

MICROORGANISMOS FRECUENTEMENTE HALLADOS EN LA MADERA DE PINO CARIBE BAJO RIEGO POR ASPERSIÓN EN PATIOS DE ROLAS

Oswaldo Encinas, Sari Mohali, Néstor Mora y Nelson Villarreal
 Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales,
 Grupo de Investigación en Conservación de Maderas (GICOM), Mérida-Venezuela
 E-mail: oencinas@forest.ula.ve; moranest@forest.ula.ve; msari@forest.ula.ve

RESUMEN

ABSTRACT

La madera de Pino caribe es un material biológico susceptible de descomposición y manchado por una gran variedad de microorganismos presentes en el medio ambiente, o a la aparición de mohos sobre su superficie que no influye sobre sus propiedades físicas y mecánicas, pero crean condiciones de humedad favorables para el ataque de otros microorganismos. Frecuentemente, en las industrias que procesan madera en rolas, se hace necesario identificar los hongos que la colonizan en condiciones de alta humedad, lo cual induce a tomar medidas profilácticas para disminuir daños posteriores a la madera. Por lo anterior, se realizó un estudio en el patio de rolas de una empresa forestal del oriente venezolano que procesa madera de Pino caribe, tomando muestras de árboles resinados y no resinados provenientes de plantaciones de 15 años de edad y mantenidos bajo riego por aspersión; también se tomaron muestras del agua del sistema de aspersión, completando el muestreo con captura de esporas del aire. Se identificaron 12 géneros de hongos, de los cuales 8 fueron a nivel de especies, resaltando los géneros *Aspergillus* spp, *Cladosporium* spp, *Fusarium* spp y *Penicillium* spp, como los más comunes. En el caso del género *Sporotrichum* spp, se observó en sus hifas la presencia de fíbulas, característica de hongos Basidiomicetes. Entre los hongos manchadores de la madera de Pino caribe se identificaron *Diplodia mutila* y *Lasiodiplodia theobromae*. También se identificaron dos bacterias Gram negativas, *Bacillus* sp y *Pseudomonas* sp.

As biologically susceptible to attack for wood rotten and stain fungi, Caribbean pine wood from the commercial plantations in the East of Venezuela, is still not studied. Severe decay and stain of wood can be present in the sawmill yards and the recognition of these microorganisms could help to adopt prophylactic measures. A study was carried out to identify both wood rotten and stain fungi on Caribbean pine logs stored under sprinkling system with water. Microorganisms in water and in the environment surrounding the yard were also collected. Twelve mould fungi were found and identified, mostly *Aspergillus* spp, *Cladosporium* spp, *Fusarium* spp and *Penicillium* spp. *Sporotrichum* spp showed clamp connection, typical figure to Basidiomycetes. *Diplodia mutila* and *Lasiodiplodia theobromae* were collected as main stain fungi. Two Gram negative bacteria *Bacillus* sp and *Pseudomonas* sp., were also collected.

Key words: Caribbean pine wood, stain fungi, mould fungi, bacteria.

Palabras clave: Pino caribe, hongos manchadores, mohos, bacterias.

INTRODUCCIÓN

La madera es susceptible a la descomposición por diversos microorganismos que utilizan en una u otra forma alguno de sus componentes. Aunque es posible que los microorganismos ataquen al árbol vivo produciendo problemas patológicos forestales, generalmente la colonización masiva comienza

cuando el árbol ha dejado de ser funcionalmente vivo, originando problemas que son estudiados por la microbiología de maderas, y que trata de explicar la interacción madera/agente destructor. Entre los agentes destructores de la madera de origen biológico, presentes en las primeras etapas de colonización

figuran las bacterias y los hongos, cuya principal característica es que pueden utilizar sus componentes no estructurales, como los azúcares solubles, almidón, resinas y extractivos; en etapas más avanzadas o en circunstancias diferentes, hongos y bacterias utilizan inclusive los componentes estructuralmente ligados a la madera colonizando intensamente la misma.

Los microorganismos destructores de la madera tienen importancia económica dentro de las industrias forestales, puesto que el impacto en la economía puede ser desde poco importante en el caso de presencia de hongos de moho (Figura 1), considerable, en el caso de los hongos manchadores, hasta importante, en el caso de los verdaderos hongos destructores. La especie de madera, como sustrato, y las especies de bacterias y hongos colonizadores de la misma, definen el grado e intensidad del ataque, conforme a las situaciones ambientales que se presente.

Debido a la reducción del suministro de madera de los bosques naturales y a la disponibilidad, cada día mayor, de la madera de pino caribe (*Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr. & Golf) proveniente principalmente de las plantaciones del oriente de Venezuela, se están observando con preocupación los procesos naturales de colonización

y deterioro por parte de los microorganismos. Para los industriales, comercializadores y usuarios de la madera de pino, resulta necesario conocer cuáles son los microorganismos usualmente presentes en la madera de esta conífera, única forma de aplicar medidas profilácticas que contribuirían a reforzar el potencial que tiene el pino caribe para convertirse en la materia prima por excelencia para la industria forestal en el país.

En el presente trabajo, se ha realizado una serie de aislamientos e identificaciones de los microorganismos que colonizan la madera de pino caribe en el oriente del país. Se espera que la descripción que se hace de los mismos, ayude a los industriales y usuarios de esta materia prima, a reconocer y en consecuencia a aplicar las medidas necesarias para minimizar los daños que ocasionan, puesto que, su presencia es observable en fases iniciales de la colonización.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en un aserradero que procesa pino caribe de las plantaciones de 15 años de edad, parte de la cual es resinada durante los últimos

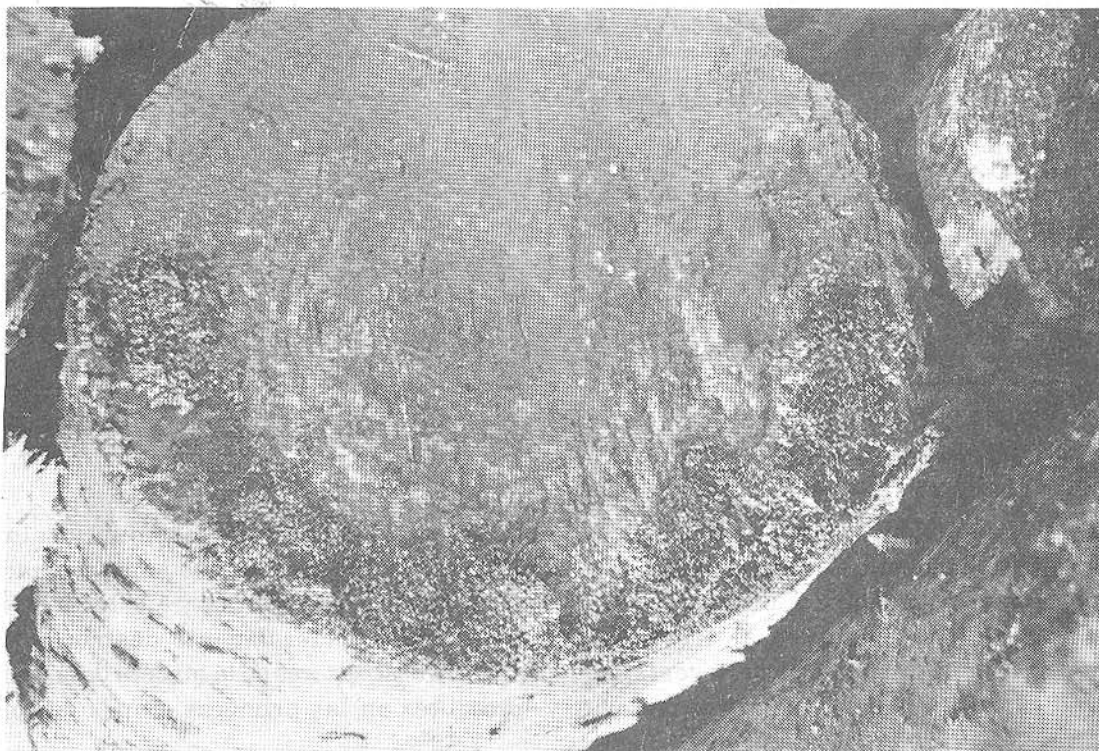


Figura 1. Hongos de moho sobre rolas descortezadas de Pino caribe.

cuatro años para obtener colofonia. Las rolas que llegan al aserradero, se someten a riego por aspersión para disminuir el desarrollo de la mancha azul en la madera. Se seleccionaron diez rolas no resinadas y cinco resinadas, de un lote que permaneció previamente dos semanas en el patio de rolas bajo aspersión.

En cada una de las rolas seleccionadas, se desinfectaron pequeñas áreas de donde se extrajeron astillas de la madera, previa eliminación de la corteza, de la cual también se extrajeron fracciones pequeñas. Diez astillas por área fueron desinfectadas y colocadas en forma aséptica en cápsulas de Petri conteniendo agar con extracto de malta (AEM) al 1,5%.

También se capturaron microorganismos contenidos en el agua de riego del sistema de aspersión, colocando varias gotas de agua del tanque australiano que alimenta el sistema, en cápsulas de Petri con el mismo medio de cultivo. Se colectaron 25 cápsulas de Petri con este método. Se consideró conveniente realizar también una captura de esporas en el aire, para lo que simplemente se abrieron cápsulas de Petri, por el lapso de un minuto, en tres horarios: en la mañana, al mediodía y en la tarde.

Luego de conservar todas las cápsulas a 27 °C y 70 % de humedad por diez días fueron trasladados al Laboratorio de Microbiología de Maderas de Mérida, donde se realizaron aislamientos y re-aislamientos, transfiriendo partes del micelio desarrollado a nuevas cápsulas de Petri con AEM. Las colonias puras fueron observadas con auxilio de lupa estereoscópica y microscopio de luz, previa coloración con azul de anilina en ácido láctico.

Para la identificación a nivel de género de la mayoría de los hongos imperfectos (Hyphomycetes) presentes en la madera, se utilizaron claves especializadas de Barnett y Hunter, 1972; Carmichael, *et al.*, 1980; Domsch, *et al.*, 1980; Ellis y Ellis, 1985 y la monografía de Mohali, 1989. Para la identificación a nivel de especies del género *Fusarium* se utilizaron las claves de Nelson, *et al.*, 1983, y Toussoun y Nelson, 1976. Para la identificación a nivel de especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* se utilizaron las claves de Raper, K. B. y D. I. Fennell, 1977, y Pitt, 1988. En la identificación del género *Sporotrichum* se utilizaron las claves de Carmichael, 1962, y Carmichael, *et al.*, 1980. Se utilizó el trabajo de Mohali y Encinas, 2001, y la clave de Sutton, 1980 para identificar Coelomycetes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No existió diferencia en cuanto a la cantidad o microorganismos presentes en la madera de pino caribe resinado y no resinado. En las cápsulas de Petri fue posible contar hasta seis microorganismos presentes al mismo tiempo, sin observarse una incidencia mayoritaria de alguno de ellos.

Entre los hongos de moho frecuentemente aislados figuran: *Trichoderma* spp. Pers., *Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend. Snyder & Hans., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Curvularia* spp. Boedijn, *Penicillium purpurogenum* Stoll, *Penicillium* spp. Link Ex Fr., *Pestalotiopsis guepini* (Desm.) Steyaert, *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus* spp. Mich. Ex Fr., *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries, *Sporotrichum* spp. Link, *Phoma* spp. Sacc., *Rhizopus* spp. Ehrenb. Estos hongos tienen su mayor desarrollo cuando la madera está húmeda y se considera que el daño a la misma es insignificante, mayormente estético y fácil de eliminar cuando la madera se seca.

Entre los hongos manchadores, fueron aislados mayormente: *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. (sin=*Botryodiplodia theobromae* Pat.) y *Diplodia mutila* Fr. Apud Mont. Es importante destacar que la presencia de estos hongos no fue progresiva con el tiempo prolongado de almacenamiento de las rolas bajo agua, por lo que aparentemente el riego por aspersión con agua puede detener el avance del ataque, mas no impedir futura contaminación. Estos hongos se considera que ocasionan disminución en la calidad de la madera aserrada a obtener, pues originan un cambio en la coloración original de la madera, resultando una madera azulada a negruzca, siguiendo un patrón conforme a la disposición radial de las células parenquimáticas. Una vez que el hongo ha penetrado en la madera es imposible eliminarla, por lo que las medidas profilácticas son las más recomendadas, como el aserrado de la madera después de dos o tres días de ser tumbado el árbol y su secado inmediato en estufa, o baño por inmersión momentánea en solución que contenga algún químico antimancha. Mantener las rolas bajo riego por aspersión puede detener el avance de la colonización de estos hongos manchadores, pero no elimina su acción, puesto que también fueron aislados de madera bajo aspersión. Con estas maderas, también deben aplicarse medidas profilácticas. Entre las sustancias químicas que

mejores resultados han proporcionado como baños antimancha, figuran los compuestos a base Cu-8 y Carbendazima, y Tiocianometiltiobenzotiazole (TCMBT) (Encinas, *et al.*, 1999a; Encinas, *et al.*, 1999b).

En la madera con mayor tiempo bajo riego por aspersión, se aislaron bacterias, principalmente Gram negativas. Debido a la dificultad de identificación de las bacterias, hasta la fecha se pudieron identificar solamente dos géneros: *Bacillus* sp y *Pseudomonas* sp. Las bacterias pueden penetrar profundamente en la madera, pues algunas de ellas tienen alta capacidad celulolítica. Esta afinidad a la celulosa hace que en avanzados estados de desarrollo, la madera adquiera una coloración marrón, con parcial disminución de sus propiedades de resistencia. Después que la madera ha sido secada en estufa, esta coloración se hace más intensa ocasionando una disminución del valor de la misma por su aspecto. Muchas veces, el olor característico del ataque por bacterias no desaparece.

En las cápsulas utilizadas para capturar esporas en el aire, se aislaron principalmente hongos de moho: *Trichoderma* spp. Pers., *Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend. Snyder & Hans, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Penicillium* spp. Link Ex Fr., y *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries. También se encontraron diversas bacterias similares a las descritas anteriormente.

En los aislamientos provenientes del agua contenida en el tanque australiano, los microorganismos mayormente presentes, fueron *Trichoderma* spp., y bacterias. En los aislamientos de segmentos de corteza, se identificaron mayormente hongos de moho.

DESCRIPCIÓN DE LOS GÉNEROS Y ESPECIES

Aspergillus Mich. Ex Fr.

Se caracteriza por presentar un conidioforo recto, simple, el cual termina con una vesícula que produce fialides o esterigmatas en forma de empalizada. Los esterigmatas producen conidios de cadena, unicelular, globoso, frecuentemente ornamentados.

Aspergillus niger van Tieghem

Se caracteriza por presentar colonia y cabeza conidial oscuras. Conidios globosos, 4-5 mm de diámetro.

Cladosporium cladosporioides (Fres.) de Vries

Colonias aproximadamente de 3 cm de diámetro en cápsulas de Petri con AEM, de color verde-oliváceo, aterciopelado. Conodioforos de color verde pálido a marrón oliváceo tenue. Conidios en cadenas, principalmente 0-septos, elipsoidales o limoniformes, 3-13 mm de longitud, 2-3 mm de ancho, color marrón pálido oliváceo.

Curvularia Boedijn

Colonia oscura en AEM. Conidioforo recto o flexuosos, simple y pigmentado. Conidios curvados, elipsoidales o en forma de pera, principalmente de 4 septos, marrón, usualmente con las células extremas pálidas.

Diplodia mutila Fr. apud Mont.

Colonia oscura en AEM. Micelio marrón oscuro. Picnidios en estroma, oscuros, de pared gruesa. Conidioforos hialinos, cilíndricos. Conidios inmaduros hialinos, aseptados, con una gran gútula central, con el tiempo marrón oscuro, septados sin estriaciones longitudinales, 28-32 x 13-15 mm, de pared lisa 1.5-2 mm de grosor.

Fusarium oxysporum Schlecht. Emend. Snyder & Hans.

Colonia blanca a crema en AEM. Clamidosporas presentes, simple o en pares. Monofialides ramificados o no, los monofiales producen microconidios más cortos que los de *F. solani*. Microconidios son abundantes, unicelulares, ovales. Macroconidios abundantes de 3-5 septos.

Fusarium solani (Mart.) Sacc.

Colonia inicialmente blanco cambiando a crema en AEM, al reverso de la placa es color violeta. Clamidosporas presentes, simples o en pares, terminal o lateral. Monofialides ramificados o no y de gran longitud comparado con *F. oxysporum*. Microconidios presentes, abundantes, formando una simple célula, ovalados, 8-16 x 2-4 mm. Macroconidios abundantes, cilíndricos, de pared gruesa, 4-7 septos, mayor de 65 mm de largo y 4-6 mm de ancho.

***Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. (sin=*Botryodiplodia theobromae* Pat.)**

Colonia de color oscuro en AEM. Micelio inmerso o superficial, de color marrón oscuro y septado. Picnidio estromático, no ostiolado. Conidioforo corto. Conidios cuando joven es hialino, sin septo, cuando maduran son de color marrón oscuro, septado y pared gruesa, truncado en la base y con estriaciones longitudinales desde el ápice a la base, 20-30 x 10-14mm. Paráfisis presente, hialinos, septados.

***Penicillium* spp Link ex Fr.**

Colonia verde oliva en AEM, 2-3 cm de diámetro en 10 días. Conidioforo o fialides verticilados. Conidios producidos en cadenas desde las fialides, globosos y de superficie ornamentada.

***Penicillium purpurogenum* Stoll.**

Colonias de 2-3 cm de diámetro en 10 días en AEM y de color verde-oliva, al reverso de la placa de color rojo o púrpura. Conidioforo producidos de un micelio superficial. Fialides terminales biverticilados. Conidios sub-esféricos o elipsoidales, 2.5-3.5 x 2-3 mm, pared lisa o finamente rugosa.

***Pestalotiopsis guepini* (Desm.) Steyaert.**

Colonias en AEM de color blanco, aterciopelado, produciendo masa de conidios de color negro. Conidioforos formados a partir de células estromáticas, erectos, hialinos, cilíndricos. Conidios formados solitariamente en el ápice de los conidioforos, fusiformes, rectos, raramente curvados, pared lisa, 21-25 x 5.5-6 mm, 5 células, células apicales y basales hialinas, las 3 células medias son de color oliva; las células medias miden 13.5-16 mm de longitud; posee 1-3 apéndices apicales, hialinos, cilíndricos, con ápices obtusos, 12-21 mm de longitud; posee 1-2 apéndices basales, hialinos, rectos, 4-9 mm de longitud.

***Phoma* spp. Sacc.**

Colonia oscura en AEM. Micelio abundante de color oscuro. Picnidios globosos, oscuros, ostiolados. Conidioforos cortos. Conidios elipsoidales, unicelulares, hialinos, gutulados.

***Rhizopus* spp. Ehrenb.**

Colonia de crecimiento rápido en AEM. Micelio aéreo mas o menos hialino. Estolón hialino. Rizoides ramificados, 2-8 ramas. Esporangioforos pálidos, rectos. Esporangios de color amarillo-oro. Columela sub-esférica. Esporangiosporas sub-esféricas, superficies estriadas o con camellones. Clamidosporas presentes, hialinas.

***Sporotrichum* spp. Link.**

Colonia de color blanco-amarillento en AEM. Hifas de color marrón-dorado con conexiones de fíbulas (flecha), el cual es característico de los basidiomicetos. Aleuriosporas presentes, de color marrón-dorado, ovoides, de pared gruesa. Esta descripción es semejante para la especie *S. aureum* Link. (Estado teleomórfico = *Polyporus metamorphosus*).

***Trichoderma* spp. Pers.**

Colonias inicialmente blanquecinas y esparcidas en forma de parcho, tornándose rápidamente de color verde oscuro. Conidioforo hialino, con ramas (fialides) que forman casi ángulos rectos. Fialides simples o en grupos. Conidios en forma de racimos en las puntas de los fialides, lisos, de color verde pálido, en masa son de color verde oscuro, unicelulares, ovoides.

CONCLUSIONES

Los numerosos hongos de moho descritos no ocasionan degradación de la madera en la situación en la que fueron encontrados; sin embargo, debe cuidarse de secar la madera aserrada obtenida de las rolas bajo riego por aspersión. Aparentemente, los hongos de mancha azul detienen su ataque cuando las rolas están completamente saturadas de agua por el efecto del riego, pero continúan su crecimiento cuando cesa esta protección; en consecuencia, la madera aserrada obtenida de estas rolas debe también ser objeto de tratamientos profilácticos adecuados. Debe destacarse que el mantener las rolas bajo aspersión permite el desarrollo de bacterias, aspecto que debe cuidarse agregando al agua del sistema de riego algún bactericida efectivo y prever las medidas usuales en tanques de almacenamiento, tal como la limpieza del tanque, filtración de sólidos en suspensión y medidas similares.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos la colaboración de la empresa Terranova de Venezuela por brindarnos las facilidades necesarias para conducir esta investigación y al CDCHT-ULA (proyecto FO-451.99) por el soporte requerido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARNETT, H. L. y B. HUNTER. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 3ra. Ed. Publishing Company, Minneapolis, Minnesota. 241 pp.
- CARMICHAEL, J. W. 1962. *Chrysosporium* and some other Aleuriotrophic Hyphomycetes. *Can. J. Bot.* 40: 1137-1173.
- CARMICHAEL, J. W.; W. BRYCEKENDRICK; I. L. CONNERS y L. SIGLER. 1980. *Genera of Hyphomycetes*. The University of Alberta Press. Edmonton, Alberta, Canadá. 386 pp.
- DOMSCH, K. H.; W. GAMS y T. ANDERSON. 1980. *Compendium of soil fungi*. Vol. 1. Academic Press. 1130 pp.
- ELLIS, M. B. y J. P. ELLIS. 1985. *Microfungi on Land Plants*. MacMillan Publishing Company, New York. 818 pp.
- ENCINAS, O.; F. CASTRO y A. MÁRQUEZ. 1999a. Evaluación en bosque y aserradero de productos químicos para la prevención del manchado azul en madera de pino caribe. Informe Técnico GICOM 02/99. Grupo de Investigación en Conservación de Maderas. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. Mérida. 30 pp.
- . 1999b. Evaluación de la eficiencia del Hylite para control de la mancha azul en pino caribe. Informe Técnico GICOM 01/99. Grupo de Investigación en Conservación de Maderas. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. Mérida. 28 pp.
- MOHALI, S. 1989. Microorganismos asociados a semillas de *Eucalyptus* sp. Tesis MSc. Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado. Cabudare, Venezuela. 145 pp. (Mimeografiado).
- MOHALI, S. y O. ENCINAS. 2001. Association of *Diplodia mutila* with blue stain of Caribbean pine in Venezuela. *Forest Pathology* 31: 1-3.
- NELSON, P. E.; T. A. TOUSSOUN y W. F. MARASAS. 1983. *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*. The Pennsylvania State University Press. USA. 193 pp.
- RAPER, K. B. y D. I. FENNELL. 1977. *The genus Aspergillus*. Robert E. Krieger Publishing Company Huntington, New York. 583 pp.
- PITT, J. I. 1988. *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing. Australia. 187 pp.
- SUTTON, B. C. 1980. *The Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 696 pp.
- TOUSSOUN, T. A. y P. E. NELSON. 1976. *Fusarium*. The Pennsylvania State University Press. USA. 43 pp.