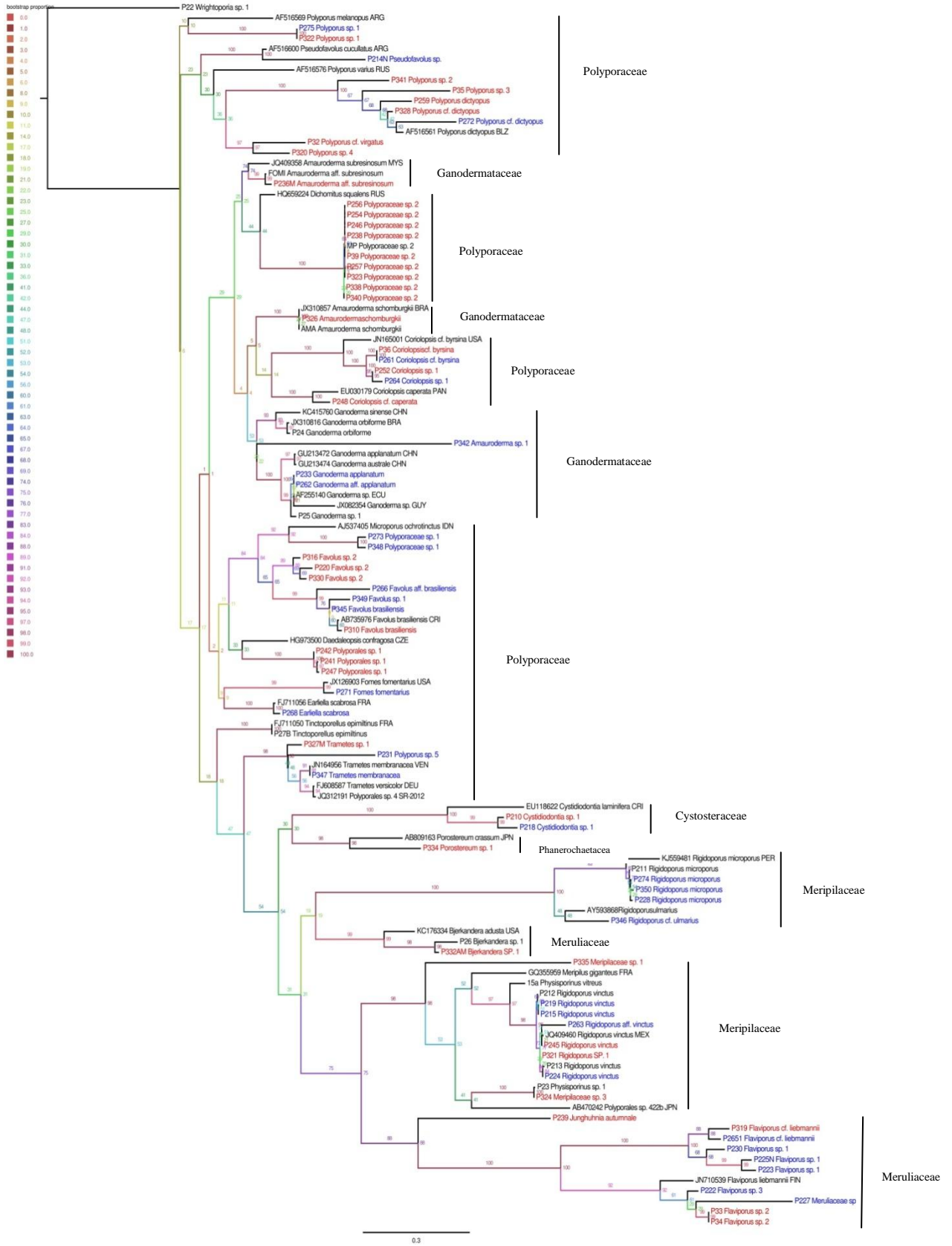


Figura 8: Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras del orden Polyporales obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS. Valores de *bootstrap* sobre el 70% se ven sobre los nodos. Los colores en cada rama representan el % de *bootstrap* obtenido, la leyenda de colores se visualiza en la parte izquierda del árbol. Líneas verticales negras muestran las familias. Individuos colectados en bosque primario se ven en azul y los colectados en bosque intervenido se ven en rojo. Muestras en negro fueron colectadas fuera de los transectos pero dentro de la Parcela, y también señalan muestras tomadas de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=>).

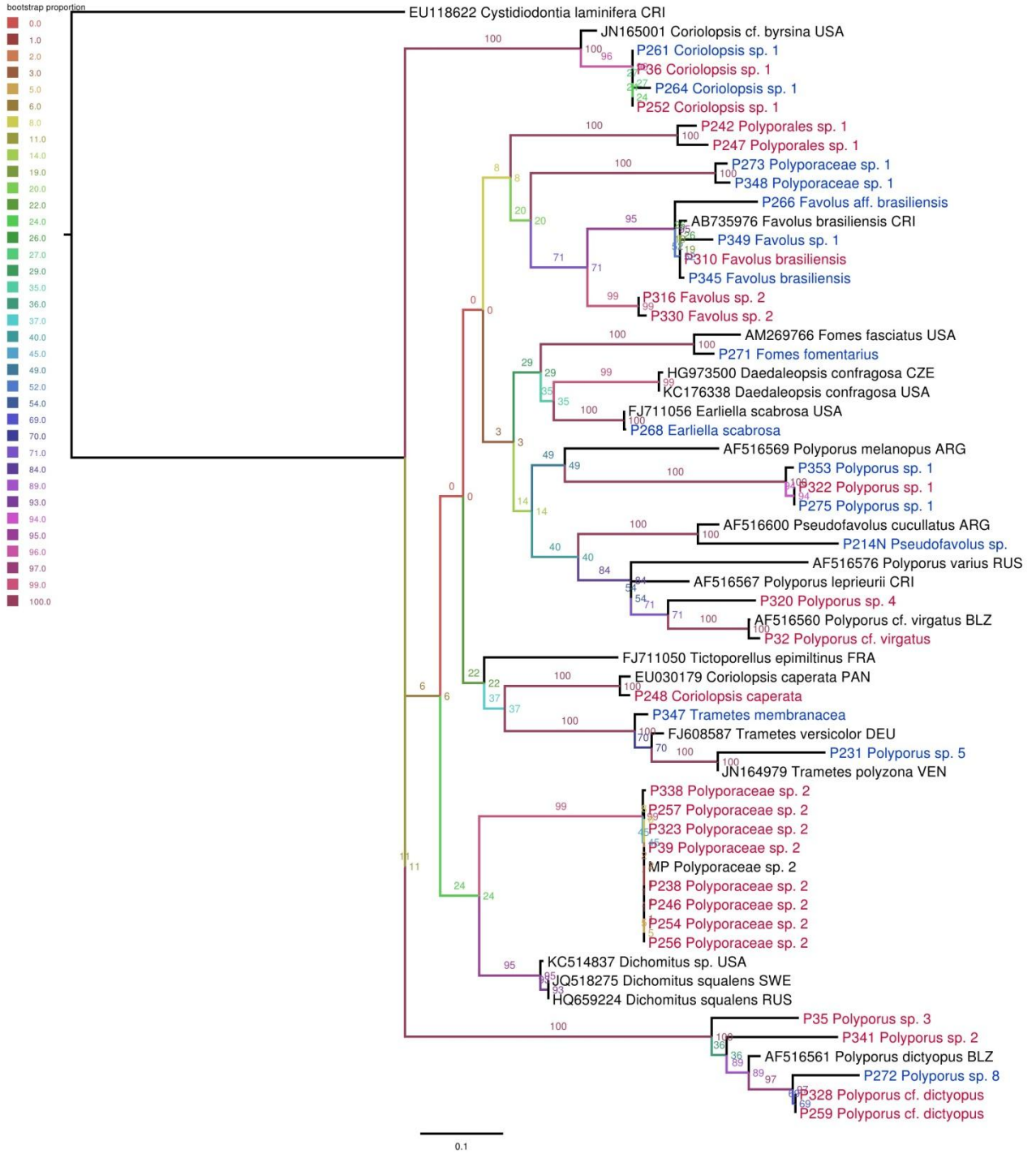


Figura 9: Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Polyporaceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS. Los colores en cada rama representan el % de *bootstrap* obtenido, la leyenda de colores se visualiza en la parte izquierda del árbol. Individuos colectados en bosque primario se ven en azul y los colectados en bosque intervenido se ven en rojo. Muestras en negro fueron colectadas fuera de los transectos pero dentro de la Parcela, y también señalan muestras tomadas de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=>).

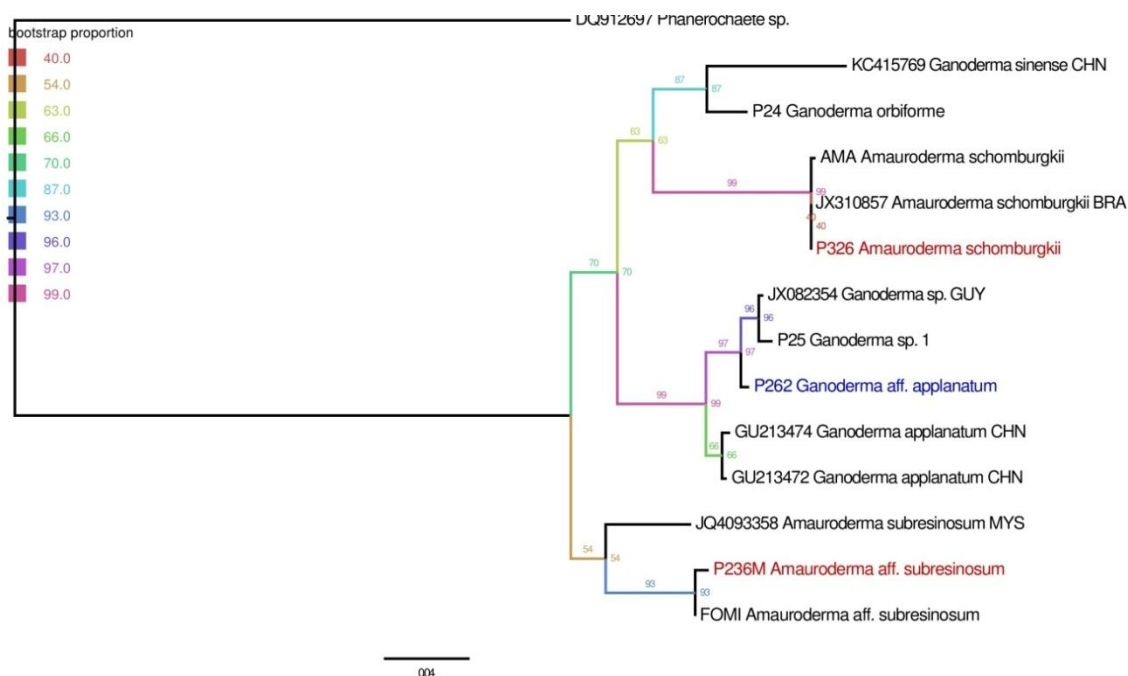


Figura 10: Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Ganodermataceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS. Los colores en cada rama representan el % de *bootstrap* obtenido, la leyenda de colores se visualiza en la parte izquierda del árbol. Individuos colectados en bosque primario se ven en azul y los colectados en bosque intervenido se ven en rojo. Muestras en negro fueron colectadas fuera de los transectos pero dentro de la Parcela, y también señalan muestras tomadas de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=>).

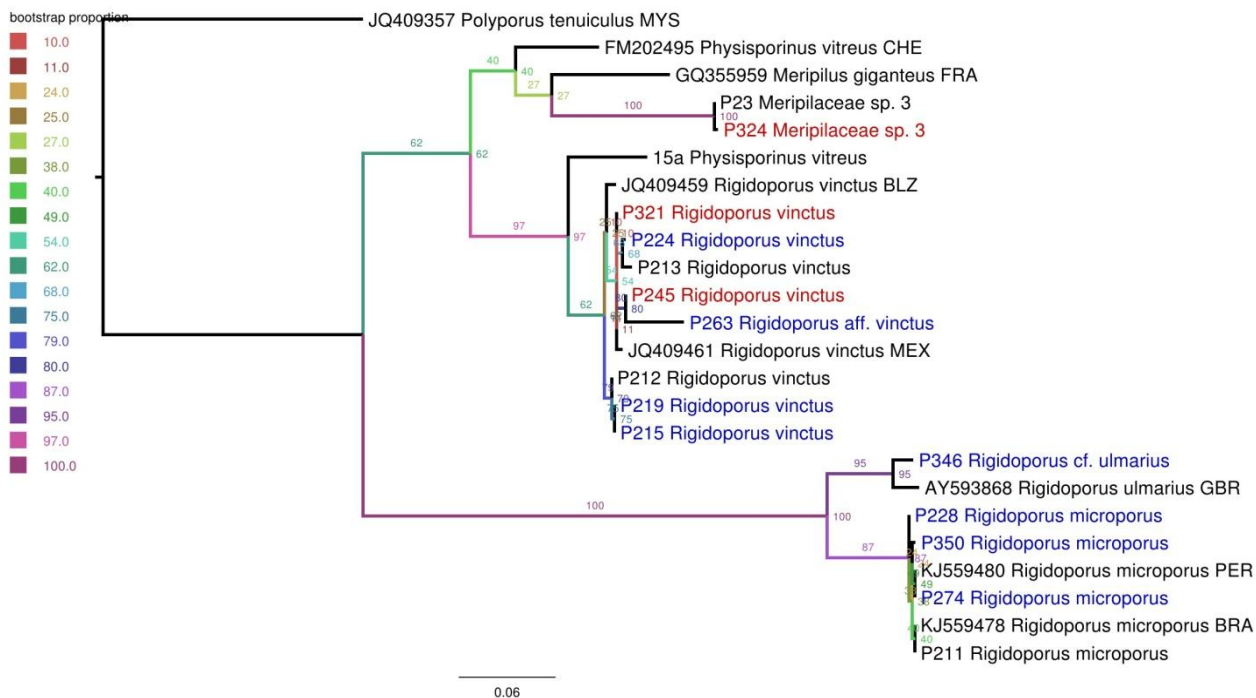


Figura 11: Filogenia **Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Meripilaceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS.** Los colores en cada rama representan el % de *bootstrap* obtenido, la leyenda de colores se visualiza en la parte izquierda del árbol. Individuos colectados en bosque primario se ven en azul y los colectados en bosque intervenido se ven en rojo. Muestras en negro fueron colectadas fuera de los transectos pero dentro de la Parcela, y también señalan muestras tomadas de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=>).

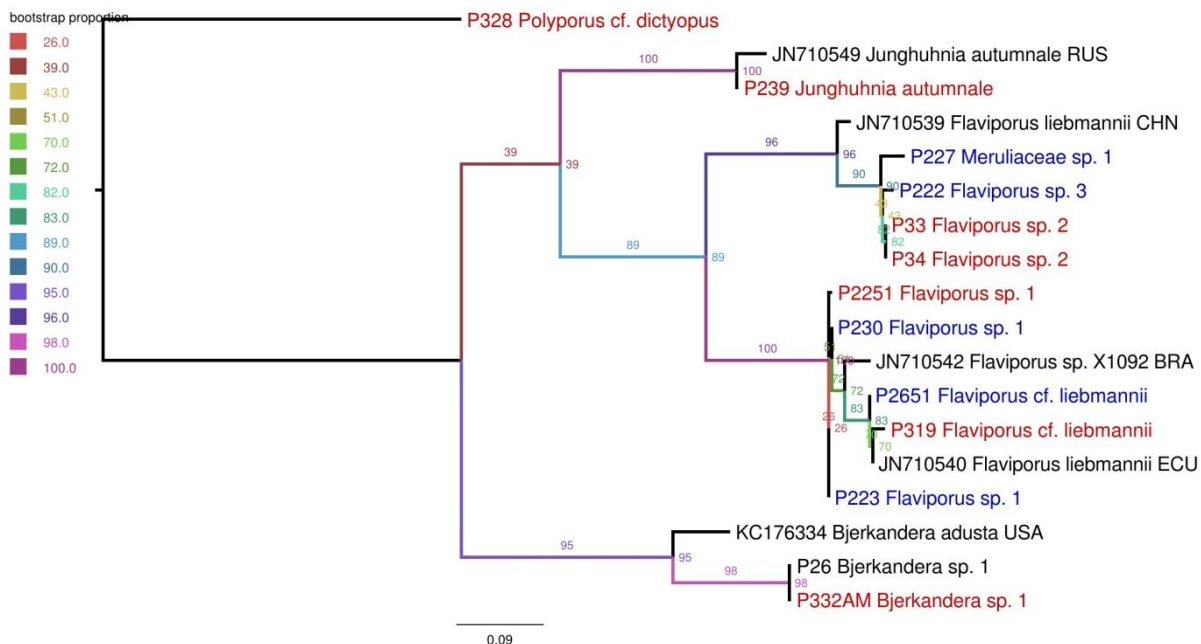


Figura 12: Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Meruliaceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS. Los colores en cada rama representan el % de *bootstrap* obtenido, la leyenda de colores se visualiza en la parte izquierda del árbol. Individuos colectados en bosque primario se ven en azul y los colectados en bosque intervenido se ven en rojo. Muestras en negro fueron colectadas fuera de los transectos pero dentro de la Parcela, y también señalan muestras tomadas de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=>).

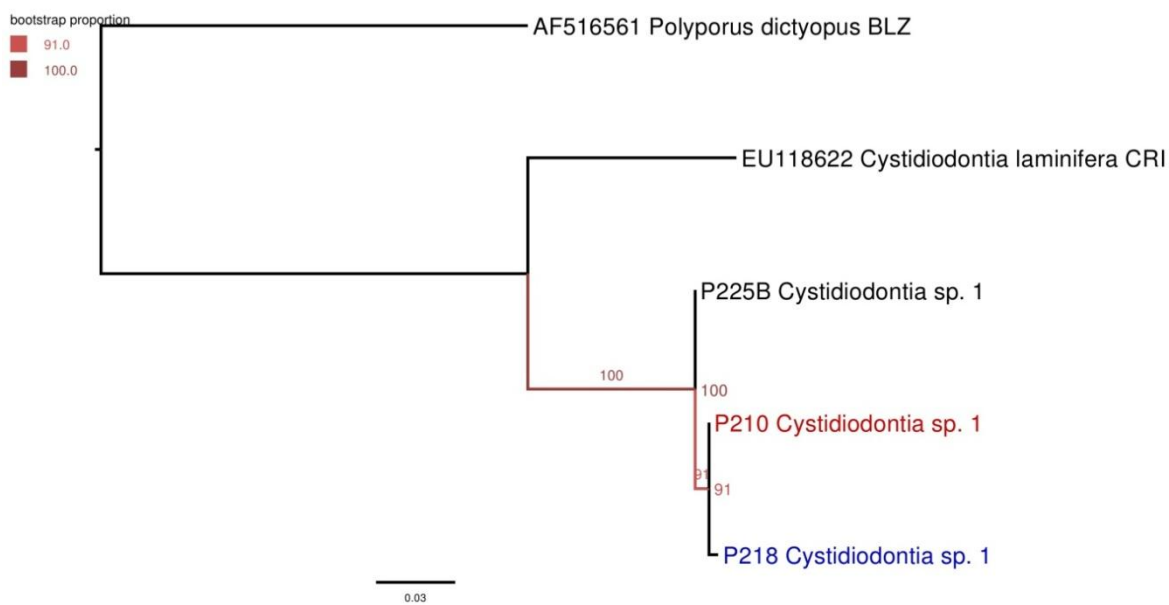


Figura 13: Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras de la familia Cystostereaceae obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS. Los colores en cada rama representan el % de *bootstrap* obtenido, la leyenda de colores se visualiza en la parte izquierda del árbol. Individuos colectados en bosque primario se ven en azul y los colectados en bosque intervenido se ven en rojo. Muestras en negro fueron colectadas fuera de los transectos pero dentro de la Parcela, y también señalan muestras tomadas de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=>).

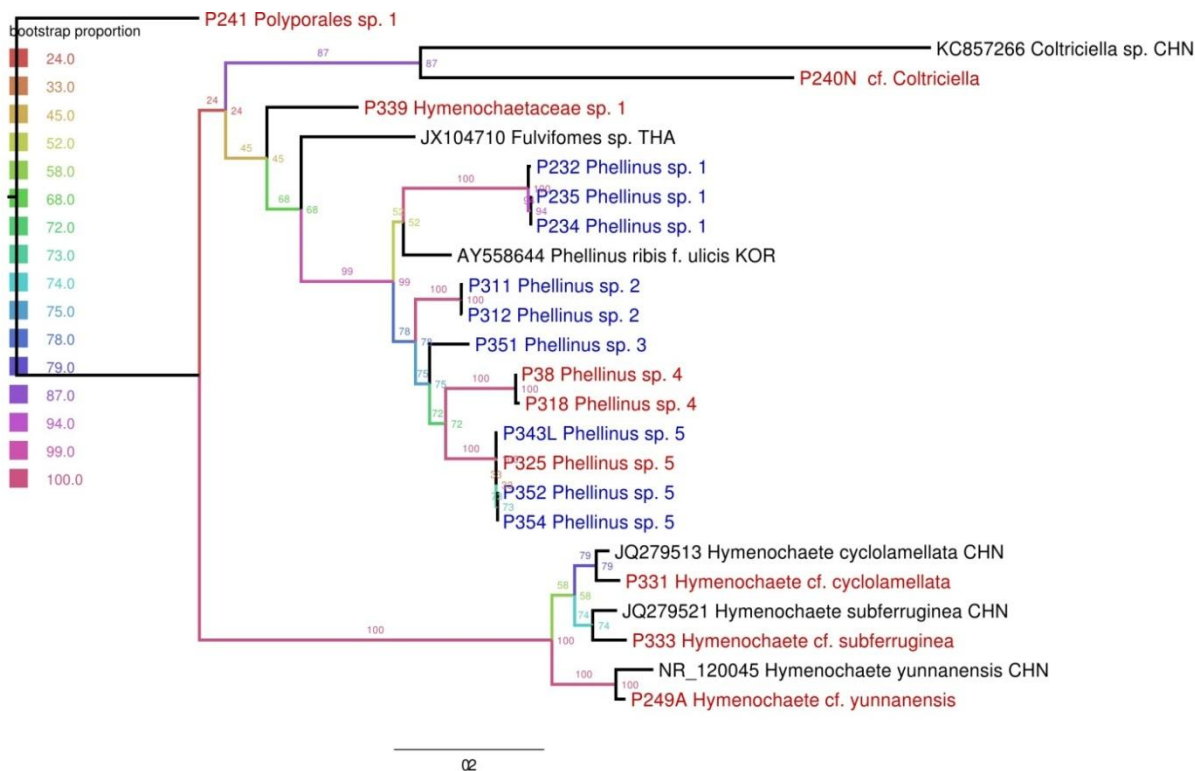


Figura 14: Árbol filogenético de Máxima verosimilitud de muestras del orden Hymenochaetales obtenidas en áreas de bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, basado en la secuencia de la región ITS. Los colores en cada rama representan el % de *bootstrap* obtenido, la leyenda de colores se visualiza en la parte izquierda del árbol. Individuos colectados en bosque primario se ven en azul y los colectados en bosque intervenido se ven en rojo. Muestras en negro fueron colectadas fuera de los transectos pero dentro de la Parcela, y también señalan muestras tomadas de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=>).

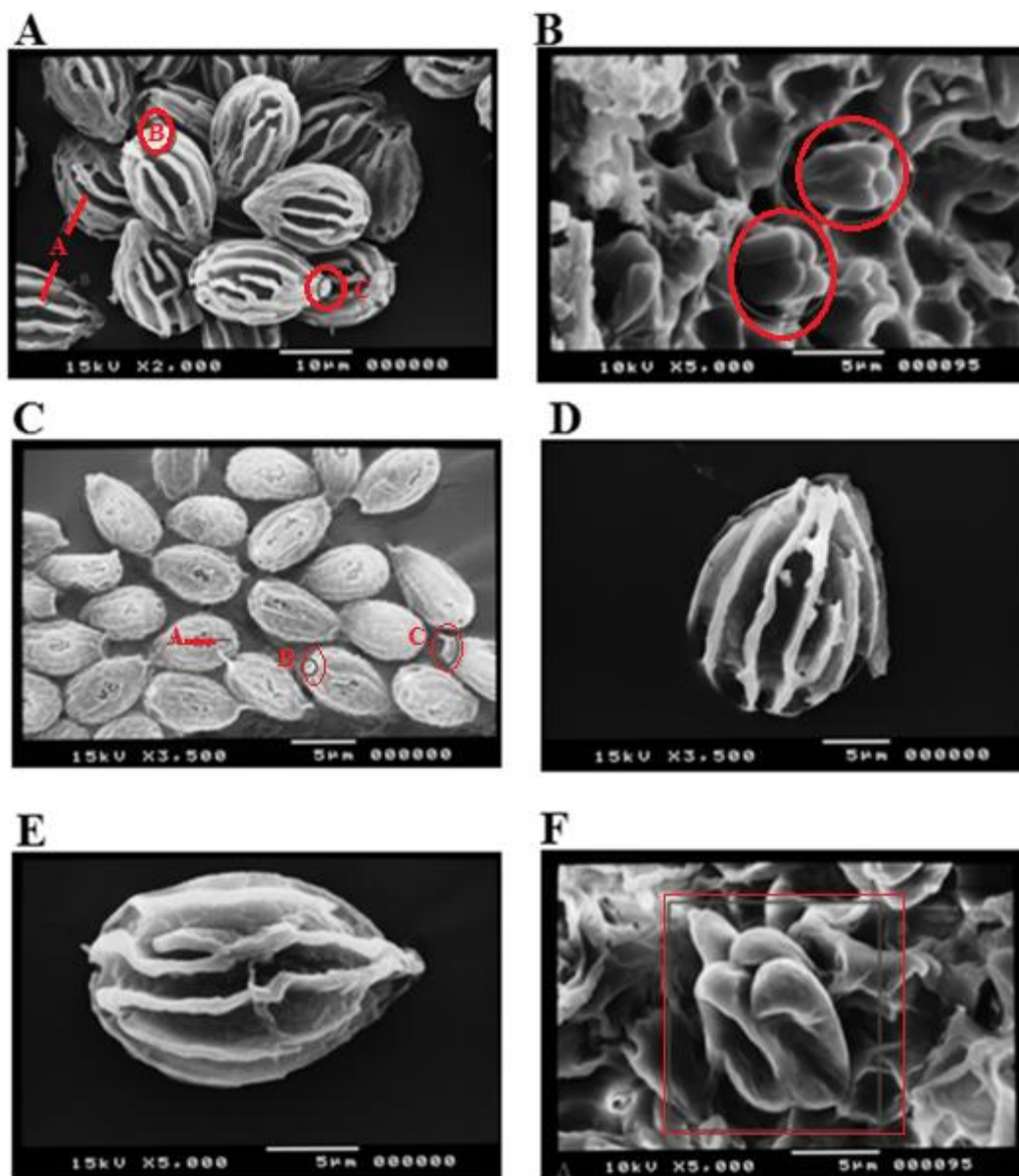


Figura 15. Fotografía electrónica de basidiosporas de Polyporales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní. A. *Amauroderma* aff. *subresinosum*. (A. surcos, ornamentos de la espora, B. poro germinativo, C. apéndice hiliar); B. *Polyporus* cf. *dictyopus*; C. *Ganoderma* sp. (A. crestas, ornamentos de la espora, B. poro germinativo, C. apéndice hiliar); D. Meripilaceae; E. *Trametes* sp.; F. *Pseudofavolus* sp., cuatro basidiosporas en recuadro rojo.

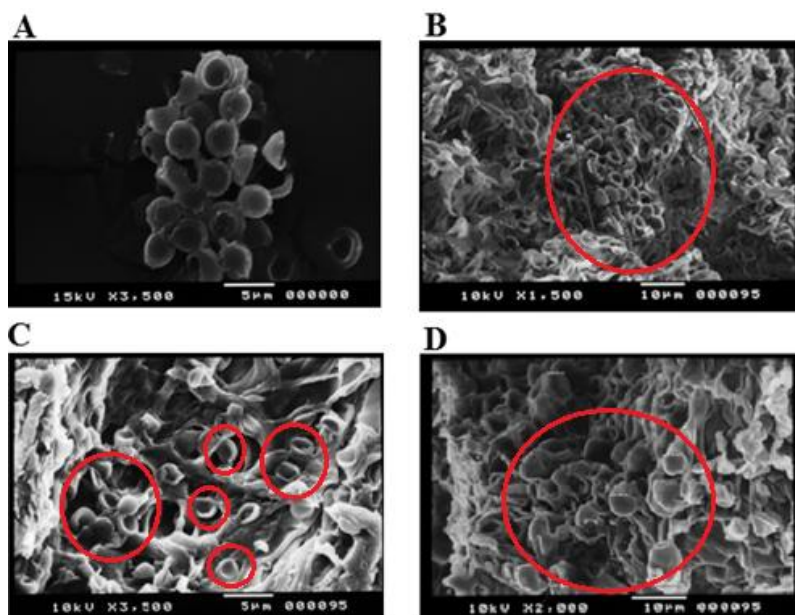


Figura 16. Fotografía electrónica de basidiosporas de Hymenochaetales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní. A. *Phellinus apiahynus*; B. cf. *Coltriciella* sp., esporas agrupadas encerradas en sección de color rojo; C. *Phellinus* sp. 1, esporas agrupadas en secciones en rojo; D. *Filoboletus* sp., esporas agrupadas en sección en rojo.

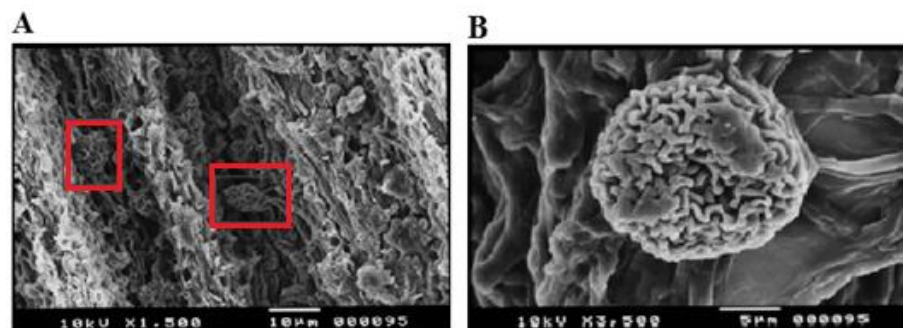


Figura 17. Fotografía electrónica de cistidios de Polyporales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní. A. *Flaviporus* sp.; B. *Favolus* sp.

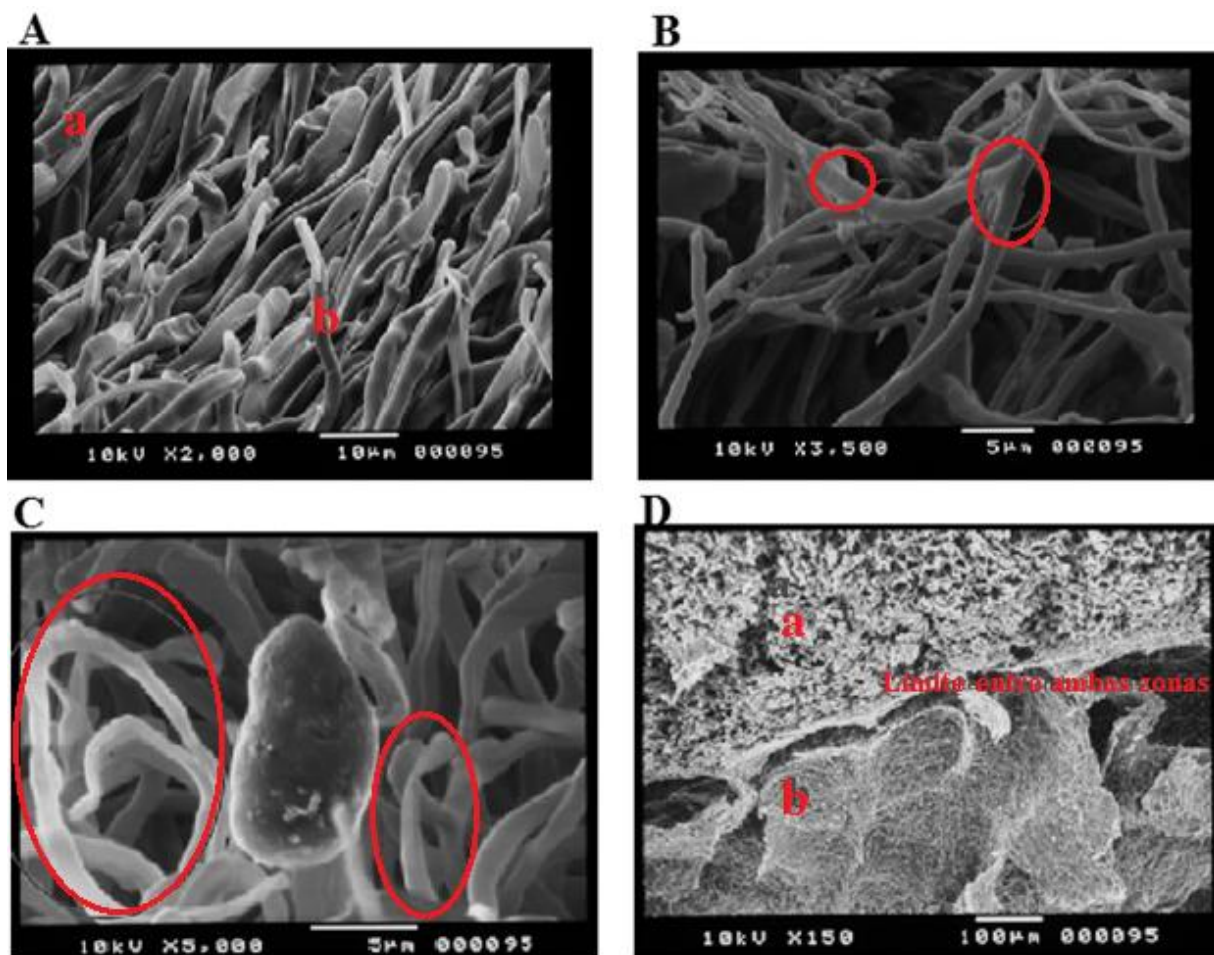


Figura 18. Fotografía electrónica de los diferentes tipos de hifas encontradas en muestras de himenio de Polyporales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní. A. P29, sistema dimítico de hifas (a. hifa esquelética, b. hifa generativa); B. P229, hifa ramificada y septada; C. P261, hifa esquelética; D. P267 (a. hifas esqueléticas, b. hifas generativas).

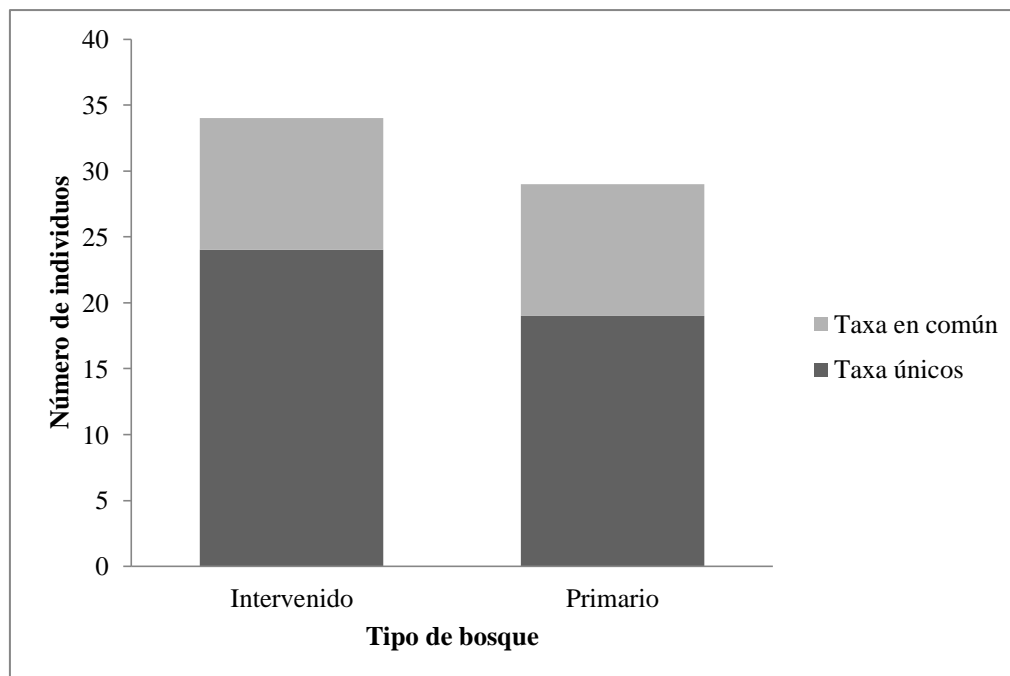


Figura 19: Número de taxones únicos y de taxones común de hongos colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní en bosque primario y bosque intervenido.

9. TABLAS

Tabla 1. Secuencia de los cebadores utilizados para amplificar la región ITS del ADNr , usados para la secuenciación del ADN extraído de los hongos colectados dentro de la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.

Cebador	Secuencia 5'-3'
ITS-1F	CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A
ITS-1B	CAG GAG ACT TGT ACA CGG TCC AG
ITS-1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G
ITS-4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC
ITS-5	GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G

Tabla 2. Modelos de sustitución usados para el análisis de Máxima verosimilitud de las distintas familias y órdenes de hongos colectados dentro de la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní, su respectivo grupo externo y número de secuencias usadas.

Grupo taxonómico	Modelo de sustitución ^a	Grupo externo ^b	Número de Secuencias usadas
Polyporales	012314	Poly22 <i>Wrightoporia</i> sp.	73
Polyporaceae	010232	EU118622 <i>Cystiodontia laminifera</i> CRI *	59
Hymenochaetales	012032	P241 Polyporales sp. 1	24
Meruliaceae	010100	Poly328 <i>Polyporus</i> cf. <i>Dictyopus</i> *	18
Meripilaceae	010232	JQ409357 <i>Polyporus tenuiculus</i> MYS *	24
Ganodermataceae	012345	DQ912697 <i>Phanerochaete</i> sp. *	13
Cystostereaceae	010212	AF516561 <i>Polyporus dictyopus</i> BLZ *	5

^a Modelo obtenido con el programa JModel Test 2.0.2.

^b Las secuencias de la región ITS de las muestras marcadas con * se obtuvieron de GenBank (National Center for Biotechnology Information- NCBI, 2014).

Tabla 3. Hongos colectados en el bosque intervenido y bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní. Se muestra la serie de campo, identificación taxonómica, método de identificación y sustrato de crecimiento.

Trans ^a	SC ^b	Orden	Familia	Taxón	Método identificación ^c	Sustrato
I1	P210	Polyporales	Cystostereaceae	<i>Cystiodontia</i> sp. 1	ITS	Madera
I1	P236	Polyporales	Ganodermataceae	<i>Amauroderma</i> aff. <i>subresinosum</i>	ITS	Madera
I1	P326	Polyporales	Ganodermataceae	<i>Amauroderma schomburgkii</i>	ITS	Madera
I1	P327	Polyporales	Ganodermataceae	<i>Trametes</i> sp. 1	ITS	Madera
I1	P335	Polyporales	Meripilaceae	Meripilaceae sp. 1	ITS	Madera
I1	P332B	Polyporales	Meruliaceae	<i>Bjerkandera</i> sp. 1	ITS	Madera
I1	P239	Polyporales	Meruliaceae	<i>Junghuhnia autumnale</i>	ITS	Madera
I1	P237	Polyporales	Meruliaceae	<i>Podoscypha venustula</i>	ITS	Madera
I1	P336	Polyporales	Phanerochaetaceae	N.I. ^d	Morfología	Madera
I1	P334	Polyporales	Phanerochaetaceae	<i>Porostereum</i> sp. 1	ITS	Madera
I1	P337	Polyporales	Polyporaceae	N.I.	Morfología	Madera
I1	P330	Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> sp. 2	ITS	Madera
I1	P328	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> cf. <i>dictyopus</i>	ITS	Madera
I1	P341	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 2	ITS	Madera
I1	P238	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I1	P338	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I1	P340	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I1	P241	Polyporales	Polyporaceae	Polyporales sp. 1	ITS	Madera
I1	P242	Polyporales	Polyporaceae	Polyporales sp. 1	ITS	Madera
I1	P243	Polyporales	N.I.	N.I.	Morfología	Madera
I1	P240	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	cf. <i>Coltriciella</i>	ITS	Suelo
I1	P331	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Hymenochaete</i> cf. <i>cyclolamellata</i>	ITS	Madera

Tabla 3. Continuación

Trans ^a	SC ^b	Orden	Familia	Taxón	Método identificación ^c	Sustrato
I1	P333	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Hymenochaete</i> cf. <i>subferruginea</i>	ITS	Suelo
I1	P339	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	Hymenochaetaceae sp. 1	ITS	Madera
I1	P325	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	Phellinus sp. 5	ITS	Suelo
I2	P245	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus vinctus</i>	ITS	Madera
I2	P248	Polyporales	Polyporaceae	<i>Coriolopsis</i> cf. <i>caperata</i>	ITS	Madera
I2	P252	Polyporales	Polyporaceae	<i>Coriolopsis</i> sp. 1	ITS	Madera
I2	P255	Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> sp.	Morfología	Madera
I2	P246	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I2	P254	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I2	P256	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I2	P257	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I2	P247	Polyporales	Polyporaceae	Polyporales sp. 1	ITS	Madera
I2	P259	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> cf. <i>dictyopus</i>	ITS	Madera
I2	P260	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp.	Morfología	Madera
I2	P250	Polyporales	N.I	N.I.	Morfología	Madera
I2	P251	Polyporales	N.I	N.I.	Morfología	Madera
I2	P258	Polyporales	N.I	N.I.	Morfología	Madera
I2	P249	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Hymenochaete</i> cf. <i>yunnanensis</i>	ITS	Madera
I3	P324	Polyporales	Meripilaceae	Meripilaceae sp. 3	ITS	Madera
I3	P317	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus</i> sp.	Morfología	Madera
I3	P313	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus vinctus</i>	ITS	Madera
I3	P321	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus vinctus</i>	ITS	Madera
I3	P319	Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus liebmannii</i>	ITS	Madera
I3	P33	Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus</i> sp. 2	ITS	Madera

Tabla 3. Continuación

Trans ^a	SC ^b	Orden	Familia	Taxón	Método identificación ^c	Sustrato
I3	P34	Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus</i> sp. 2	ITS	Suelo
I3	P36	Polyporales	Polyporaceae	<i>Corioloopsis</i> sp. 1	ITS	Madera
I3	P310	Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus brasiliensis</i>	ITS	Madera
I3	P37	Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> sp.	Morfología	Madera
I3	P316	Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> sp. 2	ITS	Madera
I3	P31	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I3	P39	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I3	P323	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2	ITS	Madera
I3	P32	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> cf. <i>virgatus</i>	ITS	Madera
I3	P322	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 1	ITS	Madera
I3	P35	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 3	ITS	Madera
I3	P320	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 4	ITS	Madera
I3	P314	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	aff. <i>Fomitiporia</i>	ITS	Madera
I3	P311	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 2	ITS	Suelo
I3	P312	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 2	ITS	Suelo
I3	P38	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 4	ITS	Suelo
I3	P318	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 4	ITS	Suelo
P1	P218	Polyporales	Cystostereaceae	<i>Cystiodontia</i> sp. 1	ITS	Madera
P1	P225BM	Polyporales	Cystostereaceae	<i>Cystiodontia</i> sp. 1	ITS	Madera
P1	P228	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus microporus</i>	ITS	Madera
P1	P221	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus</i> sp.	Morfología	Madera
P1	P226	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus</i> sp.	Morfología	Madera
P1	P215	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus vinctus</i>	ITS	Madera
P1	P2-9	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus vinctus</i>	ITS	Madera

Tabla 3. Continuación

Trans ^a	SC ^b	Orden	Familia	Taxón	Método identificación ^c	Sustrato
P1	P224	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus vinctus</i>	ITS	Madera
P1	P223	Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus</i> sp. 1	ITS	Madera
P1	P225	Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus</i> sp. 1	ITS	Madera
P1	P230	Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus</i> sp. 1	ITS	Madera
P1	P222	Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus</i> sp. 2	ITS	Madera
P1	P227	Polyporales	Meruliaceae	Meruliaceae sp. 1	ITS	Madera
P1	P216	Polyporales	Meruliaceae	<i>Podoscypha</i>	Morfología	Madera
P1	P217	Polyporales	Meruliaceae	<i>Podoscypha</i>	Morfología	Madera
P1	P220	Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> sp. 2	ITS	Madera
P1	P229	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp.	Morfología	Madera
P1	P231	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 5	ITS	Madera
P1	P233	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 7	ITS	Madera
P1	P214	Polyporales	Polyporaceae	<i>Pseudofavolus</i> sp.	ITS	Madera
P1	P232	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 1	ITS	Suelo
P1	P234	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 1	ITS	Suelo
P1	P235	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 1	ITS	Suelo
P2	P262	Polyporales	Ganodermataceae	<i>Ganoderma</i> aff. <i>applanatum</i>	ITS	Madera
P2	P263	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus</i> aff. <i>vinctus</i>	ITS	Madera
P2	P274	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus microporus</i>	ITS	Madera
P2	P265	Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus liebmanni</i>	ITS	Madera
P2	P261	Polyporales	Polyporaceae	<i>Coriolopsis</i> sp. 1	ITS	Madera
P2	P264	Polyporales	Polyporaceae	<i>Coriolopsis</i> sp. 1	ITS	Madera
P2	P268	Polyporales	Polyporaceae	<i>Earliella scabrosa</i>	ITS	Madera
P2	P266	Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> aff. <i>brasiliensis</i>	ITS	Madera

Tabla 3. Continuación

Trans ^a	SC ^b	Orden	Familia	Taxón	Método identificación ^c	Sustrato
P2	P271	Polyporales	Polyporaceae	<i>Fomes fomentarius</i>	ITS	Madera
P2	P273	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 1	ITS	Madera
P2	P270	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp.	Morfología	Madera
P2	P275	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 1	ITS	Madera
P2	P272	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 8	ITS	Madera
P2	P267	Polyporales	N.I	N.I.	Morfología	Madera
P2	P269	Polyporales	N.I	N.I.	Morfología	Madera
P3	P342	Polyporales	Ganodermataceae	<i>Amauroderma</i> sp. 1	ITS	Suelo
P3	P346	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus</i> cf. <i>ulmarius</i>	ITS	Madera
P3	P350	Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus microporus</i>	ITS	Madera
P3	P345	Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus brasiliensis</i>	ITS	Madera
P3	P349	Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> sp. 1	ITS	Madera
P3	P348	Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 1	ITS	Madera
P3	P353	Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 1	ITS	Madera
P3	P347	Polyporales	Polyporaceae	<i>Trametes membranacea</i>	ITS	Madera
P3	P351	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 3	ITS	Suelo
P3	P343	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 5	ITS	Suelo
P3	P352	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 5	ITS	Suelo
P3	P354	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 5	ITS	Suelo
P3	P344	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp.	Morfología	Suelo

^a Nomenclatura del transecto donde fue colectada la muestra: I = bosque intervenido; P = bosque primario; número después de la letra corresponde al número del transecto dentro de cada tipo de bosque.

^b SC = serie de campo.

^c ITS = El método de identificación fue por análisis molecular de la región ITS; morfología = El método de identificación se basó únicamente en análisis morfológico de caracteres.

N.I. = No identificado.

Tabla 4. Características morfológicas utilizadas para la identificación taxonómica de muestras de hongos Polyporales colectados en la Parcela Permanente de la Estación Científica Yasuní.

SC ^a	Identificación	Sustrato	Tipo de Basidiocarpio	Estípite	Himenio
P255, P37	<i>Favolus</i> sp.	Madera	Píleo con forma de abanico de consistencia subcarnosa.	Blanco, corto y ligeramente grueso.	Poros poligonales alargados longitudinalmente.
P344	<i>Phellinus</i> sp.	Suelo	Aplanado de consistencia subcarnosa, redondo.	Café, largo, central.	Café con bordes dorados, poros redondos pequeños.
P216, P217	<i>Podoscypha</i>	Madera	En forma de embudo aplanado, en tonos rojizos.	Central, muy pequeño, casi ausente.	Himenio liso, sin poros de color anaranjado a crema.
P260, P229, P270	<i>Polyporus</i> sp.	Madera	Aplanado de consistencia corácea, de color vino a púrpura.	Central, largo, delgado, de color oscuro en tonos negros.	Oscuro, con poros redondos, muy pequeños
P221, P226, P317	<i>Rigidoporus</i> sp.	Madera	Perenne o anual, sésil, efuso-reflejado, color naranja y consistencia corácea dura.	Ausente	Color beige pálido, poros redondos muy pequeños. Exuda.

^a Serie de campo.

Tabla 5. Identificación taxonómica mediante análisis molecular de la región ITS de colecciones de poliporos presentes sólo en el área de bosque primario dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.

Orden	Familia	Taxón
Polyporales	Ganodermataceae	<i>Amauroderma</i> sp. 1
Polyporales	Ganodermataceae	<i>Ganoderma</i> aff. <i>applanatum</i>
Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus</i> aff. <i>ainctus</i>
Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus</i> cf. <i>ulmarius</i>
Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus microporus</i>
Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus</i> sp. 1
Polyporales	Meruliaceae	Meruliaceae sp. 1
Polyporales	Polyporaceae	<i>Earliella scabrosa</i>
Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> aff. <i>brasiliensis</i>
Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> sp. 1
Polyporales	Polyporaceae	<i>Fomes fomentarius</i>
Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 1
Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 5
Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 7
Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 8
Polyporales	Polyporaceae	<i>Pseudofavolus</i> sp.
Polyporales	Polyporaceae	<i>Trametes membranacea</i>
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 1
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 3

Tabla 6. Identificación taxonómica mediante análisis molecular de la región ITS de colecciones de hongos poliporos presentes sólo en el área de bosque intervenido dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.

Orden	Familia	Taxón
Polyporales	Ganodermataceae	<i>Amauroderma</i> aff. <i>subresinosum</i>
Polyporales	Ganodermataceae	<i>Amauroderma schomburgkii</i>
Polyporales	Ganodermataceae	<i>Ganoderma</i> sp. 2
Polyporales	Meripilaceae	Meripilaceae sp. 1
Polyporales	Meripilaceae	Meripilaceae sp. 3
Polyporales	Meruliaceae	<i>Bjerkandera</i> sp. 1
Polyporales	Meruliaceae	<i>Junghuhnia autumnale</i>
Polyporales	Meruliaceae	<i>Podoscypha venustula</i>
Polyporales	Phanerochaetaceae	<i>Porostereum</i> sp. 1
Polyporales	Polyporaceae	<i>Coriolopsis</i> cf. <i>caperata</i>
Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> cf. <i>dictyopus</i>
Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> cf. <i>virgatus</i>
Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 2
Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 3
Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 4
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	aff. <i>Fomitiporia</i>
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	cf. <i>Coltriciella</i>
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	Hymenochaetaceae sp. 1
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Hymenochaete</i> cf. <i>cyclolamellata</i>
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Hymenochaete</i> cf. <i>subferruginea</i>
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Hymenochaete</i> cf. <i>yunnanensis</i>
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 2
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 4

Tabla 7. Identificación taxonómica mediante análisis molecular de la región ITS de colecciones de hongos poliporos encontrados en ambos tipos de bosque, dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.

Orden	Familia	Taxón
Polyporales	Cystostereaceae	<i>Cystiodontia</i> sp. 1
Polyporales	Meripilaceae	<i>Rigidoporus vinctus</i>
Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus liebmannii</i>
Polyporales	Meruliaceae	<i>Flaviporus</i> sp. 2
Polyporales	Polyporaceae	<i>Coriolopsis</i> sp. 1
Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus brasiliensis</i>
Polyporales	Polyporaceae	<i>Favolus</i> sp. 2
Polyporales	Polyporaceae	Polyporaceae sp. 2
Polyporales	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. 1
Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	<i>Phellinus</i> sp. 5

Tabla 8. Especies arbóreas identificadas sobre las cuales se encontraron hongos poliporos dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní.

Especies arbórea	TAQ^a	Hongo Poliporo	Transecto^b
<i>Bellucia pentámera</i>	21957	<i>Favolus</i> sp. 2	I3
<i>B. pentámera</i>	21957	<i>Rigidoporus</i> sp. 2	I3
<i>Cecropia sciadophylla</i>	224020	<i>Rigidoporus microporus</i>	P1
<i>C. sciadophylla</i>	22319	<i>Flaviporus</i> cf. <i>liebmannii</i>	I3
<i>C. sciadophylla</i>	22319	<i>Rigidoporus vincetus</i>	I3
<i>Inga marginata</i>	113405	<i>Earliella scabrosa</i>	P2
<i>I. velutina</i>	260404	<i>Rigidoporus</i> cf. <i>ulmarius</i>	P3
<i>Macrobium yasuni</i>	24391	<i>Favolus</i> sp. 2	I1
<i>Oocotea membraobov</i>	124785	<i>Ganoderma applanatum</i>	P2
<i>O. membraobov</i>	124785	<i>Rigidoporus</i> aff. <i>vincetus</i>	P2
<i>O. membraobov</i>	22568	N.I.	I2
<i>Pentagonia amazónica</i>	224723	<i>Pseudofavolus</i> sp.	P1
<i>Pseudolmedia laevis</i>	270396	<i>Rigidoporus microporus</i>	P3
<i>Pseudopiptadenia suaveolens</i>	1891	Hymenochaetaceae sp. 1	I1
<i>Rinorea apiculata</i>	203966	<i>Rigidoporus</i> sp. 1	P1
<i>R. apiculata</i>	203966	<i>Flaviporus</i> sp. 1	P1
<i>R. apiculata</i>	203966	Meruliaceae sp. 1	P1
<i>Wittmackanthus stanleyanus</i>	114330	<i>Coriopsis</i> sp. 1	P2
<i>W. stanleyanus</i>	114330	N.I.	P2
<i>Zanthoxylum perp</i>	2696	<i>Ganoderma</i> sp. 2	I1
<i>Zygia heteroneura</i>	11525	<i>Polyporus</i> sp. 2	I1

^aTAQ= Placa numérica asignada a cada especie arbórea con un DAP mayor a 1 cm según el proyecto “Dinámica del Bosque Yasuní”.

^b Nomenclatura del transecto donde fue colectada la muestra: I = bosque intervenido; P = bosque primario; número después de la letra corresponde al número del transecto dentro de cada tipo de bosque.

N.I. = No identificado.

Tabla 9: Muestras de hongos colectadas dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní que fueron fotografiadas con microscopía electrónica, su identificación taxonómica, y tipo de tejido observado.

Tejido	Individuo^a	Identificación^b
Himeno	P240	cf. <i>Coltriciella</i>
Himeno	P261	<i>Corioloopsis</i> cf. <i>byrsina</i>
Himeno	P310	<i>Favolus brasiliensis</i>
Himeno	P316	<i>Favolus</i> sp. 2
Himeno	P249	<i>Filoboletus</i> sp.
Himeno	P225	<i>Flaviporus</i> sp. 1
Himeno	P33	<i>Flaviporus</i> sp. 2
Himeno	P29	N.I.
Himeno	P226	N.I.
Himeno	P229	N.I.
Himeno	P243	N.I.
Himeno	P250	N.I.
Himeno	P260	N.I.
Himeno	P267	N.I.
Himeno	P37	N.I.
Himeno	P234	<i>Phellinus</i> sp. 1
Himeno	P256	Polyporaceae sp. 2
Himeno	P323	Polyporaceae sp. 2
Himeno	P247	Polyporales sp. 1
Himeno	P259	<i>Polyporus</i> cf. <i>dictyopus</i>
Himeno	P322	<i>Polyporus</i> sp. 1
Himeno	P231	<i>Polyporus</i> sp. 5
Himeno	P214	<i>Pseudofavolus</i> sp.
Himeno	P22	<i>Wrightoporia</i> sp.
Esporas	FOMI*	<i>Amauroderma</i> aff. <i>subresinosum</i>
Esporas	GANO*	<i>Ganoderma</i> sp.
Esporas	RIG*	Meripilaceae
Esporas	Tram4*	<i>Phellinus apiahynus</i>
Esporas	MICRO*	Polyporaceae sp. 2
Esporas	Tram1*	<i>Trametes lactinea</i>

^a El nombre corresponde a la serie de campo. Muestras con * corresponden a colecciones adicionales para la obtención de esporas.

^b N.I. = Sin identificación taxonómica.

Tabla 10: Características de poros, esporas y otras estructuras microscópicas observadas de muestras colectadas dentro la Parcela Permanente en la Estación Científica Yasuní utilizando microscopía electrónica de barrido.

Identificación	Serie de Campo	Número de poros por mm/Tamaño promedio ^a	Esporas ^b	Otras estructuras
<i>cf. Coltriciella</i>	P240	-	Basidiosporas globosas y lisas de 4.52µm de tamaño aproximado	-
<i>Corioloopsis cf. byrsina</i>	P261	-	-	Hifas esqueléticas, donde no se producen estructuras reproductivas. Ancho de las hifas: 1µm, lisas, sin septos, ni ramificaciones.
<i>Amauroderma aff. subresinosum</i>	FOMI	-	Esporas amigdaliformes, con ornamentos tipo surcos, apéndice hiliar termina en punta. Tamaño promedio de la espora: 18µm, tamaño del poro germinativo 2,5 µm	-

Tabla 10. Continuación

Identificación	Serie de Campo	Número de poros por mm/Tamaño promedio ^a	Esporas ^b	Otras estructuras
<i>Favolus</i>	P310, P37, 316	3/mm linear; 538 μm	-	Cistidio de 16 μm de largo
<i>Filoboletus</i> sp.	P249	13/mm; 82 μm	Esporas elipsoides, lisas, tamaño aproximado de 5.8 μm	-
<i>Flaviporus</i>	P225, P33	17/mm; 42 μm	-	Cistidios de 10 μm de largo
<i>Ganoderma</i> sp.	GANO	-	Esporas amigdaliforme, con ornamentos tipo surcos y accesorios tipo granulares. Apéndice hiliar terminado en punta truncada. Tamaño promedio de la espora: 8 μm , tamaño del poro germinativo: 0.26 μm . Color de las esporas marrón	-

Tabla 10. Continuación

Identificación	Serie de Campo	Número de poros por mm/Tamaño promedio ^a	Esporas ^b	Otras estructuras
Meripilaceae	RIGI	-	Tamaño promedio de las esporas: 19 μm , con ornamentos tipo surcos.	-
<i>Phellinus</i>	P234, Tram4	Tamaño promedio del poro 54 μm	Basidiosporas subglobosas, lisas, sin ornamentos, tamaño promedio de 2.6 μm . Esporas lisas, forma globosa. Tamaño promedio 4 μm	-
Polyporaceae sp. 2	P256, P323, MICRO	16/mm; 39 μm	Esporas lisas de forma elipsoidal, tamaño promedio 4.5 μm	-
Polyporales sp. 1	P247	5/mm; 132 μm .	-	-
<i>Polyporus</i>	P231, P259, P322	14/mm; 58 μm .	Basidiosporas lisas de forma elipsoidal, tamaño promedio 4-5 μm	-
<i>Pseudofavolus</i> sp.	P214	4/mm; 254 μm	Basidiosporas elipsoides, 4 μm de ancho x 9 μm de largo	-

Tabla 10. Continuación

Identificación	Serie de Campo	Número de poros por mm/Tamaño promedio ^a	Esporas ^b	Otras estructuras
<i>Trametes</i>	Tram1	-	Esporas amigdaliformes, con ornamentos tipo surcos. Tamaño promedio 17 μ m, apéndice hilar termina en punta. Esporas de color blanco	
<i>Wrightoporia</i> sp.	P22	8 x mm linear, tamaño promedio 132.5 μ m	Esporas nodulosas con crestas, con longitud 18.55 μ m	-
N.I.	P29	-	-	Hifas de 3 μ m de ancho. Sistema dimítico: hifas esqueléticas sin ramificaciones ni septos e hifas generativas con septos y de paredes delgadas.
N.I.	P226	10 x mm linear, tamaño promedio 50 μ m	-	-

Tabla 10. Continuación

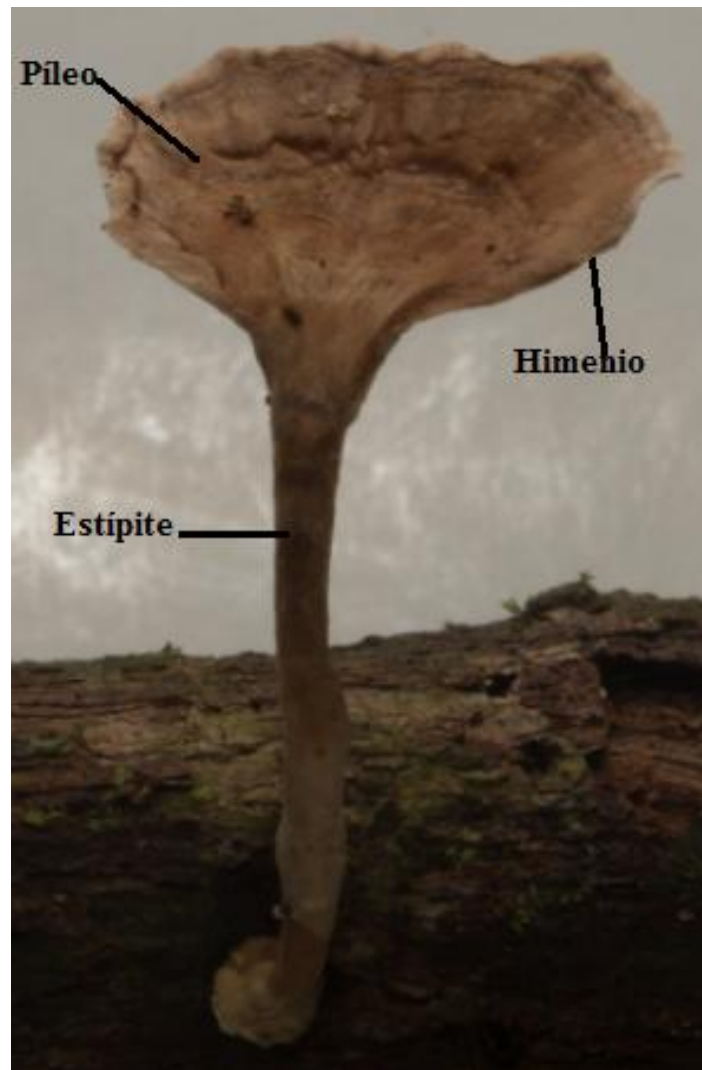
Identificación	Serie de Campo	Número de poros por mm/Tamaño promedio ^a	Esporas ^b	Otras estructuras
N.I.	P229	13 xmm linear, tamaño promedio 35 μm	-	Hifas ramificadas, 2,5 μm de ancho, septadas
N.I.	P243	10 x mm linear, tamaño promedio 54 μm	-	-
N.I.	P250	12 x mm linear, tamaño promedio 64.34 μm	-	-
N.I.	P260	12 x mm linear, tamaño promedio de 47 μm .	-	-
N.I.	P267	5 x mm linear, tamaño promedio 136 μm .	-	Zona no reproductiva con hifas gruesas y menos compactas; zona reproductiva con hifas delgadas y muy compactas

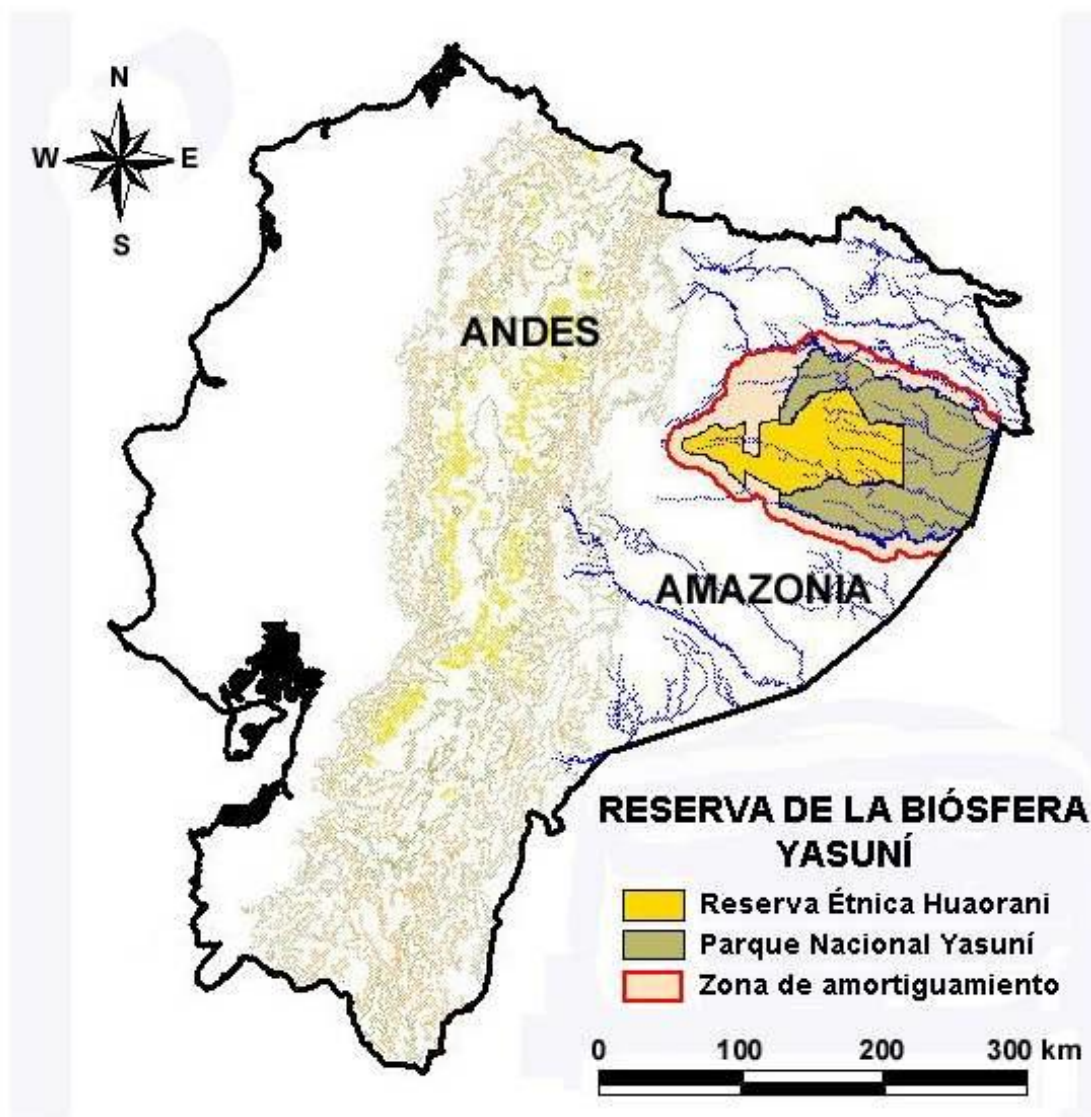
^a Número de poros por milímetro linear y tamaño promedio del poro en muestras analizadas a partir de himenio.

^b Esporas obtenidas a partir de himenio y esporada.

10. ANEXOS

Anexo 1: Estructuras macroscópicas de Basidiomycetes.



Anexo 2: Mapa de la ubicación del Parque Nacional Yasuní.

http://www.amazoniaporlavida.org/es/index2.php?option=com_jce&task=popup&img=img/yasuni_gr.jpg&title=&w=600&h=600&mode=0&print=0&click=0.

Anexo 3: Componentes del medio de cultivo para el crecimiento de basidiomicetes y técnica de aislado a partir de cuerpo fructífero.

PDA (Difco): 39 gramos aforado a 1000 ml en agua destilada. Medio para el crecimiento de la cepa.

Extracto de levadura: 2 gramos en 1000 ml de medio. Favorece el crecimiento de hongos, disminuye la contaminación por levaduras.

Benomil: 0.01 gramo en 1000 ml de medio. Favorece el crecimiento de Basidiomycetes.

Estreptomicina al 0.1%: 1 gramo en 1000 ml de medio. Inhibe el crecimiento de bacterias.

Ácido láctico: 2ml en 1000 ml de medio. Regula el pH que favorece el crecimiento de Polyporales, disminuye contaminaciones.

Nota: 1000 ml de medio de cultivo con aditivos se dispensa en 40 cajas petri de plástico estériles. Este medio de cultivo se debe utilizar en el primer aislado realizado en el campo, para los reaislados se utiliza un medio sólo con PDA y extracto de levadura en las mismas proporciones indicadas anteriormente.

Pasos para realizar el aislado en el campo:

1. Se elige un área de trabajo sólo para esto, se limpia la mesa de trabajo con cloro al 2% y alcohol al 70%.
2. Se designa un individuo en buen estado para este propósito, se lava con agua clara para eliminar toda la tierra, así como otras impurezas y al final se los lava con agua destilada estéril. Se seca los individuos con la ayuda de toallas de papel.

3. En el área de trabajo se usa un mechero de alcohol. Se esteriliza un estilete y se deja enfriar. Si el individuo tiene estípites se realiza un corte en esta área, de caso contrario se realiza el corte en el píleo. Con esto se busca acceder a un área interna del hongo donde haya mayor esterilidad.
4. Con la ayuda de un bisturí y pinzas previamente esterilizados se toma pequeñas muestras de la parte interna (donde se realizó el corte con el estilete).
5. Los pedazos obtenidos se colocan en las cajas Petri con PDA + aditivos. Se sella las cajas petri con para film.
6. Se etiqueta la base de la placa con los siguientes datos: serie de campo del individuo aislado, la fecha, el número de aislado y la persona que aisló.
7. Las cajas petri con aislados se guardan en un cooler para mantener la temperatura estable y evitar la incidencia de luz.
8. Las cajas petri se revisan diariamente para observar si existe crecimiento del hongo.

Anexo 4: Almacenamiento de las cepas en grano y tubo inclinado

Preparación del grano para el almacenamiento de hongos y siembra:

1. Hervir el grano en agua, hasta el punto que se pueda aplastar el grano y que no explote.
2. Sacar los granos del agua, y poner 2.5% a 3% de CaCO_3 , con respecto al peso del grano mojado
3. Llenar un tubo de ensayo 2/3 de su capacidad con el grano.
4. Autoclavar.
5. Una vez el grano está debidamente autoclavado, dentro de una cámara de flujo laminar se procede a tomar una muestra de micelio de cultivo puro que presente el 50% del crecimiento del micelio del hongo deseado en la caja petri y se coloca en el tubo que contiene el grano estéril. Se sella el tubo con parafilm. Las pinzas y material que se utilicen para la siembra deben estar debidamente esterilizadas y los tubos debidamente etiquetados.
6. Se procede a guardar los tubos en una incubadora a 28°C hasta que se evidencie el crecimiento del hongo. Después puede ser guardado a 4°C o a temperatura ambiente en un lugar oscuro.

Siembra y preservación de micelio en tubo inclinado:

1. Se utiliza tubos de ensayo con tapa con 2/3 de agar PDA enriquecido con levadura (1 gramo de levadura por cada 500 ml de PDA preparado) debidamente autoclavados.
2. Se deja solidificar el medio en el tubo formando un ángulo de 45°.
3. Una vez solidificado el medio se procede a la siembra del micelio del hongo que se desee guardar, utilizando un aza debidamente esterilizada.

4. Se coloca agua destilada estéril en el tubo hasta cubrir todo el agar, se cierra el tubo y se coloca parafilm.
5. Se guarda los tubos a 4°C.

Anexo 5: Extracción de ADN con el protocolo de Tiocianato de Guanidina:

Nota: Mantener alícuotas de Isopropanol al 100% en la congeladora a -20°C

Antes de iniciar el procedimiento, las muestras deben estar cortadas en pedazos muy pequeños (en el caso que provengan de cuerpos fructíferos). Para las muestras que provienen de cultivo puro, se debe obtener una muestras del aislado usando un aza y un mechero para mantener la esterilidad.

Lisis de células y desnaturalización de la RNAsa

1. Calentar el Buffer de Lisis a 55°C para que el SDS vuelva a estar en solución (usar el microondas por pocos segundos).
2. Hacer alícuotas de 300 μl en tubos de 1.5ml (de acuerdo al número de muestras a procesar).
3. Macerar lo mejor posible $\sim 10\text{mg}$ de tejido (micelio o cuerpo fructífero) en el tubo con buffer de lisis con arena de cuarzo usando un pistilo estéril.
4. Añadir 3 μl (2-5 μl) de Proteinasa K (20mg/ml) al tejido y dar vortex.
5. Incubar la muestra a 55°C de 3-6 horas o hasta que el tejido este completamente macerado, agitando las muestras cada 30-60 minutos. Si el tejido no se ha macerado luego de las 6 horas, dejarlo durante la noche en incubación añadiendo 2 μl de la Proteinasa K.
6. Luego de la incubación, homogenizar la muestra con un breve vortex.
7. Dejar enfriar la muestra a temperatura ambiente.
8. Centrifugar durante 15 minutos y pasar el sobrenadante a otro tubo.

Precipitación de proteínas:

1. Añadir 100 µl de solución de precipitación a la muestra de tejido macerado, y dar vortex por 10 -20 segundos.
2. Centrifugar a 13000 rpm por 10 minutos. Repetir si no se ha formado un pellet firme.
3. Decantar el sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5 ml (contiene ADN), descartar el tubo con el pellet que contiene proteínas y demás desechos.

Precipitación de ADN:

1. Añadir 300 µl de isopropanol frío al 100% a la solución con ADN, mezclar cuidadosamente el contenido invirtiendo el tubo varias veces.
2. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos.
3. Descartar el sobrenadante, teniendo cuidado de no perder el pelet deADN.
4. Añadir 300 µl de etanol al 70% e invertir el tubo varias veces para lavar el pelet.
5. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos y descartar el etanol.
6. Dejar evaporar el remanente de etanol a temperatura ambiente, dejando el tubo abierto (~20-30 minutos). Si el pelet se deshidrata demasiado, será mas difícil rehidratarlo.

Tratamiento NaOAc, rehidratación y almacenamiento del ADN.

1. Añadir 100 µl de 10mM Tri-HCl, pH 8.0 al pelet y mezclar, debe resuspenderse completamente (12 horas), guardar a 4°C.
2. Al siguiente día añadir 3M NaOAc, invertir el tubo varias veces, añadir 100 µl de Isopropanol frío, invertir el tubo varias veces.
3. Centrifugar a 13000 rpm por 10 minutos y descartar el sobrenadante.
4. Añadir 300 µl de etanol al 70% e invertir el tubo varias veces para lavar el pelet.

5. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos y descartar el etanol.
6. Dejar evaporar el remanente de etanol a temperatura ambiente dejando el tubo abierto (~20-30 minutos). Si el pelet se deshidrata demasiado será más difícil rehidratar.
7. Resuspender el pelet añadiendo 50 μ l de 0.1 TE pH. 8.0.
8. Guardar este stock a -20°C . Alícuotas de mayor dilución en dH₂O se pueden guardar a 4°C .

Anexo 6: Identificación de secuencias de la región ITS de muestras obtenidas de GenBank usadas en el análisis filogenético.

Código	Especies	Año	País	COI^a	Árbol^b
AY593868	<i>Rigidoporus ulmarius</i>	2005	China	CHN	Polyporales
KJ559481	<i>Rigidoporus microporus</i>	2014	Perú	PER	Polyporales
EU118622	<i>Cystidiodontia laminifera</i>	2007	Costa Rica	CRI	Polyporales
AB470242	Polyporales sp. 4226	2008	Japón	JPN	Polyporales
JQ409460	<i>Rigidoporus vinctus</i>	2012	México	MEX	Polyporales
GQ355959	<i>Meripilus giganteus</i>	2012	Francia	FRA	Polyporales
KC1766334	<i>Bjerkandera adusta</i>	2012	Estados Unidos	USA	Polyporales
AB89163	<i>Porostereum crasum</i>	2013	Japón	JPN	Polyporales
AF516561	<i>Polyporus dictyopus</i>	2002	Belice	BLZ	Polyporales
AG516600	<i>Pseudofavolus cucullatus</i>	2002	Argentina	ARG	Polyporales
AJ537405	<i>Microporus ochrotinctus</i>	2003	Indonesia	IDN	Polyporales
AB735975	<i>Favolus brasiliensis</i>	2012	Costa Rica	CRI	Polyporales
AF516576	<i>Polyporus varius</i>	2002	Rusia	RUS	Polyporales
JX126903	<i>Fomes fomentarius</i>	2012	Estados Unidos	USA	Polyporales
AF516569	<i>Polyporus melanopus</i>	2002	Argentina	ARG	Polyporales
JN165001	<i>Corioloopsis cf. Byrsina</i>	2011	Estados Unidos	USA	Polyporales
EU030179	<i>Corioloopsis caperata</i>	2009	Panamá	PAN	Polyporales
FJ608587	<i>Trametes versicolor</i>	2009	Alemania	DEU	Polyporales
JQ312191	Polyporales sp. 4SR-2012	2011			Polyporales
JN164956	<i>Trametes membranacea</i>	2011	Venezuela	VEN	Polyporales
FJ711050	<i>Tinctoporellus epimiltinus</i>	2009	Francia	FRA	Polyporales
HG973500	<i>Daedaleopsis confragosa</i>	2014	Republica Checa	CZE	Polyporales
FJ711056	<i>Earliella scabrosa</i>	2009	Francia	FRA	Polyporales
HQ659224	<i>Dichomitus squalens</i>	2010	Rusia	RUS	Polyporales
JX310857	<i>Amauroderma schomburgki</i>	2012	Brasil	BRA	Polyporales
JQ409358	<i>Amauroderma subresinosum</i>	2012	Malasia	MYS	Polyporales
GU213472	<i>Ganoderma applanatum</i>	2009	China	CHN	Polyporales
GU213474	<i>Ganoderma australe</i>	2009	China	CHN	Polyporales
JX082354	<i>Ganoderma</i> sp.	2012	Guyana	GUY	Polyporales
AF255140	<i>Ganoderma</i> sp.	2008	Francia	ECU	Polyporales
KC415760	<i>Ganoderma sinense</i>	2012	Ecuador	CHN	Polyporales
JX310816	<i>Ganoderma orbiforme</i>	2012	China	BRA	Polyporales

Anexo 6. Continuación

Código	Especies	Año	País	COI^a	Árbol^b
DQ912687	<i>Phanerochaete</i> sp.	2006	Corea del Sur Guyana	KOR	Ganodermataceae
JX082354	<i>Ganoderma</i> sp. <i>Amauroderma</i>	2012	Francesa	GUY	Ganodermataceae
JX310857	<i>schomburgki</i> <i>Amauroderma</i>	2012	Brasil	BRA	Ganodermataceae
JQ409358	<i>subresinosum</i>	2012	Malasia	MYS	Ganodermataceae
KC415760	<i>Ganoderma sinense</i>	2012	China	CHN	Ganodermataceae
GU213474	<i>Ganoderma australe</i>	2009	China	CHN	Ganodermataceae
GU213472	<i>Ganoderma applanatum</i>	2009	China	CHN	Ganodermataceae
JN710549	<i>Junghuhnia autumnale</i>	2011	Rusia	RUS	Meruliaceae
KC1766334	<i>Bjerkandera adusta</i>	2011	Brasil	BRA	Meruliaceae
JN710542	<i>Flaviporus</i> sp. X1092	2011	Brasil	BRA	Meruliaceae
JN710540	<i>Flaviporus liebmannii</i>	2011	Ecuador	ECU	Meruliaceae
JN710539	<i>Flaviporus liebmannii</i>	2011	China	CHN	Meruliaceae
FM202495	<i>Physisporinus vitreus</i>	2008	Suiza	CHE	Meripilaceae
JQ409460	<i>Rigidoporus vinctus</i>	2012	México	MEX	Meripilaceae
JQ409459	<i>Rigidoporus vinctus</i>	2012	Belice	BLZ	Meripilaceae
AY593868	<i>Rigidoporus ulmarius</i>	2004	Reino Unido	GBR	Meripilaceae
KJ559480	<i>Rigidoporus microporus</i>	2014	Perú	PER	Meripilaceae
KJ559478	<i>Rigidoporus microporus</i>	2014	Malasia	MYS	Meripilaceae
GQ355959	<i>Meripilus giganteus</i>	2009	Francia	FRA	Meripilaceae
AF516561	<i>Polyporus dictyopus</i>	2002	Belice	BLZ	Cystosteraceae
EU118622	<i>Cystidiodontia laminifera</i>	2007	Costa Rica	CRI	Cystosteraceae
KG857266	<i>Coltriciella</i> sp. <i>Hymenochaete</i>	2013	China	CHN	Hymenochaetales
NR_120045	<i>yunnanensis</i> <i>Hymenochaete</i>	2011	China	CHN	Hymenochaetales
JQ279521	<i>subferruginea</i> <i>Hymenochaete</i>	2011	China	CHN	Hymenochaetales
JQ279513	<i>cyclomellata</i>	2011	China	CHN	Hymenochaetales
JX104710	<i>Fulvifomes</i> sp.	2012	Tailandia	THA	Hymenochaetales
AY558644	<i>Phellinus ribis f. ulicis</i>	2004	Corea del Sur	KOR	Hymenochaetales
EU118622	<i>Cystidiodontia laminifera</i>	2007	Costa Rica	CRI	Polyporaceae
AF516561	<i>Polyporus dictyopus</i>	2002	Belice	BLZ	Polyporaceae
JN165001	<i>Coriolopsis cf. Byrsina</i>	2011	Estados Unidos	USA	Polyporaceae
AB735976	<i>Favolus brasiliensis</i>	2012	Costa Rica	CRI	Polyporaceae
AF516569	<i>Polyporus melanopus</i>	2002	Argentina	ARG	Polyporaceae

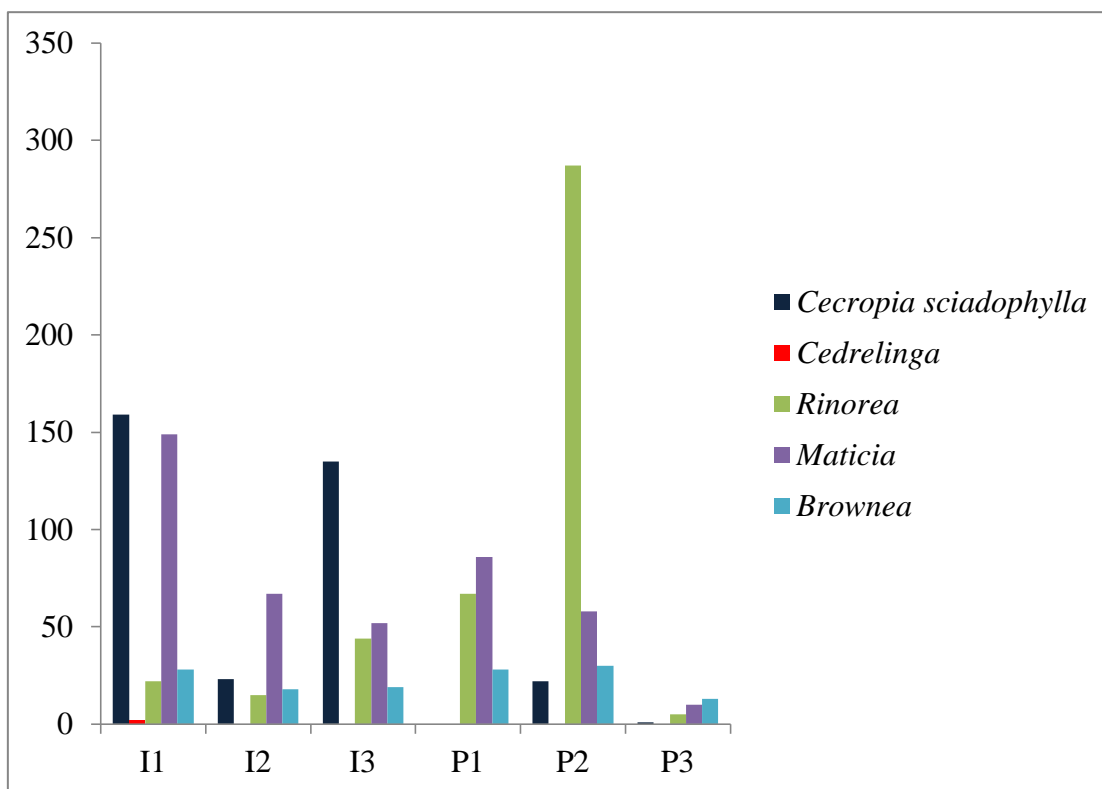
Anexo 6. Continuación

Código	Especies	Año	País	COI^a	Árbol^b
JN164979	<i>Trametes polyzona</i>	2011	Venezuela	VEN	Polyporaceae
FJ608587	<i>Trametes versicolor</i>	2009	Alemania	DEU	Polyporaceae
AF516576	<i>Polyporus varius</i>	2002	Rusia	RUS	Polyporaceae
AF516567	<i>Polyporus leprieurii</i>	2002	Costa Rica	CRI	Polyporaceae
AF516560	<i>Polyporus cf. virgatus</i>	2002	Belice	BLZ	Polyporaceae
EU030179	<i>Coriolopsis caperata</i>	2009	Panamá	PAN	Polyporaceae
HG973500	<i>Daedaleopsis confragosa</i>	2014	Republica Checa	CZE	Polyporaceae
FJ711056	<i>Earliella scabrosa</i>	2009	Francia	FRA	Polyporaceae
JQ518275	<i>Dichomitus squalens</i>	2012	Suiza	SWE	Polyporaceae
KC514837	<i>Dichomitus</i> sp.	2013	Estados Unidos	USA	Polyporaceae
HQ659224	<i>Dichomitus squalens</i>	2010	Rusia	RUS	Polyporaceae
FJ711050	<i>Tinctoporellus epimiltinus</i>	2009	Francia	FRA	Polyporaceae

^a COI: Código internacional de países.

^b Árbol filogenético en el que se incluyó la muestra.

Anexo 7: Abundancia de los cuatro géneros más comunes y género más raro descrito por Valencia *et al.*, 2004 en cada transecto muestreado.



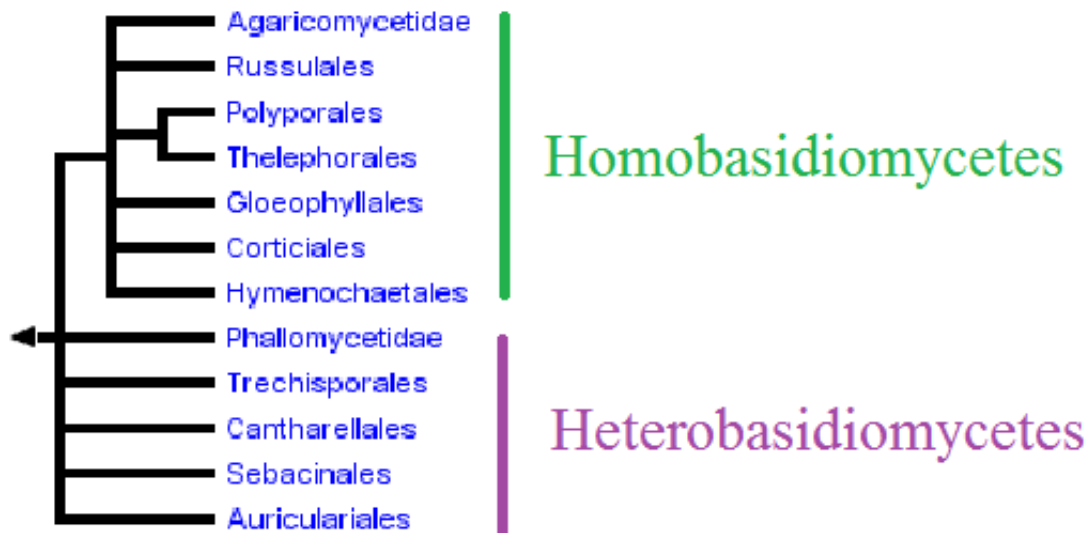
Anexo 8: Relaciones filogenéticas en Basidiomycetes.

Imagen modificada de <http://tolweb.org/Agaricomycetes/20535>.

Anexo 9. Glosario.

Basidiocarpo: Esporóforo o cuerpo fructífero en el que se forma basidios y basidiosporas.

Basidioma: En general cualquier estructura que produce basidios, ya sea esta una simple capa de basidios o un esporóforo complejo. p.ej., en los exobasidiales los basidios se forman superficialmente sobre las hojas de las plantas parasitadas, sin llegar a constituir un verdadero cuerpo fructífero, mientras que en los Agaricales los basidios se forman en un cuerpo fructífero con distinto grado de complejidad. Consecuentemente, el término basidioma es más preciso y preferible que el de basidiocarpo, el cual no se puede aplicar a todo tipo de estructuras portadoras de basidios.

Basidiomycetes: Grupo de hongos que se caracteriza por la formación de basidios. Antes considerada como una sola clase taxonómica de hongos superiores (Basidiomycetes), en el sistema de clasificación adoptado en este diccionario es equivalente el filum Basidiomycota, el cual incluye las clases Hymenomycetes, Gasteromycetes, Ustilaginomycetes y Urediniomycetes.

Conidióforos: Hifa, simple o ramificada, que está morfológica o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios, estos se encuentran generalmente sobre células conidiogenas especializadas, las cuales se pueden disponer de muy diversas maneras. Para algunas especies el término conidióforo y célula conidiogena se aplican indistintamente.

Cuerpo fructífero: Término general que se aplica a los órganos portadores de esporas, tanto de macro como micromycetes.

Disepimento: borde del poro.

Esclerocio: Estructura endurecida compuesta de tejido fúngico que resiste condiciones desfavorables del medio; los esclerosios están compuestos de plecténquima, con una corteza firma, frecuentemente quitinizada y de color moreno o negruzco, aunque puede tener otras coloraciones; son capaces de germinar y reiniciar un crecimiento vegetativo. Entre los hongos asexuales agonomycetaceos, los esclerosios pueden ser macroscópicos (como los de *Cenococcum graniforme* y *Esclerotium rolfsii*) o microscópicos (como en *Rizhoctonia solani*).

Esporóforos: Término usado para referirse a cualquier estructura productora o portadora de esporas, ya sea asexual o sexual, pero especialmente aplicado a un conidióforo. En los macromycetes se refiere a un ascoma o a un basidioma.

Hifas: Filamento tubular que representa la unidad estructural (talo) en la mayoría de los hongos. Las hifas pueden ser somáticas o fértiles y de su diferenciación se deriva una gran diversidad de estructuras relacionadas con las funciones asimilativas y reproductoras, incluyendo, p. ej., rizoides, estolones, haustorios, apresorios y toda una amplia gama de esporóforos asexuales y sexuales como los esporangióforos, conidióforos, ascocarpos y basidiocarpos, todos ellos manifestándose en muy diversas modalidades dependiendo de las especies.

Himenóforo: Parte de los aparatos esporíferos, constituida por tejido estéril, en el que se apoya el himenio, tal como la trama de las láminas de los Agaricáceos y la de los tubos de las Boletáceos y Estrobilomicetáceos.

Poliporo: Nombre aplicado a un miembro de alguno de las varias familias de Aphylophorales, p. ej. Polyporaceae y Coriolaceae, que comprenden géneros de Basidiomycetes cosmopolitas, con basidiomas sésiles o estipitados, anuales o perennes, de himenóforo tubular (poroso), dimíticos, lignícolas o terrestres.

Septación: Que tiene paredes dividiendo las células.

Septo: Pared transversal en un a célula o en un hifa. Los septos o tabiques se forman por crecimiento centrípeto de la pared celular y se presentan con cierta regularidad espacial en los micelios septados.

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Cristina Elizabeth Toapanta Albán, C.I. 1721410726 autora del trabajo de Graduación titulado: “Diversidad del orden Polyporales en un área de bosque intervenido y un área de bosque primario en la Estación Científica Yasuní”, previa a la obtención del grado académico de LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en la facultad de Ciencias Exactas y Naturales:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT con formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos del autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 24 de Noviembre del 2014

Cristina Elizabeth Toapanta Albán

C.I. 1721410726