

Banco de recursos genéticos para *Pycnoporus* spp.

Genetics resource bank for *Pycnoporus* spp.

William Edison Gómez Andrade¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Ana Checa¹

¹ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

Autor para correspondencia: williamedisson@yahoo.es

Recibido: octubre 27 de 2019

Aceptado: diciembre 28 de 2019

RESUMEN

Pycnoporus spp. es un hongo con gran potencial industrial debido a la capacidad redox de sus enzimas lacasas y su actividad biológica, principalmente antimicrobiana y antitumoral. También es fuente natural pigmentos rojo-anaranjado como la cinabarina. Por lo tanto, es necesario estudiar su conservación en Bancos de Recursos Genéticos con fines industriales. Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo fue describir los pasos para la obtención de cepas puras de *Pycnoporus* spp. Se encontró que las etapas del proceso de obtención de cepas puras de este género son: Recolección, aislamiento, identificación, caracterización y conservación; siendo esta última el Punto Crítico de Control (PCC) que afectan directamente la viabilidad.

PALABRAS CLAVE: fungario, conservación de especies, cepa pura, potencial industrial.

ABSTRACT

Pycnoporus spp. is a fungus with great biotechnological potential due to the redox capacity of its enzymes and its biological activity, mainly antimicrobial and antitumor. It is also a natural source of red-orange pigments such as cinnabarina. Therefore, it is necessary to study its conservation in Genetic Resources Banks for industrial purposes. In this context, the aim of this work was to describe the steps for obtaining pure strains of *Pycnoporus* spp. It was found that the stages of obtaining pure strains of this genus are: Collection, isolation, identification, characterization and conservation; the latter is a Critical Control Point (CCP) that directly affects viability.

KEYWORDS: fungus, species conservation, pure strain, industrial potential.

INTRODUCCIÓN

Los hongos basidiomicetos son saprófitos que provocan pudrición blanca en la madera debido al complejo enzimático que producen para degradarla (Alexopoulos, Mims, y Blackwell, 1996). Dentro de esta división se encuentra la familia Polyporaceae, que es la

más eficiente degradadora de la madera por su fuerte actividad ligninolítica (Papinutti, 2013), y además produce pigmentos durante su metabolismo secundario, generalmente derivados de ácidos polipóricos y terpenilquinones (Velíšek y Cejpek, 2011).

Pycnoporus spp. es un género representativo de la familia Polyporaceae. Según y colaboradores (2011) existen cuatro especies: *P. cinnabarinus*, *P. puniceus*, *P. sanguineus* y *P. coccineus*. Dichas especies producen no menos de siete pigmentos, principalmente: cinabarina, ácido cinabarínico y tramesanguina (Achenbach y Blumm, 1991; Eggert, Temp, y Eriksson, 1996), así como enzimas de interés industrial, que presentan gran potencial debido a su actividad inespecífica para oxidar compuestos polifenólicos de estructura molecular compleja (Levasseur *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2000). Adicionalmente, dichos metabolitos presentan actividad antiviral, antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antihemorrágica, entre otras, de gran potencial biotecnológico (Acosta *et al.*, 2010; Lomascolo *et al.*, 2003).

La obtención de cepas puras y su conservación es imprescindible para la preservación de las especies y su aprovechamiento biotecnológico; ello es factible gracias a los Bancos de Recursos Genéticos (BRG), que se convierten en fuentes confiables de cepas viables con fines industriales y académicos (Badía *et al.*, 2011; Cruz, 2004; Ramírez y Cocha, 2003).

Existen en la República de Ecuador sólo dos Bancos de Recursos Genéticos fúngicos o Fungarios, coordinados por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) y la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL) (Cruz, 2004); aunque su impacto científico-industrial no ha sido muy visible, probablemente por deficiencias tecnológicas, pese a que la legislación ecuatoriana le sea favorable (Asamblea Nacional, 2008).

Por lo tanto, el propósito de este artículo es describir los pasos para la obtención de cepas puras de *Pycnoporus spp.* con fines industriales, mediante una revisión exhaustiva de la literatura que favorezca la conformación de fungarios exitosos.

RECOLECCION

Pycnoporus spp. suele encontrarse en sustratos lignocelulósicos en descomposición, sobre los cuales crece naturalmente (Boreres, Costa, Guedes, y Tavares, 2011).

Para la recolección es necesario conocer de antemano las características macrosópicas del cuerpo fructífero del hongo (Ortiz *et al.*, 2016). *Pycnoporus spp.* posee un basidioma flaveliforme (forma de abanico) más o menos aplanado, de color naranja intenso y un margen redondeado de color similar al resto del carpóforo; su tamaño puede variar entre 3 a 10 cm de ancho y su carne varía de corchoso a duro. Se encuentra adherido al sustrato por la base, donde el basidioma es más grueso y puede llegar a medir hasta 3 cm; mientras los bordes son más delgados, alcanzando a medir hasta menos de 1 cm. Ocasionalmente los bordes son confluentes, es decir, que se pegan con los de los basidiomas contiguos. (Asociación Micológica Fungípedia, 2016; Papinutti, 2013). Se puede observar a simple vista que el himenio de este género posee poros, por donde libera las esporas (Alexopoulos y Beneke, 1962).

Macroscópicamente las especies son diferenciables entre sí, por ejemplo: *P. sanguineus*, tiene un color más rojizo que su homólogo *P. cinnabarinus*; además tiene una base estrecha que le da la apariencia de subestipitado mientras *P. cinnabarinus* es sésil. Este último tiene a su vez una superficie piléica libre o escasa de vellosidades, a diferencia de *P. fulgens*, con el cual suele asemejarse por la coloración del carpóforo (Asociación Micológica Fungípedia, 2016; Papinutti, 2013).

Una vez reconocido el hongo y recolectado su cuerpo fructífero se deben tomar apuntes acerca de los diferentes sustratos en donde fue encontrado (tierra, madera en descomposición, mantillo del bosque...) (Chanona *et al.*, 2007), las coordenadas y la temperatura ambiental. En la tabla 1 se listan algunos materiales lignocelulósicos de donde

se han recolectado las cepas de *Pycnoporus* spp.

Tabla 1. Sustratos vegetales donde crece *Pycnoporus* spp.

| Especie | Sustrato | Referencia |
|--------------------------------|---------------------------------------|--|
| <i>Pycnoporus sanguineus</i> | Madera de casuarina y mango | (Cruz Muñoz <i>et al.</i> , 2015) |
| | Madera contaminada con petróleo | (Acosta <i>et al.</i> , 2010; Quiroz <i>et al.</i> , 2009) |
| | Troncos de palma | (Achenbach y Blumm, 1991) |
| | Encino | (Chanona <i>et al.</i> , 2007) |
| | Madera de <i>Parkia oppositifolia</i> | (Esposito <i>et al.</i> , 1993) |
| <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> | Madera de pino | (Eggert <i>et al.</i> , 1996) |
| | Troncos quemados | (Guzmán, 1979) |
| <i>Pycnoporus coccineus</i> | Eucalipto | (Machuca y Ferraz, 2001) |

AISLAMIENTO DE CEPAS

Se toma una pequeña muestra de tejido y se deposita en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) o Agar Extracto de Malta (MEA, por sus siglas en inglés) y se incuba durante 35 días a 25 °C en ausencia de luz. El rango de crecimiento micelial puede oscilar entre 24-30 °C.

Una vez desarrollado el hongo se hacen repiques hasta obtener una cepa pura (Cruz Muñoz *et al.*, 2015; Herpoël *et al.*, 2000; Schliephake *et al.*, 1993). Es necesario adicionar cloranfenicol (200 g/l) a los medios de cultivo, para evitar contaminaciones bacterianas (Henrique Rosa *et al.*, 2003).

Según Correa y colaboradores (2005) el MEA es el medio óptimo para el crecimiento micelial posterior a la purificación, mientras que Acosta y colaboradores (2010) afirman que es el Agar Harina Integral de Trigo (HTIA, por sus siglas en inglés). Por su parte, Cruz y colaboradores (2015) aseveran que los medios de cultivo

óptimos son los que contienen extracto del material vegetal del cual se recolectó el hongo.

En la tabla 2 se mencionan los principales medios de cultivo empleados para el aislamiento de *Pycnoporus* spp.

Tabla 2. Medios de cultivo reportados para el aislamiento de *Pycnoporus* spp.

| Especie | Medio de cultivo | Referencia |
|--------------------------------|---|--|
| <i>Pycnoporus sanguineus</i> | Agar Papa Dextrosa | (Acosta <i>et al.</i> , 2010; Cruz <i>et al.</i> , 2015; Smânia <i>et al.</i> , 1998; Vikineswary <i>et al.</i> , 2006) |
| | Agar Harina Integral de Trigo | (Acosta-Urdapilleta <i>et al.</i> , 2010; Cruz Muñoz <i>et al.</i> , 2015) |
| | Agar Extracto de Malta | (Acosta-Urdapilleta <i>et al.</i> , 2010; Atteke <i>et al.</i> , 2013; Cruz Muñoz <i>et al.</i> , 2015; Machuca y Ferraz, 2001; Schliephake <i>et al.</i> , 1993; Uzan <i>et al.</i> , 2010) |
| | Medios afines al material vegetal de donde se recolectó | (Cruz Muñoz <i>et al.</i> , 2015) |
| | Medio Czapek-Dox con sulfato de manganeso, algunas veces adicionado con extracto de semillas de guisantes o salvado de trigo. | (Böse, 1946) |
| <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> | Agar Extracto de malta | (American Type Culture Collection, 2016a) |
| | Agar Extracto de levadura | (American Type Culture Collection, 2016b) |
| | Agar Papa Dextrosa | (FuQuan y QiJin, 2008) |

IDENTIFICACIÓN

Microscópicamente, se pueden identificar cuatro tipos de hifas: 1) las de los tubos o poros, que son de pared delgada, ramificadas y se tiñen con fioxina; 2) las del margen y el píleo, que son un poco más gruesas, no ramificadas, no se tiñen con fioxina, y usualmente tienen gránulos anaranjados que se disuelven en KOH; 3) las de la zona de transición y tubos, que tienen grosor variable y se disponen en capas; y 4) las que se encuentran únicamente en la zona de transición, que son delgadas, con ramificaciones cortas y recurvadas (Papinutti, 2013). *P. sanguineus* y *P. cinnabarinus* se diferencian en su sistema de hifas, el primero es dimítico y el segundo es trimítico (Asociación Micológica Fungípedia, 2016).

Es necesario realizar una adecuada identificación, para evitar asignar erróneamente propiedades, metabolitos o usos potenciales a alguna cepa, entorpeciendo el éxito de futuras investigaciones o generando pérdidas económicas a los empresarios que la adquirieron. Para evitar vacilaciones, lo más preciso es realizar pruebas a nivel molecular mediante extracción del ADN ribosomal, y su amplificación, secuenciación y alineación con las bases de datos del banco de genes (Cruz Muñoz *et al.*, 2015).

CARACTERIZACIÓN

Para la determinación de las condiciones óptimas de crecimiento y la producción de

metabolitos secundarios se toman discos de aproximadamente 5 mm de diámetro a partir del borde radial de colonias de 30 días de edad, y se transfieren a nuevos medios de cultivo conforme con el metabolito que se quiera producir, se incuban durante 30 días a 23 °C con luz blanca continua (Cruz Muñoz *et al.*, 2015).

Es necesario realizar ensayos de actividad enzimática, para identificar su potencial industrial; principalmente actividad ligninolítica, celulolítica, hemicelulolítica (Forchiassin *et al.*, 2014). Las enzimas ligninolíticas más abundantes en este hongo son las lacasas (Eggert *et al.*, 1996), lo que facilita su proceso de purificación. Se había llegado a pensar que la producción de peroxidasas extracelulares era nula (Machuca y Ferraz, 2001).

Los metabolitos primarios y secundarios producidos por el género *Pycnoporus* varían dependiendo de la especie y condiciones de cultivo (Acosta-Urdapilleta *et al.*, 2010); es necesario aclarar que el crecimiento micelial, no de manera obligatoria, está relacionado con la producción de metabolitos secundarios (Baumer *et al.*, 2008). Una vez los metabolitos son extraídos según la metodología seguida, se identifican por cromatografía de capa fina, mediante comparación de los frentes de retención (Rf) (Cruz Muñoz *et al.*, 2015), cromatografía de gases o espectrometría de masas (Teoh, Don, y Ujang, 2011). En la tabla 3 se nombran los principales metabolitos producidos por *Pycnoporus* spp.

Tabla 3. Principales metabolitos secundarios producidos por *Pycnoporus* spp.

| Metabolito | Especie | Referencia |
|------------|---|---|
| Lacasas | <i>P. cinnabarinus</i> <i>P. coccineus</i> <i>P. sanguineus</i> | (Atteke <i>et al.</i> , 2013; Berrio <i>et al.</i> , 2007; Camarero <i>et al.</i> , 2004; Camarero <i>et al.</i> , 2005; Eugenio <i>et al.</i> , 2010; Lu <i>et al.</i> , 2007; Machuca y Ferraz, 2001; Madhavi y Lele, 2009; Munusamy <i>et al.</i> , 2008; Ramírez <i>et al.</i> , 2014; Sigoillot <i>et al.</i> , 2002, 2004; Xu <i>et al.</i> , 2000) |

| Metabolito | Especie | Referencia |
|--|--|---|
| Peroxidasas extracelulares (Lignin, Versátil y Manganeso Peroxidasa) | <i>P. cinnabarinus</i> <i>P. coccineus</i> | (Levasseur <i>et al.</i> , 2014; Machuca y Ferraz, 2001) |
| Celulasas (β -glucosidasas Xilanasas) | <i>P. cinnabarinus</i> <i>P. coccineus</i> | (Bey <i>et al.</i> , 2011; Machuca y Ferraz, 2001; Sigoillot <i>et al.</i> , 2002) |
| Celobiosa deshidrogenasa | <i>P. cinnabarinus</i> | (Bey <i>et al.</i> , 2011; Sigoillot <i>et al.</i> , 2002) |
| Galactosidasa | <i>P. cinnabarinus</i> | (Bey <i>et al.</i> , 2011; Ohtakara, Hayashi, y Mitsutomi, 1981) |
| DDMP | <i>P. sanguineus</i> | (Teoh <i>et al.</i> , 2011) |
| Poliporina | <i>P. sanguineus</i> | (Böse, 1946; Henrique Rosa <i>et al.</i> , 2003) |
| Cinabarina (3-fenoxacina) | <i>P. sanguineus</i> <i>P. cinnabarinus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991; Acosta <i>et al.</i> , 2010; Cruz Muñoz <i>et al.</i> , 2015; Dias y Urban, 2009; Smânia <i>et al.</i> , 2003; Smânia <i>et al.</i> , 1998) |
| O-acetyl-cinabarina | <i>P. sanguineus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991) |
| Ácido cinabarínico | <i>P. cinnabarinus</i> <i>P. sanguineus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991; Acosta <i>et al.</i> , 2010; Dias y Urban, 2009; Gocenoglu y Pazarlioglu, 2014) |
| Tramesanguina | <i>P. sanguineus</i> | (Acosta <i>et al.</i> , 2010) |
| Ácido cinabarínico | <i>P. cinnabarinus</i> | (Dias y Urban, 2009) |

| Metabolito | Especie | Referencia |
|-------------------------------|--|--|
| Pycnoporina | <i>P. cinnabarinus</i> | (Dias y Urban, 2009) |
| 3-1 fenoxacina | <i>P. sanguineus</i> | (Cruz <i>et al.</i> , 2015) |
| 2-amino-fenoxazin-3-ona | <i>P. sanguineus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991) |
| Pycnosanguina éter fenoxacina | <i>P. sanguineus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991) |
| Ergosterol | <i>P. cinnabarinus</i> <i>P. sanguineus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991; Dias y Urban, 2009) |
| 5-6- dihidroergosterol | <i>P. sanguineus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991) |
| Ergosterol peróxido | <i>P. sanguineus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991) |
| Vainillina | <i>P. cinnabarinus</i> | (Falconnier <i>et al.</i> , 1994; Krings <i>et al.</i> , 2001; Stentelaire <i>et al.</i> , 2000) |

ALMACENAMIENTO

La cepa debe ser almacenada en refrigeración a 4 °C para que no pierda su viabilidad (Borderes *et al.*, 2011; Schliephake *et al.*, 1993). Existen otros métodos que también pueden emplearse: Inmersión en agua destilada, inmersión en aceite mineral, liofilización, congelación, transferencia periódica (Ortiz *et al.*, 2016). La temperatura de congelación es de -80 °C en hielo seco o nitrógeno líquido, y la de liofilización de 2 a 8 °C. Cada vez que se vaya a usar la cepa, limpie su envase con etanol al 70 % y transfiera asépticamente (American Type Culture Collection, 2016b, 2016a; Uzan *et al.*, 2010).

CONCLUSIONES

Las etapas del proceso de obtención de cepas puras son: Recolección, aislamiento, identificación, caracterización y almacenamiento. La identificación de especies es clave, para no atribuir propiedades y/o usos potenciales erróneamente a una cepa, por lo que es más segura identificación molecular que la taxonómica. El almacenamiento de las cepas es un Punto Crítico de Control (PCC) porque si es inadecuado puede afectar su viabilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achenbach, H., & Blumm, E. (1991). Investigation of the Pigments of *Pycnoporus sanguineus* - Pycnosanguin and New Phenoxazin-3-ones. *Arch Pharm*, 324(1), 3–6. <https://doi.org/10.1002/ardp.19913240103>
- Acosta-Urdapilleta, L., Alonso-Paz, G. A., Rodríguez, A., Adame, M., Salgado, D., Montiel-Peña, M., & Villegas-Villarreal, E. C. (2010). *Pycnoporus sanguineus*, un hongo con potencial biotecnológico. In D. Martínez-Carrera, N. Cuvetto, M. Sobal, P. Morales, & V. M. Mora (Eds.), *Hacia un*

- Desarrollo sustentable de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el siglo XXI.* (pp. 531–562). Puebla: Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales. COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEMUPAEP-IMINAP. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/235938991_Pycnoporus_sanguineus_un_hongo_c_on_potencial_biotechnologico
- Alexopoulos, C. J., & Beneke, E. S. (1962). *Laboratory Manual for Introductory Mycology*. Minneapolis: Burgess Publishing Company. Retrieved from https://ia600300.us.archive.org/23/items/Laboratory_Manual_for_Introductory_Mycology/1962_alexopoulosBeneke_laboratoryManualForIntroductoryMycology.pdf
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). Phylum Basidiomycota order Aphyllophorales, polypores, Chantharellales, tooth fungi, coral fungi and corticioids. In D. Harris (Ed.), *Introductory Mycology* (4th ed., pp. 563–597). New York: Wiley and Sons Inc.
- American Type Culture Collection. (2016a). *Pycnoporus cinnabarinus* (ATCC® 200478™). Manassas.
- American Type Culture Collection. (2016b). *Pycnoporus cinnabarinus* (ATCC® 204166™). Manassas.
- Asamblea Nacional. Constitución de la República del Ecuador, Pub. L. No. Registro Oficial 449, 218 (2008). Quito-Ecuador. Retrieved from http://www.asambleanacional.gov.ec/documentos/constitucion_de_bolsillo.pdf
- Asociación Micológica Fungipedia. (2016). *Pycnoporus cinnabarinus*. Retrieved August 3, 2016, from <https://www.fungipedia.org/hongos/pycnoporus-cinnabarinus.html>
- Atteke, C., Mounquengui, S., Saha Tchinda, J.-B., Ndikontar, M. K., Ibrahim, B., Gelhaye, E., & Gelhaye, E. (2013). Biodegradation of Reactive Blue 4 and Orange G by *Pycnoporus sanguineus* Strain Isolated in Gabon. *J Bioremed Biodeg*, 4(206), 2155–6.199. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000206>
- Badía, M., Hernández, B., Murrel, J. A. L., Mahillon, J., & Pérez, M. H. (2011). Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* asociadas al cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista Brasileira de Agroecologia*, 6, 90–99.
- Baumer, J. D., Mas Diego, S. M., Pacheco, S., Morgado, A. F. M., & Furigo, A. F. (2008). Comparative study of mycelial growth and production of cinnabarin by different strains of *Pycnoporus sanguineus*. *Revista de Biología e Farmacia - BioFar*, 2(2), 1–5. Retrieved from http://sites.uepb.edu.br/biofar/download/v2n2-2008/01-comparative_study.pdf
- Berrio, J., Plou, F. J., Ballesteros, A., Martínez, Á. T., & Martínez, M. J. (2007). Immobilization of *pycnoporus coccineus* laccase on Eupergit C: Stabilization and treatment of olive oil mill wastewaters. *Biocatalysis and Biotransformation*, 25(2–4), 130–134. <https://doi.org/10.1080/10242420701379122>
- Bey, M., Berrin, J.-G., Poidevin, L., & Sigoillot, J.-C. (2011). Heterologous expression of *Pycnoporus cinnabarinus* cellobiose dehydrogenase in *Pichia pastoris* and involvement in saccharification processes. *Microbial Cell Factories*, 10(113). <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-113>
- Borderes, J., Costa, A., Guedes, A., & Tavares, L. B. B. (2011). Antioxidant activity of the extracts from *Pycnoporus sanguineus* mycelium. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(6), 1167–1174. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000600012>
- Böse, S. R. (1946). Antibiotics in a Polyporus (*Polystictus sanguineus*). *Nature*, 158, 292–296. <https://doi.org/10.1038/158292a0>
- Camarero, S., García, O., Vidal, T., Colom, J., del Río, J. C., Gutiérrez, A., ... Martínez, Á. T. (2004). Efficient bleaching of non-wood high-quality paper pulp using laccase-mediator system. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(2), 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.10.019>
- Camarero, S., Ibarra, D., Martínez, M. J., & Martínez, A. T. (2005). Lignin-derived compounds as efficient laccase mediators for decolorization of different types of recalcitrant dyes. *Applied and*

- Environmental Microbiology*, 71(4), 1775–1784. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1775-1784.2005> Appl.
- Chanona-Gómez, F., Andrade-Gallegos, R. H., Castellanos-Albores, J., & Sánchez, J. E. (2007). Macromicetos del Parque Educativo Laguna Bélgica, municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78, 369–381. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmbiodiv/v78n2/v78n2a14.pdf>
- Correa, E., Quiñones, W., Torres, F., Cardona, D., Franco, A. E., Robledo, S., & Echeverri, F. (2005). Actividad leishmanicida de *Pycnoporus sanguineus*. *Actual Biol.*, 27(1), 39–42.
- Cruz, D. J. (2004). Fungario. Retrieved June 20, 2008, from <http://coleccionbiologicas.utpl.edu.ec/fungario>
- Cruz Muñoz, R., Piña-Guzmán, A. B., Yáñez-Fernández, J., Valencia-Del Toro, G., Bautista-Baños, S., & Villanueva Arce, R. (2015). Producción de pigmentos de *Pycnoporus sanguineus* en medio de cultivo sólido. *Agrociencia*, 49(4), 347–359. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/302/30239403001.pdf>
- Dias, D., & Urban, S. (2009). HPLC and NMR studies of phenoxazone alkaloids from *Pycnoporus cinnabarinus*. *Natural Product Communications*, 4(4), 489–498. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/med/19475991>
- Eggert, C., Temp, U., & Eriksson, K.-E. E. L. (1996). The ligninolytic system of the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: Purification and characterization of the laccase. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(4), 1151–1158. <https://doi.org/0099-2240/96>
- Esposito, E., Innocentini-Mei, L. H., Ferraz, A., Canhos, V. P., & Durán, N. (1993). Phenoloxidases and hydrolases from *Pycnoporus sanguineus* (UEC-2050 strain): applications. *Journal of Biotechnology*, 29(3), 219–228. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(93\)90054-Q](https://doi.org/10.1016/0168-1656(93)90054-Q)
- Eugenio, M. E., Santos, S. M., Carbajo, J. M., Martín, J. A., Martín-Sampedro, R., González, A. E., & Villar, J. C. (2010). Kraft pulp biobleaching using an extracellular enzymatic fluid produced by *Pycnoporus sanguineus*. *Bioresource Technology*, 101(6), 1866–1870. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.084>
- Falconnier, B., Lapierre, C., Lesage-Meessen, L., Yonnet, G., Brunerie, P., Colonna-Ceccaldi, B., ... Asther, M. (1994). Vanillin as a product of ferulic acid biotransformation by the white-rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus* I-937: Identification of metabolic pathways. *Journal of Biotechnology*, 37(2), 123–132. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(94\)90003-5](https://doi.org/10.1016/0168-1656(94)90003-5)
- Forchiassin, F., Papinutti, L., Levin, L., Cinto, I., Diorio, L. A., Grassi, E., ... Carabajal, M. (2014). *Manual de procedimientos de Micología Experimental* (17th ed.). Buenos Aires: Departamento de biodiversidad y biología experimental – FCEN – UBA. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- FuQuan, X., & QiJin, H. (2008). Artificial Cultivation of a *Pycnoporus cinnabarinus* Strain Isolated from the Wild in Fujian Province. *Acta Edulis Fungi*, 1, 69–72. Retrieved from <http://www.syjxb.com/EN/abstract/abstract8721.shtml>
- Gocenoglu, A., & Pazarlioglu, N. (2014). Cinnabarinic acid : Enhanced production from *Pycnoporus cinnabarinus*, characterization, structural and functional properties. *Journal of Biological Chemistry*, 42(2), 281–290. Retrieved from <http://www.hjbc.hacettepe.edu.tr/journal/volume-42/issue-2/cinnabarinic-acid-enhanced-production-from-pycnoporus-cinnabarinus-characterization-structural-and-functional-properties/index.html>
- Guzmán, G. (1979). *Identificación de los hongos: comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera* (1st ed.). México D.F: Editorial Limusa.
- Henrique Rosa, L., Gomes Machado, K. M., Jacob, C. C., Capelari, M., Augusto Rosa, C., & Leomar Zani, C. (2003). Screening of Brazilian Basidiomycetes for Antimicrobial Activity. *Memorias Do*

- Instituto Oswaldo Cruz*, 98(7), 967–974. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000700019>
- Herpoël, I., Moukha, S., Lesage-Meessen, L., Sigoillot, J. C., & Asther, M. (2000). Selection of *Pycnoporus cinnabarinus* strains for laccase production. *FEMS Microbiology Letters*, 183(2), 301–306. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(99\)00616-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(99)00616-3)
- Krings, U., Pilawa, S., Theobald, C., & Berger, R. G. (2001). Phenyl propenoic side chain degradation of ferulic acid by *Pycnoporus cinnabarinus* — elucidation of metabolic pathways using [5-2H]-ferulic acid. *Journal of Biotechnology*, 85(3), 305–314. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00396-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00396-5)
- Levasseur, A., Lomascolo, A., Chabrol, O., Ruiz-Dueñas, F. J., Boukhris-Uzan, E., Piumi, F., ... Record, E. (2014). The genome of the white-rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: a basidiomycete model with a versatile arsenal for lignocellulosic biomass breakdown. *BMC Genomics*, 15(1), 486. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-486>
- Lomascolo, A., Record, E., Herpoël-Gimbert, I., Delattre, M., Robert, J. L., Georis, J., ... Asther, M. (2003). Overproduction of laccase by a monokaryotic strain of *Pycnoporus cinnabarinus* using ethanol as inducer. *Journal of Applied Microbiology*, 94(4), 618–624. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01879.x>
- Lomascolo, A., Uzan-Boukhris, E., Herpoël-Gimbert, I., Sigoillot, J. C., & Lesage-Meessen, L. (2011). Peculiarities of *Pycnoporus* species for applications in biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(6), 1129–1149. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3596-5>
- Lu, L., Zhao, M., Zhang, B.-B., Yu, S.-Y., Bian, X.-J., Wang, W., & Wang, Y. (2007). Purification and characterization of laccase from *Pycnoporus sanguineus* and decolorization of an anthraquinone dye by the enzyme. *Biotechnologically Relevant Enzymes And Proteins*, 74(6), 1232–1239. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0767-x>
- Machuca, A., & Ferraz, A. (2001). Hydrolytic and oxidative enzymes produced by white- and brown-rot fungi during *Eucalyptus grandis* decay in solid medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 29(6), 386–391. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00417-3](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00417-3)
- Madhavi, V., & Lele, S. S. (2009). Laccase: properties and applications. *BioResources*, 4(4), 1694–1717. Retrieved from http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_04_4_1694_Madhavi_Lele_Laccase_Props_Applications_Rev
- Munusamy, U., Sabaratnam, V., Muniandy, S., Abdullah, N., Pandey, A., & Jones, E. B. G. (2008). Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Laccase of *Pycnoporus sanguineus* and Toxicity Evaluation of Treated PAH. *Biotechnology*, 7(4), 669–677. <https://doi.org/10.3923/biotech.2008.669.677>
- Ohtakara, A., Hayashi, N., & Mitsutomi, M. (1981). Purification and Some Properties of Acid β -Galactosidase from *Pycnoporus cinnabarinus*. *Journal of Fermentation Technology*, 59(4), 325–328. Retrieved from <http://ci.nii.ac.jp/naid/110002672598/>
- Ortiz, E., Saransi, C., Ayala, K., Faz, L., Benavides, N., Vela, P., ... Pineda, C. A. (2016). Banco de recursos genéticos de *Auricularia* spp. con fines industriales: Una revisión. *Revista Bionatura*, 3(1), 139–145. Retrieved from <http://revistabionatura.com/2016.01.03.8.html>
- Papinutti, L. (2013). *Pycnoporus sanguineus*. *Revista Boletín Biológica*, 29(7), 32–33. Retrieved from [http://www.boletinbiologica.com.ar/pdfs/N29/papinutti\(micologica29\).pdf](http://www.boletinbiologica.com.ar/pdfs/N29/papinutti(micologica29).pdf)
- Pontificia Universidad Católica del Ecuador. (2016). Fungario QCA (M). Retrieved June 20, 2008, from <http://www.puce.edu.ec/portal/content/Fungario/442;jsessionid=2E8EC51E755E85>
- Quiroz-Castañeda, R. E., Balcázar-López, E., Dantán-González, E., Martínez, A., Folch-Mallol, J., & Anaya, C. M. (2009). Characterization of cellulolytic activities of *Bjerkandera adusta* and *Pycnoporus sanguineus* on solid wheat straw medium. *Electronic Journal of Biotechnology*, 12(4). <https://doi.org/10.2225/vol12-issue4-fulltext-3>

- Ramírez-Cavazos, L., Junghanns, C., Nair, R., Cárdenas-Chávez, D., Hernández-Luna, C., Agathos, S., & Parra, R. (2014). Enhanced production of thermostable laccases from a native strain of *Pycnoporus sanguineus* using central composite design. *J Zhejiang Univ Sci B.*, *15*(4), 343–352. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1300246>
- Ramírez, P., & Cocha, J. M. (2003). Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Rev. Peru. Biol.*, *10*(1), 67–77.
- Schliephake, K., Lonergan, G. T., Jones, C. L., & Mainwaring, D. E. (1993). Decolourisation of a pigment plant effluent by *Pycnoporus cinnabarinus* in a packed-bed bioreactor. *Biotechnology Letters*, *15*(11), 1185–1188. <https://doi.org/10.1007/BF00131213>
- Sigoillot, C., Lomascolo, A., Record, E., Robert, J. ., Asther, M., & Sigoillot, J. . (2002). Lignocellulolytic and hemicellulolytic system of *Pycnoporus cinnabarinus*: isolation and characterization of a cellobiose dehydrogenase and a new xylanase. *Enzyme and Microbial Technology*, *31*(6), 876–883. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00208-9](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00208-9)
- Sigoillot, C., Record, E., Belle, V., Robert, J. L., Levasseur, A., Punt, P. J., ... Asther, M. (2004). Natural and recombinant fungal laccases for paper pulp bleaching. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *64*(3), 346–352. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1468-3>
- Smânia, A., Marques, C. J. S., Smânia, E. F. A., Zanetti, C. R., Carobrez, S. G., Tramonte, R., & Loguercio-Leite, C. (2003). Toxicity and antiviral activity of cinnabarin obtained from *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. *Phytotherapy Research*, *17*(9), 1069–1072. <https://doi.org/10.1002/ptr.1304>
- Smânia, E. de F. A., Smânia Júnior, A., & Loguercio-Leite, C. (1998). Cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus* strains and antimicrobial activity against bacteria from food products. *Revista de Microbiologia*, *29*(4), 317–320. <https://doi.org/10.1590/S0001-37141998000400017>
- Stentelaire, C., Lesage-Meessen, L., Oddou, J., Bernard, O., Bastin, G., Ceccaldi, B. C., & Asther, M. (2000). Design of a fungal bioprocess for vanillin production from vanillic acid at scalable level by *Pycnoporus cinnabarinus*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *89*(3), 223–230. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)88823-4](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)88823-4)
- Teoh, Y. P., Don, M. M., & Ujang, S. (2011). Media selection for mycelia growth, antifungal activity against wood-degrading fungi, and gc-ms study by *Pycnoporus sanguineus*. *BioResources*, *6*(3). Retrieved from http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_06_3_2719_Teoh_MU_Media_Selection_Mycelia_Antifungal_GCMS_Extract
- Uzan, E., Nousiainen, P., Balland, V., Sipila, J., Piumi, F., Navarro, D., ... Lomascolo, A. (2010). High redox potential laccases from the ligninolytic fungi *Pycnoporus coccineus* and *Pycnoporus sanguineus* suitable for white biotechnology: From gene cloning to enzyme characterization and applications. *Journal of Applied Microbiology*, *108*(6), 2199–2213. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04623.x>
- Velíšek, J., & Cejpek, K. (2011). Pigments of higher fungi: A review. *Czech Journal of Food Sciences - UZEI (Czech Republic)*, *29*(2), 87–102. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CZ2011000419>
- Vikineswary, S., Abdullah, N., Renuvathani, M., Sekaran, M., Pandey, A., & Jones, E. B. G. (2006). Productivity of laccase in solid substrate fermentation of selected agro-residues by *Pycnoporus sanguineus*. *Bioresource Technology*, *97*(1), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.015>
- Xu, F., Kulys, J. J., Duke, K., Li, K., Krikstopaitis, K., Deussen, H.-J. W., ... Schneider, P. (2000). Redox Chemistry in Laccase-Catalyzed Oxidation of N-Hydroxy Compounds. *Appl. Envir. Microbiol.*, *66*(5), 2052–2056. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2052-2056.2000>