

robias, que destruyen la celulosa (1). Hay que citar también las bacterias anaerobias, que producen la fermentación hidrogenada (que forman, aparte de diversos ácidos, CO_2 y H_2 en cantidades variables) y los agentes de la fermentación metánica, que está caracterizada por la presencia de metano. Pfeiffer, en sus investigaciones acerca de la acción de las bacterias de fermentación metánica sobre la madera de variadas frondosas, formó una serie creciente de especies, en relación con su resistencia al fermento metánico. A pesar de que las bacterias segregan enzimas algo distintas de las de los hongos, es probable que no haya ninguna diferencia esencial entre la acción de las bacterias y la de los hongos superiores, considerados ambos como agentes destructores de la madera. Por esto, para probar la eficacia de los antisépticos, no se considera necesario actualmente hacer ensayos con las bacterias, sino solamente con los hongos típicos de la madera.

MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL PODER FUNGICIDA DE UN ANTISÉPTICO

OJEADA HISTÓRICA Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA. — Los primeros ensayos para el estudio de un antiséptico fueron hechos introduciendo en tierra estacas o postes tratados con el antiséptico investigado y observando después su duración. Este método exigía, naturalmente, un tiempo muy largo (diez años, por lo menos). Para reducirlo, propuso Nördlinger enterrar las maderas en estiércol. Este procedimiento tenía, sin embargo, el inconveniente de que la madera estaba expuesta a la acción de las substancias que se desprendían del estiércol (amoníaco, etc.).

Hartig propuso someter la madera impregnada a la acción del *Merulius*, para lo cual metía la madera en sótanos (Fäulniskeller). Este método fué utilizado después repetidamente por otros investigadores y hasta por empresas industriales, pero tampoco dió

(1) La bacteria aerobia *Cytophaga Hutchinsoni Winogradsky* (= *Micococcus cytophagus* Bokor), perteneciente al grupo de las Actinomicetales, descompone rápidamente la celulosa. Los bacilos butíricos (*Bacillus amylobacter* Van Tieghem), pertenecientes al grupo de las Eubacteriales, son bacterias anaerobias que descomponen la celulosa.

resultados satisfactorios. La duración de los ensayos era todavía demasiado larga, y el ataque de la madera no era suficientemente regular para poder hacer comparaciones seguras.

Posteriormente, se idearon numerosos procedimientos, basados todos en la técnica micológica moderna. Para su estudio, pueden distribuirse en dos grupos:

- A) *Métodos de investigación sobre substrato nutritivo artificial.*
- B) *Métodos de investigación sobre substrato nutritivo natural (madera).*

La investigación del poder fungicida de los antisépticos, sobre substrato nutritivo artificial, es el método *standard*, adoptado en América del Norte. En Alemania, en la URSS y en otros países, la investigación sobre substrato nutritivo artificial sirve sólo como orientación, pero, como método *standard*, se utiliza la investigación sobre substrato nutritivo natural (madera). En el Instituto Forestal, de acuerdo con los convenios internacionales, de que luego hablaremos, hacíamos dos series de investigaciones paralelas: una, sobre substrato artificial, y otra, sobre substrato natural.

Para aplicar ambos métodos, es preciso disponer de cultivos puros de los principales hongos, destructores de la madera. Para obtener estos cultivos, puede partirse, bien de la espora o bien del micelio. En el primer caso, se sigue generalmente el procedimiento de la espora única de Keitt, modificado por Ezekiel, o el de la aguja seca de Hanna, cuyo detalle exponemos en el Apéndice. Cuando se parte del micelio, puede emplearse el tejido del esporóforo del hongo o la madera atacada por él. Lo más práctico es utilizar un trozo de tejido del esporóforo, que es lo que generalmente hacíamos en nuestro Laboratorio del Instituto.

Los hongos que se usan para determinar el poder fungicida de un antiséptico, tanto empleando el substrato artificial como el substrato natural, varían según los países. En Alemania, utilizan *Coniophora cerebella* y *Merulius lacrymans*; en Norteamérica, *Merulius lacrymans*, *Poria vaporaria* y *Lenzites sp.*, y en la URSS, *Coniophora cerebella*, *Merulius lacrymans* y *Poria vaporaria*, principalmente. En el Instituto Forestal, empleábamos *Poria vaporaria* y *Lenzites sepiaria*, de estirpe española (procedentes de hongos re-

colectados por nosotros y aislados en nuestro Laboratorio), y *Merulius lacrymans* y *Coniophora cerebella*, de estirpe holandesa (procedentes del Centraalbureau voor Schimmel Cultures Baarn (Holanda)).

Como la base de los dos métodos de investigación son los cultivos puros de estos hongos, y como, por otra parte, es muy poco frecuente encontrar, en libros y revistas, los caracteres de estos cultivos, creemos de gran utilidad exponerlos a continuación, advirtiendo que estas características corresponden al substrato *standard* de agar-malta (agar, 20 gramos; extracto de malta, 40 gramos, y agua destilada, 1 litro), adoptado en Norteamérica para los hongos destructores de la madera.

CARACTERES DE LOS CULTIVOS PUROS DE LOS HONGOS MÁS USADOS

MERULIUS LACRYMANS SCHUM. (1).

DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO (DE LA MADERA).

Micelio blanco; de aspecto de pelusilla sedosa; formando, ordinariamente, zonas concéntricas de variada altura; deleznable, casi sin resistencia a la ruptura; translúcido por algunas partes; con borde sedoso oscuro, de estructura radiada. A los quince días, toma, esporádicamente, un color amarillo verdoso *Marguerite Yellow*, *Primrose Yellow* (XXX 23") (2), y rara vez rosa-carmin. Con la vejez, la estructura del hongo no cambia; únicamente, el color blanco se transforma con frecuencia en color ceniza.

La velocidad de crecimiento es grande: a los diez días, 35-45 milímetros.

Las hifas del *micelio interno* (micelio desarrollado dentro del agar-malta) son de 1,5-5 μ de diámetro, llegando muy rara vez

(1) En el Herbario micológico del Instituto Forestal figuraba un esporóforo de esta especie, procedente de Ribadeo (Lugo). Todas las siembras que hicimos, unas veces partiendo de la spora y otras del tejido del esporóforo (por no disponer de madera atacada), resultaron estériles.

(2) Escala de colores de Ridgway. (Véase Bibliografía.)