*Determination of the models
of biodeterioration in
elements of wood produced
by rot fungi in building
of the zone of historic
conservation of Valparaíso,
Chile*

Determinación de los modelos de biodeterioro en elementos de madera producidos por hongos de pudrición en edificaciones de la zona de conservación histórica de Valparaíso, Chile

Autores

R. ORTIZ Facultad de Arquitectura, Escuela de Construcción Civil,
Universidad de Valparaíso, Chile.
rodrigo.ortiz@uv.cl

L. MORENO Facultad de Arquitectura, Escuela de Construcción Civil,
Universidad de Valparaíso, Chile.

R. RAMÍREZ Facultad de Medicina, Depto. de Ciencias Biomédicas,
Universidad de Valparaíso, Chile.

P. OLIVERO Facultad de Medicina, Depto. de Ciencias Biomédicas,
Universidad de Valparaíso, Chile.

Fecha de recepción 9/3/2011

Fecha de aceptación 18/7/2011

Resumen

Diversas edificaciones y estructuras construidas en madera son atacadas por hongos de pudrición, provocando daños de tipo estético y estructural, por lo cual es importante conocer cuáles son los microorganismos asociados y los procesos degradativos desarrollados. En este trabajo se determinaron los modelos de biodeterioro en elementos de maderas de edificaciones del área de conservación histórica de Valparaíso,

Chile. Para esto, se tomaron muestras de maderas de estas edificaciones, las cuales fueron evaluadas mediante microscopía óptica.

Los resultados obtenidos indicaron daños producidos por hongos de pudrición blanda y blanca asociados a maderas de diferentes especies de *Nothofagus* sp., y daños producidos por hongos de pudrición café asociados a la especie *Pseudotsuga menziesii*.

Palabras clave: Madera, pudrición, microscopía óptica.

Abstract

Several buildings and structures built of wood are attacked by rot fungi, causing damage esthetic and structural, por these reasons is very important to know which are the microorganisms and the decay process developed.

In this work was determinated biodeterioration models in elements of wood from the buildings located

in the zone of historic conservation of Valparaíso, Chile. For this, were took samples of wood from these buildings and were evaluated by optical microscopy.

*The results indicated deteriorate produced by soft and white rot fungi associated with different species of *Nothofagus* sp., and brown rot fungi, associated to *Pseudotsuga menziesii*.*

Keys words: Wood, rot, optical microscopy.

Introducción

La madera es el material que de forma ininterrumpida ha acompañado al ser humano desde la más remota antigüedad hasta nuestros días, quedando su historia íntimamente ligada a la humanidad (1). Blanchette *et al.* (2) agregan que los elementos históricos contruidos con este material son importantes objetos culturales, los cuales proporcionan valiosa información acerca del pasado.

Diversos tipos de organismos deterioran la madera. Sin embargo, los principales daños son producidos por hongos filamentosos (3; 4; 5). Estos hongos atacan con diferentes grados de agresividad, modificando su apariencia, y produciendo grandes daños estructurales (3; 4; 6).

De acuerdo a lo señalado por Eaton y Hale (7), un complejo grupo de hongos se encuentran asociados con el deterioro de edificaciones, produciendo un considerable daño estructural y económico. De esta forma, la madera y otros materiales orgánicos al ser expuestos al medio ambiente son deteriorados con el pasar del tiempo por medio de microorganismos y procesos de degradación no biológicos. En la mayoría de las temperaturas y áreas tropicales la madera es descompuesta rápidamente, dejando poca o ninguna evidencia del sustrato original (8). Asimismo, en algunos medio ambientes la madera es protegida del ataque biológico y químico pudiendo permanecer relativamente inalterada. Sin embargo, en las más extremas condiciones climáticas, donde el crecimiento microbiológico es restringido y los procesos no biológicos son limitados, la madera puede ser deteriorada (2; 8). Según lo señalado por Blanchette *et al.* (2), la mayoría, sino todos los elementos históricos contruidos con este material han sido afectados en algún grado.

El ataque producido por hongos de pudrición causa cambios morfológicos y químicos, y cuyo análisis del modelo de ataque puede revelar el tipo de organismo responsable, y proporcionar gran cantidad de información sobre el estado actual de la madera (8). Los procesos de descomposición producidos varían entre los diferentes tipos de microorganismos, dividiéndose en pudrición blanca, café y blanda, basados en las características macroscópicas de los estados avanzados de deterioro (9). Mora y Encinas (10) señalan que el estudio de los patrones de degradación determina las formas como los microorganismos se establecen en la madera, permitiendo clasificar a nivel microscópico los diferentes tipos de pudrición. Estos autores agregan que con la uti-

lización de microscopía óptica es posible observar erosiones en la pared celular, presencia de agujeros de penetración, hifas con fíbulas, destrucción de tejidos parenquimáticos, cavidades en la capa S2, probosis y ramificación hifal, entre otras características. Asimismo señalan que mediante la utilización de microscopía electrónica es posible observar mayores detalles de los procesos de biodegradación a nivel de ultraestructura del material.

Variadas investigaciones tanto macro como microscópicas han sido realizadas en diversos sitios históricos determinando modelos de daño fúngico (2; 8; 12; 13; 14; 15; 16; 17). No obstante lo anterior, las referencias bibliográficas no dan cuenta de los modelos de biodeterioro presentes en edificaciones de Chile, menos aún se tienen antecedentes al respecto en edificaciones con valor histórico, lo cual resulta interesante conocer.

Considerando lo anterior, y en virtud que la zona de conservación histórica de Valparaíso - Chile está constituida de manera importante por edificaciones contruidas en madera, se desarrolló el presente trabajo cuyo objetivo fue determinar mediante la técnica de microscopía óptica, los modelos de biodeterioro fúngico asociados.

Materiales y método

Extracción de madera

La madera fue extraída de edificaciones pertenecientes a la denominada zona de conservación histórica de Valparaíso - Chile. En todos estos sitios se tomaron pequeñas muestras de madera sana para proceder a la identificación de la especie, así como también maderas con diferentes estados de pudrición. Las muestras obtenidas fueron colocadas en bolsas plásticas estériles y llevadas a laboratorio donde fueron posteriormente analizadas.

Maceración de la madera

Se confeccionaron probetas de 1 centímetro cúbico de arista, de manera de poder estudiar los planos transversal, radial y tangencial. Los cubos fueron depositados en vasos precipitados cuyo interior contenía agua, con el objeto de producir el ablandamiento de las paredes celulares. En determinados casos, y debido a la dureza del material, se procedió a colocar el vaso precipitado con la muestra al interior de un horno a 60 °C por 24 horas.

Cortes microtómicos

Los cortes fueron realizados en un micrótopo marca Leitz en espesores de 25 µm, utilizando navajas de filo bajo. Una vez realizados los cortes se procedió a verificar la calidad de las muestras obtenidas mediante su observación bajo microscopio óptico.

Tinción, deshidratación y montaje

La tinción fue realizada con safranina y azul de astra, ambas diluidas en agua destilada al 1% (p/v). El procedimiento consideró cubrir los cortes por un período de 3 minutos con ambas diluciones. Posteriormente fueron lavados con abundante agua.

La deshidratación se efectuó colocando los cortes en concentraciones ascendentes de alcohol contenidos al interior de placas petri. Las concentraciones utilizadas fueron de 30%, 80%, alcohol absoluto y finalmente xilol. El período de deshidratación en cada etapa fue de 3 minutos.

Una vez extraídos los cortes desde la inmersión de xilol, estos fueron situados sobre un portaobjeto debidamente codificado. El montaje fue realizado colocando bálsamo de Canadá sobre los cortes para finalmente cubrirlos con un cubreobjeto.

Observación de la muestra

La observación y captura fotográfica de los modelos de biodeterioro de la madera fue realizada mediante la utilización de un microscopio óptico de campo claro Marca Zeiss Axioskop.

A partir del estudio microscópico realizado se pudo determinar pudrición blanda, pudrición blanca tanto simultánea como selectiva y pudrición café.

Daños fúngicos asociado a pudrición blanda pueden ser observados en la Fig. 2, en la cual se distingue ataque tipo I con formación de cavidades desarrollados por hongos de la clase ascomicetes (Fig 2A), como también ataque tipo II produciendo erosión gradual y

Modelos de pudrición blanca pueden ser observados en las figuras 3 y 4. La Fig. 3 muestra el proceso degradativo de pudrición blanca simultánea desarrollado en las muestras recolectadas, proceso en el cual los microorganismos han atacado celulosa, hemicelulosa y lignina simultáneamente, causando erosión localizada de la pared celular, la cual progresa a través de las capas de la pared secundaria desde el lumen hacia la lamela media. En la Fig. 4 se puede observar la degradación selectiva de lignina por hongos de pudrición blanca en el cual las hifas de hongos de la clase basidiomicetes asociados a este proceso degradativo han consumido lignina progresivamente del borde del lumen de la pared secundaria hacia la lamela media.

La Fig. 5 representa el modelo de pudrición café en madera de *Pseudotsuga menziesii*, producido por hongos de la clase basidiomicetes. La Fig. 5A muestra la pérdida de la forma original de las células en madera de primavera, debido a la disminución de la rigidez de la estructura de la pared celular provocada por la pérdida de cristalinidad de la celulosa, la cual ha sido depolimerizada por este tipo de hongos. Por su parte, en la Fig. 5B se observa el progreso de las hifas a través de los radios leñosos pasando posteriormente hacia el sistema longitudinal de traqueidas.

Resultados y discusión

Resultados

Se evaluó un total de 15 edificaciones correspondientes a la zona de conservación histórica de Valparaíso, y cuyas muestras de madera fueron identificadas como *Pseudotsuga menziesii* y diferentes especies de *Nothofagus sp.*

La observación preliminar de las muestras bajo estudio estableció daños fúngicos asociados a hongos superiores, lo cual fue determinado por medio de la observación de hifas septadas (Fig. 1B y 1D). Entre estos hongos fue posible distinguir a las clases basidiomicetes y ascomicetes, siendo las primeras identificadas mediante la observación de fíbulas (Fig. 1A y 1B), y la presencia de micelio reproductivo para las segundas (Fig. 1C y 1D).

Discusión

Reportes bibliográficos de estudios realizados en sitios históricos han determinado modelos de biodeterioro fúngico asociado minoritariamente a hongos de pudrición blanca y café. No obstante, la mayoría de estos trabajos han descrito la presencia de hongos de pudrición blanda en edificaciones históricas de diferentes partes del mundo (2; 8; 12; 13; 14; 15; 16; 17), lo cual está relacionado con investigaciones desarrolladas en lugares con condiciones climáticas extremas, lo que refleja la gran versatilidad que determinadas especies de pudrición desarrollan. No obstante, y tomando en consideración las condiciones climáticas de tipo templado cálido con lluvias invernales y estación seca prolongada de Valparaíso, es imposible pensar en el desarrollo exclusivo de un solo tipo de microorganismos degradadores en las edificaciones bajo estudio, lo cual ha quedado en evidencia.

Figura 1. Corte tangencial *Nothofagus* sp. **A** y **B**, hongos superiores de la clase basidiomicetes. **C** y **D** hongos superiores de la clase ascomicetes

Figura 2. Corte transversal *Nothofagus* sp. Pudrición blanda tipo I (A) y tipo II (B) avanzada de la capa S2, permaneciendo inalterada la lamela media (Fig. 2B)

Figura 3. Corte transversal *Nothofagus* sp. Pudrición blanca selectiva de lignina

Figura 4. Corte transversal *Nothofagus* sp. Pudrición blanca selectiva de lignina

Figura 5. Cortes transversal y radial en *Pseudotsuga menziesii*. Pudrición café

De acuerdo a lo señalado por Mora y Encinas (10), el deterioro asociado con hongos de pudrición blanda es producido en maderas en contacto con el suelo, agua, e intemperie sin contacto con el suelo, situación que en este estudio fue observada en variadas muestras analizadas microscópicamente y que fueron asociadas específicamente a maderas de latifoliadas de diferentes especies de *Nothofagus sp.*, maderas en las que según Eaton y Hale (11) se produce una degradación inicial de carbohidratos seguido de depolimerización de lignina, lo que permite el posterior ingreso de celulasas al sustrato en degradación, lo cual se ve favorecida por el aumento de las temperaturas y altas concentraciones de nitrógeno soluble.

Con relación al ataque desarrollado por hongos de pudrición blanca asociado a daños tanto selectivos como simultáneos, estos fueron exclusivamente encontrados en maderas de latifoliadas de diferentes especies de *Nothofagus sp.*, las cuales presentan ligninas de tipo Guayacil y Siringil, lo que las hace más susceptible al ataque de este tipo de hongos, lo que según Mora y Encinas (10) está relacionado con que los núcleos Siringil tienen menor potencial redox que los núcleos Guayacil, y son más ricos en centros de electrones debido a la presencia de dos grupos metoxilos.

Con respecto al ataque producido por hongos de pudrición café, Clausen y Kartal (18) señalan que este tipo de daño resulta ser el más destructivo y mayoritario, debido a que puede causar rápidamente fallas estructurales. De igual manera el ataque está particularmente asociado a maderas de coníferas, como es el caso de la especie *Pseudotsuga menziesii* identificada en esta investigación, en las que se produce depolimerización preferentemente celulosa y hemicelulosas dejando la lignina prácticamente inalterada (Mora y Encinas, 2006).

Conclusiones

A partir de esta investigación se pudo determinar los modelos de biodeterioro presentes en elementos de madera obtenidos de edificaciones correspondientes a la zona de conservación histórica de Valparaíso, Chile, determinando pudriciones de tipo blanda, blanca y café, los cuales representan los principales daños fúngicos asociados a este material. Es importante precisar que mayoritariamente los modelos de biodeterioro determinados están relacionados con procesos deficientes de mantenimiento, lo cual ha permitido en parte el desarrollo de este tipo de microorganismos, y cuyo efecto directo en el material es una significativa disminución de las propiedades mecánicas de los elementos componentes, aun cuando su presencia haya sido imperceptible.

Futuros trabajos relacionados con esta investigación permitirán aislar y determinar las especies de hongos asociados a los distintos tipos de daños, a partir de las muestras de maderas recolectados de la zona de conservación histórica de Valparaíso, Chile.

Agradecimientos

Los autores de este trabajo agradecen la colaboración brindada por la Dirección de Investigación de la Universidad de Valparaíso, **DIPUV**, en el financiamiento del proyecto 40/2008 **"Identificación de hongos de pudrición y determinación de los procesos de degradación de maderas obtenidas de tres sitios considerados como Patrimonio de la Humanidad en Chile"**.

De igual manera se agradece la colaboración brindada por el Dr. Sebastián San Martín, Director del Centro de Investigación en Biología de la Reproducción (CIBR) de la Universidad de Valparaíso, quien proporcionó el espacio y el equipamiento necesario para llevar a cabo esta investigación.

Bibliografía

- (1) Rodríguez, J. 1998. Patología de la Madera. Fundación del Valle de Salasar. Editorial Mundi Prensa. España. 349 pp.
- (2) Blanchette, R., Jurgens, J., Held, B., Arenz, B., Smith, J. 2005. Decay of historic and archeological wooden structures: degradation processes and molecular characterization of Wood destroying fungi. En: X REUNIÓN SOBRE investigación y desarrollo en productos forestales – International Academy of Wood Science Meeting: 14-17 de Noviembre de 2005. Concepción, Chile.
- (3) Roff, J.W., A.J. Csrjesi and G.W. Swann. 1980. Prevention of sap stain and mold in packaged lumber. Forintek Canad Corp., Western forest products laboratory. Technical report n° 14R.
- (4) Blanchette, R. 1991. Delignification by Wood-decay fungi. Annu. Rev. Phytopathology 29:381-398.
- (5) Highley, T., Dashek, W. 1998. Biotechnology in the Study of Brown and White Rot Decay. En: BRUCE, A y PALFERMAN, J. (eds). Forest products biotechnology London, Great Britain: Taylor & Francis: 15-36.
- (6) Zabel, R. y Morrel, J. 1992. Wood Microbiology: Decay and its Prevention. Academic Press, INC.USA.
- (7) Eaton, R., Hale, M. 1993. Wood: decay, pest and protection. Chapman and Hall, London.
- (8) Blanchette, R. 2003. Deterioration in historic and archaeological Woods from terrestrial sites. Biology, and conservation: Biodeterioration of Works of art. Koestler, R., Koestler, V., Charola, A., Nieto-Fernández, F. (eds.). pp. 382-347.
- (9) Akhtar, M., Blanchette, R., Kent, T. 1997. Fungal Delignification and Biomechanical Pulping of Wood. Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology 57:159-195.
- (10) Mora, N., Encinas, O. 2006. Biodegradación de Maderas. Universidad de los Andes. Editorial Latinoamericana. 111 pp.
- (11) Blanchette, R., Simpson, E. 1992. Soft rot and Wood pseudomorphs in an ancient coffin (700 BC) from Tumulus MM at Gordion Turkey. International Association of Wood Anatomists Bulletin 13, 201-213.
- (12) Blanchette, R., Haight, J., Koestler, R., Hatchfield, P., Arnold, D. 1994. Assement of deterioration in the archeological Wood from ancient Egypt. Journal of the American Institute of Conservation. 33:55-70.
- (13) Blanchette, R., Held, B., Jurgens, J., Haight, J. 2004. Wood deterioration in Chacoan great houses of the southwestern United States. Conservation and management of archeological sites. 6: 203-212.
- (14) Held, B., Jurgens, J., Duncan, S., Farrell, R., Blanchette, R. 2005. Assement of fungal diversity and deterioration in a wooden structure at New Harbor, Antartica. Polar Biol. 29(6): 526-531.
- (15) Held, B., Jurgens, J., Arenz, B., Duncan, S., Farrell, R., Blanchette, R. 2005. Environmental factors influencing microbial growth inside the historic expedition huts od Ross Island, Antartica. International Biodeterioration & Biodegradation. 55: 45-53.
- (16) Blanchette, R. 2000. A review of microbial deterioration found in archeological Wood from different environments. International Biodeterioration and Biodegradation. 46: 189-204.
- (17) Clausen, C., Kartal, S. 2003. Accelerated detection of brown-rot decay: Comparison of soil block test, chemical analysis, mechanical properties, and immunodetection. Forest Product Journal: 90-94.