

**Caracterización morfológica y molecular del género *Ganoderma* en zonas protegidas y ciudades del Valle del Cauca**

**Julián David Naranjo Montoya**

**Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agrícolas  
Coordinación General De Posgrados  
Palmira  
2014**

**Caracterización morfológica y molecular del género *Ganoderma* en zonas protegidas y ciudades del Valle del Cauca**

**Julián David Naranjo Montoya**

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:  
Maestro en Ciencias línea Biotecnología Vegetal

Director:  
Ph.D. Jaime Eduardo Muñoz

Codirectora:  
Msc. Ana Cristina Bolaños

Línea de Investigación:  
Biotecnología Vegetal

Grupo de Investigación:  
Diversidad Biológica

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agrícolas  
Coordinación General De Posgrados  
Palmira  
2014

## ÍNDICE GENERAL

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>DEFINICIÓN DEL PROBLEMA</b>	<b>13</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>14</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>16</b>
4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
<b>5</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>17</b>
5.1	Clasificación Taxonómica	17
5.2	Importancia del género	17
5.3	Descripción morfológica	20
5.4	Diversidad genética del género	22
<b>6</b>	<b>METODOLOGÍA</b>	<b>24</b>
6.1	Zona de estudio	24
6.2	Colecta	25
6.3	Caracterización macro y microscópica	25
6.3.1	Cultivo in-vitro	26
6.3.2	Extracción de ADN	26
6.3.3	Amplificación de los fragmentos de ADN	27
6.3.4	ITS rDNA (Internal Transcribed Spacers ribosomal DNA)	27
6.3.5	mt SSU rDNA (mitochondrial small-subunit ribosomal DNA)	29
6.4	Análisis estadístico de la información	29
6.4.1	Análisis morfológico	29
6.4.2	Análisis molecular	30
<b>7</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>31</b>
7.1	Zona de estudio, colecta e ingreso de especímenes al herbario	31
7.2	Caracterización morfológica de los especímenes	33
7.3	Análisis morfológico	35
7.3.1	Análisis de componentes principales	35

7.3.2 Agrupamiento de Ward.....	41
7.4 Caracterización molecular .....	42
7.4.1 Estandarización de protocolo de extracción de ADN de micelio .....	42
7.4.2 Amplificación y secuenciación de las regiones ITS y SSU.....	43
7.5 Análisis molecular .....	44
<b>8 CONCLUSIONES .....</b>	<b>52</b>
<b>9 BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>54</b>
<b>10 ANEXOS .....</b>	<b>63</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa físico del Valle del Cauca con la ubicación de sitios de colecta. .31	31
Figura 2. Distribución de los especímenes, confrontando el componente principal 1 (eje X) y el componente principal 2 (eje Y). ....39	39
Figura 3. Distribución de los especímenes, confrontando el componente principal 3 (eje X) y el componente principal 1 (eje Y). ....40	40
Figura 4. Dendrograma producido en el análisis de conglomerados con el agrupamiento jerárquico de Ward (1963).....41	41
Figura 5. Gel de agarosa al 0.8%, tinción con bromuro de etidio, en la que se visualiza el ADN extraído de micelio. ....42	42
Figura 6. Gel de agarosa al 1.2%, tinción con bromuro de etidio, en la que se visualiza los amplificadores de la región ITS total, con tamaño aproximado de 800 pb.....43	43
Figura 7. Gel de agarosa al 1.2%, tinción con bromuro de etidio, en la que se visualiza los amplificadores de las región mt SSU rDNA. ....44	44
Figura 8. Árbol filogenético producido con el análisis de máxima verosimilitud y remuestreo bootstrap de las regiones ITS. ....48	48
Figura 9. Árbol filogenético producido con el análisis de máxima verosimilitud y remuestreo bootstrap de las regiones mtSSU. ....50	50
Figura 10. Árbol filogenético producido con el análisis de máxima verosimilitud y remuestreo bootstrap de las regiones ITS y mtSSU combinadas.....51	51

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Revisión de literatura científica que reporta las propiedades medicinales de Ganoderma hecha por Gao & Zhou (2003).....	19
Tabla 2. Perfil térmico de amplificación para los cebadores de ITS rDNA. ....	28
Tabla 3. Condiciones de amplificación usadas para ITS rDNA y mtSSU rDNA. ....	28
Tabla 4. Perfil térmico de amplificación para los cebadores de mtSSU rDNA. ....	29
Tabla 5. Lista de especímenes colectados con su respectiva identidad taxonómica, localización y hospedero.....	33
Tabla 6. Datos arrojados por el programa Statistic 8.0 en donde se pueden observar los coeficientes de variación. ....	35
Tabla 7. Componentes principales formados con sus respectivos valores propios y porcentaje de varianza total.....	37
Tabla 8. Coeficientes de correlación entre los componentes principales y los descriptores. ....	38
Tabla 9. Resultados del alineamiento de secuencias con la herramienta BLASTn, en la base de datos de NCBI. Los resultados marcados con asterisco (*), presentaron un valor esperado (E) de que la alineación haya ocurrido por casualidad (Zhang <i>et al.</i> , 2000) más bajo con otras especies reportadas en NCBI. ....	45

## RESUMEN

Taxonómicamente el género *Ganoderma* pertenece al reino Fungi, división Basidiomycota, subdivisión Agaricomycotina, Clase Agaricomycetes, orden Polyporales y a la familia Ganodermataceae. La identidad taxonómica del género utilizando los caracteres morfológicos es complicada debido a su plasticidad. Uno de los factores que dificultan la determinación taxonómica es la falta de consenso y terminología precisa que unifique los criterios morfológicos que se analizan. Con el fin de aportar al objetivo de unificación de criterios, en la determinación taxonómica de este trabajo solo se utilizaron claves y descripciones taxonómicas recientes para el neotrópico. Como criterio de decisión morfológico se usaron los resultados del análisis de componentes principales y el agrupamiento de Ward; como criterio de decisión molecular, se usaron los análisis de las secuencias ITS rDNA (Internal Transcribed Spacers) completa y mtSSU rDNA (mitochondrial small-subunit ribosomal DNA). La región ITS rDNA fue más informativa y discriminante que la región mtSSU rDNA. Se identificaron las especies *G. australe*, *G. brownii*, *G. curtisii*, *G. orbiform*, *G. resinaceum*, *G. stipitatum*, y *G. weberianum*, en zonas protegidas y ciudades del Valle del Cauca.

**Palabras clave:** Taxonomía, Filogenia, *Ganoderma*, ITS rDNA, mtSSU rDNA.

## SUMMARY

Taxonomically, the *Ganoderma* genus belongs to the Kingdom Fungi, Division Basidiomycota, Subdivision Agaricomycotina, Class Agaricomycetes, Order Polyporales, Family Ganodermataceae. The taxonomic identity of this genus using morphological characters is complicated due to its plasticity. One factor that makes taxonomic classification even more difficult is the lack of a consensus and precise terminology to unify morphologic criteria. In order to help with the unification of criteria, in the taxonomic determination of this study only keys and taxonomic descriptions for the neotropics were used. As morphological decision criteria the result of principal components analyses and Ward grouping were used. As molecular decision criteria the analysis results of complete ITS rDNA (Internal Transcribed Spacers) and of mtSSU rDNA (mitochondrial small-subunit ribosomal DNA) were used. The ITS rDNA region was more informative and discriminating than mtSSU rDNA region. *G. australe*, *G. brownii*, *G. curtisii*, *G. orbiform*, *G. resinaceum*, *G. stipitatum*, and *G. weberianum* were the species identified in protected areas and towns in the Valle del Cauca.

**Key words:** Taxonomy, Phylogeny, *Ganoderma*, ITS rDNA, mtSSU rDNA.

## 1 INTRODUCCIÓN

Una clasificación taxonómica ideal es aquella en que todos los organismos de un taxón están relacionados por un ancestro común; este no es el caso del taxón Fungi, en donde los métodos taxonómicos basados en caracteres morfológicos macro y microscópicos, así como características ultraestructurales y bioquímicas no siempre distinguen entre homologías y analogías (Weber, 2009), así, el reino de los hongos comprende un grupo de organismos versátiles y diversos en su morfología, fisiología, ciclos de vida y ecología.

El taxón Fungi presenta características comunes con plantas y animales. Al estar ausentes los pigmentos fotosintéticos, los hongos tienen un modo de nutrición heterótrofo, pero en contraste con los animales que típicamente se alimentan por ingestión, los hongos obtienen sus nutrientes por digestión extracelular gracias a su actividad secretora de enzimas (Weber, 2009). Poseer quitina (en sus paredes celulares) es otra característica común con los animales (Webster & Weber, 2007).

Las levaduras y otros hongos han jugado un papel importante en la historia económica del hombre como alimento y medicina, de ellos se extraen ácidos, antibióticos, vitaminas, enzimas, proteínas y hormonas; las levaduras se utilizan en la elaboración del pan y la cerveza, algunas especies de *Aspergillus* producen el ácido cítrico para la elaboración de refrescos y otras especies de *Penicillium* son utilizados para la elaboración de quesos (Franco-Molano *et al.*, 2000).

Del género *Ganoderma*, en especial *G. lucidum* (Curtis) P. Karst, también conocido como “Ling Zhi” en China y “Reishi” en Japón, se conoce que ha sido ampliamente usado en la medicina tradicional oriental por más de 2000 años; el primer registro conocido del uso de este hongo data del período del primer emperador de China,

Shih-huang de la Dinastía Ch'in, años 221–227 a.C. (Stamets, 1992, Wagner *et al.*, 2003), para regular el sistema inmune y promover la longevidad. También se reportan propiedades anticancerígenas y antitumorales (Franco-Molano *et al.*, 2000).

*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst, fue originalmente descrito basado en un espécimen colectado en Peckham, Londres; aunque la especie ha sido reportada alrededor del mundo, i.e. Europa (Ryvarden & Gilbertson, 1993), Asia (Núñez & Ryvarden, 2000; Zhao & Zhang, 2000), Oceanía (McKenzie & Foggo, 1989), África (Ryvarden & Johansen, 1980), y América (Bazzalo & Wright, 1982; Gilbertson & Ryvarden, 1986) citados por Wang *et al.* (2009), se cree que muchas han sido mal identificadas. Trabajos basados en el análisis de las regiones ITS y mtSSU, por Moncalvo *et al.*, (1995, 1995a), Hong & Jung, (2004), Wang *et al.*, (2009), Chong *et al.*, (2011) reportan que colecciones de *G. lucidum* en Asia y Europa, han sido mal identificadas y pertenecen a otras especies. Taxonómicamente el género *Ganoderma* pertenece al reino Fungi, división Basidiomycota, subdivisión Agaricomycotina, Clase Agaricomycetes, orden Polyporales y a la familia Ganodermataceae (Hibbet *et al.*, 2007), según la última propuesta de clasificación basada en las filogenias construidas mediante el análisis de múltiples secuencias para establecer filogenias de la 'AFTOL' (assembling the fungal tree of life), con el ánimo de unificar los criterios taxonómicos del reino Fungi (Hibbet *et al.*, 2007, Weber, 2009).

*Ganoderma*, es un género distribuido a nivel mundial (Moncalvo *et al.* 1995; Hong & Jung 2004; McMeekin 2004). En Colombia, la diversidad genética del género es desconocida y puede estar acompañada de una presumible diversidad en sus componentes, que lo ubicaría como un recurso genético interesante y una especie promisoría por sus posibles utilidades en medicina preventiva y curativa.

Su clasificación basada en caracteres morfológicos se dificulta debido a la amplia

variación de su fenotipo, por lo que existe confusión alrededor de su identidad taxonómica y en general se habla del complejo *Ganoderma*. En el género *Ganoderma*, se reconocen especies con propiedades farmacológicas y bioquímicas similares como *G. lucidum*, *G. sineces*, *G. tsugae*, *G. capense*, *G. applanatum*, y *G. australe*, ampliamente caracterizadas. Gao & Zhou (2003) mencionan más de 300 publicaciones en las que se reportan los componentes farmacológicos de *Ganoderma*, aislados de su cuerpo fructífero, micelio y esporas por medio de cromatografías, bioensayos y procedimientos bioquímicos. De *Ganoderma* se han aislado más de 180 sustancias químicas, entre las cuales se destacan polisacáridos, triterpenos, nucleósidos, ergosteroles, ácidos grasos, proteínas/péptidos y oligoelementos (Chai *et al.*, 1997; Hyun *et al.*, 1990; Lim and Choi, 1991; Mizuno, 1995; Rosecke and Konig, 2000; Su, 1991; Su *et al.*, 2000b; 2001) citados por Gao & Zhou, (2003).

Xiao *et al.*, (1993) y McMeekin (2004), reportan que extractos de *Ganoderma lucidum* prolongan la expectativa de vida, estimulan y regulan el sistema inmune en ratones, lo que sugiere que actúa como agente anti-oxidante promotor de la longevidad. Liu (1993) no solo reporta los efectos terapéuticos de *G. lucidum* en ratones, sino también en pacientes humanos con diferentes enfermedades y considera que se debe hacer un mayor esfuerzo para entender la naturaleza y modo de acción de estos agentes (McMeekin, 2004). Otras investigaciones como la de Gao & Zhou (2003), revisan cuidadosamente la evidencia clínica de los efectos anticancerígenos de *G. lucidum* y discute sus posibles mecanismos de acción.

Los efectos medicinales se atribuyen principalmente a los polisacáridos y terpenoides. Chen *et al.*, 2009, Jia *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2009, Zhao *et al.*, 2010 reportaron la fuerte actividad anti-oxidante de los polisacáridos; fracciones que contienen (1→3)-β-D-glucanos, han presentado alta actividad anti-tumoral (Sone *et al.*, 1985, citados por Wagner *et al.*, 2003, Lin *et al.*, 1995, Van der Hem *et al.*,

1995, Park *et al.*, 1997, Lee *et al.*, 1998, citados por Hong & Jung, 2004, Li *et al.*, 2007, Yuen & Gohel, 2007, Zhang *et al.*, 2007, Zhao *et al.*, 2010) y en ensayos con terpenoides, se ha demostrado la citotóxicidad para células de hepatoma (Mizuno *et al.*, 1985, citados por Wagner *et al.*, 2003, Ko *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2007; Yang, 2005 citados por Yang *et al.*, 2009), inhibe la respuesta de los leucocitos a varios agregados agonistas (Su *et al.*, 1985, citados por Wagner *et al.*, 2003) e inactiva la DNA polimerasa y la HIV transcriptasa reversa tipo I (Mizushima *et al.*, 1985, citados por Wagner *et al.*, 2003, E-Mekaway *et al.*, 1998; Bae, & Hattori, 1998 citados por Keypour *et al.*, 2010).

En Colombia se han reportado colectas del género en los departamentos de Cundinamarca, Valle del Cauca, Amazonas, Caquetá y otras localidades (Franco-Molano *et al.*, 2000); Torres *et al.*, 2012, reportan colectas en Chocó y realizaron un estudio micro y macromorfológico de *Ganoderma* con especímenes de 14 países utilizando métodos de taxonomía convencional. No se encontraron otros estudios de diversidad genética del complejo *Ganoderma* en Colombia, por lo que este trabajo será pionero en análisis de los aspectos fundamentales de la especie para el Valle del Cauca.

En este trabajo de investigación se colectó y se realizó una caracterización morfológica de macrohongos del complejo *Ganoderma*, provenientes de tres zonas protegidas del Valle del Cauca y Cali, con el fin de realizar un aporte a la identidad taxonómica de los especímenes encontrados y un diagnóstico preliminar del estado de la diversidad genética de éste recurso.

## 2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El uso de los hongos se ha incrementado recientemente por ser un valioso recurso fuente de nutrientes y metabolitos secundarios altamente bioactivos, como los macrohongos del complejo *Ganoderma*. Se desconoce la diversidad asociada a este recurso genético presente en la región, potencial recurso promisorio, por sus posibles usos medicinales.

Ante un, cada vez más evidente, aumento de enfermedades relacionadas con el detrimento del sistema inmune y el desconocimiento de recursos genéticos con propiedades medicinales, se hace necesaria la caracterización morfológica y molecular de las especies de *Ganoderma* locales, primer paso para conocer este recurso genético, y establecer las posibles relaciones filogenéticas existentes entre diferentes poblaciones del complejo *Ganoderma* en el territorio Colombiano. La taxonomía es la ciencia de hallar, describir y nombrar organismos. Es vital para conocer la biodiversidad del planeta y en muchos grupos de organismos, incluidos los hongos, faltan expertos en taxonomía.

La tala indiscriminada del bosque seco y de otras zonas de vida en el Valle del Cauca, ha reducido de manera crítica sus recursos genéticos, incluyendo al género *Ganoderma* que podría encontrarse allí.

Las diferencias de climas, las distancias geográficas y la divergencia evolutiva entre las poblaciones de *Ganoderma* en Colombia, probablemente han generado diversidad en sus componentes, ubicándolo como recurso genético interesante y una especie promisorio por sus posibles utilidades en medicina preventiva y curativa.

### 3 JUSTIFICACIÓN

El uso de recursos genéticos con fines medicinales por los seres humanos es una práctica tan antigua, como la recolección de alimentos. Los macrohongos del complejo *Ganoderma*, son un ejemplo de ello al brindar desde la antigüedad una alternativa para el tratamiento preventivo y curativo de afecciones relacionadas con la salud.

Diferentes estudios han mostrado que componentes de *Ganoderma* tienen efectos medicinales, tales como la inhibición de la transformación celular dependiente del complejo Ras, implicado en diferentes fenómenos como la integridad del citoesqueleto, proliferación, diferenciación, adhesión y migración celular, y apoptosis, actividad antifibrótica, actividad inmunomoduladora y la estabilización de radicales libres (Hong & Jung 2004, Li *et al.*, 2007, Yuen & Gohel, 2007, Zhang *et al.*, 2007, Zhao *et al.*, 2010) entre otras.

La caracterización morfológica con descripciones macro y microscópicas, es un primer paso para conocer la biología del hongo, además de permitir la identificación de las diferentes especies de *Ganoderma* presentes en las zonas donde se realice el muestreo.

Es poco lo que se conoce del uso de hongos nativos. “De Colombia es muy poca la información que existe acerca del uso local de los hongos. Algunos registros de comercialización de hongos comestibles en plazas de mercado de Bogotá y Cali en los años 30, y el uso de *Lycoperdon pyriforme* y *L. maximum* como desinfectantes, hemostáticos y cicatrizantes, y de *Coprinus atramentarius*, como comestible y remedio para el tratamiento del alcoholismo, se encuentran en la literatura” (Pérez-Arbelaez, 1996; García-Barriga, 1992 citados por Franco-Molano

*et al.* 2000), y el mercado actual está dominado por especies cultivadas no nativas, como el caso del “champiñón” y su variedad “portobello” (*Agaricus biosporus*), el shiitake (*Lentinula edodes*) y las orellanas (*Pleurotus ostreatus*).

En el desarrollo de este proyecto, junto con la caracterización morfológica se generarán entradas para los herbarios regionales José Cuatrecasas Arumí de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira y el Herbario CUVC de la Universidad del Valle, donde en la actualidad se está tratando de recopilar y avanzar en el conocimiento de la riqueza micológica del Valle del Cauca.

La caracterización molecular, a partir de la secuenciación de regiones ITS (Internal Transcribed Spacers) de ADN ribosomal y de la subunidad pequeña del DNA ribosomal mitocondrial, mt SSU rDNA (por sus siglas en inglés mitochondrial small-subunit ribosomal DNA), permitirá realizar análisis filogenéticos para estas regiones nucleares y mitocondriales por separado y en conjunto, utilizando el análisis de máxima verosimilitud.

## 4 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar por morfología y biología molecular el género *Ganoderma* en zonas protegidas y ciudades del Valle del Cauca.

### 4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Hallar y coleccionar especímenes género *Ganoderma* en zonas protegidas del Valle del Cauca y Cali, aportando entradas a los herbarios regionales, y banco de ADN de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.
2. Caracterizar morfológicamente a nivel macro y microscópico los especímenes coleccionados.
3. Estandarizar los protocolos de extracción de ADN a partir de micelio.
4. Amplificar y secuenciar las regiones ITS rDNA (Internal Transcribed Spacers ribosomal DNA) y mt SSU rDNA (mitochondrial small-subunit ribosomal DNA) de especímenes coleccionados del género *Ganoderma*, para determinar su identidad taxonómica.

## 5 MARCO TEÓRICO

### 5.1 Clasificación Taxonómica

Taxonómicamente el género *Ganoderma* pertenece al reino Fungi, división Basidiomycota, subdivisión Agaricomycotina, Clase Agaricomycetes, orden Polyporales y a la familia Ganodermataceae (Hibbet *et al.*, 2007).

La familia Ganodermataceae presenta una amplia distribución y alberga cerca de 117 especies distribuidas en cuatro géneros *Amauroderma*, *Ganoderma*, *Haddowia* y *Humphreya* (Kirk *et al.* 2008) citados por Gugliotta (2011), Gomes-Silva *et al.* (2011).

### 5.2 Importancia del género

Su importancia radica en varios aspectos, el más difundido es el de sus propiedades nutraceuticas o medicinales, también se destaca por su importancia ecológica en el reciclaje de nutrientes al degradar lignina y celulosa de la madera, y por su comportamiento parásito (Lattifah *et al.* 2005, Mendoça *et al.*, 2008, Güzeldağ & Çolak 2007).

Gao & Zhou (2003) hacen una revisión y recopilación de publicaciones científicas en que se reportan propiedades medicinales de hongos del género *Ganoderma* (Tabla 1).

---

Propiedades	Autores citados por Gao & Zhou (2003)
-------------	--

---

---

Inmunomoduladoras	Baek <i>et al.</i> , 1999; Bao <i>et al.</i> , 2001b; 2002a,b; Chung <i>et al.</i> , 1997; Ohno <i>et al.</i> , 1998; Zhou & Gao, 2002.
Anti-arteroscleróticas	Ryong <i>et al.</i> , 1989.
Anti-inflamatorias	Cuella <i>et al.</i> , 1996; Giner-Larza <i>et al.</i> , 2000; Kohda <i>et al.</i> , 1985; Tasaka <i>et al.</i> , 1988a,b; Ukai <i>et al.</i> , 1983a; Wan & Huang, 1992.
Analgésicas	Hijikata & Yamada, 1998; Wan & Huang, 1992.
Quimiopreventivas	Kim <i>et al.</i> , 1999b; Lee <i>et al.</i> , 2001; Lu <i>et al.</i> , 2001; 2002.
Anti-cancerígenas	Chung <i>et al.</i> , 1997; Hwang <i>et al.</i> , 1989; Hyun <i>et al.</i> , 1990; Ikekawa <i>et al.</i> , 1968; Ito <i>et al.</i> , 1977; Jeong <i>et al.</i> , 1992; Kang <i>et al.</i> , 1981; Kim <i>et al.</i> , 1980a; Maruyama <i>et al.</i> , 1989; Miyazaki & Nishijima, 1981; Oh & Chung, 1998; Ohno <i>et al.</i> , 1998; Saito <i>et al.</i> , 1991; Sasaki <i>et al.</i> , 1971; Sone <i>et al.</i> , 1985; Ukai <i>et al.</i> , 1983b; Wang <i>et al.</i> , 1993; 1997; Yeo <i>et al.</i> , 1994; Zhang & Lin, 1999; Zhang <i>et al.</i> , 1994.
Radio-protectivas	Chen & Hau, 1995; Chen <i>et al.</i> , 1995a,b; Hsu <i>et al.</i> , 1990.
Promotoras del sueño	Honda <i>et al.</i> , 1988.
Anti-virales	Eo <i>et al.</i> , 1999a,b; 2000; Kim <i>et al.</i> , 1997a; 2000; Lin <i>et al.</i> , 1988; el-Mekkawy <i>et al.</i> , 1998; Oh <i>et al.</i> , 2000;

---

---

Hipolipidemicas	Suzuki <i>et al.</i> , 1990. Kabir <i>et al.</i> , 1988; Komoda <i>et al.</i> , 1989; Sonoda <i>et al.</i> , 1988.
Anti-plaquetarias y anti-trombóticas	Choi & Sa, 2000; Luo <i>et al.</i> , 1999; Shimizu <i>et al.</i> , 1985; Su <i>et al.</i> , 1999b; 2000a; Tao & Feng, 1990; Wang <i>et al.</i> , 1991; Wu <i>et al.</i> , 1997.
Anti-fibroticas	Park <i>et al.</i> , 1997.
Efectos hepato-protectivos	Baek <i>et al.</i> , 1999; Kim <i>et al.</i> , 1999a; Lin <i>et al.</i> , 1993; 1995; Liu <i>et al.</i> , 1979a,b; Shieh <i>et al.</i> , 2001; Song <i>et al.</i> , 1998.
Antibacteriales	Mothana <i>et al.</i> , 2000; Yang <i>et al.</i> , 1999; Yoon <i>et al.</i> , 1994.
Anti-hipertensivas	Kabir <i>et al.</i> , 1988; Kanmatsuse <i>et al.</i> , 1985; Lee & Rhee, 1990.
Anti-oxidantes y estabilizadoras de radicales libres	Kim <i>et al.</i> , 1999b; Lee <i>et al.</i> , 2001; Lin <i>et al.</i> , 1995; Liu <i>et al.</i> , 1997; Shi <i>et al.</i> , 2002; Shieh <i>et al.</i> , 2001; Yen & Wu, 1999.
Anti-nociceptivas	Hijikata and Yamada, 1998; Koyama <i>et al.</i> , 1997.
Cicatrizantes	Hung <i>et al.</i> , 2001; Su <i>et al.</i> , 1997; 1999 <sup>a</sup> .
Promotoras de la longevidad	Lai <i>et al.</i> , 2001; Lei & Lin, 1993
Hipo-glicémicas	Hikino & Mizuno, 1989; Hikino <i>et al.</i> , 1985; 1989; Kimura <i>et al.</i> , 1988; Tomoda <i>et al.</i> , 1986.
Anti-ulceras	Gao <i>et al.</i> , 2002d.

---

Tabla 1. Literatura científica que registra las propiedades medicinales de Ganoderma realizada por Gao & Zhou (2003).

Debido a sus propiedades estimulantes del sistema inmune, tratamientos con *Ganoderma* tienen efecto sobre un gran número de afecciones en la salud de los seres humanos.

El orden Polyporales, en el cual se incluye el género *Ganoderma*, ha despertado interés de investigadores del campo de la biorremediación, gracias a la deslignificación selectiva que presentan, usando como modelo la degradación de la lignina, en la degradación de compuestos xenobióticos cuya estructura molecular es similar. Estudios importantes en la degradación de residuos contaminados con lindano, bifenilos policlorados y cloro fenoles que son oxidados por la intermediación de enzimas como la lacasa se reportan (Hong & Jung, 2004; Jeon *et al.*, 2008; Petre & Teodorescu, 2009; Shimizu, *et al.*, 2010; Coelho *et al.*, 2010). Esta misma característica tiene aplicaciones industriales en la producción de biopulpa, tratamiento del papel, (Mendoza *et al.*, 2008) y producción de suplementos dietarios (Güzeldağ & Çolak 2007).

Diferentes reportes de su comportamiento parasítico en palma de aceite africana y otros cultivos comerciales, se documenta en diferentes lugares del mundo por su importancia económica, al tener efectos negativos en la producción (Lattifah *et al.* 2005, Forountan & Vaidya, 2007; Karthikeyan *et al.*, 2008; Zacaria *et al.*, 2009; Chong *et al.*, 2011; Naher *et al.*, 2012, Goh *et al.* 2014). En Colombia es cada vez más común, encontrar afecciones del género en árboles frutales como cítricos y especies endémicas.

### **5.3 Descripción morfológica**

Dos grupos principales componen el género; el primero especies con el píleo opaco o pruinoso [subg. *Elfvigia* (P. Karst.) Imazeki] y el segundo con píleo

brillante o lacado (subg. *Ganoderma*) (Ryvarden, 2004, Tello, 2010, Torres & Guzman, 2012).

El género se caracteriza por presentar basidiomas o cuerpos fructíferos anuales a perennes, estipitado o sésil, la superficie del píleo presenta una cutícula gruesa, opaca pruinosa o brillante lacada, cuyas células vistas al microscópio presentan apariencia clavada. El contexto es de color pardo claro a oscuro, color madera, doble o con varias bandas o zonas, suave y esponjoso, o fibroso y duro. Himenóforo color blanco-crema, con 4 a 7 poros por milímetro y tubos dispuestos en una o varias capas. Sistema hifal dimítico, con hifas generativas hialinas o amarillentas y con fíbulas; las hifas esqueléticas pueden ser ramificadas, hialinas o pardas, sin septos y partes más ramificadas. Basidios ampliamente elipsoidales y abruptamente estrechos en la base, cistidios ausentes. Basidiosporas ampliamente elipsoidales a estrechamente elipsoidales, con ápice aplanado o truncado y poro germinal. Su pared celular esta compuesta por dos capas: un endosporio pardo y un exosporio hialino (Ryvarden, 2004).

Para Colombia, Vasco & Franco (2013) reportan un total de 10 especies: *G. adpersum*, *G. amazonense*, *G. applanatum*, *G. australe*, *G. brownii*, *G. chaliceum*, *G. concinnum*, *G. fornicatum*, *G. lucidum* y *G. nitidum*, distribuidas en los departamentos de Amazonas, Caquetá, Chocó, Cundinamarca, Meta, Nariño, Santander, Valle del Cauca y Vaupés. Para el Valle del Cauca solo se reporta *G. lucidum*.

Diferentes autores reportan su trabajo en el género con métodos de taxonomía tradicional (Largent et al., 1977, Largent, 1986, Rivarden, 2004, Torres & Guzmán, 2012 Torres et al., 2012). Rivarden (2004), Torres & Guzmán (2008, 2012), Gugliotta et al., (2011), Torres et al.,(2012), han trabajado en la taxonomía del género y reportan la apariencia del contexto, células de la cutícula, y basidiosporas como los caracteres relevantes para la determinación taxonómica

de los especímenes.

#### **5.4 Diversidad genética del género**

Para el análisis de los caracteres morfológicos, el análisis multivariado interdependiente de componentes principales (ACP) realizado a los caracteres usados para la determinación taxonómica, contribuye a evaluar su contribución a la explicación de la varianza en el género. “Este método se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. Los componentes deben ser interpretados independientemente unos de otros, ya que contienen una parte de la varianza que no está expresada en otro componente principal. El ACP concentra toda la variación presente en la matriz de datos originales en unos pocos ejes o componentes. Los componentes principales contienen información en diferentes proporciones de todas las variables originales y su número depende del número de éstas que se incorporen en el análisis”. (Pla, 1986; López e Hidalgo, 1994a) citados por Franco & Hidalgo 2003.

El análisis de conglomerados, “una técnica estadística multivariada que busca agrupar elementos (o variables) tratando de lograr la máxima homogeneidad en cada grupo y la mayor diferencia entre los grupos” (Santiago Fernandez, 2011), con el agrupamiento jerárquico de Ward (1963) cuyo criterio es maximizar la variación entre los grupos y minimizarla dentro de ellos (Dillon y Goldstein, 1984; Hair et al., 1992 citados por Franco & Hidalgo, 2003), fueron las herramientas usadas para este trabajo. Cuando se unen dos conglomerados, con independencia del método utilizado, la varianza aumenta. El método de Ward une los casos buscando minimizar la varianza dentro de cada grupo (Santiago Fernandez, 2011).

En la actualidad se utiliza la secuenciación de regiones ITS (Internal Transcribed Spacers) de ADN ribosomal, que es la zonas más secuenciada en los hongos, y es un marcador genético versátil, para análisis filogenéticos, evaluación de los procesos evolutivos y la determinación de identidades taxonómicas (Vigalys & Hester, 1990, Moncalvo *et al.* 1995, Moncalvo *et al.*, 1995<sup>a</sup>, Güzeldağ & Çolak, 2007, Hibbet *et al.*, 2007). La amplificación por PCR de estas zonas, su secuenciación, la comparación entre ellas y con secuencias en bancos de genes hace de este procedimiento uno de los más fáciles para la identificación de las colecciones de *Ganoderma* obtenidas (Güzeldağ & Çolak, 2007).

Por último, Hong *et al.* (2002) y Hong & Jung (2004), proponen que la secuenciación de la subunidad pequeña del DNA ribosomal mitocondrial, mt SSU rDNA (por sus siglas en inglés mitochondrial small-subunit ribosomal DNA), provee 3.3 veces más información que las regiones ITS entre las especies de *Ganoderma*. La amplificación de estas secuencias permite usarlas como marcadores moleculares para resolver las relaciones filogenéticas de bajo y alto rango de taxones, ya que la región se compone de dominios conservados y variables.

## 6 METODOLOGÍA

### 6.1 Zona de estudio

El Valle del Cauca, ubicado en el noroccidente colombiano, cubre un territorio que va desde la costa del Pacífico hacia el oriente pasando la Cordillera Occidental y el valle del río Cauca, hasta la Cordillera Central donde alcanza límites con el departamento del Tolima. Sus pisos térmicos van desde los 0 m.s.n.m. hasta los 4500 m.s.n.m., y está ubicado entre 3° 05' y 5° 01' latitud norte, 75° 42' y 77° 33' longitud oeste; su temperatura promedio fluctúa entre los 23-25°C con precipitaciones de 938 mm/año en su zona central y 5159 mm/año en la zona del litoral (Vásquez & Serrano, 2009).

Con el fin de abarcar las zonas naturales con presencia del género en el departamento, en este trabajo de investigación se colectó en dos zonas protegidas pertenecientes a los últimos siete reductos de bosque seco tropical en el valle geográfico del río Cauca: la reserva El Medio (900 m.s.n.m. “bosque seco tropical”) y la reserva El Hatico (935 m.s.n.m. “bosque seco tropical”), y dos reservas en la cordillera occidental: Reserva Forestal Protectora Yotoco (1100-1900 m.s.n.m “bosque húmedo premontano”) según Vásquez & Serrano, 2009, y Parque Natural Nacional Uramba Bahía Málaga (0-900 m.s.n.m. abarcando zonas de vida desde “Manglares” hasta “bosque húmedo tropical”). También se colectaron especímenes del género en la ciudad de Cali.

## **6.2 Colecta**

La colecta se realizó mediante la técnica de muestreo oportunisto (Lodge *et. al.* 2011), colectando todos los especímenes de *Ganoderma* encontrados a lo largo de caminatas en las zonas de muestreo, procurando revisar los hábitats conocidos para la especie.

En campo, se registraron características efímeras, y se tomaron fotografías de alta resolución con cámara digital. Como se trata de un hongo que crece principalmente sobre madera en descomposición, en lo posible, se incluyó parte de la corteza en la colección y la identificación de las especies vegetales asociadas. Para su transporte los especímenes se envolvieron en papel parafinado para evitar deshidratación o adherencia al papel, y se trasladaron en recipientes espaciosos hasta el laboratorio, en donde se realizaron las descripciones macroscópicas en el menor tiempo posible.

Por último se prepararon las accesiones que se destinaron para el herbario José Cuatrecasas Arumí de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira y Luis Sigifredo Espinal-Tascón CUVV de la Universidad del Valle. Las muestras se secaron, debidamente etiquetadas, con aire caliente, para lo cual se utilizó el horno de secado del herbario CUVV de la Universidad del Valle. Después de secados, se colocaron en bolsas de polipropileno, con su respectiva etiqueta y se agregó una pequeña cantidad de desecante (sílica gel) dentro de la bolsa plástica para proteger la colección de la humedad y del crecimiento de mohos (Franco-Molano *et al.*, 2000).

## **6.3 Caracterización macro y microscópica**

Para la caracterización macroscópica se realizaron las mediciones y descripciones

usadas tradicionalmente en el estudio micológico (Largent *et al.*, 1977; Ryvarden, 2004) y se tomaron fotografías como ayuda visual del registro (ANEXO 1).

Para las descripciones microscópicas se efectuaron cortes y se observaron al microscopio las estructuras reportadas como determinantes para la identificación por medio de las claves taxonómicas disponibles (Ryvarden, 2004; Torres & Guzman, 2008, Gugliotta *et al.*, 2011, Torres & Guzman, 2012; Torres *et al.*, 2012).

### **6.3.1 Cultivo in-vitro**

Se tomaron pequeños trozos (4 x 4 mm) de la trama del basidiocarpo de los especímenes colectados y se inocularon en agar papa dextrosa (PDA) reportado como adecuado para el crecimiento del micelio clonado (Güzeldağ & Çolak, 2007). Se incubó durante de 7 a 9 días a 25°C, bajo constante observación para evitar contaminaciones. Después de aislado el hongo, se sembró en medio líquido, 30 g/L de glucosa, 8.95 g/L de peptona, 1 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g/L MgSO<sub>4</sub>, y 0,05 g/L de tiamina. El pH se ajustó a 6 y se incubó a 30°C por 8-10 días (Xu *et al.*, 2008; Sheng & Jing, 2008; Torres *et al.*, 2011).

### **6.3.2 Extracción de ADN**

Para la extracción de ADN se siguió el protocolo de Reader y Broda (1985), con las modificaciones hechas por Moncalvo *et. al* (1995<sup>a</sup>) y el autor de esta investigación, de acuerdo a las prácticas para extracción de ADN de hongos del Laboratorio de biología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira tomadas de Wendland *et.al.* (1996).

De cada muestra cultivada en medio líquido se tomaron 50 mg de micelio, se maceró en nitrógeno líquido y se transfirió a un tubo de 1,5 mL de microcentrifuga, donde se resuspendió en 500 µL de buffer de extracción (200 mM Tris HCl pH 8.5, 25 mM EDTA, 0.5% SDS) y se incubó durante una hora a 65°C. Luego se mezcló homogéneamente con 500 µL fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1) y se centrifugó por 1 hora a 13.000 rpm, se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo y se adicionó un volumen de Cloroformo:Alcohol isoamílico (24:1) y se centrifugó por 45 minutos (Moncalvo et. al 1995<sup>a</sup>). Nuevamente se transfirió el sobrenadante y se adicionó 0.5 volúmenes de Isopropanol. Se incubó por 90 minutos o toda la noche a -20°C. Se realizaron hasta 6 lavados con etanol (Moncalvo et. al 1995<sup>a</sup>) seguidos por centrifugación por 10 minutos a 13.000 rpm. Se resuspendió en TE.

### **6.3.3 Amplificación de los fragmentos de ADN**

Para la amplificación de las regiones ITS rDNA, se utilizaron los cebadores reportados por Güzeldağ & Çolak (2007) y para la región mtSSU rDNA, los cebadores reportados por Hong & Jung (2004). Las condiciones de amplificación usadas para ambas reacciones fueron las reportadas por Vigalys & Hester, (1990), Moncalvo *et al.* (1995) y Moncalvo *et al.*, (1995<sup>a</sup>).

### **6.3.4 ITS rDNA (Internal Transcribed Spacers ribosomal DNA)**

Se utilizaron los cebadores BMB-CR (5«-GTACACACCGCCCGTTCG-3«) y LR1 (5«-GGTTGGTTTCTTTTCCT-3«) reportados por Güzeldağ & Çolak (2007), como eficientes para amplificar el fragmento que abarca las regiones ITS1, 5.8S e ITS2.

Se usaron las condiciones de amplificación (Tabla 3), reportadas por Vigalys & Hester (1990) y usadas por Moncalvo *et al.*, (1995) y Moncalvo *et al.*, (1995<sup>a</sup>), y el

perfi térmico de amplificación usado por Vigalys & Hester (1990) (Tabla 2).

<b>Ciclo</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>
Desnaturalización inicial	94 °C	5 minutos
Desnaturalización	94 °C	1 minuto
Hibridación	50 °C	45 segundos
Extensión	72 °C	1 minuto
30 ciclos desde paso dos		
Extensión	72 °C	7 minutos
Final	16 °C	15 minutos

Tabla 2. Perfil térmico de amplificación para los cebadores de ITS rDNA.

Las condiciones de amplificación usadas para las dos regiones se presentan en la Tabla 3.

<b>Compuesto</b>	<b>[ ] Final</b>
Tampon Taq	1X
MgCl <sub>2</sub>	2 mM
dNTPs	2 mM
Cebadores	0,1 mM
Taq Polimerasa	1,5 U
ADN	20 ng
Volumen final	25 ul

Tabla 3. Condiciones de amplificación usadas para ITS rDNA y mtSSU rDNA.

### 6.3.5 mt SSU rDNA (mitochondrial small-subunit ribosomal DNA)

Se utilizaron los cebadores BMS05 (5«-TTAATTTTGGTTCNGATTGAACG-3«) y BMS173 (5«-TGCTATGACTTTTGAGATGTTAC-3«), reportados por Hong & Jung (2004) como apropiados para amplificar los dominios conservados y variables de la subunidad pequeña del ADN ribosomal mitocondrial. Las condiciones de termociclado utilizadas (Tabla 3), fueron las reportadas por Vigalys & Hester (1990) y usadas por Moncalvo *et al.*, (1995) y Moncalvo *et al.*, (1995<sup>a</sup>). El perfil térmico de amplificación, el usado por Hong & Jung (2004) (Tabla 4).

Ciclo	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización inicial	94 °C	3 minutos
Desnaturalización	94 °C	30 segundos
Hibridación	50 °C	30 segundos
Extensión	72 °C	2 minutos
30 ciclos desde paso dos		
Extensión	72 °C	10 minutos
Final	16 °C	15 minutos

Tabla 4. Perfil térmico de amplificación para los cebadores de mtSSU rDNA.

## 6.4 Análisis estadístico de la información

### 6.4.1 Análisis morfológico

Con el fin de realizar una evaluación de los descriptores utilizados, se utilizaron las variables cuantitativas y se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP), mediante el software *Statistica 8.0* para lo cual se construyó una matriz (ANEXO 2). También se realizó un análisis de conglomerados con el agrupamiento

jerárquico de Ward (1963).

#### **6.4.2 Análisis molecular**

Los alineamientos realizados con las secuencias utilizando *ClustalW* en el programa *MEGA 6.0* (Tamura *et al.*, 2013) permitieron definir sus homologías para los posteriores análisis. Con este mismo programa se realizó un análisis de reconstrucción filogenética, con el método estadístico de máxima verosimilitud; el test de filogenia evaluado mediante el método *Bootstrap* y el modelo de sustitución de nucleótidos *Hasegawa-Kishino-Yano* (Felsenstein, 1988, Lemey *et al.*, 2009).

## 7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Zona de estudio, colecta e ingreso de especímenes al herbario

Fueron colectadas en el sur de la ciudad de Cali 16 muestras, una en la Reserva Forestal de Yotoco; en los reductos de bosque seco tropical de “El Medio” en Zarzal tres y una en “El Hatico” en El Cerrito, y por último, una en la seva humeda tropical de Bahía Málaga, en el departamento del Valle del Cauca.

En la figura 1 se muestra la ubicación de las localidades en que se colectaron las muestras utilizadas. Otros especímenes fueron colectados, pero al no lograr el aislamiento en medio líquido para la extracción de ADN, no se incluyeron en el análisis molecular. En el ANEXO 1 se puede encontrar la descripción morfológica de los especímenes colectados.



Figura 1. Mapa físico del Valle del Cauca con la ubicación de sitios de colecta.

En la tabla 5 se detallan los especímenes colectados con un código de acuerdo a su ubicación geográfica, la especie según su determinación taxonómica, lugar de colecta y hospedero.

Accesión	Especie	Municipio	Localidad	Hospedero
Z1	<i>G. stipitatum</i>	Zarzal	El Medio	Tocón
Z2	<i>G. stipitatum</i>	Zarzal	El Medio	Tocón
Z3	<i>G. stipitatum</i>	Zarzal	El Medio	Tocón
Y	<i>G. brownii</i>	Yotoco	Reserva	Tronco caído
C1	<i>G. curtisii</i>	Cali	Limonar	<i>Pithecellobium dulce</i>
C2	<i>G. orbiformum</i>	Cali	Limonar	<i>Cassia siamea</i>
C3	<i>G. curtisii</i>	Cali	El Ingenio	<i>Cassia siamea</i>
C4	<i>G. curtisii</i>	Cali	El Ingenio	<i>Cassia siamea</i>
C5	<i>G. curtisii</i>	Cali	El Ingenio	Tocón
P	<i>G. stipitatum</i>	Palmira	Rozo	Swinglea glutinosa
CE	<i>G. weberianum</i>	El Cerrito	El Hatico	Tronco caído
C6	<i>G. curtisii</i>	Cali	Univalle	<i>Cassia siamea</i>
C7	<i>G. curtisii</i>	Cali	Univalle	Tronco caído
C8	<i>G. curtisii</i>	Cali	Univalle	Tocón
C9	<i>G. curtisii</i>	Cali	El Ingenio	<i>Cassia fistula</i>
C10	<i>G. resinaceum</i>	Cali	El Ingenio	<i>Cesalpineia pentophoroides</i>
C11	<i>G. curtisii</i>	Cali	Valle del Lili	<i>Leucaena leucocephala</i>
C12	<i>G. resinaceum</i>	Cali	Cañaverales	<i>Cassia fistula</i>
C13	<i>G. weberianum</i>	Cali	Valle del Lili	<i>Cassia fistula</i>
C14	<i>G. weberianum</i>	Cali	Univalle	<i>Pithecellobium dulce</i>
C15	<i>G. curtisii</i>	Cali	Univalle	<i>Leucaena leucocephala</i>

C16	<i>G. curtisii</i>	Cali	Valle del Lili	<i>Cassia siamea</i>
B	<i>G. australe</i>	Buenaventura	La Plata	Tocón

Tabla 5. Lista de especímenes colectados con su respectiva identidad taxonómica, localización y hospedero.

## 7.2 Caracterización morfológica de los especímenes

Se logró la determinación taxonómica por medio de los caracteres morfológicos, usando artículos científicos y claves taxonómicas para el neotrópico publicadas por diversos autores (Torres & Guzmán, 2005, 2011, 2012, Torres *et al.*, 2012; Gomes-Silva *et al.*, 2011; Gugliotta *et al.*, 2011; Kinge & Mih, 2011; Muthelo, 2009; Ryvardeen, 2004; Steyaert, 1980, 1967, 1961; Murrill, 1902) y el recurso digital *Index Fungorum*.

Todas las especies encontradas y descritas pertenecen al género *Ganoderma*, de acuerdo con el criterio de presentar esporas truncadas con doble pared, exospório coloreado y ornamentado con pilares y endospório delgado de color rojizo-marrón a amarillo-marrón (Cléménçon's, 2004, Ryvardeen, 2004, Torres & Guzman, 2011, Torres *et al.*, 2012).

De los especímenes descritos, 23 pertenecen al subgénero *Ganoderma* con superficie lacada, y solo dos al subgénero *Elfvigia*, con superficie pruinoso. La identidad taxonómica del género utilizando los caracteres morfológicos es complicada debido a su plasticidad (Ryvardeen, 2004; Torres & Guzman, 2012). Uno de los factores que dificultan la determinación taxonómica, identificado por Torres & Guzman (2012), es la falta de consenso y terminología precisa que unifique los criterios morfológicos que se analizan. La falta de fotografías de apoyo en las publicaciones existentes para el neotrópico y la subestimación de algunos caracteres del contexto, ornamentaciones de la espóra y células de la cutícula,

también se mencionan. Otra de las dificultades que se encontró fue la variación morfológica intraespecífica de los basidiomas.

Con el fin de aportar al objetivo de unificación de criterios, en la determinación taxonómica se utilizaron las claves y descripciones taxonómicas para el neotrópico de Ryvardeen, (2004), Torres & Guzman (2008), Gomes-Silva et al., (2011), Gugliotta et al., (2011), Torres & Guzman (2012) y Torres et al. (2012). También se usó como criterio los resultados del análisis de componentes principales y el agrupamiento de Ward.

Después de ser identificados a nivel de subgénero, el grosor, la consistencia del píleo, la forma de unión al sustrato y la inserción del estípite son los primeros caracteres evaluados. Torres & Guzman (2012), proponen consistencia, estructura y presencia de depósitos resinosos, como las características más importantes del contexto, y la presencia de estípite real (> 5 cm) o subestípite (pseudostípite que puede crecer como continuación del píleo según las condiciones ambientales), como características morfológicas determinantes.

En cuanto a los caracteres microscópicos, Torres & Guzman (2012) mencionan el tamaño de la basidiospora, la forma de la tapa o “cap” del ápice de la misma y los pilares inter-pared que constituyen la ornamentación de la basidiospora, como discriminantes; también la forma y ornamentación de las células de la cutícula o pileipellis.

En la muestra analizada se identificaron siete especies: *G. australe*, *G. brownii*, *G. curtisii*, *G. orbiform*, *G. resinaceum*, *G. stipitatum*, y *G. weberianum* (Tabla 5). Según el último reporte de diversidad consultado (Vasco & Franco, 2013), es la primera vez que se reportan estas especies para el Valle del Cauca.

### 7.3 Análisis morfológico

#### 7.3.1 Análisis de componentes principales

En el análisis estadístico de la información, ninguno de los valores del coeficiente de correlación fue altamente significativo y por encima del 95%, lo que indica que el grado de asociación entre las variables no es alto, es decir, ninguna variable explica la otra.

Los valores que aportaron una idea de la variabilidad del descriptor son los de coeficiente de variación, > 25% para el 84% de los descriptores considerados (Tabla 6).

	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.	Standard
Pileoanch	23,00	15,22	0,00	38,00	81,19	9,01	59,21	1,88
Pileolong	23,00	11,87	0,00	31,00	55,66	7,46	62,84	1,56
Pileoespm	23,00	3,24	0,00	10,00	4,59	2,14	66,03	0,45
Estlong	23,00	3,22	0,00	12,00	9,08	3,01	93,70	0,63
Estanch	23,00	2,55	0,00	7,00	5,11	2,26	88,59	0,47
Poropmm	23,00	4,87	0,00	7,00	3,12	1,77	36,27	0,37
Tramalongm	23,00	2,30	0,00	6,10	2,38	1,54	67,27	0,32
Tuboslongm	23,00	0,87	0,00	2,40	0,28	0,53	60,51	0,11
Hifesq	23,00	4,06	0,00	5,74	1,75	1,32	32,52	0,28
Hifgener	23,00	3,14	0,00	9,70	3,21	1,79	56,99	0,37
Celcutanchap	23,00	9,00	2,00	13,60	6,10	2,47	27,45	0,52
Besplong	23,00	9,49	6,00	11,20	1,70	1,30	13,73	0,27
Bespanch	23,00	6,51	5,32	8,41	0,58	0,76	11,69	0,16

Tabla 6. Datos arrojados por el programa *Statistic 8.0* en donde se pueden observar los coeficientes de variación.

Los descriptores que se desestiman por tener un coeficiente de variación bajo son las magnitudes independientes de longitud de la basidiospora (*Besplong*) y ancho

de la basidiospora (*Bespanch*), que son reportadas como de gran importancia en la determinación taxonómica. En la muestra colectada, ninguna de las especies presentaba esporas de gran tamaño como las reportadas por Ryvardeen, (2004): *G. colossum*, *G. oerstedii*, *G. longistipitatum*, *G. concinnum* o *G. sessile* reportada por Torres *et al.*, (2012). En el análisis de componentes principales las variables cuantitativas originales se transforman en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas (Franco & Hidalgo 2003), lo que no ocurre con estos decriptores en las claves taxonómicas, ya que el tamaño de la espóra es uno de los últimos caracteres que se evalúa y su discriminación está condicionada por otros descriptores que se evalúan antes.

Los descriptores que más contribuyeron a la variabilidad fueron la longitud (*Estlong*) y ancho (*Estanch*) del estípíte, resultado en concordancia con Torres & Guzmán (2012), que reportan la presencia de un estípíte real para especies como *G. curtisii*, la más común en la muestra. *G. concinnum*, *G. dorsale*, y *G. perturbatum*, son otras de las especies reportadas para el Neotrópico que también lo presentan. Las magnitudes de este descriptor, permite desde los primeros pasos tomar una decisión en la ruta a seguir en la clave dicotómica para lograr la identidad taxonómica.

La selección del número de componentes (Tabla 7) que se deben retomar para el análisis, se basa en los criterios de Cliff (1987), quién indicó que se deben considerar como aceptables los componentes cuyos valores propios expliquen un 70% o más de la varianza total, y el criterio de Kaiser (1960) quien propuso la selección de los componentes cuyo valor propio sea  $\geq 1$ .

Los primeros tres componentes principales explican el 65.80% de la varianza total.

	Eigenvalue	% Total	Cumulative	Cumulative
1	4,582989	35,25376	4,58299	35,2538

2	2,408866	18,52974	6,99185	53,7835
3	1,562783	12,02141	8,55464	65,8049
4	1,145867	8,81436	9,70050	74,6193
5	1,006842	7,74494	10,70735	82,3642
6	0,622833	4,79102	11,33018	87,1552
7	0,493857	3,79890	11,82404	90,9541
8	0,417283	3,20987	12,24132	94,1640
9	0,310108	2,38545	12,55143	96,5494
10	0,207773	1,59826	12,75920	98,1477
11	0,132305	1,01773	12,89151	99,1654
12	0,074784	0,57526	12,96629	99,7407
13	0,033710	0,25931	13,00000	100,0000

Tabla 7. Componentes principales formados con sus respectivos valores propios y porcentaje de varianza total.

El coeficiente de correlación más alto entre las variables originales y los componentes principales, sin importar el signo, indica cuales son las variables que más contribuyen a la varianza total explicada del componente principal (Franco & Hidalgo, 2003).

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Pileoanch	<b>-0,86</b>	-0,16	0,04
Pileolong	<b>-0,93</b>	-0,09	0,08
Pileoespm	<b>-0,80</b>	0,09	0,38
Estlong	-0,64	0,06	<b>-0,55</b>
Estanch	<b>-0,74</b>	-0,03	<b>-0,48</b>
Poropmm	-0,18	<b>0,59</b>	-0,50
Tramalongm	-0,67	-0,19	0,45
Tuboslongm	-0,69	0,37	-0,11
Hifesq	-0,44	0,34	0,12
Hifgener	0,25	<b>0,80</b>	-0,13
Celcutanchap	0,12	-0,50	<b>-0,59</b>
Besplong	-0,39	-0,58	-0,07

Bespanch	0,15	-0,71	-0,21
----------	------	-------	-------

Tabla 8. Coeficientes de correlación entre los componentes principales y los descriptores.

En el primer componente principal, las variables que más contribuyeron, con el 35.25% de la varianza total explicada fueron las características del píleo: ancho largo y espesor. Dentro de la muestra analizada, la especie con mayor presencia es *G. curtisii* (C1, C3, C4, C5 C6, C7, C8, C9, C11, C15 Y C16), que regularmente presenta unas dimensiones características; un tamaño mayor al de las otras especies colectadas. Solo una especie, *G. orbiform* (C2), presenta un tamaño evidentemente mayor que el resto. *G. resinaceum* (C10 y C12), *G. stipitatum* (Z1, Z2, Z3 y P) y *G. weberianum* (CE, C13), presentan un tamaño menor. Las características del estípite, contribuyen a la variación de este componente principal. Aquí también se ubican las longitudes de la trama y los tubos, que son derivadas del ancho del píleo. La especie *G. australe* (B), se diferencia claramente. En la Figura 2 se puede visualizar la distribución de los especímenes, confrontando el componente principal 1 (eje X) y el componente principal 2 (eje Y). Los especímenes que se identificaron como de la misma especie se ubican cercanos, y el grupo más disperso es el de *G. curtisii*, en el que se presenta una variedad morfológica mayor, o aún persiste un problema con la determinación de la identidad taxonómica. La caracterización molecular ayuda a la toma de decisiones.

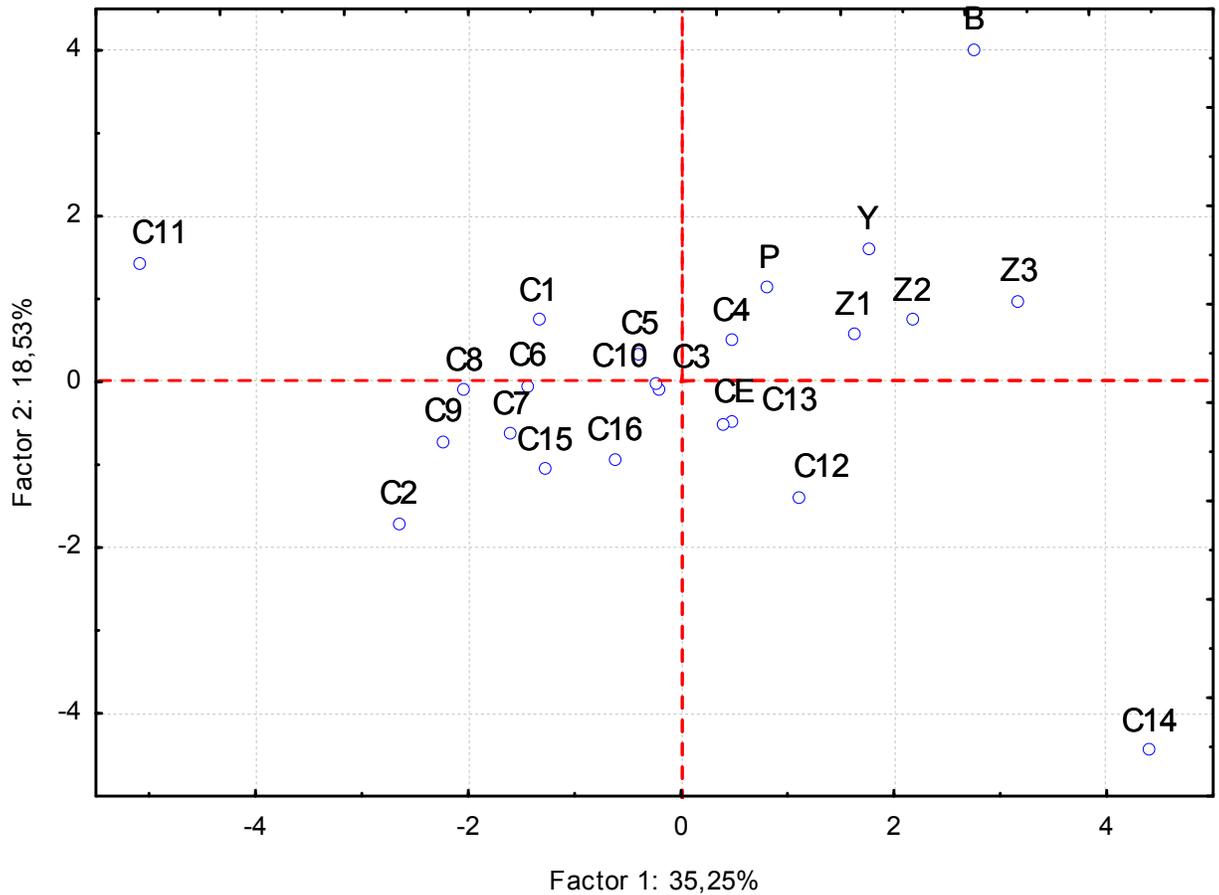


Figura 2. Distribución de los especímenes, confrontando el componente principal 1 (eje X) y el componente principal 2 (eje Y).

En el segundo componente principal, las variables que más contribuyeron, con el 18.52% de la varianza total explicada fueron el ancho de las hifas generativas, ancho de la basidiospora y poros por milimetro. En el tercer componente principal, con el 8.18% de la varianza total explicada, el ancho de las células de la cutícula o pilleipelis y las dimensiones del estípite.

En la Figura 3 se puede visualizar la distribución de los especímenes, confrontando el componente principal 3 (eje X) y el componente principal 1 (eje Y), en el que el aporte de la varianza por el componente principal 3, logra definir un

poco más los grupos. Aquí se acentúa un poco más la diferencia de los especímenes identificados *G. resinaceum* (C10 y C12), de hábito sésil (no presentan estípites) y células de la cutícula de apariencia y medidas similares, aunque es C10, la que más se diferencia. Aquí, los especímenes C1 y C16, identificados como *G. curtisii*, se separan un poco del grupo y aunque la distribución cambia, sigue siendo dispersa dentro del grupo.

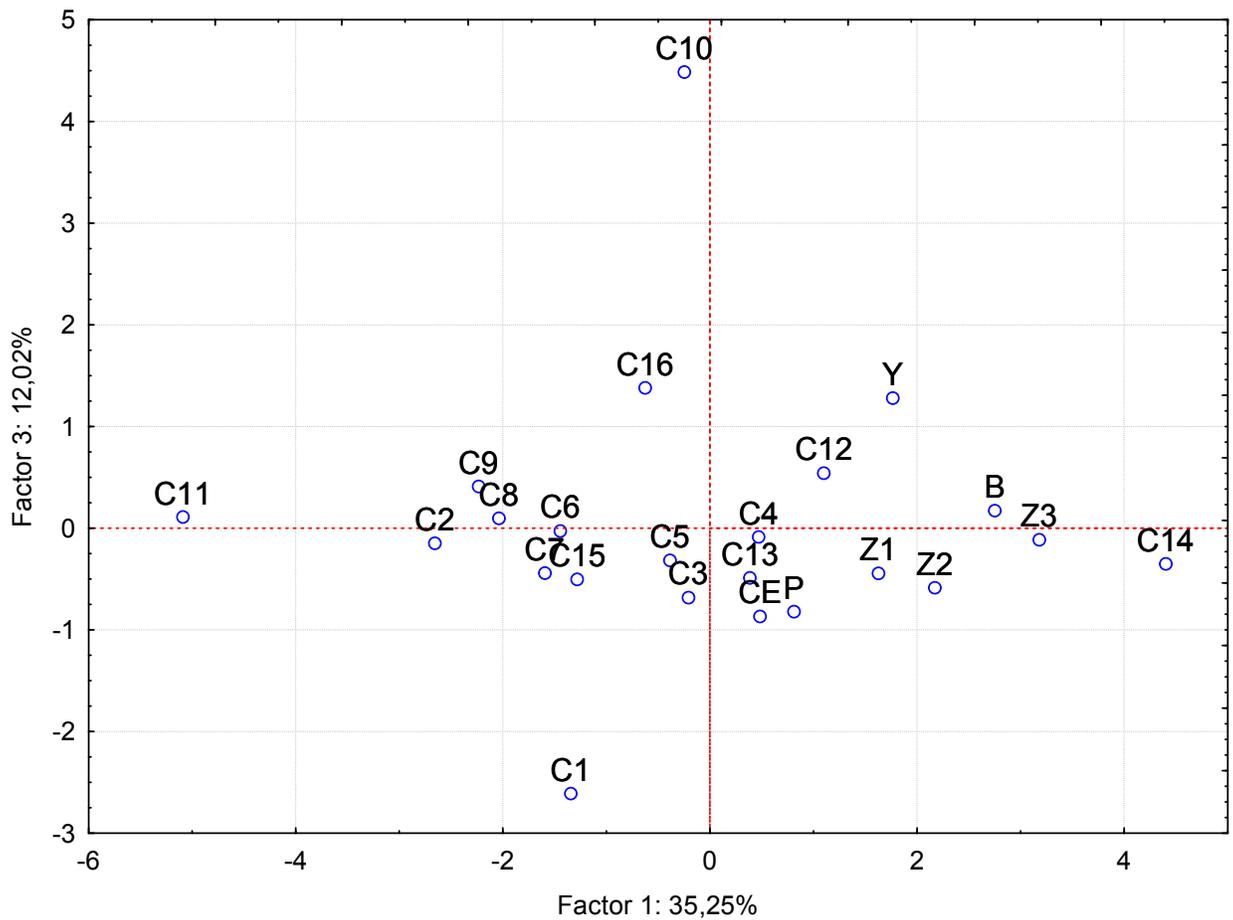


Figura 3. Distribución de los especímenes, confrontando el componente principal 3 (eje X) y el componente principal 1 (eje Y).

### 7.3.2 Agrupamiento de Ward

El dendrograma producido por el análisis de conglomerados con el agrupamiento jerárquico de Ward (1963) y el análisis de componentes principales fueron de gran utilidad para la toma de decisiones en la determinación taxonómica de las especies. Los grupos formados en el dendrograma (Figura 4), al igual que con el ACP, fueron coherentes con la variación morfológica observada, y fue más fácil tomar una decisión en cuanto a la identidad taxonómica utilizando las claves dicotómicas.

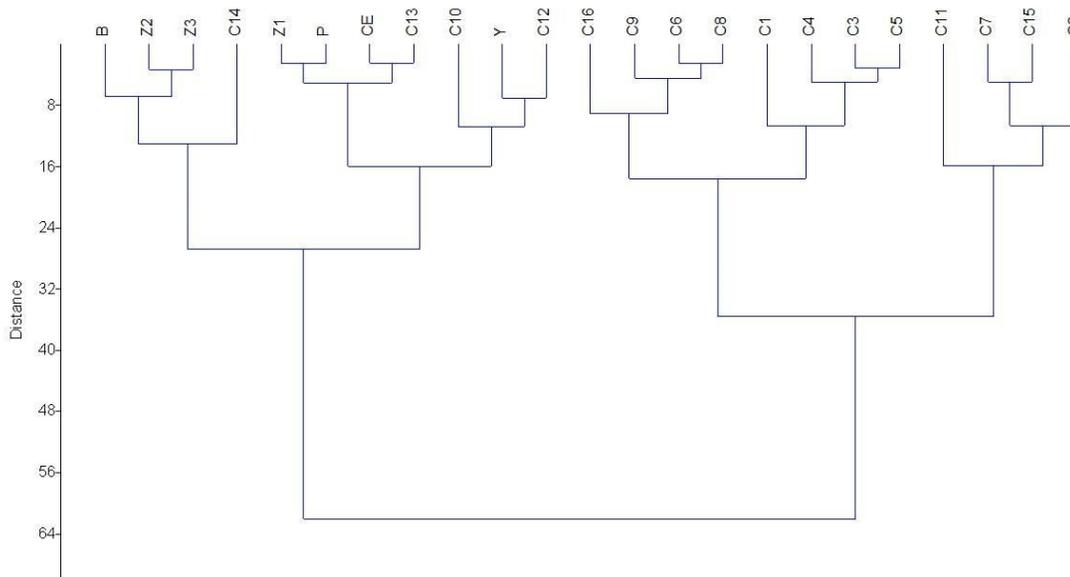


Figura 4. Dendrograma producido en el análisis de conglomerados con el agrupamiento jerárquico de Ward (1963).

Se formaron dos grupos principales, el primero a una distancia euclidiana del 38%, que contiene los grupos de las especies *G. curtisii* y el grupo externo con la especie *G. orbiform* (C2). El segundo grupo, a una distancia euclidiana del 26%. Contiene los grupos pertenecientes a las especies *G.stipitatum* (Z1, Z2, Z3 y P),

*G. brownii* (Y), *G. resinaceum* (C10 y C12), *G. weberianum* (CE y C13), y el espécimen *G. australe* (B). El espécimen C14 y C17, se degradaron durante el almacenamiento, por lo que solo fue posible usar las características microscópicas de las células de la cutícula o pilleipelis y las basidiosporas, para C14; es por esto que se ubica aparte del grupo. C17 solo se incluyó en la caracterización molecular.

## 7.4 Caracterización molecular

### 7.4.1 Estandarización de protocolo de extracción de ADN de micelio

En los ensayos iniciales de extracción de ADN, utilizando protocolos de extracción para hongos fitopatógenos y de otra división taxonómica, no fue posible obtener ADN debido a la alta concentración de polisacáridos presentes en el género. La centrifugación de las muestras por una hora o más, después de la extracción con fenol:cloroformo (24:1) ayuda a sedimentar los polisacáridos de alto peso molecular en la interfase de “debris” y proteína desnaturalizada (Reader & Broda, 1985). Este fue un factor crítico en la obtención de ADN de buena calidad y amplificable en las reacciones de PCR.

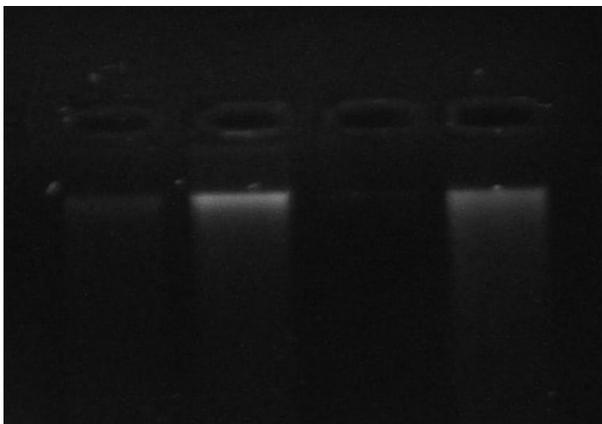


Figura 5. Gel de agarosa al 0.8%, tinción con bromuro de etidio, en la que se visualiza el ADN extraído de micelio.

El ADN visualizado en gel de agarosa al 0.8% (Figura 5), se cuantificó con el espectrofotómetro Colibrí, obteniendo concentraciones entre 20 y 80 ng/ul.

#### 7.4.2 Amplificación y secuenciación de las regiones ITS y SSU

Los fragmentos amplificados por los cebadores BMB-CR y LR1, que incluyen la regiones ITS1, 5.8 S e ITS2, utilizados por Güzeldağ & Çolak (2007), presentaron un tamaño aproximado de 800 pb (Figura 6). Se visualizaron en un gel de agarosa al 1.2%.

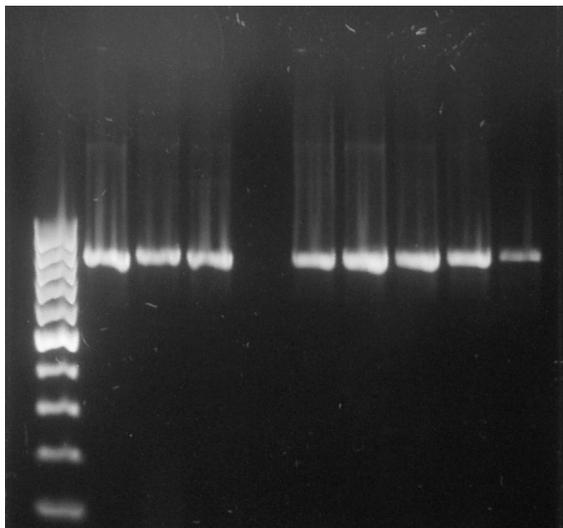


Figura 6. Gel de agarosa al 1.2%, tinción con bromuro de etidio, en la que se visualiza los amplificados de la región ITS total, con tamaño aproximado de 800 pb.

Los fragmentos amplificados por los cebadores BMS05 y BMS173, para la región mtSSU rDNA reportados por Hong & Jung (2004), presentaron un tamaño aproximado de 1.5 kb (Figura 3). Resultados positivos desde la primera amplificación fueron obtenidos bajo las mismas condiciones usadas por Vigalys & Hester, (1990), Moncalvo *et al.* (1995) y Moncalvo *et al.*, (1995<sup>a</sup>), para ambas regiones (Tabla 3).

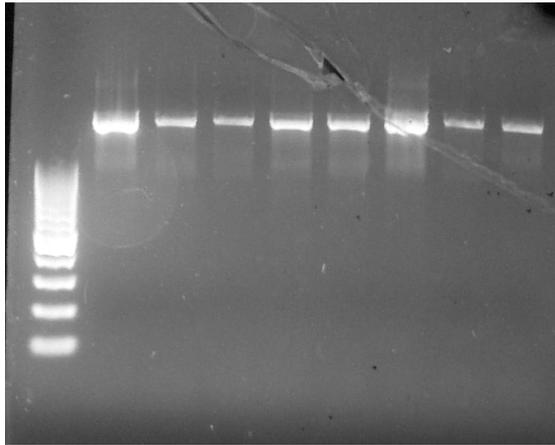


Figura 7. Gel de agarosa al 1.2%, tinción con bromuro de etidio, en la que se visualiza los amplificadores de las región mt SSU rDNA.

### 7.5 Análisis molecular

Para el análisis de resultados, solo se incluyeron los especímenes que pudieron ser aislados y crecidos en forma de micelio hasta el cultivo líquido. En esta muestra no se incluyeron los especímenes Z2, Y, P y C2.

Como herramientas moleculares de decisión en el establecimiento de las identidades taxonómicas, se usaron el alineamiento con secuencias de BLASTn y los árboles filogenéticos generados por el análisis de las regiones amplificadas. Se obtuvieron tres árboles, uno para las regiones ITS (Figura 8), otro para la región mtSSU (Figura 9) y otro analizando las dos regiones (Figura 10).

El resultado de los análisis de las secuencias de ambas regiones, con la herramienta BLASTn de NCBI (Zhang et. al, 2000, Morgulis et. al., 2008) mostró que todas las secuencias amplificadas coinciden con reportes en esta base de datos para el género *Ganoderma* (Tabla 7).

Accesión	% de identidad-especie (homología ITS)	Accesión NCBI	% de identidad-especie (homología mtSSU)	Accesión NCBI
Z1	98% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	98% <i>G. subamboinense</i>	AF248349.1
Z3	98% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	No amplificó	
C1	98% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	95% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C3	95% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	95% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C4	95% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	98% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C5	95% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	94% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C6	99% <i>G. multipileum</i>	JQ781874.1	97% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C7	95% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	93% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C8	99% <i>G. multipleum</i>	JQ781874.1	99% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C9	96% <i>G. multipleum</i>	JQ781874.1	95% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C10	96% <i>G. multipleum</i>	JQ781874.1	98% <i>G. lucidum*</i>	AF248341.1
C11	95% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	94% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C12	96% <i>G. multipleum*</i>	JQ781874.1	99% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C13	96% <i>G. multipleum</i>	JQ781874.1	94% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C14	96% <i>G. multipleum</i>	JQ781874.1	97% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C15	95% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	98% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C16	96% <i>G. multipleum</i>	JQ781874.1	95% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
C17	95% <i>G. weberianum</i>	AY569451.1	95% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
CE	96% <i>G. multipleum</i>	JQ781874.1	95% <i>G. oerstedii</i>	AF214469.1
B	95% <i>G. lucidum*</i>	AF214475.1	85% Basidiomycete sp.	AY605704.1

Tabla 9. Resultados del alineamiento de secuencias con la herramienta BLASTn, en la base de datos de NCBI. Los resultados marcados con asterisco (\*), presentaron un valor esperado (E) de que la alineación haya ocurrido por casualidad (Zhang *et al.*, 2000) más bajo con otras especies reportadas en NCBI.

En el alineamiento con secuencias ITS, las mayores homologías de las accesiones fueron con las especies *G. multipileum* (C6, C8, C9, C10, C12, C13, C14, C16, CE), *G. weberianum* ( Z1, Z3, C1, C3, C4, C5, C6, C7, C11, C15, C17) y una especie *G. lucidum* (B); con las secuencias mtSSU, todas las accesiones presentaron homologías mayores con *G. oerstedii*, a excepción de Z1 (*G.*

*subamboinense*) y B (*G. lucidum*). Para Z3 no se obtuvo amplificación de esta región. *G. multipileum* es el nombre propuesto Hou (1950) en Taiwan y rescatado por Wang et al., (2009), después de realizar un análisis de las regiones ITS para especímenes identificados como *G. lucidum* en Asia tropical, sin embargo los resultados del conjunto de datos morfológicos y moleculares, no permiten afirmar de manera concluyente, que las accesiones agrupadas en el alineamiento como *G. multipileum* o *G. weberianum*, pertenezcan a un mismo grupo.

En la caracterización morfológica se identificaron como *G. curtisii* (C1, C3, C4, C5 C6, C7, C8, C9, C11, C15, C16), las mismas accesiones que en el alinamiento con secuencias mtSSU presentaron una mayor homología con *G. oerstedii*, y con *G. weberianum* y *G. multipileum* en la alineación con las secuencias ITS. También se agruparon aquí las accesiones CE, C13 y C14, mientras que en su determinación taxonómica se les identificó como *G. weberianum*. Sin embargo ninguna de las especies identificadas morfológicamente como *G. weberianum*, coincidieron con las homologadas como tal en la base de datos de NCBI. De acuerdo a los tres árboles filogenéticos, es probable que CE, C13 y C14 pertenezcan a la especie *G. curtisii*, y la diferencia morfológica se deba a la variación intraespecífica.

Para el caso de las accesiones identificadas morfológicamente como *G. resinaceum* (C10 y C12), el alinamiento con secuencias de mtSSU, reporta para C10, un valor esperado (E) de que la alineación haya ocurrido por casualidad (Zhang et al., 2000) más bajo, y una mayor identidad con una accesión de NCBI denominada como *G. linghzi* (JX029989.1), y C12 en el análisis de ITS como *Coriolopsis caperata* (EU030178.1), que pertenece a otro género taxonómico, pero el resto de alineaciones sí pertenecían al género. Basado en los aspectos morfológicos y moleculares, es probable que haya una mayor distancia genética entre estas accesiones y el resto del grupo identificado como *G. curtisii*.

A pesar de que la mayoría de las muestras identificadas como *G. curtisii* en la

caracterización morfológica, presentan un porcentaje de identidad alto con secuencias reportadas en NCBI como *G. oerstedii* para mtSSU, no se cambió su determinación taxonómica, ya que los especímenes identificados presentan bandas resinosas y la clave taxonómica de Ryvardeen (2004) reporta esta especie con el contexto sin dichas bandas; Torres & Guzmán (2012) también reporta células de la cutícula con más de siete protuberancias cortas y delgadas, las cuales no presentaron los especímenes. Como lo documentan Moncalvo *et al.*, (1995) y Wang *et al.*, (2009) para Asia y Europa, reportes de diversidad de especies en Colombia (Franco-Molano *et al.*, 2000, Vasco-Franco 2013) y mi experiencia en la visita al herbario de la Universidad de Antioquia y revisión de especímenes de la colección, la mayoría de las especies del género se reportan como *G. lucidum*; sinomimias que no son la excepción en los reportes de secuencias a bases de datos moleculares, debido a la falta de conocimiento y unidad en los criterios para la determinación taxonómica por medio de la morfología.

El alineamiento de las 21 regiones completas de ITS rADN de los especímenes analizados, presentó un número de 689 sitios, de los cuales 159 sitios fueron variables (23.01%) y 12 haplotipos diferentes con un índice de diversidad genética de 0.906, lo que corrobora su utilidad en los análisis moleculares como herramienta de decisión.

El árbol generado por análisis de máxima verosimilitud y evaluado con remuestreo *bootstrap* de la región ITS (Figura 8), diferenció entre las especies identificadas morfológicamente como *G. australe* (B), *G. stipitatum* (Z1 y Z3), *G. resinaceum* (C10 y C12, en clados separados), y un gran grupo en el que se encuentran especies identificadas morfológicamente como *G. curtisii*, y *G. weberianum*, sin generar clados separados. Este resultado refuerza su condición como herramienta apropiada para identificar variaciones interespecíficas.

Las 19 regiones completas de mtSSU rADN de los especímenes analizados, se alineó en 1032 sitios, de los cuales 274 sitios fueron variables (26.56%), presentó 19 haplotipos diferentes con un índice de diversidad genética de 1.0, lo que corrobora su utilidad en los análisis moleculares como herramienta de decisión.

El árbol generado por análisis de máxima verosimilitud y evaluado con remuestreo bootstrap de la región mtSSU (Figura 9), solo diferenció la accesión B (*G. australe*), que pertenece al subgénero *Elfvigia*. Con el resto de accesiones se formaron dos grupos en los que no hay correlación con las identidades taxonómicas obtenidas a partir de la morfología.

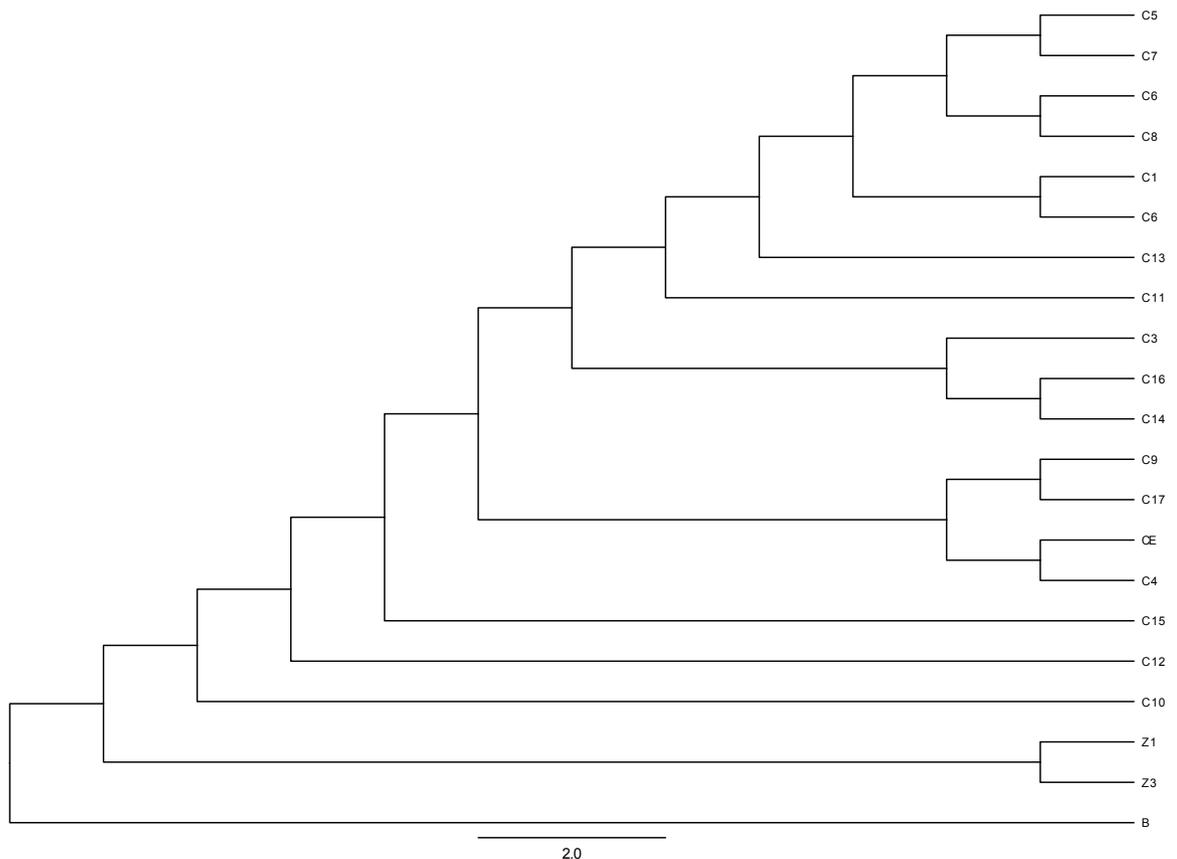


Figura 8. Árbol filogenético producido con el análisis de máxima verosimilitud y remuestreo bootstrap de las regiones ITS.

A pesar de que esta región presenta mayor variabilidad, los análisis de esta

muestra no lograron diferenciar entre especies, solamente tuvo utilidad en la diferenciación de la accesión del subgénero *Elfvingia*, lo que confirma su utilidad en la resolución de la ubicación de individuos en taxones alejados. Este resultado concuerda con el reporte de Hong & Jung, (2004), en el que indica una mayor variabilidad de la región, aunque no logra diferenciar entre especies.

Las accesiones incluidas en el análisis molecular e identificadas morfológicamente como *G. stipitatum* (Z1 y Z3), en árbol originado para ITS (Figura 8) se logran diferenciar en un taxón monofilético, pero en el caso del análisis con mtSSU (Figura 9), en dónde Z3 no amplificó, Z1, quedó dentro del gran grupo *G. curtisii*. En el árbol generado por el análisis de ambas secuencias, no se incluyó Z3, pero Z1, se ubicó en un taxón separado.

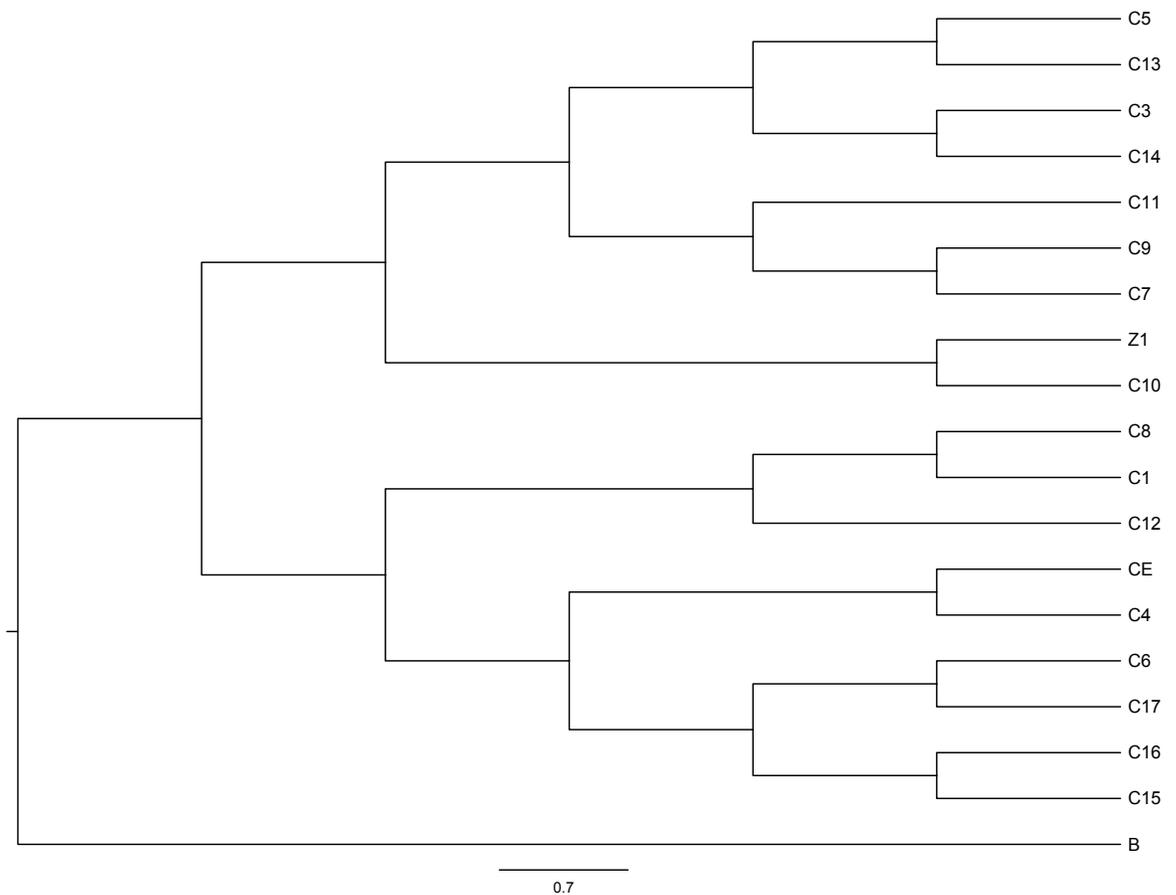


Figura 9. Árbol filogenético producido con el análisis de máxima verosimilitud y remuestreo bootstrap de las regiones mtSSU.

El árbol producido por el análisis de las regiones ITS y mtSSU (Figura 10), diferenció claramente a la accesión B (*G. australe*), Z1 (*G. stipitatum*) y C10 (*G. resinaceum*). La accesión C12 (*G. resinaceum*) se ubica en un clado aparte del grupo formado por *G. curtisii* (C4, C16, C15, C16, C6, C1, Y C8) y una accesión de *G. weberianum* (CE). En el grupo 2, están las otras accesiones de *G. curtisii* y una accesión de *G. weberianum* (C13), formando un grupo monofilético con C5 (*G. curtisii*).

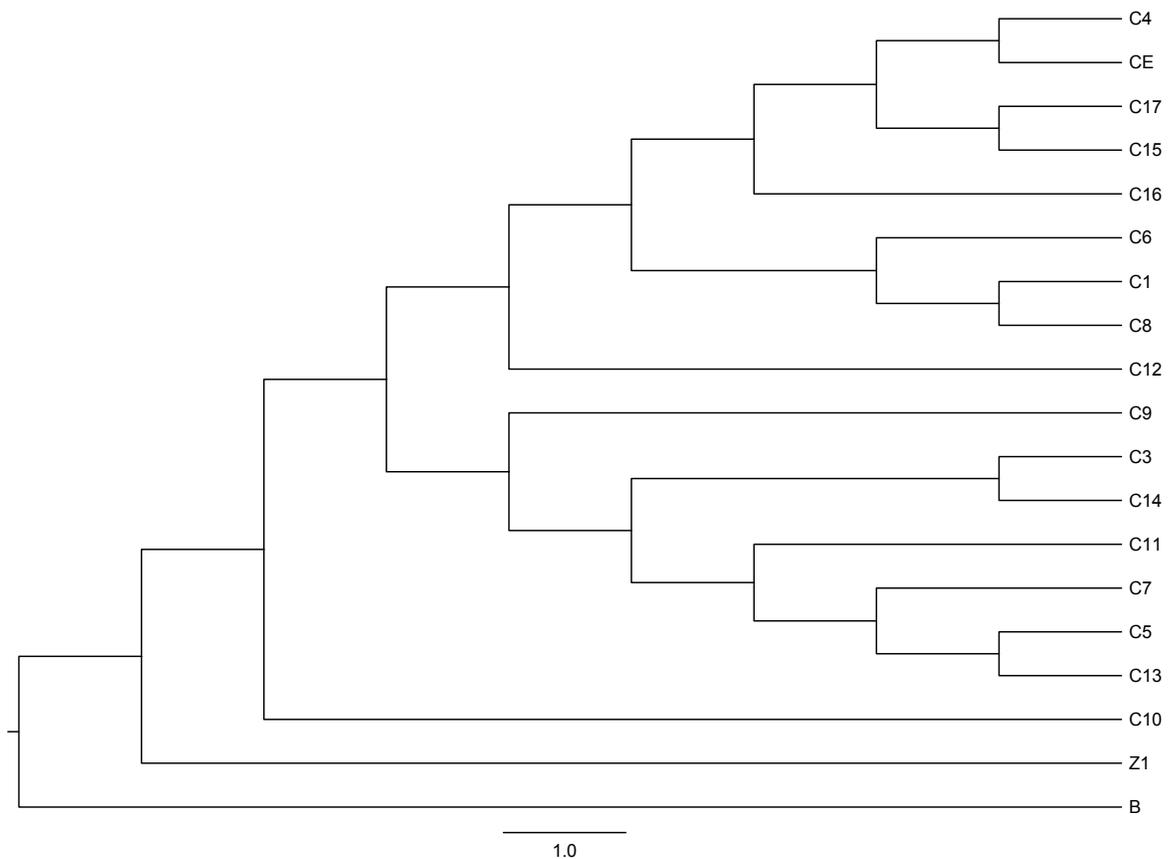


Figura 10. Árbol filogenético producido con el análisis de máxima verosimilitud y remuestreo bootstrap de las regiones ITS y mtSSU combinadas.

Se conservó la identidad taxonómica asignada de acuerdo a los caracteres morfológicos, y se recomienda en estudios moleculares posteriores tratar de dilucidar la identidad taxonómica de los aquí identificados como *G. curtisii*, *G. weberianum* y *G. resinaceum*, ya que en los análisis moleculares se ubican como cercanos pero no hay una separación clara entre especies.

Los alineamientos de BLASTn no fueron muy eficientes a la hora de la discriminación de especies, debido a la falta de unidad de criterios alrededor del mundo respecto a las características morfológicas del género.

## 8 CONCLUSIONES

Para el las zonas protegidas Reserva Forestal de Yotoco, los reductos de bosque seco tropical de El Medio en Zarzal y El Hatico en El Cerrito, y en la seva humeda tropical de Bahía Málaga, en el departamento del Valle del Cauca se reportan e identificaron las especies *G. australe*, *G. brownii*, *G. curtisii*, *G. orbiform*, *G. resinaceum*, *G. stipitatum*, y *G. weberianum*.

El establecimiento de las identidades taxonómicas es complejo debido a la plasticidad de la especie y la falta de un consenso en los caracteres y la terminología utilizados. Las claves taxonómicas disponibles para la determinación taxonómica de especímenes del género son insuficientes, y son necesarios más trabajos para conocer la diversidad taxonómica del género.

Los decriptores morfológicos que menciona la literatura como indicativos de variación entre especies, fueron validados por el análisis de componentes principales, confirmándolos como caracteres que aportan a la variación, siendo estos las dimensiones del píleo, el estípite y el contexto (longitud de los tubos y la trama himenoforal) y la forma de las células de la cutícula.

La especie *Ganoderma curtisii*, de hábito parásito es la más común en los parques y avenidas de la ciudad de Cali, atacando tanto especies nativas como introducidas.

La extracción de ADN de micelio joven o de pocos días de crecimiento es vital en la obtención de buenas concentraciones y calidad del mismo; micelios de varios días de crecidos en medio líquido presentan una acumulación de pigmentos y metabolitos que dificultan el proceso.

La región ITS rDNA fue más informativa y discriminante que la región mtSSU, en el análisis de la muestra de este trabajo, para la determinación de las identidades taxonómicas.

La especie más común, *G. curtisii*, se agrupó con *G. resinaceum* y *G. weberianum*, de manera diferente en los diferentes árboles filogenéticos generados con los análisis moleculares. No queda claro si son especies diferentes o hacen parte de *G. curtisii*.

## 9 BIBLIOGRAFÍA

CHEN, X., Y. L. CHEN, C. Y. SHUIBING, L. JIANYUN, & L. LANPING. 2009. Free radical scavenging of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes and immunity activities in cervical carcinoma rats. *Carbohydrate Polymers*, 77, 389–393.

CHONG K.P. , LUM M.S. , FOONG C.P., WONG C.M.V.L., ATONG M. & ROSSALL S. 2011. First identification of *Ganoderma boninense* isolated from Sabah based on PCR and sequence homology, *African Journal of Biotechnology* Vol. 10, No66, pp: 14718-14723.

COELHO DA SILVA, J.A., OLIVEIRA, L., MARQUES DE SOUZA C. G., 2010. Effect of the herbicides bentazon and diuron on the production of ligninolytic enzymes by *Ganoderma lucidum*, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol 64, pp:156-161.

FELSENSTEIN, JOSEPH. 1988. Phylogenies from molecular sequences: inference and reliability. *Annu. Rev. Genet.* 22:521-65.

FERNANDEZ, SANTIAGO. 2011. Análisis conglomerados. Facultad de ciencias Económicas y empresariales. Universidad Autonoma de Madrid.

FOROUNTAN A. & VAIDYA J.G. 2007. Record of new species of *Ganoderma* in Maharashtra India. *Asian Journal of Plant Sciences*, Vol.6, No6, pp:913-919.

FRANCO, T. L. & HIDALGO, R. 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.

FRANCO-MOLANO, A. E., A. M. VASCO-PALACIOS, C. A. LÓPEZ-

QUINTERO & T. BOEKHOUT. Macrohongos de la región del Medio Caquetá – Colombia. Guía de campo, Grupo Taxonomía y Ecología de hongos Universidad de Antioquia. Multimpresos, Medellín. 211pp.

GAO, Y. & S. ZHOU. 2003. Cancer Prevention and Treatment by Ganoderma, a Mushroom with Medicinal Properties. Food Reviews International. 19(3):275-325.

GOH K. M., GANESON M. & SUPRAMANIANC. V. 2014. Infection potential of vegetative incompatible Ganoderma boninense isolates with known ligninolytic enzyme production. African Journal of Biotechnology, Vol. 13, No 9, pp: 1056-1066.

GOMES-SILVA A., RYVARDEN L., BAPTISTA T. 2011, New records of Ganodermataceae (Basidiomycota) from Brazil, Nova Hedwigia, Vol. 92, No1-2, pp:83–94.

GUGLIOTTA A., DIAS G., SILVA T., 2011. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. Fungos, 10: Ganodermataceae. Hoehnea, Vol 38, No4, pp: 687-695.

GÜZELDAĞ, G. & Ö. ÇOLAK. 2007. Molecular Identification of *Ganoderma lucidum* from Turkey. International Journal of Agriculture & Biology. 9(5):767-770.

HANTULA, J., M. DUSABENYAGAASANI & R.C. HAMELIN. 1996. Random Amplified Microsatellites (RAMS) – a novel method for characterization of genetic variation within fungi. European Journal of Forest Pathology 26:159-166.

HIBBET D. S., M. BINDER, J. F. BISCHOFF, M. BLACKWELL, P. F. CANNON, O. E. ERIKSSON, S. HUHNDORF, T. JAMES, P. M. KIRK, R. LUCKING, H. THORSTEN LUMBSCH, F. LUTZONI, P. B. MATHENY, D. J.

MCLAUGHLIN, Martha J. POWELL, Scott REDHEAD, Conrad L. SCHOCH, J. W. SPATAFORA, J. A. STALPERSI, R. VILGALYS, M. C. AIME, A. APTROOT, R. BAUER, D. BEGEROW, G. L. BENNY, L. A. CASTLEBURY, P. W. CROUSI, Yu-C. DAI, W. GAMSI, D. M. GEISER, G. W. GRIFFITH, C. GUEIDAN, D. L. HAWKSWORTH, G. HESTMARK, K. HOSAKA, R. A. HUMBER, K. D. HYDE, J. E. IRONSIDE, U. KOEHL, C. P. KURTZMAN, K-H. LARSSON, R. LICHTWARDT, J. LONGCORE, J. MIAŁY, D. LIKOWSKA, A. MILLER, J-M. MONCALVO, S. MOZLEY-STANDRIDGE, F. OBERWINKLER, E. PARMASTO, V. REEB, J. D. ROGERS, C. ROUX, L. RYVARDEN, J. P. SAMPAIO, A. SCHUBLER, J. SUGIYAMA, R. G. THORN, L. TIBELL, W. A. UNTEREINER, C. WALKER, Z. WANG, A. WEIR, M. WEISS, M. M. WHITE, K. WINKA, Y-J. YAO, ZHANG, N. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*. (III) 509 – 547.

HONG S.G., W. JEONG & H.S. JUNG. 2002. Amplification of mitochondrial small subunit ribosomal DNA of polypores and its potential for phylogenetic analysis. *Mycologia* 94:823–833.

HONG, S.G. & H.S. JUNG. 2004. Phylogenetic analysis of *Ganoderma* based on nearly complete mitochondrial small-subunit ribosomal DNA sequences. *Mycologia*. 96(4):742-755.

JEON, J.K., MURUGESAN, K., KIM, Y.M., KIM, E. J., CHANG, Y.S. 2008. Efecto sinérgico de los mediadores de la lacasa en la remoción de pentaclorofenoles por la lacasa de *Ganoderma lucidum*. *ApplMicrobiolBiotechnol*, Vol.8, pp:783-790.

JIA, J., X.H. ZHANG, W.Y. YONGSHAN, Q. WANG, & L. NANA 2009. Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chemistry*, 115, 32–36.

KARTHIKEYAN, M., BHASKARAN, R., RADHIKA, K., MATHIYAZHAGAN, S., SANDOSSKUMAR, R., SAMIYAPPAN R.Y., & VELAZHAHAN R. 2008.

Purification and partial characterization of a toxin produced by *Ganoderma lucidum*, the coconut *Ganoderma* disease pathogen, Achieves of Phytopatology and Plant Protection, Vol.41, No7, pp: 507-513.

KEYPOUR S., H. RAFATI, H. RIAHI , F. MIRZAJANI & M.F. MORADALI. 2010. Qualitative analysis of ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* from Iran and China by RP-HPLC and electrospray ionisation-mass spectrometry (ESI-MS). Food Chemistry 119 (2010) 1704–1708.

KINGE T.R., MIH A.M., 2011. *Ganoderma ryvardense* sp. nov. associated with basal stem rot (BSR) disease of oil palm in Cameroon., Mycosphere, Vol. 2, No 2, pp. 179-188.

LARGENT, DAVID L. (1986). How to Identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic Features. 3rd Edition. Eureka, CA: Mad River Press. 166p.

LARGENT, D.L., D. JOHNSON AND R. WATLING (1977). *How to Identify Mushrooms to Genus III: Microscopic Features*. Eureka, CA: Mad River Press. 148p.

LATTIFAH Z., K. HARIKRISHNA , T. S. GUAN, F. ABDULLAH & H. Y. WAN. 2005. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Random Amplified Microsatellite (RAMS) of *Ganoderma* from Infected Oil Palm and Coconut Stumps in Malaysia. As. Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol.13(1):23-34.

LEMEY, P., M. SALEMI & A-M. VANDAMME. 2009. The Philogenetic handbook: A practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing. Second edition. Cambridge University Press. 751 p.

LODGE, D.J., J.F. AMIRATI, T.E. O'DELL, G.M. MUELLER, S.M HUHNDORF, CH.J. HUANG, J.N. STOCKLAND & J. PAUL. 2011. Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods, Edition: 1st, Chapter: 8, Publisher: Elsevier Academic Press, pp.127-172

Mc MEEKIN, DOROTHY. 2004. The perception of *Ganoderma lucidum* in Chinese and Western culture. *Mycologist*. Volume 18, Part 4.

MONCALVO, J.M., H. WANG & R.S. HSEU. 1995. Gene phylogeny of the *Ganoderma lucidum* complex based on ribosomal DNA sequences. Comparison with traditional taxonomic characters. *Mycol. Res.*, 99:1489–99.

MONCALVO, J.M., H. WANG & R.S. HSEU. 1995a. Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. *Mycologia*, 87(2):223-238.

MORGULIS A., G. COULOURIS, Y. RAYTSELIS, T. MADDEN, R. AGARWALA, A. SCHÄFFER. 2008. Database Indexing for Production MegaBLAST Searches. *Bioinformatics*, 24:1757-1764.

MURRILL W. A. 1902. The Polyporaceae of North America. I. The Genus *Ganoderma*, *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, Vol. 29, No.10, pp:599-608.

MUTHELO VULEDZANI G. 2009, Molecular characterization of *Ganoderma* species, tesis de maestría, Universidad de Pretoria, Sudáfrica.

NAHER R. L., TAN S. G., HO C. L., AHMAD S.H. & ABDULLAH F. 2012. mRNA Expression of EgCHI1, EgCHI2, and EgCHI3 in Oil Palm Leaves (*Elaeis guineensis* Jacq.) after Treatment with *Ganoderma boninense* Pat. and *Trichoderma harzianum*, *The Scientific World Journal*, Vol.2012, Article ID647504, pp:1-6.

PETRE, M., & TEODORESCU, A., 2009. Biotechnology for *in vitro* growing of edible and medicinal mushrooms on wood wastes. University of Pitesti, Faculty of Sciences *Annals of Forest Research*, Vol. 52, pp: 129-136.

READER & BRODA. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Lett. Appl. Microbiology. (1) 17-20.

RYVARDEN, L. 2004. Neotropical polypores Part 1. Synopsis Fungorum 19. Fungiflora. Oslo, Norway. 229 pp.

SHIMIZU E., VELEZ J., ZAPATA P., VILLALBA L., 2010, Relación entre degradación de colorantes y oxidación de lignina residual causados por *Ganoderma applanatum* y *Pycnoporus sanguineus* en el licor negro kraft, Rev. Cienc. Tecnol, Vol. 11, No.12, pp: 46–51.

STAMETS P. 1993. Growing Gourmet & Medicinal Mushrooms, Ten Speed Press, Berkeley, pp: 352-369.

STEYAERT R. L. 1961. Genus *Ganoderma* (Polyporaceae) Taxa nova: I, Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles, Vol.31, No1, pp:69-83.

STEYAERT R. L. 1967. Les *Ganoderma* palmicoles, Bulletin du Jardin botanique national de Belgique / Bulletin van de National Plantentuin van België, Vol.37, No.4, pp : 465-492.

STEYAERT R. L. 1980. Study of Some *Ganoderma* Species, Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique / Bulletin van de National, Vol.50, No.1-2, pp: 135-186.

TAMURA K., G. STECHER, D. PETERSON, A. FILIPSKI & S. KUMAR. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Mol. Biol. Evol. 30(12):2725-2729.

TELLO, I. 2010. Diversidad de los recursos genéticos mexicanos del hongo funcional *Ganoderma* (fungi Ganodermataceae) conocido como Reishi en los mercados internacionales, y su relevancia para el desarrollo regional. Tesis de doctorado, Colegio de postgraduados, Puebla, México. 166 pp.

TORRES, M.G. & L. GUZMÁN. 2005. Notas sobre la variación morfológica de *Ganoderma curtissi* (Ganodermatales, Ganodermataceae) en México. *Revista Mexicana de Micología*, 21:39-47.

TORRES-TORRES M.G. & GUZMÁN-DÁVALOS L., 2008, *Ganoderma vivianimercedianum* sp. nov. and the related species, *G. perzonatum*, Vol.105, pp: 447–454.

TORRES-TORRES MABEL GISELA & GUZMÁN-DÁVALOS LAURA. 2012. The morphology of *Ganoderma* species with a laccate surface Vol.119, pp: 201–216.

TORRES, M.G., L.G. DÁVALOS & A. DE M: GUGLIOTTA. 2012a. *Ganoderma* in Brazil: known species and new records. *Mycotaxon*, 121:93-132.

VÁSQUEZ, V.H. & M.A. SERRANO. 2009. Las áreas naturales protegidas de Colombia. Conservación Internacional – Colombia & Fundación Biocolombia. Bogotá, Colombia. XV:696 pp.

VASCO A. M. & A. E. FRANCO. 2013. Diversity of Colombian macrofungi (Ascomycota - Basidiomycota), *Rev. Mycotaxon*, vol. 121, pp: 499- 557.

VIGALYS R. & M. HESTER. 1990. Rapid Genetic Identification and Mapping of Enzymatically Amplified Ribosomal DNA from Several Cryptococcus Species. *Journal of Bacteriology*, 172 (8) 4238-4246.

WAGNER, R., D.A. MITCHELL, G.L. SASSAKI, M.A. L. DE A. AMAZONAS & M. BEROVI. 2003. Current Techniques for the Cultivation of *Ganoderma lucidum* for the Production of Biomass, Ganoderic Acid and Polysaccharides. *Food Technol. Biotechnol.* 41 (4) 371–382.

WANG, D.M., S.H. WU, C.H., SU, J.T. PENG, Y.H. SHIH, & L.C. CHEN.

2009. *Ganoderma multipileum*, the correct name for '*G. lucidum*' in tropical Asia. *Botanical Studies*, 50: 451-458.

WEBER, R.W.S. 2009. Recent developments in the molecular taxonomy of fungi. *The Mycota XV: Physiology and Genetics: Selected Basic and Applied Aspects*. Springer, Heidelberg, pp. 1-15.

WEBSTER, J. & WEBER, R.W.S. 2007. *Introduction to fungi*. Cambridge University Press. Cambridge, U.K. 875 pp.

WENDLAND, J., LENGELER, K.B., AND KOTHE, E. (1996) □An instant preparation method for nucleic acids of filamentous fungi. □*Fungal Genet. Newslett.* 43, 54-55.

XIAO P. G., S. T. XING, & L. W. WANG. 1993. Immunological aspects of Chinese medicinal plants as antiageing drugs. *Journal of Ethnopharmacology* 38:167-175.

XU, J., W. LIU, W. YAO, X. PANG, D. YIN, & G. XIANGDONG 2009. Carboxymethylation of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* enhances its antioxidant activities in vitro. *Carbohydrate Polymers*, 78, 227–234.

YANG, F.C., M.J. YANG & S.H. CHENG. 2009. A novel method to enhance the mycelia production of *Ganoderma lucidum* in submerged cultures by polymer additives and agitation strategies. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 40: 148–154.

YUEN, J. W. M., & M. D. I. GOHEL. (2008). The dual roles of ganoderma antioxidants on urothelial cell DNA under carcinogenic attack. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 324–330.

ZAKARIA, L., ALI, N.S., SALLEH, B., ZAKARIA M. 2009. Molecular analysis of *Ganoderma* species from different hosts in peninsula Malaysia. *Journal of*

Biological Sciences., Vol.9, No1, pp:12-20.

ZHANG Z., S. SCHWARTZ, L. WAGNER & W. MILLER. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 7(1-2):203

ZHANG, M., S. W. CUI, P. C. K. CHEUNG & Q. WANG. 2007. Antitumor polysaccharides from mushrooms: A review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 4–19.

ZHAO, L., Y. DONG, G. CHEN & Q. HU. 2010. Extraction, purification, characterization and antitumor activity of polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate Polymers* 80 (2010) 783–789.

## 10 ANEXOS

ANEXO 1. Descripción de los especímenes e identidad taxonómica.

### ANEXO 1

#### **Morfoespecie Z1 *G. stipitatum***

**Hábitat:** tronco en alto grado de descomposición.

#### **Características macroscópicas:**

Píleo: Reniforme, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, solo se distinguen zonas hacia el borde. Olor suave, textura leñosa dura. Color marrón oscuro alrededor del estípite, tornándose más claro hacia el borde que es irregular y donde el himenio se repliega hacia el píleo 0.55 cm. Ancho: 10 cm. Largo: 6.5 cm. Espesor cerca al estípite de 1.5 cm y de 2.1 cm en el centro.

Estípite: Inserción al píleo lateral. Largo: 1.3 cm. Ancho: 1.2 cm. Espesor: 1.5 cm. Color marrón muy oscuro.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, de 6-8 por mm.

Contexto: Trama leñosa, color marrón claro con pequeños espacios vacíos y resinosos. Longitud: 0.4-1.4 cm. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.1-0.4 cm.

#### **Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico, hifas esqueléticas y de unión con un grosor de 2.9- 4.8  $\mu\text{m}$  y color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, forma clavada en empalizada; longitud 30-39.1  $\mu\text{m}$ , grosor de 4.8  $\mu\text{m}$  en la base y 9.7  $\mu\text{m}$  en el ápice. La cutícula (laca) es de color marrón.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño 6-8  $\mu\text{m}$  x 7-10  $\mu\text{m}$  promedio 6.7 x 8.7  $\mu\text{m}$ .

Colonia en PDA: Clamidosporas 13-14  $\mu\text{m}$  x 11-13  $\mu\text{m}$  con paredes de 2 - 3  $\mu\text{m}$ , sin ornamentaciones, hifas generativas de 2  $\mu\text{m}$  aproximadamente, no se observaron fíbulas.

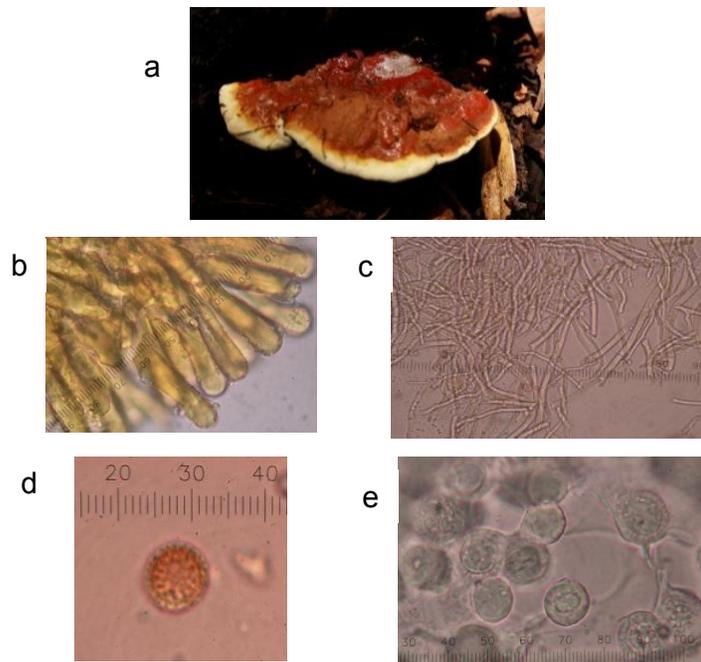


Figura 1. Morfoespecie Z1 *G. stipitatum* a. general b. cutícula 100x c. hifas contexto 100x d. esporas 100x e. clamidosporas de colonia en PDA 100x.

## **Morfoespecie Z2 *G. stipitatum***

**Hábitat:** tronco en alto grado de descomposición.

### **Características macroscópicas:**

Píleo: Reniforme, superficie rugosa, lacada, crecimiento azonado hacia el borde. Olor suave, textura leñosa dura. Color marrón más o menos uniforme, borde irregular. El himenio se repliega hacia el píleo 0.1 cm. Ancho: 5 cm. Largo: 3.9 cm. Espesor cerca al estípite de 1 cm y de 1.4 cm en el centro.

Estípite: Inserción al píleo lateral. Largo: 4.05 cm. Ancho: 0.6 cm. Espesor: 0.6 cm. Color marrón oscuro.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, de 4 - 6 por mm. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.1-0.3 cm.

Contexto: Trama leñosa, dura, color marrón claro con pequeños espacios

vacíos y resinosos. Grosor 0.5-1.5 cm.

**Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 2.5 – 7.5  $\mu\text{m}$ . Hifas de unión con un grosor de 2.7 – 7.5  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, forma clavada en empalizada; longitud 30-39.2  $\mu\text{m}$ , grosor de 4.9  $\mu\text{m}$  en la base y 9.8  $\mu\text{m}$  en el ápice. La cutícula (laca) es de color marrón.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. 5-6  $\mu\text{m}$ . x 8-10  $\mu\text{m}$ . Tamaño promedio 5.5 x 8.7  $\mu\text{m}$ .

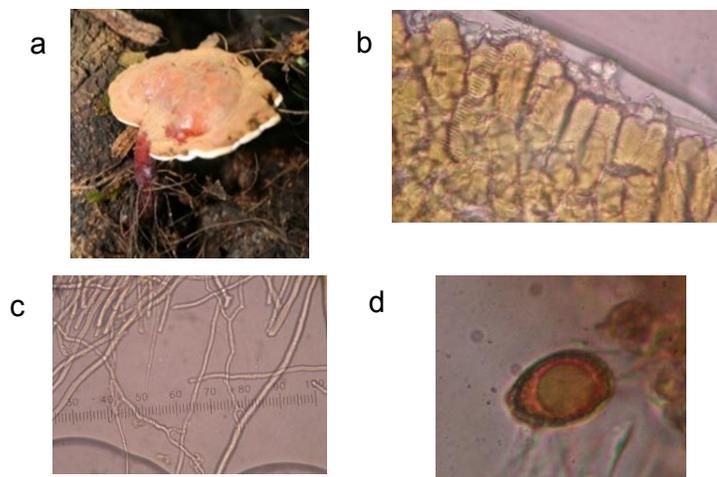


Figura 2. Morfoespecie Z2 *G. stipitatum* a. general b. cutícula 100x c. hifas contexto 40x d. esporas 100x

**Morfoespecie Z3 *G. stipitatum***

**Hábitat:** tronco en alto grado de descomposición.

**Características macroscópicas:**

Píleo: Reniforme, superficie rugosa, lacada, crecimiento azonado, solo se distinguen zonas hacia el borde. Olor suave, textura leñosa dura. Clara diferencia entre el píleo y el estípite. Color marrón, concoloro con el estípite, tornándose más claro hacia el borde que es irregular y donde el himenio se repliega hacia el píleo 0.6 cm. Ancho: 3.5 cm. Largo: 2.05 cm. Espesor cerca al estípite de 1.2 cm y de 1 cm en el centro.

Estípite: Inserción al píleo lateral. Largo: 1.8 cm. Ancho: 0.7 cm. Espesor: 0.8 cm. Color marrón concoloro con estípite.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos - ovales, de 4-5 por mm.

Contexto: Trama leñosa, color marrón-rosa claro con presencia de espacios resinosos. Longitud: 0.45-0.7 cm. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.15-0.33 cm.

### **Características microscópicas:**

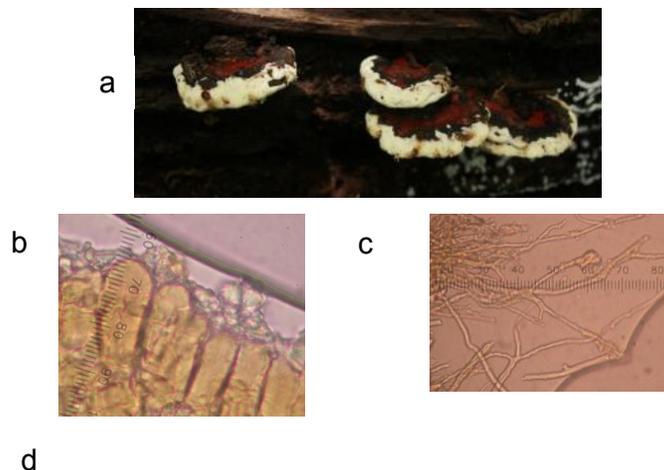
Hifas: esqueléticas de 2-4  $\mu\text{m}$ , y de unión de 3-5  $\mu\text{m}$ . No se observaron fíbulas.

Cutícula: Largo 18 – 25  $\mu\text{m}$ , ancho en el ápice 7- 10  $\mu\text{m}$  y en la base 6-8  $\mu\text{m}$ .

Basidios: no observados.

Basidiosporas: 5.5- 6  $\mu\text{m}$  x 7- 8  $\mu\text{m}$ , tamaño promedio 6  $\mu\text{m}$  x 7.1  $\mu\text{m}$ .

Colonia en PDA: Clamidosporas esféricas de entre 12-15  $\mu\text{m}$  con paredes de 2-2.5  $\mu\text{m}$ , ornamentadas con costillas. Hifas generativas 2-4  $\mu\text{m}$  con fíbulas de 3-4  $\mu\text{m}$  x 4-6  $\mu\text{m}$ .



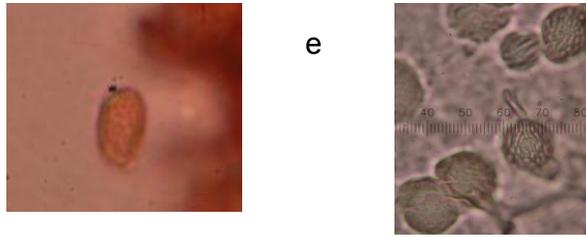


Figura 3. Morfoespecie Z3 *G. stipitatum* a. general b. cutícula 100x c. hifas contexto 40x d. esporas 100x e. clamidosporas de colonia en PDA 100x.

En el segundo muestreo, realizado en la Reserva Forestal Protectora Yotoco, solo se recolectó un espécimen perteneciente al género.

### **Morfoespecie Y *G. brownii***

**Hábitat:** tronco en grado medio de descomposición (con corteza).

#### **Características macroscópicas:**

Píleo: Dimidiado, semicircular de unión al sustrato efuso-reflexo, superficie polvorosa cocoa, azonada o concéntricamente surcada, anillos distinguibles en relieve y más o menos regulares. Olor suave, borde regular, textura corchosa. Color marrón claro, el himenóforo se repliega a la superficie del píleo 0.2 cm. Ancho: 10.9 cm. Largo: 7.3 cm. Espesor de 1.5 a 2.1 cm.

Himenóforo: Poros redondos-hexagonales, irregulares de tamaño variable, 6-7 por mm. Blancos, oscurecen al presionarlos. Tubos de mayor longitud que la trama. Longitud de la trama: 0.3-0.5 cm. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.1-1.05 cm.

Contexto: Trama leñosa, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa.

#### **Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 0.98 – 1.96  $\mu\text{m}$ , hifas de unión con un grosor de 1.96 – 2.94  $\mu\text{m}$  color marrón. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color marrón, forma bifurcada en entramado; grosor de 2  $\mu\text{m}$ . La cutícula (laca) es de color amarillo-marrón

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas anastomosadas. Tamaño de 5-7  $\mu\text{m}$  x 8-10  $\mu\text{m}$ , promedio 5.68 x 8.72  $\mu\text{m}$ . Espacio endosporium- perisporium 0,8-0,9  $\mu\text{m}$ .

Colonia en PDA: Clamidosporas de 19-29  $\mu\text{m}$  x 15-27  $\mu\text{m}$  con paredes de 1-2  $\mu\text{m}$ , hifas generativas 1-2  $\mu\text{m}$ , no se observaron fíbulas.

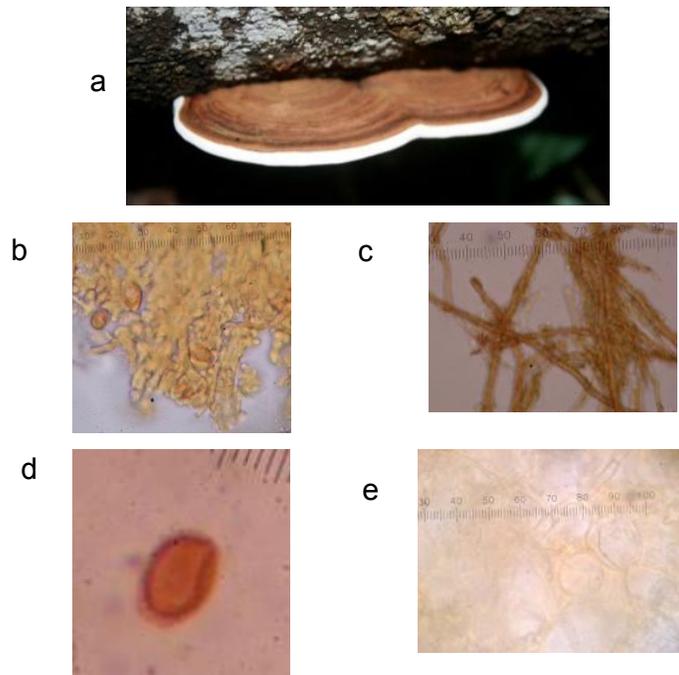


Figura 4. Morfoespecie Y *G. brownii* a. general b. cutícula 100x c. hifas contexto 40x d. esporas 100x e. clamidosporas de colonia en PDA 100x.

El tercer muestreo se realizó en la ciudad de Cali, en los barrios Prados del Limonar, El Ingenio, Valle del Lili y Ciudad Jardín en la vía Pance, ocasión en la que se recolectaron cuatro especímenes.

### **Morfoespecie C1 *G. curtisii***

**Hábitat:** árbol vivo sin síntomas de enfermedad, recolectado del suelo sobre

raíces de *Pythecellobium dulce*.

**Características macroscópicas:**

Píleo: Flabeliforme redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, irregular. Olor fuerte, textura leñosa. Color marrón en el centro tornándose más claro hacia el borde que es irregular y donde el himenio sobresale. Ancho: 14 cm. Largo: 12.5 cm. Espesor de 2.5 – 3 cm.

Estípite: Inserción al píleo ligeramente excéntrica, de color marrón oscuro lacado. Largo: 5.4-12 cm. Ancho: en la base 4 cm y en el ápice 7 cm. Espesor: 3-5.5 cm.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, de 6 por mm.

Contexto: Trama corchosa, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.1-1 cm.

**Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 2.5 – 5  $\mu\text{m}$ . Hifas de unión con un grosor de 2.5 – 5  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, clavadas y de distribución un poco irregular. Largo 25-50.5  $\mu\text{m}$ , ancho en ápice 8-14  $\mu\text{m}$  y en la base 5-6  $\mu\text{m}$ , resina de 20 - 25  $\mu\text{m}$ .

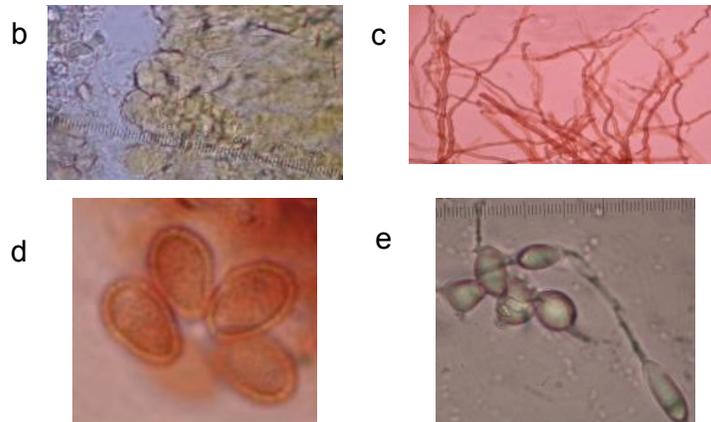
Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño 5-7  $\mu\text{m}$  x 8-11  $\mu\text{m}$ , promedio 6.3 x 8.6  $\mu\text{m}$ . Q = 1.33-1.66

Colonia en PDA: Clamidosporas lisas, semicirculares a ovales, de 8-15  $\mu\text{m}$  x 10-19  $\mu\text{m}$ , hifas generativas 2-3  $\mu\text{m}$ .

a





**Figura 5.** Morfoespecie C1 *G. curtisii* a. general b. cutícula 100x c. hifas contexto 40x d. esporas 100x e. clamidosporas de colonia en PDA 100x.

### **Morfoespecie C2 *G. orbiformum***

**Hábitat:** árbol vivo con síntomas de enfermedad, hongo recolectado a 3,5 m del suelo sobre *Cassia siamea*.

**Píleo:** Dimidiado redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento azonado, irregular. Olor suave, textura leñosa muy dura. Color marrón oscuro uniforme tornándose amarillo en el borde es irregular. Ancho: 38 cm. Largo: 22 cm. Espesor de 5 cm.

**Estípite:** Presenta pseudoestípite de inserción lateral y 5 cm de largo.

**Himenóforo:** Poros regulares color crema, redondos, 5 por mm.

**Contexto:** Trama leñosa, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.5-1.5 cm.

#### **Características microscópicas:**

**Hifas:** Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 1.96–2.94µm. Hifas de unión con un grosor de 0.98– 2.94µm color amarillo. No se observaron fíbulas.

**Cutícula:** células capitadas de 25- 45.7 µm de largo, ancho en el ápice 5.3 - 9.4 µm y en la base 3.5-4.5 µm.

**Basidios:** No observados.

**Basidiosporas:** Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas gruesas. Tamaño 7-8 µm x 9-11 µm,

promedio 8.41 x 9.75  $\mu\text{m}$ .

Colonia en PDA: No se encontraron clamidosporas, se encontró hifas generativas de hasta 2  $\mu\text{m}$  y de unión septadas entre 2-5  $\mu\text{m}$ , no se observaron fíbulas.

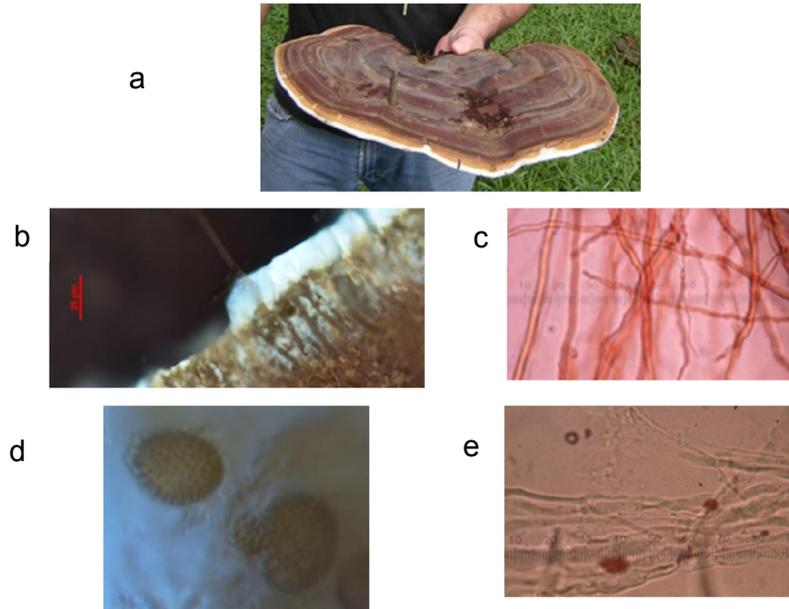


Figura 6. Morfoespecie C2 *G. orbiformum* a. general b. cutícula 40x fluorofiltro3 c. hifas contexto 40x d. esporas 100x e. hifas de colonia PDA 100x.

### **Morfoespecie C3 *G. curtisii***

**Hábitat:** árbol vivo con síntomas de enfermedad, hongo recolectado a 35 cm del suelo sobre *Cassia siamea*.

#### **Características macroscópicas:**

Píleo: Flabeliforme redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, irregular. Olor fuerte, textura leñosa. Color marrón en el centro tornándose más claro hacia el borde que es irregular y donde el himenio sobresale. Ancho: 19,7 cm. Largo: 14,3 cm. Espesor de 2.5 – 3.7 cm.

Estípite: Inserción al píleo excéntrica. Largo: 1.3 cm. Ancho: 1.2 cm. Espesor: 1.5 cm. Color marrón muy oscuro.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, 4-5 por mm.

Contexto: Trama corchosa, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.1-1.2 cm.

**Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 1.96 – 3.92  $\mu\text{m}$ . Hifas de unión con un grosor de 1.96 – 7.84  $\mu\text{m}$  de color marrón. No se observaron fíbulas; se observaron cristales en el contexto de los tubos.

Cutícula: Células de 2.5-3  $\mu\text{m}$ , color amarillo, arboriformes, entramadas de forma irregular, capa de resina de 1  $\mu\text{m}$ .

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño 6-8  $\mu\text{m}$  x 8-12  $\mu\text{m}$  promedio 6.86 x 10  $\mu\text{m}$ .

Colonia en PDA: Clamidosporas circulares de 13-18  $\mu\text{m}$ , hifas generativas de 2-3  $\mu\text{m}$ .

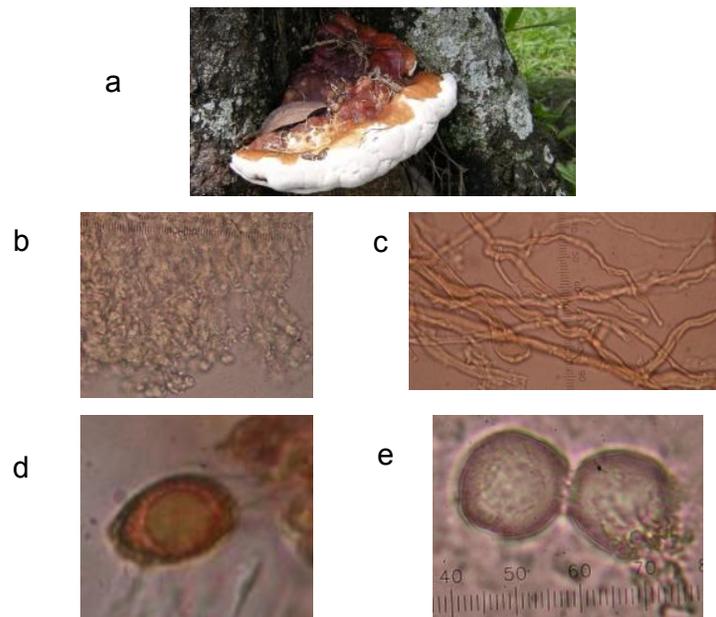


Figura 7. Morfoespecie C3 *G. curtisii* a. general b. cutícula 40x c. hifas contexto 40x d. esporas 100x e. clamidosporas de colonia en PDA 100x.

### **Morfoespecie C4 G. curtisii**

**Hábitat:** árbol vivo con síntomas de enfermedad, hongo recolectado a 3,5 cm del suelo sobre *Cassia siamea*.

#### **Características macroscópicas:**

Píleo: Flabeliforme redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, irregular. Presenta dos basidiomas unidos indiferenciables. Olor fuerte, textura leñosa. Color marrón en el centro tornándose más claro hacia el borde que es irregular y donde el himenio sobresale. Ancho: 17 cm. Largo: 10 cm. Espesor de 2.5 – 3.5 cm.

Estípite: Largo 3 cm ancho de base en base 2.5-4.5 cm y en ápice 2.5-7.3 cm. Espesor 3.8 y 3.8. Doble estípite

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, 6 por milímetro.

Contexto: Trama corchosa, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.1-1.1 cm.

#### **Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 2.5 – 5  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 2.5 – 5  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, clavadas y de distribución un poco irregular. Largo 28-55  $\mu\text{m}$ , ancho en ápice 12.5-20  $\mu\text{m}$  y en la base 10 - 17.5  $\mu\text{m}$ , resina de 15 - 20 $\mu\text{m}$ .

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño 5-7  $\mu\text{m}$  x 8-10 promedio 6.17 x 8.4  $\mu\text{m}$ .

Colonia en PDA: Clamidosporas son ovales en su mayoría a esféricas, de 7-

11µm x 11-22 µm, hifas generativas de 2- 3 µm, hifas de unión 5-7.5 µm.

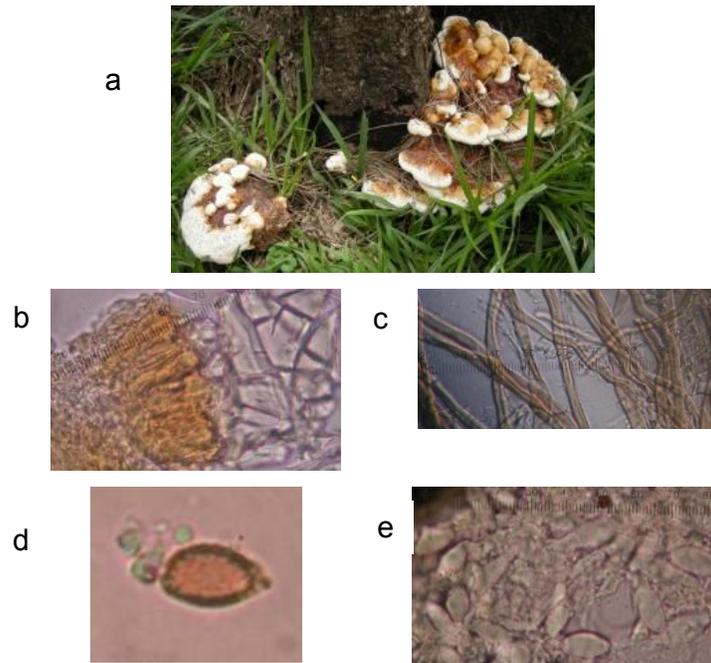


Figura 8. Morfoespecie C4 *G. curtisii* a. general b. cutícula 40x c. hifas contexto 40x d. esporas 100x e. clamidosporas de colonia en PDA100x.

### **Morfoespecie C5 *G. curtisii***

**Hábitat:** árbol vivo, recolectado del suelo sobre raíces de *Pythecellobium dulce*.

#### **Características macroscópicas:**

**Píleo:** Flabeliforme redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, irregular. Olor fuerte, textura leñosa. Color marrón en el centro tornándose más claro hacia el borde que es irregular y donde el himenio sobresale. Ancho: 15 cm. Largo: 13.5 cm. Espesor de 2.5 – 3.5 cm.

**Estípite:** Inserción al píleo ligeramente excéntrica, de color marrón oscuro lacado. Largo: 12.5 cm. Ancho: en la base 4.2 cm y en el ápice 7.3 cm. Espesor: 3.2 -5.4 cm.

**Himenóforo:** Poros regulares color crema, redondos, de 6 por mm.

Contexto: Trama corchosa, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.1-1.3 cm.

**Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 2 – 5  $\mu\text{m}$ . Hifas de unión con un grosor de 2,5 – 5,5  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, clavadas.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño 5-7  $\mu\text{m}$  x 8-11  $\mu\text{m}$ , promedio 6.5 x 8.8  $\mu\text{m}$ .

Colonia en PDA: Clamidosporas circulares de 10-17  $\mu\text{m}$ , hifas generativas hasta 3 $\mu\text{m}$ .

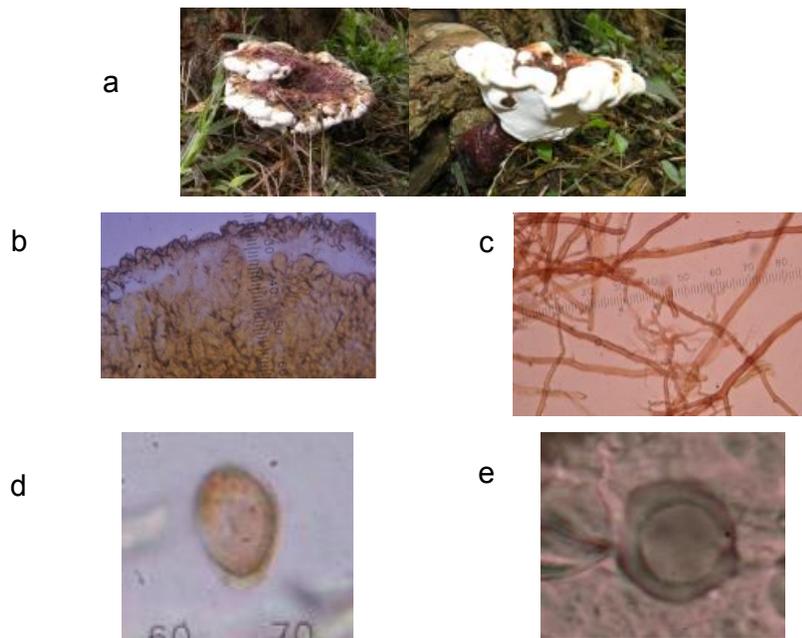


Figura 9. Morfoespecie C5 *G. curtisii* a. general b. cutícula 40x c. hifas contexto 40x d. esporas 100x e. clamidosporas de colonia en PDA 100x.

**Morfoespecie P *G. stipitatum***

**Hábitat:** árbol vivo sin síntomas de enfermedad, recolectado a 0 m del suelo sobre *Swinglea glutinosa*.

**Características macroscópicas:**

Píleo: Dimidado, superficie lisa, lacada, crecimiento azonado, concéntricamente surcado cambiando de color en cada uno de los anillos tornándose más claro hacia el borde. Olor más o menos fuerte, textura corchosa. Color marrón escarlata. La superficie del píleo se pliega hacia el himenóforo 0.1 cm. Ancho: 11.5 cm. Largo: 7.1 cm. Espesor: 2.1 cm.

Estípite: Inserción al píleo excéntrico. Largo: 3.2 cm. Ancho: 2.2 cm. Espesor: 1.8 cm. color marrón muy oscuro.

Himenóforo: Poros color crema, redondos, oxidación café, de 4 - 6 por mm.

Contexto: Trama leñosa, color marrón claro con presencia de incrustaciones resinosas. Longitud: 0.2-1.2 cm. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.1-1.4 cm.

**Características microscópicas:**

Hifas: Esqueléticas entre 1-3  $\mu\text{m}$ , de unión entre 3- 5,5  $\mu\text{m}$ , no se observaron fíbulas.

Cutícula: clavadas con un largo de 28- 36  $\mu\text{m}$  y 9-14.5  $\mu\text{m}$  en ápice y en la base 5.5- 8  $\mu\text{m}$ .

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. 9-11  $\mu\text{m}$  x 6.5-7.5  $\mu\text{m}$  Tamaño promedio 10,1 x 7  $\mu\text{m}$ .

Colonia en PDA: Clamidosporas circulares de 10-16  $\mu\text{m}$  con pared de 2-3  $\mu\text{m}$ , hifas generativas hasta 3  $\mu\text{m}$ .

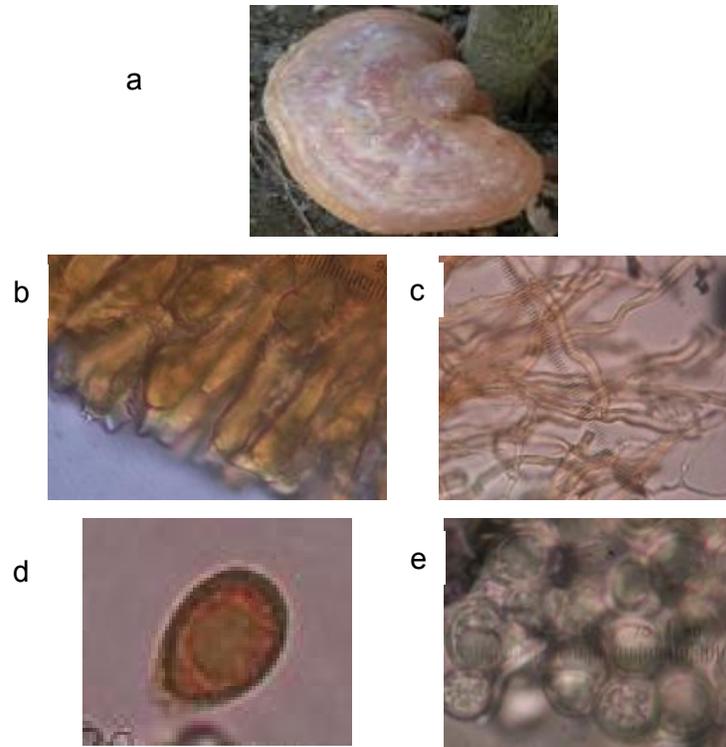


Figura 10. Morfoespecie P *G. stipitatum* a. general b. cutícula 100x c. hifas contexto 100x d. esporas 100x.

### **Morfoespecie CE *G. weberianum***

**Hábitat:** Tronco caído.

#### **Características macroscópicas:**

**Píleo:** Dimidado, superficie lisa, lacada, crecimiento azonado, concéntricamente surcado cambiando de color en cada uno de los anillos tornándose más claro hacia el borde. Olor más o menos fuerte, textura leñosa blanda. Color marrón oscuro alrededor del estípite. La superficie del píleo no se pliega hacia el himenóforo. Ancho: 9.8 cm. Largo: 5.5 cm. Espesor: 2.5 cm.

**Estípite:** Inserción al píleo excéntrico. Largo: 3 cm. Ancho: 3.5 cm. Espesor: 1.8 cm. color marrón muy oscuro.

**Himenóforo:** Poros color crema, redondos, oxidación café, de 5 - 6 por mm.

Contexto: Trama leñosa, color marrón claro con presencia de incrustaciones resinosas. Longitud: 0.2-1.2 cm. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.1-1.4 cm.

**Características microscópicas:**

Hifas: Esqueléticas entre 4-5  $\mu\text{m}$ , de unión entre 2- 3,5  $\mu\text{m}$ , no se observaron fíbulas.

Cutícula: clavadas con un largo de 28- 36  $\mu\text{m}$  y 9-12.5  $\mu\text{m}$  en ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. 10-12  $\mu\text{m}$  x 6 -7.5.

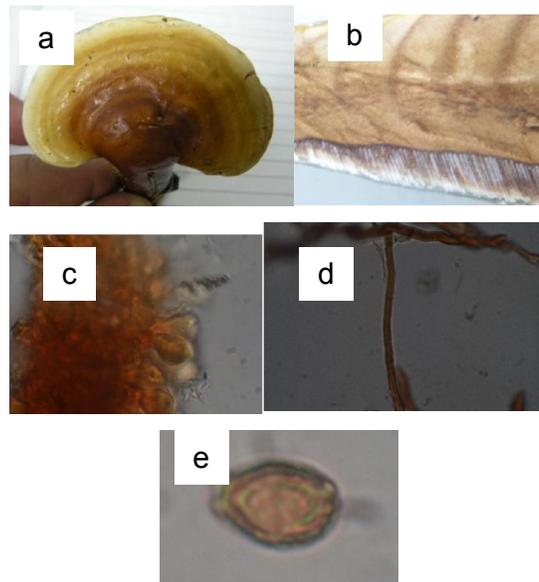


Figura 11. Morfoespecie CE *G. weberianum* a. general b. contexto c. cutícula 100x d. hifas contexto 100x e. esporas 100x.

**Morfoespecie C6 *G. curtisii***

**Hábitat:** *Cassia siamea*.

**Características macroscópicas:**

Píleo: Flabeliforme redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no

azonado, irregular. Presenta un basidioma creciendo en la superficie. Olor fuerte, textura leñosa. Color marrón en el centro tornándose más claro hacia el borde que es irregular y donde el himenio sobresale. Ancho: 18 cm. Largo: 16 cm. Espesor de 4 cm.

Estípite: Largo 4.5 cm ancho. Espesor 4 cm.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, 4 por milímetro.

Contexto: Trama leñosa, 2.7 cm, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 1.3 cm.

### **Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 5  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 3  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, clavadas y de distribución regular. 9.4  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 10.36 x 6.16  $\mu\text{m}$ .

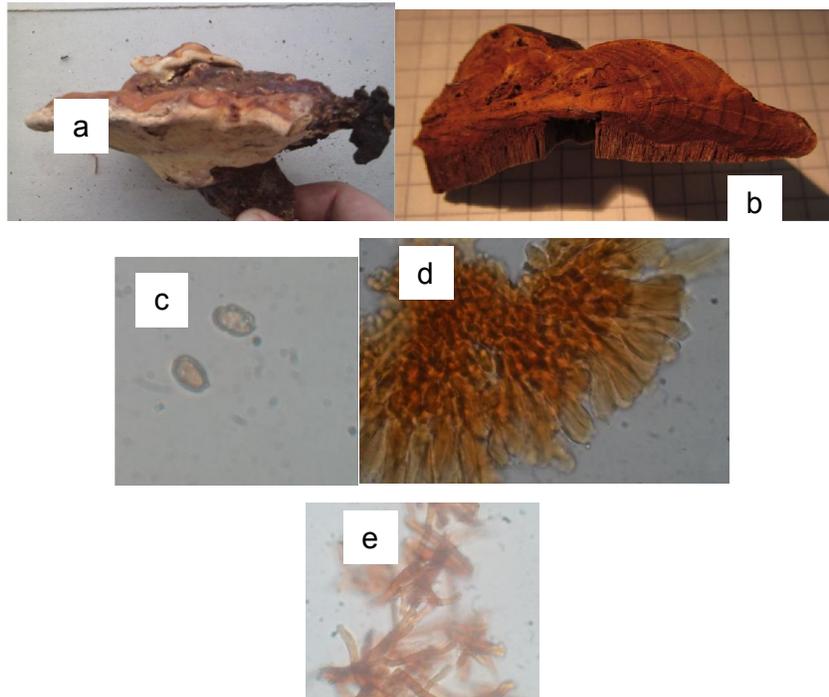


Figura 12. Morfoespecie C6 *G. curtisii* a. general b. contexto c. esporas 100x d. cutícula 100x e. hifas contexto 100x.

### **Morfoespecie C7 *G. curtisii***

**Hábitat:** Tronco caído.

#### **Características macroscópicas:**

Píleo: Flabeliforme redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, irregular. Presenta pequeños basidiomas creciendo en la superficie. Olor fuerte, textura leñosa. Color marrón, borde irregular y donde el himenio sobresale. Ancho: 26 cm. Largo: 18 cm. Espesor de 2.5 cm.

Estípite: Largo 6 cm ancho. Espesor 3.5 cm.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, 4 -5 por milímetro.

Contexto: Trama leñosa, 3.2 cm, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.8 cm.

#### **Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 5  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 2.7  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, clavadas y de distribución regular. 10.6  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 10.78 x 6.02  $\mu\text{m}$ .





Figura 13. Morfoespecie C7 *G. curtisii* a. general b. contexto c. cutícula 100x d. Esporas 100x e. hifas contexto 100x.

### **Morfoespecie C8 *G. curtisii***

**Hábitat:** Tocón de árbol.

#### **Características macroscópicas:**

**Píleo:** Dimidado redondeado irregular, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, irregular. Presenta pequeños basidiomas creciendo en la superficie, que no están bien desarrollados, textura leñosa. Color marrón, borde irregular, el himenio no sobresale. Ancho: 18 cm. Largo: 16 cm. Espesor de 4 cm.

**Estípite:** Largo 7 cm ancho. Espesor 5 cm.

**Himenóforo:** Poros regulares color crema, redondos, 4 por milímetro.

**Contexto:** Trama leñosa, 3.8 cm, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 1.2 cm.

#### **Características microscópicas:**

**Hifas:** Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 4.7  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 2.5  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron

fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, clavadas y de distribución regular. 7.42  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 10.36 x 6.16  $\mu\text{m}$ .

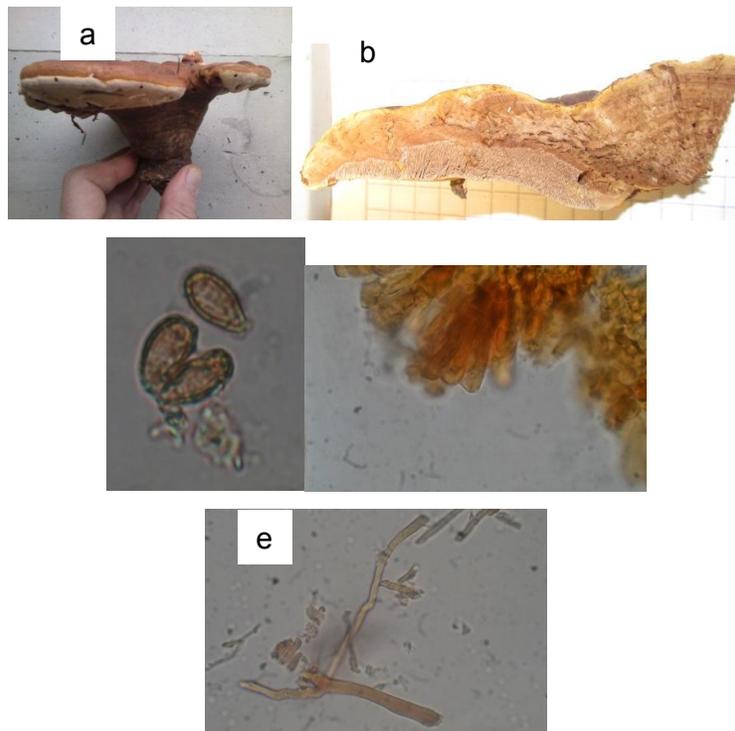


Figura 14. Morfoespecie C8 *G. curtisii* a. general b. contexto c. esporas 100x d. cutícula 100x e. hifas contexto 100x.

### **Morfoespecie C9 *G. curtisii***

**Hábitat:** *Cassia siamea*.

#### **Características macroscópicas:**

Píleo: Flabeliforme redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, irregular. Presenta un basidiomas creciendo en la superficie, con trayectoria helicoidal. Textura leñosa. Color marrón, borde irregular, el himenio sobresale poco. Ancho: 19.5 cm. Largo: 17 cm. Espesor de 3.5 cm.

Estípite: Largo 6 cm ancho. Espesor 6.7 cm.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, 4 -5 por milímetro.

Contexto: Trama leñosa, 2.9 cm, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.6 cm.

**Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 3.92  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 1.96  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, clavadas y de distribución regular. 7.42  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 10.08 x 6.16  $\mu\text{m}$ .

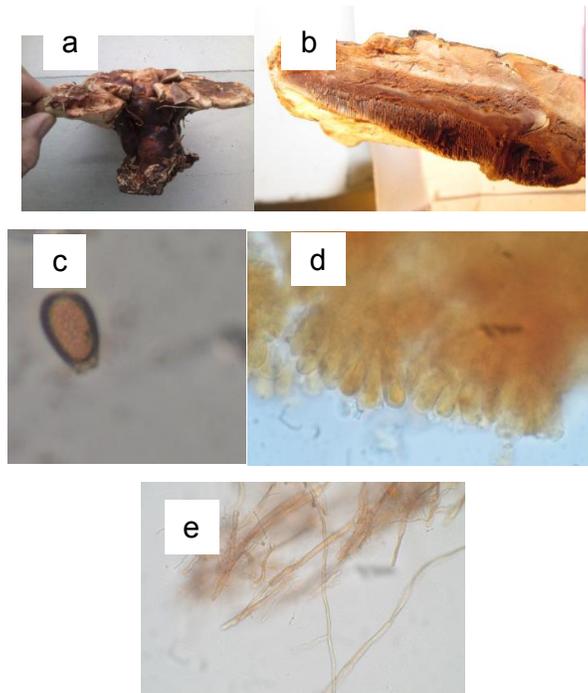


Figura 15. Morfoespecie C9 *G. curtisii* a. general b. contexto c. esporas 100x d. cutícula 100x e. hifas contexto 100x.

**Morfoespecie C10 *G. resinaceum***

**Hábitat:** *Cesalpinea pentaphoroides*.

**Características macroscópicas:**

Píleo: Abanicado redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento azonado, regular. Presenta un basidioma creciendo de apariencia regular. Textura leñosa. Color marrón, borde irregular, el himenio no sobresale. Ancho: 15.2 cm. Largo: 10.5 cm. Espesor de 6.3 cm.

Estípite: No presenta.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, 5-6 por milímetro.

Contexto: Trama leñosa, 5.8 cm, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.5 cm.

**Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 5.18  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 2.45  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, y de distribución irregular. 4.62  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 8.4 x 5.6  $\mu\text{m}$ .

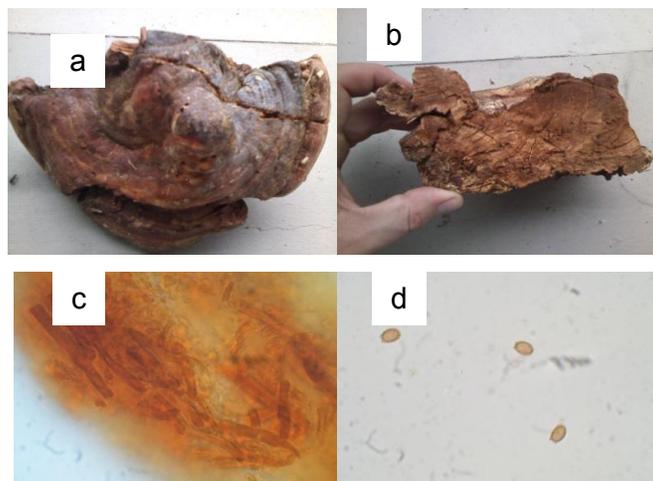




Figura 16. Morfoespecie C10 *G. resinaceum* a. general b. contexto c. cutícula 100x d. Esporas 100x e. hifas contexto 100x.

### **Morfoespecie C11 *G. curtisii***

**Hábitat:** *Leucaena leucocephala*.

#### **Características macroscópicas:**

**Píleo:** Flabeliforme redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, irregular. Presenta un basidiomas creciendo en la superficie, en forma de repisa. Textura leñosa. Color marrón, borde irregular, el himenio sobresale poco. Ancho: 27.5 cm. Largo: 31 cm. Espesor de 10 cm.

**Estípite:** Largo 7 cm ancho. Espesor 5 cm.

**Himenóforo:** Poros regulares color crema, redondos, 6-7 por milímetro.

**Contexto:** Trama leñosa, 2.5 cm, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 2.4 cm.

#### **Características microscópicas:**

**Hifas:** Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 5.74  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 2.91  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

**Cutícula:** Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, clavadas y de distribución regular. 7.51  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

**Basidios:** No observados.

**Basidiosporas:** Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 10.2 x 6.02  $\mu\text{m}$ .

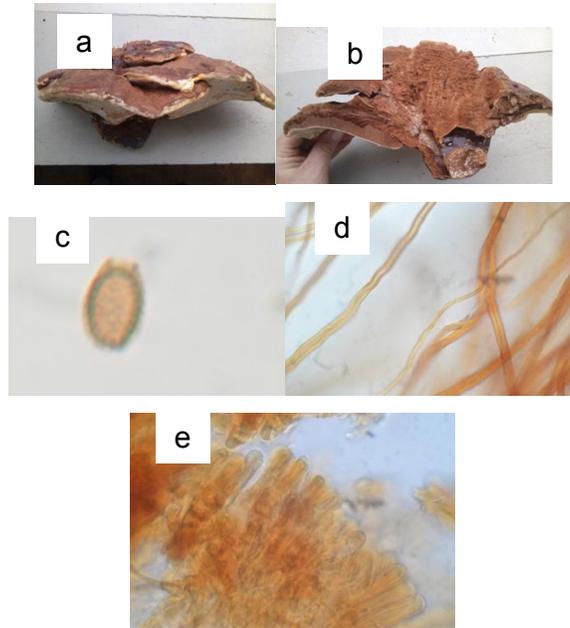


Figura 17. Morfoespecie C11 *G. curtisii* a. general b. contexto c. espora 100x d. hifas contexto 100x e. Cutícula 100x.

### **Morfoespecie C12 *G. resinaceum***

**Hábitat:** *Cassia fistula*.

#### **Características macroscópicas:**

**Píleo:** Abanicado redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento azonado, regular. Presenta un basidioma creciendo de apariencia regular. Textura leñosa. Color marrón, borde irregular, el himenio no sobresale. Ancho: 10.05 cm. Largo: 13 cm. Espesor de 2.3 cm.

**Estípite:** No presenta.

**Himenóforo:** Poros regulares color crema, redondos, 4-5 por milímetro.

**Contexto:** Trama leñosa, 1.7 cm, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.6 cm.

#### **Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 4.63  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 2.88  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, y de distribución irregular. 8.26  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 11.2 x 7.98  $\mu\text{m}$ .

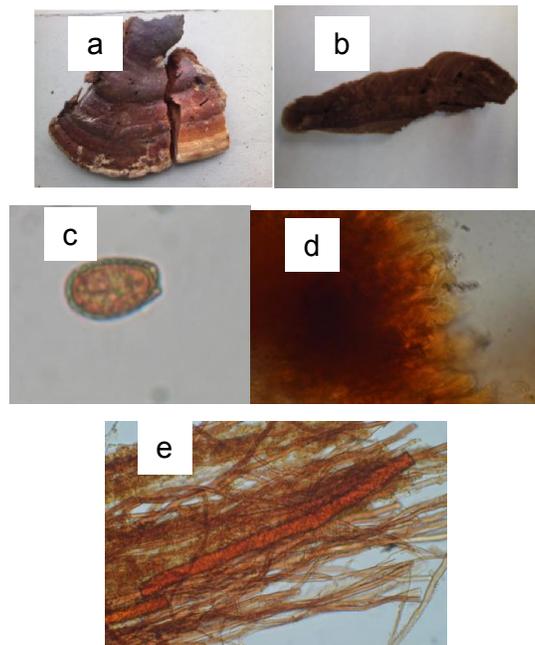


Figura 18. Morfoespecie C12 *G. resinaceum* a. general b. contexto c. espóra 100x d. Cutícula 100x e. hifas contexto 100x.

### **Morfoespecie C13 *G. weberianum***

**Hábitat:** *Cassia fistula*

#### **Características macroscópicas:**

Píleo: Dimidado, superficie lisa, lacada, crecimiento azonado, concéntricamente surcado cambiando de color en cada uno de los anillos tornándose más claro hacia el borde. Textura leñosa blanda. Color marrón

oscuro alrededor del estípite. La superficie del píleo no se pliega hacia el himenóforo. Ancho: 11 cm. Largo: 7.8 cm. Espesor: 1.8 cm.

Estípite: Inserción al píleo excéntrico. Largo: 3.8 cm. Ancho: 2 cm.

Himenóforo: Poros color crema, redondos, oxidación café, de 5 - 6 por mm.

Contexto: Trama leñosa, color marrón claro con presencia de incrustaciones resinosas. Longitud: 2.2 cm. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.7 cm.

### **Características microscópicas:**

Hifas: Esqueléticas entre 4.98  $\mu\text{m}$ , de unión entre 1.98  $\mu\text{m}$ , no se observaron fíbulas.

Cutícula: clavadas con un ancho de 10.2  $\mu\text{m}$ .

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. 10.92  $\mu\text{m}$  x 6.3.

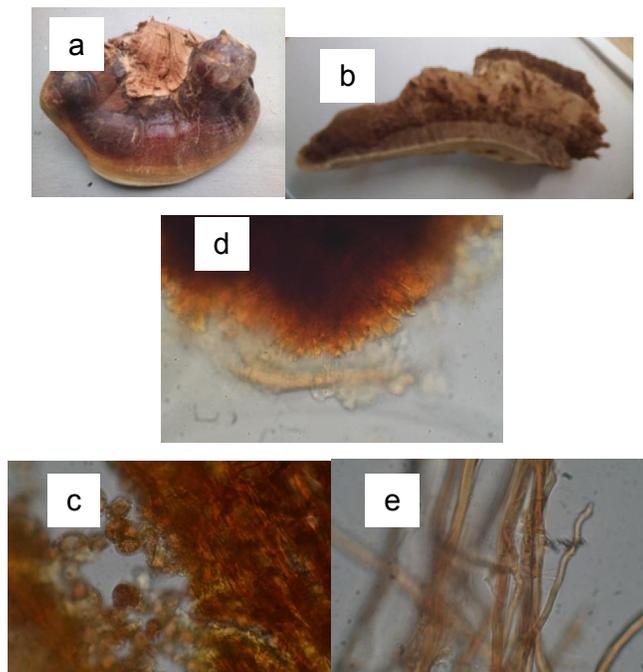


Figura 19. Morfoespecie C13 *G. weberianum* a. general b. contexto c. espora 100x d. Cutícula 100x e. hifas contexto 100x.

### **Morfoespecie C14 *G. weberianum***

**Habitat:** *Pithecellobium dulce*

#### **Características microscópicas:**

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, y de distribución irregular. 13.6 µm de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 10.52 x 7.98 µm.



Figura 20. Morfoespecie C14 *G. weberianum* a. Cutícula 100x b. espora 100x c. hifas contexto 100x.

### **Morfoespecie C15 *G. curtisii***

**Hábitat:** *Leucaena leucocephala*.

#### **Características macroscópicas:**

Píleo: Dimidiado redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, regular. Presenta un basidioma creciendo de apariencia regular. Textura leñosa. Color marrón, borde irregular, el himenio no sobresale. Ancho: 30 cm. Largo: 22 cm. Espesor de 2.7 cm.

Estípite: Ancho: 2.5 cm. Largo: 3.5 cm.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, 5-6 por milímetro.

Contexto: Trama leñosa, 1.8 cm, color marrón oscuro no se observa banda resinosa por degradación del basidioma. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.6 cm.

**Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 4.98  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 1.98  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, y de distribución irregular. 10.78  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 10.5 x 6.72  $\mu\text{m}$ .

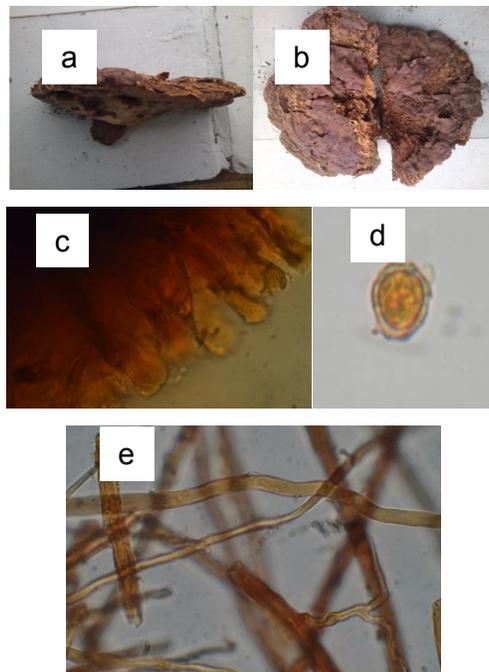


Figura 21. Morfoespecie C15 *G. curtisii* a. general b. contexto c. Cutícula 100x d. Espora 100x e. hifas contexto 100x.

**Morfoespecie C16 *G. curtisii***

**Hábitat:** *Cassia siamea*.

### **Características macroscópicas:**

Píleo: Abanicado redondeado, superficie rugosa, lacada, crecimiento no azonado, regular. Presenta un basidioma creciendo de apariencia regular, pero se torna irregular hacia el borde. Textura leñosa. Color marrón, borde irregular, el himenio no sobresale. Ancho: 19 cm. Largo: 19 cm. Espesor de 6.3 cm.

Estípite: No presenta.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, 5-6 por milímetro.

Contexto: Trama leñosa, 5.8 cm, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.5 cm.

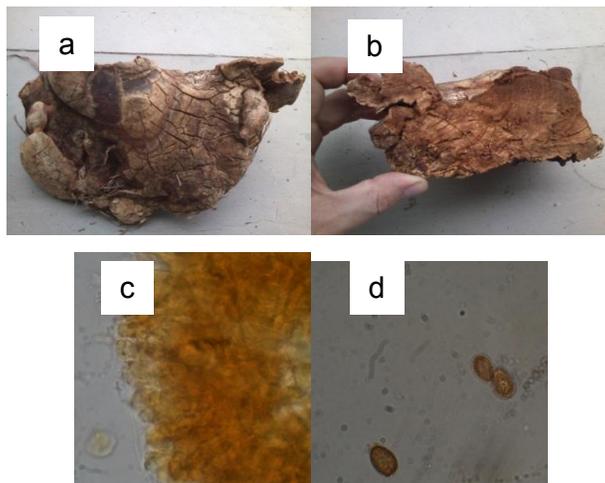
### **Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 5  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 2.17  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, y de distribución irregular. 10.5  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 10.36 x 6.72  $\mu\text{m}$ .



e



Figura 22. Morfoespecie C16 *G. curtisii* a. general b. contexto c. Cutícula 100x d. Espora 100x e. hifas contexto 100x.

### **Morfoespecie B *G. australe***

**Hábitat:** Tocón de árbol muerto.

#### **Características macroscópicas:**

Píleo: Dimidiado redondeado, superficie rugosa, pruinosa, crecimiento azonado, regular. Presenta un basidioma creciendo de apariencia regular. Textura leñosa dura. Color marrón claro, borde regular, el himenio no sobresale. Ancho: 4.2 cm. Largo: 3.9 cm. Espesor de 1.4 cm.

Estípite: No presenta, es un pseudoestípite.

Himenóforo: Poros regulares color crema, redondos, 6-7 por milímetro.

Contexto: Trama leñosa dura, 0.2 cm, color marrón oscuro con clara presencia de banda resinosa. Tubos color marrón oscuro con longitud de 0.9 cm.

#### **Características microscópicas:**

Hifas: Sistema hifal dimítico. Hifas esqueléticas con un grosor de 3.98  $\mu\text{m}$ . E hifas de unión con un grosor de 1.98  $\mu\text{m}$  color amarillo. No se observaron fíbulas.

Cutícula: Células del contexto bajo la cutícula color amarillo, cilíndricas y de distribución irregular. 6.02  $\mu\text{m}$  de ancho en el ápice.

Basidios: No observados.

Basidiosporas: Doble pared, la externa de color marrón. Forma ganodermoide, presencia de espículas. Tamaño promedio 8.12 x 5.32  $\mu\text{m}$ .

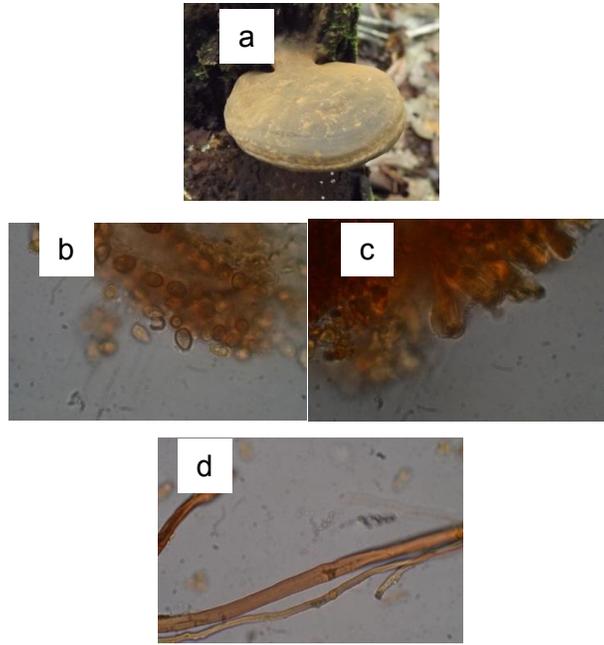


Figura 23. Morfoespecie B *G. australe* a. general b. Espora 100x c. Cutícula 100x d. hifas contexto 100x.

ANEXO 2. Tabla de caracteres cuantitativos.

Accesión	Especie	Genero	Municipio	Localidad	Hospedero	Pileoanch	Pileolong
	<i>G.</i>						
Z1	<i>stipitatum</i>	Ganoderma	Zarzal	Medio	Tocon	10	6.5
	<i>G.</i>						
Z2	<i>stipitatum</i>	Ganoderma	Zarzal	Medio	Tocon	5	3.9
	<i>G.</i>						
Z3	<i>stipitatum</i>	Ganoderma	Zarzal	Medio	Tocon	3.5	2.05
Y	<i>G. brownii</i>	Ganoderma	Yotoco	ResYotoco	Tronco caido	10.9	7.3
C1	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Limonar	<i>Pythecellobium dulce</i>	14	12.5
	<i>G.</i>						
C2	<i>orbiform</i>	Ganoderma	Cali	Limonar	<i>Cassia siamea</i>	38	22
C3	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Ingenio	<i>Cassia siamea</i>	17	10
C4	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Ingenio	<i>Cassia siamea</i>	17.2	10
C5	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Ingenio	<i>Tocon</i>	14.2	12
	<i>G.</i>						
P	<i>stipitatum</i>	Ganoderma	Palmira	Rozo	<i>Swinglea gl</i>	11.5	7.1
	<i>G.</i>						
CE	<i>weberianum</i>	Ganoderma	Cerrito	Hatico	Troncocaido	9.8	5.5

C6	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Univalle	<i>Cassiasia</i>	18	16
C7	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Univalle	Arbolmuerto	26	18
C8	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Univalle	tocon	18	16
C9	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	ingenio	Cassia fistula	19.5	17
	<i>G.</i>				Cesalpineia		
C10	<i>resinaceum</i>	Ganoderma	Cali	ingenio	pentophoroides	15.2	10.5
C11	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Valle del Lili	Leucaena	27.5	31
	<i>G.</i>						
C12	<i>resinaceum</i>	Ganoderma	Cali	Cañaverales	Cassia fistula	10.5	13
	<i>G.</i>						
C13	<i>weberianum</i>	Ganoderma	Cali	Valle del Lili	Cassia fistula	11	7.8
C14		Ganoderma	Cali	Univalle	<i>Pythecellob</i>	0	0
C15	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Univalle	Leucaena	30	22
C16	<i>G. curtisii</i>	Ganoderma	Cali	Valle del Lili	<i>Cassia siamea</i>	19	19
B	<i>G.australe</i>	Ganoderma	Buenventura	La Plata	Tocón	4.2	3.9

Pileoespm	Estlong	Estanch	Poropmm	Tramalongm	Tuboslongm	Hifesq	Hifgener	Celcutanchap	Besplong	Bespanch
2.1	1.3	1.2	7	1.6	0.4	3.85	3.85	9.7	9	6.5
1.4	4.05	0.6	5	1.05	0.3	5	5.1	9.8	8.7	6.7
0.8	1.8	0.7	4.5	0.45	0.325	4.5	4	8.5	6	7.1
2.1	0	0	6.5	0.5	1.05	1.47	2.45	2	8.72	5.68
3	12	7	6	2	1	3.75	3.75	10.2	8.6	6.3
5	5	4	5	3.5	1.5	2.45	1.96	7.5	9.75	8.41
3.5	3	4.5	4.5	2.3	1.2	2.94	4.9	9.8	10	6.86
3.3	1.3	1.2	6	2.2	1.1	3.8	2.7	11.22	8	6.17
4	2.5	4.1	5	2.6	1.3	3.6	3.1	10.62	8.6	6.2
2.1	3.2	2.2	5.5	1.2	1.4	4.1	3.8	10.5	8	6.17
2.5	3	3.5	6.5	2.3	0.35	5	2.5	10.78	11.06	6.44
4	4.5	4	4	2.7	1.3	5	3	9.4	10.36	6.16
2.5	6	3.5	4.5	3.2	0.8	4.9	2.67	10.6	10.78	6.02
4	7	5	4	3.8	1.2	4.69	2.5	7.42	10.36	6.16
3.5	6	6.7	4.5	6.1	0.6	3.92	1.96	7.42	10.08	6.16
6.3	0	0	0	5.8	0.5	5.18	2.45	4.62	8.4	5.6
10	7	5	6.5	2.5	2.4	5.74	2.91	7.51	10.2	6.02
2.3	0	0	4.5	1.7	0.6	4.63	2.88	8.26	11.2	7.98
1.8	3.8	2	5.5	2.2	0.7	4.98	1.98	10.2	10.92	6.3
0	0	0	0	0	0	0	0	13.6	10.52	7.98
2.7	2.5	3.5	5.5	1.8	0.6	4.98	1.98	10.78	10.5	6.72
6.3	0	0	5	3.1	0.5	5	2.17	10.5	10.36	6.72

---

1.4	0	0	6.5	0.2	0.9	3.98	1.98	6.02	8.12	5.32
-----	---	---	-----	-----	-----	------	------	------	------	------

---