

BIODETERIORO DE MADERAS DE *PINUS CARIBAEA* VAR. *HONDURENSIS* BARR & GOLF Y *GMELINA ARBOREA* ROXB. CAUSADO POR HONGOS Y BACTERIAS DEL SUELO

EXPERIMENTAL BIODEGRADATION OF *PINUS CARIBAEA* VAR. *HONDURENSIS* BARR & GOLF AND *GMELINA ARBOREA* ROXB. CAUSED BY BACTERIA AND FUNGI FROM NATURAL SOILS

Feraida Castro-Medina y Arlenys Márquez

Centro Biotecnológico de Guayana (CEBIOTEG). Universidad Nacional Experimental de Guayana (UNEG), Uputa, Edo. Bolívar. Venezuela. feraidacastro@uneg.edu.ve; arlenys@uneg.edu.ve

RESUMEN:

En pruebas de campo y de laboratorio se evaluó la durabilidad natural de la madera de Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr & Golf) y Melina (*Gmelina arborea* Roxb), proveniente de plantaciones forestales de Venezuela. Las muestras de madera (50 x 2.5 x 5 cm) fueron acondicionadas al 14 % de humedad. La prueba de campo consistió en evaluar la estabilidad de la madera frente al deterioro causado por los diferentes microorganismos presentes en el suelo, basado en las normas ASTM D1758-96. Se prepararon diferentes muestras de la sección transversal y longitudinal de las estacas para ser observadas y analizadas en el microscopio electrónico de barrido. En la etapa inicial, los resultados confirmaron la colonización y penetración de las hifas por las vías naturales existentes en la madera. Las perforaciones en las paredes de los vasos y radios, con la formación de cavidades en la pared secundaria de las células, lo cual es característico del ataque causado por los hongos de pudrición blanda (soft rot I). También fueron observadas en las estacas de maderas, ataques por bacterias especialmente en las punteaduras de las traquéidas donde pudieron observarse lesiones características del tipo túnel. En términos generales, el ataque inicial se presenta en las células parenquimatosas axiales y radiales en la madera de Melina y en los parénquimas radiales y punteaduras de la madera de Pino Caribe.

ABSTRACT

Field and laboratory experiments to evaluate natural wood durability were carried out in Caribbean Pine (*Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr & Golf) and Melina (*Gmelina arborea* Roxb) obtained from a commercial Venezuelan plantation. Wood samples (50 x 2.5 x 5.0 cm) were conditioned to 14 % humidity. Field observations were based on deterioration in the stakes and wood stability according to ASTM D1758-96 norm. Transversal and longitudinal sections of wood were prepared from different samples in order to be analyzed under optic and electronic microscopes. Results confirm that an initial colonization and penetration of hyphae into the wood by its natural pathways exists. Hyphae penetrate through vessels and ray elements with cavity formation on the secondary wall which is the characteristic attack of soft rot fungi, classified as a soft rot type I. It was also observed that the most external portions of the deteriorated stakes were related to a possible attack of degrading bacteria specifically in the tracheids where this action mode is characteristic of tunnel type bacteria. In general terms, the initial attack is more conspicuous towards the axial and radial parenchyma cells in Melina wood, as well as the radial parenchyma and resinifer channels in the Caribbean pine wood.

Palabras clave: Pudrición blanda, Biodegradación de madera, *Pinus caribaea*, *Gmelina arborea*, Termitas, Bacterias, Durabilidad natural de la madera.

Keywords: Soft rot, biodegradation of wood, *Pinus caribaea*, *Gmelina arborea*, termites, bacteria, natural durability.

INTRODUCCIÓN

El incremento en el consumo de maderas de Venezuela ha traído como consecuencia una fuerte presión sobre los bosques debido al uso de especies consideradas de alta durabilidad natural, y por ende de alto valor comercial. Esta utilización selectiva ha originado escasez del recurso forestal, influyendo directamente en el costo de esta materia prima. Debido a la importancia de la madera para el desarrollo económico del país es necesario la incorporación de otras especies consideradas marginadas, así como la utilización de especies de plantaciones que están tomando auge en Venezuela, de las cuales actualmente se tiene poco conocimiento acerca de sus propiedades y su comportamiento en diferentes ambientes de manera que se les pueda dar un uso adecuado.

La durabilidad natural es una propiedad importante para el uso de la madera y depende de las características estructurales y composición química de cada especie en particular, variando desde perecederas a altamente durables. Si es un material perecedero su vida útil se puede aumentar aplicando técnicas de preservación pero para que estas técnicas sean efectivas se debe tener un conocimiento previo del comportamiento de los agentes causantes del deterioro en cada una de estas especies.

La falla de la madera en servicio debido al deterioro es la causa principal de la insatisfacción en su uso, de esta manera es necesario tener más conocimientos acerca de los organismos que deterioran la madera para determinar con confianza la permanencia de los productos que podrían ser utilizados como preservantes en ambientes particulares. Hay diferentes tipos de agentes biológicos responsables del deterioro de la madera, los hongos, los insectos y en relativa menor extensión, las bacterias, que pueden atacarla usando los componentes de la pared celular y causando daños mecánicos. La madera en ambientes naturales es frecuentemente colonizada en forma rápida por microorganismos o insectos comenzando el proceso de descomposición. Los polímeros de la madera son gradualmente reducidos a simples moléculas y finalmente a CO_2 y agua (Blanchette y col., 1990).

La estructura y composición química de la madera tienen una influencia directa en el tipo de degradación por microorganismos y el patrón resultante de deterioro. Así mismo, el tipo de célula, composición química y morfológica de la pared celular pueden gobernar el efecto de enzimas en el substrato maderero (Ericksson y col., 1980).

Aun cuando varias especies de árboles tienen maderas químicas y estructuralmente diferentes, todas son susceptibles a la biodegradación (Cassens y col., 1995). La pudrición es una de las mayores causas de deterioro biológico la cual es originada por hongos que poseen las enzimas necesarias capaces de degradar la celulosa y/o la lignina de la pared celular. Algunos hongos utilizan la celulosa, pero cambian ligeramente la estructura de la lignina y producen pudrición marrón, otros utilizan tanto la celulosa como la lignina y la madera llega a ser blanqueada, estos son conocidos como hongos de pudrición blanda. La pudrición blanda ocurre principalmente bajo condiciones donde el crecimiento y las actividades de los hongos más activos y competitivos, como los basidiomicetos, son retardados como por ejemplo donde hay altos contenidos de humedad y poco oxígeno (Eaton y Hale, 1993). Los hongos causantes de este tipo de pudrición, son Deuteromicetos y ocasionalmente Ascomicetos, que se alimentan principalmente de celulosa y hemicelulosa de la pared celular de la madera (Rodríguez, 1998), la madera atacada por pudrición blanda presenta una consistencia blanda al contacto con las manos (Schwarze y col., 2004).

Las hifas del hongo penetran en la madera y crecen de una célula a otra a través de las aberturas naturales tales como las punteaduras y perforaciones en las placas, o pueden penetrar a través de la pared celular produciendo agujeros. Las células con mayores cantidades de reservas alimenticias como las del parénquima radial son colonizadas primero; algunos hongos utilizan solo los nutrientes de reserva almacenados en las células sin producir una degradación significativa de la pared celular, sin embargo, recientes investigaciones señalan la posibilidad de que estos hongos, en estados de deterioro avanzados, puedan ocasionar también algún grado de degradación de la pared celular (Encinas, 1996).

El deterioro es esencialmente el resultado de la digestión de la madera por los hongos, la progresiva

digestión causa una continuidad de cambios en la apariencia de la madera y en sus propiedades químicas y físicas (Zabel y Morrel, 1992). A nivel microscópico el efecto de los hongos de deterioro puede ser visto por la presencia de canales de erosión o cavidades en las capas de la pared celular de la madera.

Entender los cambios que ocurren en la madera durante los diferentes tipos de descomposición por los diferentes agentes biológicos y revelar las características morfológicas observadas en la madera después de la degradación biológica, ayuda a identificar los tipos de degradación y a mejorar las técnicas para la preservación de la madera. Los mecanismos de aplicación y la acción de los diversos preservantes no podrán ser entendidos sin un conocimiento básico de los procesos de deterioro.

METODOLOGÍA

Se utilizó madera de la especie conífera, *Pinus caribaea* (Mor.) var. *hondurensis* Barr. & Golf obtenida de plantaciones comerciales en el este de Venezuela, y de la especie de latifoliada, *Gmelina arborea* (Roxb.) procedentes de la Reserva Forestal de Ticoporo, Estado Barinas. Las muestras de madera con dimensiones de 50 cm de longitud, por una sección transversal de 2.5 cm por 5 cm, fueron acondicionadas hasta un contenido de humedad de 14 % y divididas en grupos de 10 muestras por especies.

La madera de las estacas se escogió de forma tal que fuese uniforme y libre de nudos, grietas, manchas, pudrición y orificios de insectos u otros defectos que podrían afectar los resultados. Las mismas fueron colocadas en el campo de investigación, ubicado en el estado Bolívar (Kilómetro 6 de la carretera vieja Upata, San Félix). Las observaciones en el campo se limitaron a detectar la presencia de deterioro en las estacas y probar la estabilidad de la madera, luego de 12 meses *in situ*, de acuerdo a la norma ASTM D1758-96.

Para las observaciones de laboratorio, se colectaron muestras de las maderas deterioradas, en las cuales se realizaron secciones transversales y longitudinales para observaciones al microscopio de luz

Olimpus Bh-2 y microscopio electrónico de barrido Hitachi -S- 2500, según la metodología descrita por Daniel y Nilsson (1998), así mismo las termitas fueron colectadas para su identificación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras se observaron después de doce meses, y se determinó que algunas estacas de Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr & Golf), fueron totalmente destruidas por termitas y en algunos casos solamente permanecieron restos del exterior de las estacas. La madera de Melina (*Gmelina arborea* Roxb.), fue atacada en menor proporción que la de Pino caribe, pues en ésta especie última las termitas solo pudieron penetrar un poco consumiendo una mínima cantidad de madera.

Las termitas subterráneas constituyen uno de los principales riesgos en el uso de la madera en los trópicos, ya que las condiciones son las ideales para su desarrollo. Los daños causados por las termitas son conocidos, ya que causan más daño a la madera y a otros materiales lignocelulósicos que otros insectos del trópico (Tho y Kirton, 1990). Estos insectos al utilizar la madera como fuente de alimento, comienzan destruyendo su parte interna, dejando casi intacta la parte exterior, ya que debido a su naturaleza fototrópica negativa huyen de la luz. Observaciones realizadas a las termitas permitieron determinar que esta pertenece a la familia *Termitidae*, género *Heterotermes*.

Las observaciones en el campo permitieron comprobar que el ataque de las termitas fue más intenso al concluir las lluvias, lo que puede explicarse por el hecho que estos insectos tienen una mayor actividad cuando existe un aumento de la cantidad de humedad en la madera, concluyendo que favorece su establecimiento y desarrollo como fue comprobado experimentalmente por Doi y col (1997).

Algunas estacas de madera de Pino caribe y Melina no fueron atacadas por las termitas, pero siguiendo la metodología de evaluación según la norma ASTM D1758-96, que consiste en sentir al tacto si la madera está blanda y si hay ruptura suave de las fibras exteriores al utilizar un elemen-

to cortante, se pudo verificar la acción de hongos causantes de pudrición blanda. De las diferentes estacas de madera se tomaron muestras para realizar observaciones microscópicas de su deterioro; además se recolectaron aquellas en la que no se observó daño aparente para comprobar microscópicamente la presencia de algún agente destructor.

Las observaciones realizadas con la ayuda del microscopio óptico y microscopio electrónico de barrido confirmaron la colonización inicial y penetración de las hifas en la madera por los caminos naturales y fácilmente accesibles incluyendo vasos y elementos radiales. Esto confirmó la presencia de hongos de pudrición blanda y de bacterias tanto en la madera de Pino caribe como en la madera de Melina. El deterioro de la madera por hongos de pudrición blanda ocurre por erosión de la pared celular por enzimas emanadas desde la hifa en la superficie del lumen o por la excavación de cavidades alrededor de la hifa en las regiones S₂ de la pared celular (Eaton y Hale 1993).

En las observaciones de las secciones transversales al microscopio óptico se determinó la presencia de cavidades en forma de agujeros en la pared secundaria (S₂) del leño tardío (Figura 1) y en algunas ocasiones del leño temprano, que es una característica del ataque por hongos de pudrición blanda, clasificada como pudrición blanda tipo I según Corbett (1965) y que describe el ataque de estos hongos de pudrición en maderas de coníferas resultante en la formación de cavidades en la pared secundaria. La colonización de las hifas y la pudrición de la madera aparentemente se inició en las células del parénquima radial, ya que se observó casi completamente degradado, (Figura 1).

Uno de los síntomas característicos de ataques de la pared celular de las traquéidas por hongos de pudrición blanda fue el desarrollo de penetraciones de las hifas hacia la pared secundaria, pasando de las traquéidas colonizadas a otras adyacentes a través de las punteaduras de las fibras, lo cual es denominado penetración pasiva (Eaton y Hale, 1993) y también pasando directamente a través de la pared celular por medio de la acción que se denomina penetración activa, para lo cual el hongo produce finos alargamientos en la hifa, que luego recupera su tamaño normal para extenderse en la pared secundaria (Figura 2).

En las áreas más externas de las estacas de Pino caribe deterioradas fue posible observar el ataque por bacterias degradadoras específicamente en las traquéidas. Según las características observadas este ataque corresponde a las bacterias tipo túnel, el cual se caracteriza por la construcción de túneles en todas las direcciones y componentes de la pared celular (Daniel y Nilsson, 1998). Durante estas observaciones no se constató signos de ataque por hongos basidiomicetos.

El desarrollo de las hifas de hongos de pudrición blanda siguiendo la alineación de las microfibrillas de la celulosa de la pared celular S₂ ha sido considerada un prerrequisito para la formación de la cavidad y consecuente degradación de la pared celular (Nilsson, 1976) (Figura 2). Observaciones más detalladas en las estacas de Pino caribe utilizando el microscopio electrónico de barrido, permitieron observar ataques incipientes y también la degradación avanzada de la pared celular. Las primeras cavidades se observaron como pequeños agujeros dentro de la pared secundaria, agrandándose estos por la acción de las enzimas del hongo, llegando más tarde a destruir completamente la capa S₂ de la célula y dejando intacta la lámina media (Figura 3).

En la madera de Melina se observaron patrones de degradación diferentes, puesto que además de la presencia de pudrición blanda tipo I (cavidad, como el pino caribe), también se observó la presencia de erosión causada por las hifas que crecieron en el lumen dirigiendo la erosión hacia la pared celular (pudrición blanda tipo II). Las células radiales fueron degradadas siguiendo el mismo patrón de ataque indicado para pudrición blanda tipo I. Los tejidos parénquimáticos radiales presentaron total deterioro y los vasos aparentemente fueron menos afectados por la erosión. También, se observó la degradación de la pared celular por las hifas ubicadas en el lumen adyacentes a la pared interna de la capa S₃. La capa S₂ se observó extensamente degradada, lo cual es característico de la pudrición blanda por erosión (Eaton y Hale, 1993). La presencia de ambos tipos de pudrición blanda hizo que la madera de Melina sea extensamente degradada, luego que fuera destruido el parénquima radial y axial (Figura 4).

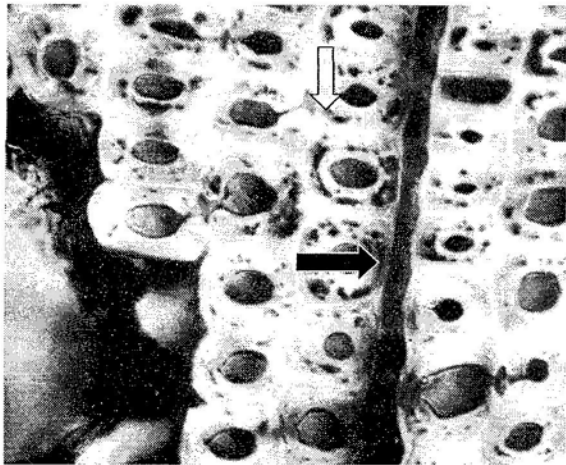


Figura 1. Corte transversal de madera de Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr & Golf) mostrando cavidades en la capa S₂ (flecha blanca) originada por hongos de pudrición blanda tipo I. La flecha negra señala la destrucción total del parénquima radial (Microscopio de luz, 40 x).



Figura 2. Corte tangencial de madera Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr & Golf) observadas al microscopio de luz. Las flechas señalan cavidades en la capa S₂ ocasionadas por hongos de pudrición blanda (Microscopio de luz, 100 x).

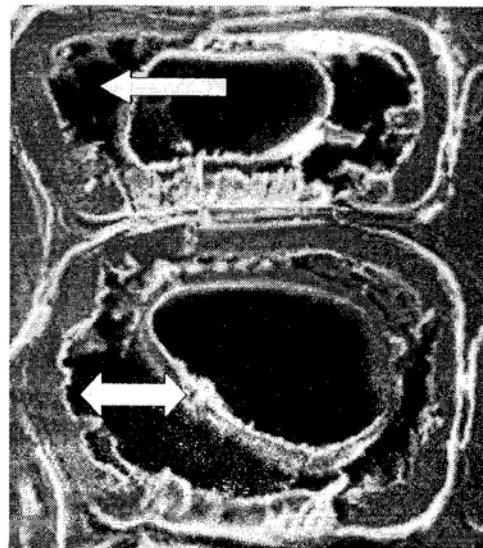
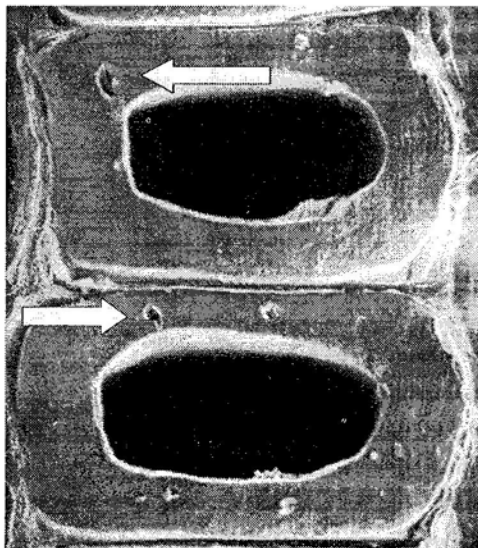


Figura 3. Corte transversal en la madera de Pino Caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr & Golf) obtenidas con microscopio electrónico de barrido (x2.00k 30 nm). (a) Ataque incipiente. (b) Etapa más avanzada de la destrucción de la S₂ y destrucción total de la capa S₃.

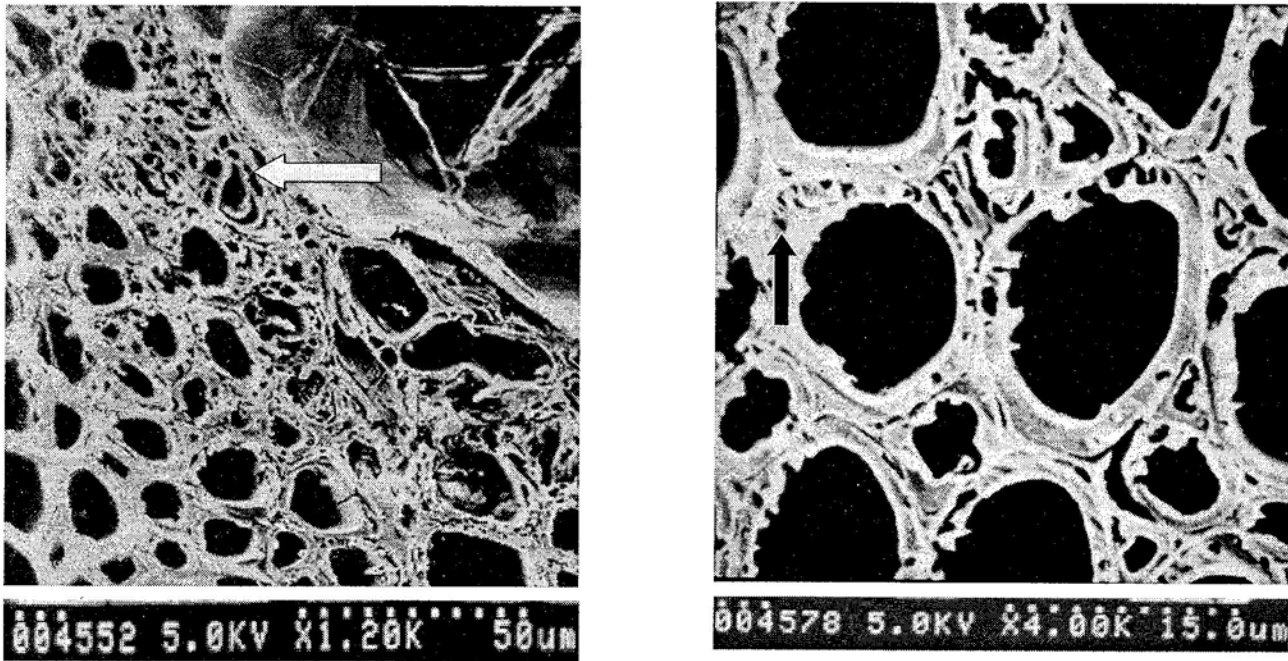


Figura 4. Sección transversal de la madera de Melina, observada con microscopio electrónico de barrido, mostrando degradación de las fibras desde el lumen hacia el interior de la célula, degradando las capas S_3 y la S_2 . La flecha blanca muestra la pared del vaso no tan degradado como el parénquima alrededor del mismo. Se pueden observar hifas en el interior del vaso. La flecha negra indica la presencia de cavidades en la capa S_2 .

En términos generales, se puede indicar que la colonización y ataque inicial es en mayor proporción hacia las células del parénquima axial y radial en las maderas de Melina, así como el parénquima radial y canales resiníferos en Pino caribe. La

degradación de células parenquimáticas se debe a que están constituidas principalmente por almidones, azúcares y proteínas, los cuales son fácilmente asimilados por los hongos de pudrición (Zabel y Morrel, 1992).

LITERATURA CITADA

BLANCHETTE, R., T. NILSSON, G. DANIEL Y A. ABAD.

1990. Biological degradation of wood. *Archeological wood*, 6:141-174.

CORBETT, N.

1965. Micromorfológica studies on the degradation of lignified cell wall by ascomycetes and fungi imperfect, *J. inst. Wood Sci.*, 14: 18-29

CASSENS, D.; JOHNSON, B.; Y DE GROOT, R.

1995. Selection and use of preservative-treated wood. *Forest Products Society*, N° 7299, Madison 104p.

DANIEL, G. Y T. NILSSON

1998. Developments in the study of soft rot and bacterial decay. In: *Forest Products Biotechnology* Editores Bruce, A. y John, W. Palfreyman: J. W. Taylor Francis Ltd. Londres. 14p

DOI, S., Y. KURIMOTO, M. TAKAHASHI Y T. YOSHIMURA

1997. Effects of steaming heat treatment of wood on the simulation of termite feeding. *Int. Res. Group on wood Preserve. Doc. No. IRG/WP/192.*

EATON, R. Y M. HALE

1993. *Wood: Decay, pest and protection.* Chapman & Hall, London. 546 p.

ENCINAS, O.

1996. Development and significance of attack by *Lasiodiplodia theobromae* (Oat) Griff. & Maubl. In Caribbean pine wood. Doctoral thesis. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Silvestria* 8. Uppsala, Sweden. 117p

ERICKSSON, K., A. GRÜNEWALD Y T. NILSSON

1980. A scanning electron microscopy study of the growth and attack on wood by tree white-rot fungi and their cellulose-less mutants. *Holzforschung*, 34: 207-213.

NILSSON, T.

1976. Soft rot fungi, decay patterns and enzyme production. *Material u Organismen*, 3: 103-112.

RODRIGUEZ, J.

1998. *Patología de la madera*. Fundación conde del valle de Salazar. Ediciones Mundi prensa. 349 p.

SCHWARZE, F., J. ENGELS Y C. MATTHECK

2004. *Fungal strategies of wood decay in trees*. Editorial Springer, 2^a edición. Alemania. 185 pp.

THO, Y. Y L. KIRTON

1990. The economic significance of coptotermes termites in Malaysian forestry. *Proceeding of the 3rd International Conference of Plant Protection in the Tropics*. Vol. 4, Getting Highlands. 14p.

ZABEL, R. Y MORREL, J.

1992. *Wood microbiology and its prevention*. Academic Press, San Diego. 476p.