

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES  
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA DE LA MADERA

**ESTUDIO DEL BIODETERIORO EN MADERA DE  
*Eucalyptus globulus* Lab. POR MÉTODO  
GRAVIMÉTRICO**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Ingeniero de la Madera

**LEYLA KAREM ZAID NÚÑEZ**

Profesor guía: Ingeniero Forestal, Dr. Juan E. Donoso Gutiérrez

SANTIAGO-CHILE  
2004

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>2</b>
<b>2.1. BIODETERIORO DE LA MADERA</b>	<b>2</b>
<b>2.2. DURABILIDAD NATURAL</b>	<b>6</b>
<b>2.3. ANTECEDENTES GENERALES DE LOS HONGOS</b>	<b>9</b>
2.3.1. Naturaleza de los hongos	9
2.3.2. Estructura y Reproducción	10
2.3.3. Requerimientos para su desarrollo	10
2.3.4. Efectos sobre la madera	12
<b>2.4. HONGOS DE PUDRICIÓN BLANCA</b>	<b>14</b>
2.4.1. Caracterización general	14
2.4.2. Sistema enzimático	16
<b>2.5. BIOPULPAJE</b>	<b>19</b>
<b>2.6. MÉTODOS SILVICULTURALES EN EL MANEJO DE EUCALIPTO</b>	<b>21</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
<b>3.1. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>23</b>
<b>3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>23</b>
<b>4. MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>24</b>
<b>4.1. MATERIAL</b>	<b>24</b>
4.1.1. Madera	24
4.1.2. Hongos de prueba	24
4.1.2.1. Descripción de hongos	25
4.1.3. Equipos	28
4.1.4. Materiales de laboratorio	29
<b>4.2. MÉTODO</b>	<b>31</b>
4.2.1. Tratamientos	31
4.2.2. Preparación del medio de cultivo	31
4.2.3. Esterilización	31
4.2.4. Inoculación	32
4.2.5. Incubación	32
4.2.6. Preparación de probetas	33
4.2.6.1. Confección de probetas	33

4.2.6.2. Selección de probetas	33
4.2.6.3. Determinación de la densidad básica	33
4.2.6.4. Acondicionamiento	34
4.2.6.5. Esterilización	34
4.2.7. Disposición de probetas	34
4.2.8. Determinación de peso anhidro final	35
4.2.9. Cálculo de pérdida de peso	36
4.2.10. Análisis estadístico	36
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>40</b>
<b>5.1. HONGOS</b>	<b>40</b>
<b>5.2. MÉTODO SILVICULTURAL</b>	<b>41</b>
5.2.1. Método silvicultural y densidad	42
<b>5.3. FACTORES ECOLÓGICOS</b>	<b>44</b>
5.3.1. Análisis general	44
5.3.2. Análisis según especie de hongo	47
5.3.2.1. <i>Coriolus versicolor</i>	47
5.3.2.2. <i>Peniophora gigantea</i>	49
5.3.3. Variación del contenido de humedad de la madera	50
<b>5.4. ESTADO DE LAS PROBETAS</b>	<b>51</b>
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>54</b>
<b>7. RECOMENDACIONES</b>	<b>56</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>57</b>
<b>APÉNDICES</b>	
Apéndice N°1	62
Apéndice N°2	62
Apéndice N°3	63
Apéndice N°4	64
Apéndice N°5	64

## SUMMARY

The present investigation consisted on the study of the biodeterioration of two wood types of *Eucalyptus globulus*, caused by the action of two white rot fungi, *Coriolus versicolor* and *Peniophora gigantea*.

To carry out this study wood coming from seedling forest and coppice forest it was used, that is to say, wood of regenerated trees starting from seed and of sprout, respectively, which was exposed to the attack of both white rot fungi under different ecological conditions of temperature, humidity and time.

As for the experimental procedure, one worked with a means of cultivation agar malt in flasks kolle, which were inoculated with both species of white rot fungi in an independent way. Once developed the white rot fungi, two test tubes were sowed in each flask (one of seedling forest and another of coppice forest), and they were taken to incubation cameras. The analyzed ecological factors were: incubation temperature, considering two levels, 20° and 25° C.; content of initial humidity of the wooden test tubes, with two levels, 40% and 80%; and time of exhibition, with three levels of 1, 2 and 3 months. The biodeterioration of the wood caused by the white rot fungi was measured through the variable answer: percentage of loss weight.

The results indicate that *Coriolus versicolor* turned out to be quite more aggressive, achieving a loss weight average of 9,4% compared with 4,1% of *Peniophora gigantea*. With regard to the silviculture's methods, the statistical analysis points out that significant difference doesn't exist in the biodeterioration of the different wood types; however, the results show a bigger degradation in wood coming from coppice forest, 7,3%, compared with 6,23% of seedling forest.

The highest value in loss weight (12,67%) it was obtained in the treatment that combines a temperature of 25° C, a content of humidity of the wood of 80% and a time of exhibition of 3 months.

The developed investigation allowed to obtain quantitative antecedents associated to the effect caused by these two rot fungus species in different types of juvenile wood, and to determine the best conditions for its development, with the purpose of being used in the biopulping process.

## RESUMEN

El presente trabajo consistió en el estudio del biodeterioro de dos tipos de madera de *Eucalyptus globulus*, ocasionado por la acción de dos hongos de pudrición blanca, *Coriolus versicolor* y *Peniophora gigantea*.

Para llevar a cabo este estudio se utilizó madera proveniente de monte alto y de monte bajo, es decir, madera de árboles regenerados a partir de semilla y de retoño, respectivamente, la cual se expuso al ataque de ambos hongos bajo diferentes condiciones ecológicas de temperatura, humedad y tiempo.

En cuanto al procedimiento experimental, se trabajó con un medio de cultivo agar malta en frascos kolle, los cuales se inocularon con ambas especies de hongo de manera independiente. Una vez desarrollado el hongo, se sembraron dos probetas en cada frasco (una de monte alto y otra de monte bajo), y se llevaron a cámaras de incubación. Los factores ecológicos analizados fueron: temperatura de incubación, considerando dos niveles, 20° y 25° C.; contenido de humedad inicial de las probetas de madera, con dos niveles, 40% y 80%; y tiempo de exposición, con tres niveles de 1, 2 y 3 meses. El biodeterioro de la madera ocasionado por los hongos se midió a través de la variable respuesta: porcentaje de pérdida de peso.

Los resultados indican que *Coriolus versicolor* resultó ser bastante más agresivo, logrando una pérdida de peso promedio de 9,4% comparada con un 4,1% de *Peniophora gigantea*. Con respecto a los métodos silviculturales, el análisis estadístico señala que no existe diferencia significativa en el biodeterioro de los distintos tipos de madera; sin embargo, los resultados muestran una mayor degradación en madera proveniente de monte bajo, 7,3%, comparada con un 6,23% de monte alto.

El valor más alto de pérdida de peso (12,67%) se obtuvo en el tratamiento que combina una temperatura de 25° C, un contenido de humedad de la madera del 80% y un tiempo de exposición de 3 meses.

El trabajo desarrollado permitió obtener antecedentes cuantificables asociados al efecto causado por estas dos especies de hongo en los distintos tipos de madera juvenil, y determinar las mejores condiciones para su desarrollo, con el fin de ser utilizados en el proceso de biopulpaje.

## 1 INTRODUCCIÓN

La madera, en sus diversas formas, está sometida a distintos tipos de deterioro. Sin duda entre éstos los problemas de biodeterioro son los más importantes, tanto para árboles en pie como para productos forestales. Estas anomalías (acción de agentes biológicos) son cada vez de mayor incidencia por el creciente uso de madera proveniente de plantaciones de rápido crecimiento.

Entre los agentes de biodeterioro, los hongos lignívoros (pudrición) se destacan por la intensidad y frecuencia de su ataque. Dentro de las diversas patologías fungosas asociadas a productos forestales se consideran las siguientes: mohos, manchas y pudriciones. Estas últimas presentan diversos tipos: blanca, cúbica café y blanda.

La pudrición blanca involucra la degradación de todos los componentes de la pared celular leñosa, tanto lignina como holocelulosa. Esta habilidad de los hongos de pudrición blanca los convierte en organismos altamente deseables para la industria papelera, en razón a la degradación de lignina, dando lugar a nuevas alternativas tecnológicas de producción de pulpas, como es el biopulpaje.

La resistencia al biodeterioro de las diferentes especies forestales varía enormemente, incluso de un individuo a otro o respecto a la posición topográfica de la madera dentro del tronco. Por esta razón, es importante conocer la resistencia de ciertas maderas frente al ataque de determinados hongos de pudrición blanca, con el fin de determinar el efecto que estos organismos puedan provocar.

*Eucalyptus globulus* está dentro de las especies más abundantes en nuestro país en cuanto a plantaciones se refiere. Además, el rápido crecimiento y características de su madera la han transformado en una especie de fibra corta de gran interés, especialmente para la industria de celulosa y papel.

Esta especie pulpable es una importante fuente de materia prima para la industria papelera, y debido a sus características de crecimiento es factible obtener individuos provenientes de semilla y/o de retoño, lo que la hace una madera más variable.

Este estudio permitirá determinar las condiciones ideales para el desarrollo de distintos hongos de pudrición blanca y su efecto sobre madera juvenil de Eucalipto, con propósitos pulpables.

## 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Biodeterioro de la madera

Una de las características intrínsecas de la madera es el ser un material biodegradable en razón a su origen orgánico, lo que puede ser considerado como una ventaja o desventaja dependiendo desde el punto de vista considerado.

El proceso de degradación de la madera puede ser llevado a cabo por diferentes tipos de organismos vivos, siendo los principales hongos, insectos, horadores marinos y bacterias. Estos agentes biológicos ejercen un efecto de destrucción en el material leñoso ya sea para alimentarse o para habitar.

En la destrucción de la madera generalmente participa más de un organismo, estableciéndose una sucesión que es iniciada por bacterias, seguida por hongos de mancha y de pudrición blanda, y que culmina con la acción de hongos de pudrición blanca y café, provocando la destrucción total de la madera (Del pozo y Parra, 1984).

Es importante recordar que la composición química de la madera en base a su peso seco corresponde a celulosa (40-55%), lignina (17-35%), poliosas (15-30%), productos extraíbles (1-10%) y minerales o cenizas (cerca al 1%). La proporción de estos componentes varía dependiendo de la especie, ubicación en el árbol, sitio, edad y otros factores ecológicos (Torres, 1971).

Los hongos lignícolas pueden clasificarse en tres grupos de acuerdo a la naturaleza de su desarrollo en la madera y al tipo de deterioro que ocasionan. Los hongos lignívoros son los más importantes y son capaces de desintegrar las paredes de la célula y, por lo tanto, cambiar las características físicas y químicas de la madera; tal desorganización de la materia da lugar al estado llamado pudrición. En cambio, los hongos de mancha y los de mohos suelen alimentarse de los compuestos orgánicos fácilmente digeribles almacenados en la madera y con frecuencia ejercen escasa o nula influencia sobre las propiedades de ésta. Los primeros causan coloraciones que pueden clasificarse como defectos, mientras que los mohos colorean pocas veces la madera, excepto en la superficie (Hunt y Garrat, 1962).

Los hongos lignívoros o de pudrición degradan preferencialmente uno o más componentes de la madera causando tres tipos de pudrición, conocidas como pudrición blanda, pudrición café y pudrición blanca.

Los hongos que causan pudrición café exhiben preferencia por celulosas y hemicelulosas, en cambio los causantes de pudrición blanca son los únicos capaces de atacar todos los componentes de la pared de las células (Kuhad *et al.*, 1997). La pudrición blanda es de menor importancia debido a que se desarrolla generalmente a nivel superficial.

El caso de los insectos xilófagos no deja de ser importante, ya que atacan desde árboles en pie hasta madera seca puesta en servicio, pero a nivel general constituyen una amenaza menor que los hongos. Dentro de los insectos podemos mencionar las termitas, coleópteros y hormigas carpinteras, siendo las termitas las más dañinas (Highley, 1999).

El daño causado por insectos xilófagos, según Esllyn y Clark (1979), generalmente se produce cuando éste se halla en fase de larva, las que horadan la madera para obtener alimento y protección. Sin embargo, los insectos en su fase adulta también contribuyen al deterioro, como en el caso de las termitas subterráneas y de madera seca que forman grandes galerías al interior de la madera, y algunos coleópteros que penetran la madera con el fin de poner sus huevos y criar sus larvas.

Hunt y Garrat (1962), denominan carcoma al defecto provocado por algunos de estos insectos, ya sea en forma de larvas o adultos, caracterizándose por dejar las partes no digeridas de la madera en forma de polvo fino, y señalan al género *Lyctus* como el más dañino (Figura N°1).

Los agujeros característicos producidos por algunos insectos pueden clasificarse según su tamaño en *agujeros de alfiler* y *agujeros de perdigón*. Los primeros son pequeños, redondos y generalmente abiertos, variando su diámetro entre 0,25 y 6 milímetros; los últimos son ovalados, circulares o irregulares, de 10 a 25 milímetros de diámetro, y en algunos casos están cubiertos con fino aserrín (Figura N°2).





Figura N°1: Tabla atacada por *Lyctus*



Figura N°2: Tronco atacado por *Sirex*

El daño causado por las termitas es diferente del causado por la mayoría de los insectos, ya que éstas trabajan al interior de la madera excavando largos túneles y galerías (Figura N°3). Estas se pueden dividir en dos grandes grupos, termitas subterráneas y no subterráneas, incluyéndose en este último grupo las termitas de madera seca y de madera húmeda (Figura N°4).



Figura N°3: Ataque causado por termitas

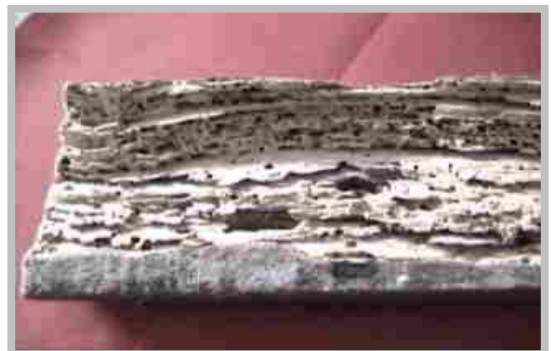


Figura N°4: Madera atacada por termitas

Las bacterias normalmente tienen un efecto menor que los hongos en las propiedades de la madera, aunque algunas de ellas pueden hacer la madera más permeable. Además, en períodos prolongados éstas pueden causar pérdidas de resistencia en la madera (Highley, 1999).

El poder de descomposición de la madera por las bacterias es muy inferior al de los hongos de pudrición. Segregan pectinasas para disolver las membranas de las puntuaciones simples del parénquima, que son de naturaleza péctica, pero en casos de ataque intenso destruyen también las puntuaciones areoladas que comunican las traqueidas prosenquimáticas entre sí, aumentando sensiblemente la permeabilidad de la madera (Tuset y Duran, 1986).

Las bacterias generalmente degradan la madera lentamente. Esta degradación tiene lugar en superficies de madera con un alto contenido de humedad. Debido a la falta de habilidad para penetrar, usualmente invaden las células de la madera en forma simultánea con el hongo, colonizando primero las células parenquimáticas, pudiendo también atacar las paredes de la célula una vez utilizados los contenidos de ésta. A pesar de que las bacterias pueden atacar directamente fibras, vasos y traqueidas, pocas especies pueden degradar todos los componentes de la pared celular. Sin embargo, se han encontrado bacterias para degradar células de madera lignificadas, las cuales remueven la lignina. Varias especies de *Streptomicetes* tienen la habilidad de degradar y remover lignina de coníferas, latifoliadas y gramíneas (Kuhad *et al*, 1997).

Los horadores marinos son una seria y constante amenaza para la madera sumergida en agua salada, causando grandes daños en corto tiempo debido a la acción de perforar la madera, ya sea para alimentarse y/o vivir en ésta. Pertenecen a este grupo crustáceos y moluscos, los cuales se diferencian tanto en sus características morfológicas como en el modo de ataque y daño causado en la madera (Eaton y Hale, 1993). Dentro de los moluscos horadores, *Teredo* y *Bankia* son los más destructivos y tienen forma de gusano o babosa (Figura N°5).

Los crustáceos horadores son mucho más pequeños que los moluscos y están relacionados con camarones y langostas, siendo los más destructivos pertenecientes al género *Limnoria*. Los crustáceos, a diferencia de los moluscos, atacan en gran número y buscan la madera no tan sólo como fuente de alimento y protección, sino que además para el desarrollo de crías. Además no quedan atrapados, pudiendo moverse libremente de un lugar a otro (Anónimo, 1968).

Según una evaluación realizada recientemente en nuestro país por Uribe (2002), toda madera en su estado natural y sin un tratamiento de protección, expuesta al contacto con agua de mar, sufre el ataque de horadores.



Figura N°5: Madera atacada por Bankia

## 2.2 Durabilidad natural

La durabilidad natural se refiere a la capacidad que poseen las diversas especies de madera para resistir al ataque de hongos de pudrición e insectos (Torres, 1971). Otros autores agregan a esta definición la resistencia de la madera al ataque de horadadores marinos. En la NCh 789/1 of.87, la durabilidad natural se define como la capacidad de la madera de resistir el ataque de los diferentes agentes biológicos de destrucción, sin ningún tratamiento de preservación (INN, 1979).

Un concepto más general de durabilidad natural incluye la resistencia del material leñoso tanto al ataque de organismos vivos (hongos, insectos y horadadores), como la resistencia al deterioro por desgaste mecánico y producto de diversas condiciones ambientales (Cartwright, 1958).

La resistencia natural de la madera frente al ataque de hongos es muy importante desde el punto de vista económico y tecnológico. Su conocimiento permite una mejor utilización de la madera en diferentes tipos de servicios, además de generar nuevas posibilidades de uso, lo que permite diferentes alternativas para su comercialización (Gómez *et al.*, 1969).

La durabilidad de la madera o resistencia natural que opone a la pudrición, es una propiedad en extremo variable. Es así como ciertas clases de madera son notables por su resistencia al ataque de hongos, mientras que otras son conocidas por su facilidad para deteriorarse. Pero aún dentro de una especie determinada de madera, puede haber una notable diversidad de resistencia a la pudrición en piezas tomadas de distintos árboles e incluso de un mismo árbol.

Los factores implicados en las diferencias de durabilidad son numerosos y diversos; algunos de ellos están en relación con las condiciones propias de la madera; otros, con las circunstancias que concurren en su uso (Hunt y Garrat, 1962).

En general, las diferencias de durabilidad que existen entre las diferentes especies pueden deberse a las diferencias en la naturaleza y cantidad de extraíbles presentes en la madera o a las variaciones en densidad.

Según Torres (1971), el concepto de durabilidad se aplica sobre el duramen de la madera, no así sobre la albura que por razones fisiológicas carece de ésta. En especies donde no existe un duramen bien definido, existe una pequeña diferencia en la resistencia a la pudrición entre madera del interior y exterior del tronco.

La mayor durabilidad natural del duramen sobre la albura, en aquellas especies en que existe esta distinción, se atribuye fundamentalmente a ciertos cambios químicos que se producen durante la transformación de la albura en duramen. La naturaleza exacta de estas alteraciones no está bien dilucidada, pero implica evidentemente el depósito de ciertos productos en las células del duramen, llamados genéricamente *extraíbles*, que se forman cuando las células del parénquima (células de almacenamiento y distribución) pierden el protoplasma y mueren. Así, el duramen de algunos cedros contiene aceites esenciales; el de *Sequoia* contiene productos químicos hidrosolubles de elevada toxicidad; el de los pinos resinosos se caracteriza por contener cantidades variables de trementina y aceite de pino, y el de los castaños está impregnado de taninos.

Como la cantidad de extraíbles existentes en un trozo de madera influirá en la duración de ésta, cuando se usa en condiciones favorables a la pudrición, es evidente que el distinto contenido de estas sustancias explica en gran parte la diferente durabilidad que se observa en el duramen de una especie dada (Hunt y Garrat, 1962).

Libby (1967) también coincide en que bajo condiciones favorables para el ataque, la albura de todas las especies es susceptible al mismo; pero el duramen es con frecuencia menos vulnerable, debido, en gran parte, a la presencia de ciertas sustancias extrañas tales como los compuestos fenólicos y los aceites esenciales. Factores adicionales que contribuyen a la mayor durabilidad del duramen pueden ser un contenido más bajo de humedad, penetrabilidad más pobre y bloqueo de las cavidades celulares por gomas, resinas y ciertas protuberancias, como las formaciones tilidosas en los vasos de latifoliadas y las formaciones tílides en los canales de resina en coníferas. A esto se une

la inexistencia de parénquima en el duramen y generalmente una mayor presencia de lignina.

Parece ser que la densidad de la madera, o su peso específico, podría servir como criterio de durabilidad, puesto que éste depende fundamentalmente de la cantidad de madera (pared celular) existente en una pieza dada. Ahora bien, en muchas especies la densidad no presenta correlación con la resistencia a la pudrición, ya que esta propiedad está influida principalmente por la toxicidad de los extraíbles existentes en la madera (Hunt y Garrat, 1962).

Grandes variaciones de durabilidad pueden ser encontradas en diferentes muestras de la misma especie de árboles, dependiendo de las condiciones bajo las cuales el árbol haya crecido y de la edad (Findlay, 1967).

El clima influye mucho en la duración de la madera no tratada, pues un clima húmedo y cálido favorece la pudrición de la madera expuesta a la intemperie en mayor medida que un clima seco o frío (Hunt y Garrat, 1962).

Torres (1971), clasifica el duramen de maderas sin tratar en tres grupos (Cuadro N°1), dependiendo del tiempo de duración que tenga en contacto con el suelo y bajo condiciones climáticas normales en Chile.

Cuadro N°1: Clasificación de maderas según duración

<b>Clasificación</b>	<b>Tiempo de duración</b>
Durabilidad 1	> 15 años
Durabilidad 2	5 años – 15 años
Durabilidad 3	1 año – 5 años

Fuente: Torres (1971)

Findlay (1938) en cambio, clasifica la durabilidad natural de la madera en cinco grupos, según su resistencia al biodeterioro (Cuadro N°2). Esta clasificación considera las condiciones de uso de la madera y la pérdida de peso durante pruebas de cuatro meses en laboratorio, bajo la acción de hongos lignívoros normalizados.

Cuadro N°2: Clasificación de maderas según resistencia al biodeterioro

<b>Clasificación</b>	<b>Pérdida de peso</b>
Muy resistente	Mínima
Resistente	< 5%
Moderadamente resistente	5% - 10%
No resistente	10% - 30%
Percible	> 30%

Fuente: Findlay (1938)

En la norma chilena NCh789/1. Of87, la durabilidad natural se presenta en cinco categorías (Cuadro N°3), en relación a la vida útil del duramen de maderas sin tratar, hincadas en el terreno, en las condiciones climáticas existentes en Chile.

Cuadro N°3: Clasificación de maderas comerciales por su durabilidad natural

<b>Clasificación</b>	<b>Tiempo de duración</b>
Muy durable	> 20 años
Durable	15 años – 20 años
Moderadamente durable	10 años – 15 años
Poco durable	5 años – 10 años
No durable	< 5 años

Fuente: INN (1979)

## **2.3 Antecedentes generales de los hongos**

### **2.3.1 Naturaleza de los hongos**

Los hongos son generalmente considerados como una clase de organismos altamente especializados. Hoy en día, se clasifican en un reino intermedio entre Vegetales y Animales, denominado Protista. Éstos, al igual que los animales, no son capaces de sintetizar azúcar y almidón a partir del dióxido de carbono presente en la atmósfera, por lo que deben buscar otras materias orgánicas para alimentarse. Prácticamente cualquier material orgánico obtenido de plantas o animales puede sustentar algunas especies de hongos (Findlay, 1967).

Sin la acción de los hongos de la madera, la vida sobre la tierra desaparecería por falta de dióxido de carbono, fertilización del suelo debido al reciclaje de materia orgánica,

la aireación del suelo disminuiría y gran cantidad de material lignificado se acumularía sobre éste. Sin embargo, cuando el hongo de la madera ataca a un árbol o producto de madera, ellos dejan de ser un organismo útil y pueden causar grandes pérdidas económicas (Stegel y Sisler, 1977).

### 2.3.2 Estructura y reproducción

Los hongos se reproducen por cuerpos microscópicos llamados *esporas*, equivalentes a las semillas en las plantas, pero mucho más pequeñas (micrones) y usualmente reproducidas en gran número. En condiciones adecuadas de humedad, la espora germina dando origen a una *hifa*, que en conjunto forman una trama de tejido conocida como *micelio*. Una vez que el hongo ha desarrollado suficiente micelio, forma cuerpos fructíferos (esporóforos) en el que se producirán nuevas esporas, para así completar el ciclo.

La clasificación de los hongos está basada en las diversas formas de los cuerpos fructíferos, que generalmente se desarrollan en la superficie externa del sustrato en donde el hongo crece (Findlay, 1967).

### 2.3.3 Requerimientos para su desarrollo

Existen cuatro condiciones que son esenciales para el desarrollo de los hongos: la existencia de sustrato, humedad, oxígeno y temperatura adecuados. La ausencia o eliminación de cualquiera de estos requerimientos evitaría o inhibiría en gran medida el crecimiento del hongo.

**Oxígeno:** Al igual que los animales, los hongos necesitan oxígeno para su respiración, es decir, para la oxidación de los azúcares que utilizan para crecer y para su suministro de energía. Como resultado de su respiración los hongos producen dióxido de carbono y si no existiese un intercambio de aire alrededor de las hifas, el CO<sub>2</sub> se acumularía y finalmente el hongo moriría producto de sofocación (Findlay, 1967).

**Temperatura:** Los hongos, al igual que las plantas, crecen más rápido en climas cálidos que en climas fríos. La tasa de crecimiento de los hongos aumenta gradualmente desde temperaturas cercanas a la de congelación hasta un rango óptimo entre 24° y

32°C. Este crecimiento disminuye rápidamente para la mayoría de los hongos de pudrición, a medida que la temperatura aumenta sobre los 32°C (Ramírez, 2001). Según Esllyn y Clark (1979), temperaturas mayores a 38°C son letales para la mayoría de los hongos; en cambio temperaturas bajo el punto de congelación provocan la latencia del hongo, no así su muerte.

**Sustrato:** El hongo requiere de una fuente de carbono para la síntesis de los constituyentes protoplasmáticos, además de otros elementos como hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre. A diferencia de las plantas superiores, el hongo utiliza una fuente de carbono orgánico en lugar de dióxido de carbono. La mayoría de los hongos tienen la capacidad de utilizar la glucosa, habiendo otros que se surten de carbón a través de sacarosa, maltosa, almidón y celulosa (Smith, 1970).

El alimento requerido para la nutrición del hongo es suministrado principalmente por la misma materia que constituye las paredes de las células del hospedante, pero también pueden facilitar el alimento las sustancias almacenadas en las cavidades celulares, tales como almidones, azúcares y otros (Hunt y Garrat, 1962).

**Humedad:** La humedad es un factor muy necesario para la actividad fisiológica de los hongos, como la germinación de esporas, la actividad enzimática, la absorción y transporte de sustancias. De un modo general, la humedad ideal para el desarrollo de estos organismos varía entre 30% y 50% (Tuset y Durán, 1986). Según Findlay (1967) éste es lejos el factor más importante que controla el desarrollo de los hongos en la madera y otros productos orgánicos. Los hongos se desarrollan con mayor facilidad sobre un contenido de humedad mayor al 28-30%, quedando generalmente inmunes al ataque de éstos aquellas maderas con contenido de humedad menor al 20%.

Otros factores que afectan el crecimiento de los hongos son la luz y la acidez o alcalinidad del sustrato. La luz, en general, tiene un efecto retardador en el crecimiento de los hongos, sin embargo muchas especies no pueden fructificar normalmente en total oscuridad (Findlay, 1967). Así como es esencial para la esporulación de muchas especies, la luz también desempeña un papel en la dispersión de las esporas, ya que en muchos hongos, los órganos portadores son positivamente fototrópicos y descargan sus esporas hacia la luz (Alexopoulos, 1966).



El crecimiento de los hongos también puede ser afectado por el grado de acidez o alcalinidad del sustrato. En general, los hongos prosperan en materiales que son ligeramente ácidos, con pH entre 4,5 y 5,5, como el normal de las maderas. Los hongos de pudrición producen generalmente cantidades apreciables de ácidos orgánicos como resultado de su crecimiento, lo que tiende a aumentar la acidez del sustrato en el que se desarrollan (Findlay, 1967).

Recientemente Donoso y González (1999), postulan el término “hibridismo” para referirse al efecto de factores ambientales en el comportamiento de los hongos.

#### **2.3.4 Efectos sobre la madera**

Los efectos de la pudrición de madera se pueden clasificar en dos tipos, químicos y físicos. Dentro de los cambios químicos se puede mencionar la transformación de la celulosa en glucosa por acción de las enzimas hidrolíticas de los hongos, y la descomposición de la lignina mediante enzimas oxidativas, provocando pudrición café, blanca y blanda.

Según Findlay (1967), dentro de los efectos físicos se pueden mencionar los siguientes:

**Pérdida de densidad:** la madera atacada se vuelve más liviana producto de la destrucción de la sustancia leñosa por el hongo, quien emite dióxido de carbono y agua durante su respiración, lo cual se ve reflejado en la pérdida de peso. Esta pérdida de peso (expresada como porcentaje del peso seco original) es un método útil para evaluar hasta qué punto la pudrición ha progresado.

**Pérdida de resistencia:** en etapas tempranas de pudrición la resistencia mecánica de la madera (específicamente a la flexión dinámica) puede reducirse considerablemente; incluso antes de que cualquier pérdida de peso se aprecie, la elasticidad de la madera puede haber disminuido a la mitad. Los hongos de pudrición café provocan una disminución más rápida en la mayoría de las propiedades de resistencia que aquellos que producen pudrición blanca.

**Aumento de permeabilidad:** la madera atacada absorbe líquido y se satura mucho más rápido que la madera no atacada por hongos; posiblemente las pequeñas perforaciones hechas por las hifas del hongo en la pared celular permiten escapar al aire, facilitando así la entrada de agua.

**Cambio en el color:** la pudrición produce un colorido anormal de la madera, originándose líneas o zonas de color variable. En coníferas, el primer indicio de pudrición es la aparición de rayas o manchas café o púrpuras. En latifoliadas, son manchas descoloridas o blanquecinas. Estrechas y nítidas líneas oscuras, limitando o atravesando áreas blanquecinas, son casi siempre indicadoras de pudrición, aunque no se deben confundir con las líneas naturales de algunas maderas.

**Pérdida de poder calorífico:** así como la densidad de la madera disminuye por acción de la pudrición, también lo hace el poder calorífico como combustible. Para efectos prácticos, esto quiere decir que el valor calorífico de madera atacada es menor que el de madera sana, aunque el volumen de la madera prácticamente no varía.

**Aumento en flamabilidad:** la madera atacada enciende más rápidamente que aquella sin ataque y tiende a arder humeando sin llama.

**Luminosidad:** algunos hongos pueden hacer que la madera en la que ellos crecen se vuelva luminiscente y brille en la oscuridad con una luz pálida azulada.

**Cambio en olor:** la madera que es atacada por hongos pierde el característico olor leñoso, fresco y resinoso, y puede, especialmente cuando se humedece, tener un olor claramente a pudrición, debido a la generación de compuestos químicos aromáticos por la acción fúngica.

**Aumento de la susceptibilidad al ataque de insectos:** la madera que ha sido debilitada por pudrición es mucho más rápidamente atacada por ciertos insectos perforadores de madera, que la madera sana. Existen, en efecto, muchos insectos que pueden vivir sólo en madera que está parcialmente atacada por hongos de pudrición.

## 2.4 Hongos de pudrición blanca

### 2.4.1 Caracterización general

La mayoría de los hongos que causan pudrición pertenecen a los *Basidiomycetes*.

Los hongos de pudrición blanca son los únicos que pueden atacar todos los componentes de la pared celular de las plantas. Kuhad *et al* (1997) indican que el patrón normal de pudrición de madera causada por estos hongos involucra el ataque simultáneo sobre ambos componentes, polisacáridos y lignina. Sin embargo, la habilidad de ciertos grupos de hongos para remover eficientemente la lignina de la madera los hace particularmente interesantes en aplicaciones industriales donde la lignina u otros compuestos fenólicos necesitan ser modificados o eliminados. Algunos hongos de pudrición blanca, como *Phanerochaete chrysosporium* y *Trametes versicolor* tienen un modo de degradación de la madera no selectivo, es decir, ellos degradan celulosa, hemicelulosa y lignina simultáneamente, mientras otros como *Phlebia tremellosa*, *Ceriporiopsis subvermispora* y *Phellinus pini* degradan preferentemente la lignina.

Según Blanchette (1991), citado por Worrall (1997), es posible distinguir dos formas de pudrición blanca. En deslignificación selectiva, las poliosas (hemicelulosas) y lignina son preferentemente atacadas, especialmente en fases tempranas. El efecto anatómico más notable es la desfibración por la disolución de la lamela media. En pudrición blanca simultánea, carbohidratos y lignina son atacados más o menos uniformemente. En este caso, la erosión de la pared de la célula en la superficie del lumen es un rasgo anatómico prominente. Estas dos formas de pudrición blanca pueden ser causadas por un hongo en diferentes partes de una misma pieza de madera.

Pesutic (1978) define la pudrición blanca como la acción bioquímica preferencial del sistema enzimático fungoso en la ingestión de uno de los principales componentes de la pared celular leñosa, la lignina, lo cual eleva la tasa relativa de celulosa, dejando un tejido residual marcadamente celulósico, de color blanco.

En relación al aspecto morfológico de este ataque, generalmente obedece a las formas: Fibrosa (fibras leñosas blandas como residuo), Alveolar (focos puntuales de ataque) y Anular (fraccionamiento en capas o anillos).

Los hongos de pudrición blanca crecen en los diferentes tipos de células de coníferas y latifoliadas. La hifa del hongo entra en el lumen de la célula, primero

colonizando las células de los radios parenquimáticos, y luego pasa de célula a célula vía puntuaciones o por perforaciones directamente a través de la pared de la célula. Inmediatamente después de que los nutrientes fácilmente metabolizables se han agotado, comienza la degradación de la pared de la célula (Kuhad *et al.*, 1997).

Colonelli (1996) describe el ataque de estos hongos desde el lumen de la célula hacia la lamela media, degradando tanto zonas que rodean las hifas como aquellas alejadas de éstas.

El orden del parénquima radial facilita el acceso dentro de la madera y permite una distribución extensa del hongo en ella (Akhtar *et al.*, 1997).

Los hongos de pudrición blanca que atacan simultáneamente todos los componentes de la pared celular causan una erosión localizada de todas las capas de la pared, extendiendo su ataque a través de las capas de la pared secundaria y lamela media. En fases avanzadas de pudrición, las paredes celulares son erosionadas extensamente, y con frecuencia se observan numerosas perforaciones en las paredes de células adyacentes. Una forma diferente de ataque a la pared celular se puede observar en los hongos de pudrición blanca que degradan selectivamente la lignina. La hifa en el lumen de la célula degrada progresivamente la lignina, desde el lumen junto a la pared secundaria hacia la lamela media. Como el proceso de deslignificación continúa, la lamela media es degradada y las células son separadas. La deslignificada pared secundaria; rica en celulosa permanece relativamente inalterada. La degradación de la lignina se hace extensa a lo largo de las paredes de la célula, originándose de sólo uno o dos filamentos hifales en cada lumen de célula (Akhtar *et al.*, 1997).

Kuhad y colaboradores (1997), señalan que varias investigaciones indican que los hongos de pudrición blanca degradan la lignina de la pared secundaria antes de que la lamela media sea degradada. Es así como se ha demostrado que éstos frecuentemente causan un adelgazamiento progresivo de la pared de la célula, comenzando desde el lumen y continuando hacia la lamela media.

En el caso de las coníferas, las traqueidas pueden perder totalmente la lamela media manteniendo las paredes celulares su integridad; sin embargo, es frecuente observar en estos casos que los radios parenquimáticos estén totalmente destruidos. En latifoliadas todas las células pueden ser deslignificadas, causando una separación de las

fibras, vasos y radios parenquimáticos. La lamela media no siempre es degradada completamente; algunos hongos que atacan selectivamente la lignina remueven la lamela media entre las células, pero no la degradan completamente en las esquinas de la pared (Gómez, 1995).

Gálvez (2001), señala que la estrategia de los hongos de pudrición blanca es descomponer la lignina de la madera para tener acceso a las poliosas y celulosa que están integradas en la matriz de lignina.

La degradación de la madera puede estar influenciada por el sustrato lignocelulósico. Un factor importante que regula la magnitud y tasa de pudrición es la cantidad y tipo de lignina presentes en la madera. Es así como estudios que evalúan la pudrición causada por estos hongos en diferentes tipos de madera, señalan una mayor y más rápida degradación de madera de latifoliadas que de coníferas, la que parece estar influenciada por el contenido de lignina siringil en la madera de latifoliadas (Akhtar *et al*, 1997).

Fengel y Wegener (1984), indican que la variación en la composición de lignina es mucho mayor en latifoliadas que en coníferas; el contenido de siringil de la lignina guayacil-siringil (GS) de una latifoliada típica varía entre 20% y 60%, siendo este rango más amplio en las plantas herbáceas (10-65%). Además, señalan un alto contenido de oxígeno en la lignina de latifoliadas, lo que es a la vez provocado por su alto contenido de grupos metoxilo.

#### **2.4.2 Sistema Enzimático**

Ramírez (2001), señala que en el sistema enzimático de los hongos, la secreción de ectoenzimas a la madera hace cambiar el sustrato insoluble a soluble. En cambio, las endoenzimas quedan en forma intracelular en las hifas y regulan los procesos del metabolismo interno.

El sistema enzimático revela que cada hongo de pudrición blanca produce enzimas oxidativas e hidrolíticas, que actúan en la degradación de ciertos componentes de la pared celular, en este caso de la lignina y holocelulosa (Silva, 2002).

Según Messner (1998), los hongos de pudrición blanca pueden ser considerados los organismos más eficientes en la degradación de la lignina. Hasta ahora, cuatro tipos de enzimas degradadoras de lignina han sido aislados desde estos hongos: lacasa, manganeso peroxidasa, lignina peroxidasa y otras peroxidases.

A continuación se describen las tres principales enzimas que actúan en el proceso de degradación de la lignina:

**Lignina peroxidasa (LiP):** posee un peso molecular de 38 a 43 kDa y contiene protoporfirina IX como grupo prostético (Messner, 1998). Esta enzima oxida el núcleo aromático (fenólico y no fenólico) por la remoción de un electrón, generando radicales fenoxi y radicales catión. Por último, reacciona espontáneamente con nucleótidos (principalmente con agua) y oxígeno molecular. El resultado es una “combustión enzimática” en la cual las uniones C-C y C-O son divididas, depolimerizando el polímero y abriendo los anillos aromáticos, formando en consecuencia abundantes productos aromáticos y alifáticos. LiP no es aparentemente producida por algunos hongos de pudrición blanca, incluyendo *Ceriporiopsis subvermispora*, lo que hace pensar que no es requerida en todos los hongos, es decir, que los hongos de pudrición blanca tienen más de un sistema enzimático para degradar la lignina. Las lignina peroxidases se componen de ácidos isoenzimáticos codificados por genes de estructura múltiple, cuya expresión esta regulada por nutrientes. La lignina peroxidasa exhibe el ciclo común de peroxidasa catalítica, basado en reacciones de oxidación sucesivas produciendo la oxidación del sustrato (Akhtar *et al*, 1997).

**Manganeso peroxidasa (MnP):** su peso molecular es similar al de LiP; también contiene protoporfirina IX y cataliza oxidaciones de un electrón en compuestos fenólicos y no fenólicos, específicamente de  $Mn^{2+}$  a  $Mn^{3+}$ , el cual a su vez oxida lignina. El sustrato primario es Mn(II) que se oxida a Mn(III) y es estabilizado formando complejos con ácidos orgánicos (Messner, 1998). A pesar de que esta enzima ha sido encontrada en casi todos los estudios con hongos de pudrición blanca, su función exacta y las reacciones químicas que llevan a la oxidación de lignina aún no están claras. Las manganeso peroxidases se componen, como las LiP, de múltiples ácidos isoenzimáticos codificados por genes de estructura múltiple, cuya expresión está regulada por nutrientes; en el caso de MnP, también ocurre una regulación por  $Mn^{2+}$ . Las manganeso peroxidases son ligeramente más grandes que LiPs, pero exhiben el mismo ciclo catalizador de peroxidases (Akhtar *et al.*, 1997).

**Lacasa:** corresponde a una oxidasa que contiene cobre, con un peso molecular entre 60 y 80 kDa. Esta enzima cataliza cuatro oxidaciones de un electrón de la mayoría de los compuestos fenólicos, formando radicales fenoxi libres como intermediarios (Messner, 1998). Lacasa es producida (secretada) por la mayoría pero no por todos los hongos de pudrición blanca. Como LiP, lacasa no es aparentemente requerida para la degradación de la lignina en todos los hongos. Lacasa oxida unidades fenólicas en la lignina a radicales fenoxi (Akhtar et al, 1997).

Actualmente se acepta que la mayor parte de las enzimas que degradan la lignina parecen ser capaces de actuar a distancia de la hifa, en la profundidad de la pared celular de la madera, por vía de complejos de manganeso o por vía de otros compuestos de bajo peso molecular llamados mediadores (Messner, 1998).

Los basidiomicetes de pudrición blanca tienen un complejo mecanismo que involucra enzimas que atacan directamente a la lignina, como LiP, MnP y lacasa, pero también tienen enzimas que producen peróxido de hidrógeno para ayudar a la acción catalítica de las peroxidasas (como glucosa oxidasa y glioxal oxidasa), enzimas que pueden participar en la ruptura de los fenoles, aldehídos, otros derivados de la lignina (como quinona oxidoreductasa), o hidrocarburos aromáticos policíclicos. Estas enzimas son necesarias para prevenir la eventual acumulación excesiva de peróxido de hidrógeno y también, las enzimas pertenecientes a los ciclos Redox de las hidroquinonas (como catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa). Sin embargo, los estudios de las oxidadas, y sobre todo los referidos a las lacasas y manganeso peroxidasas, parecen poseer un mayor interés al haberse demostrado su actividad lignolítica una vez purificadas (Zabel y Morrel, 1992). Aunque hay estudios que demuestran que no es necesaria la purificación (Silva, 2002).

Akhtar y colaboradores (1997), señalan que diversos estudios indican que tres enzimas oxidativas, lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP), y lacasa son responsables por la fragmentación inicial del polímero de lignina y producción de compuestos de bajo peso molecular en hongos de pudrición blanca. No todos estos hongos producen aparentemente las tres enzimas, aunque algunos, incluyendo *Trametes versicolor*, si lo hacen. Otros, como *Phanerochaete chrysosporium*, producen sólo LiP y MnP, mientras que *Ceriporiopsis subvermispora* produce sólo MnP y lacasa, y *Phlebia ochraceofulva* produce sólo LiP y lacasa.

Los carbohidratos son depolimerizados inicialmente por una serie de enzimas hidrolíticas, mientras que la lignina es degradada inicialmente por enzimas oxidativas. La descomposición de este polímero fenilpropanoídeo tridimensional unido por diferentes enlaces de carbono-carbono y éter entre monómeros de unidades de fenilpropano (Higuchi, 1990), procede por reacciones oxidativas las que separan los enlaces de carbono-carbono, cadenas de éter y también varios grupos funcionales (Zabel y Morrell, 1992).

Kirk y Chang (1975) citado en Gálvez (2001), sugiere a lo menos tres modelos de reacciones degradativas involucradas en la degradación de la macromolécula lignina: 1) División oxidativa de la cadena lateral de propil entre los carbonos  $\alpha$  y  $\beta$  conduciendo a la formación de ácido benzoico. 2) División del enlace  $\beta$ -aryl-éter y modificación de la estructura de la cadena lateral. 3) Degradación del núcleo aromático por medio de la apertura oxidativa del anillo.

Según Zabel y Morrel (1992), los mayores cambios estructurales que ocurren por la acción de los hongos de pudrición blanca y su acción degradadora, incluyen demetilación, oxidación de átomos de carbono  $\alpha$ , modificación de las cadenas entre carbono  $\alpha$  y carbono  $\beta$  de las unidades fenil propano, modificaciones directas de una cadena de arylglicerol- $\beta$ -aryl éter e hidroxilación y modificación de los anillos aromáticos. Estos autores además señalan que en el análisis de lignina residual, en diversos estados de pudrición, se aprecia una constante pérdida de grupos metoxilo e incrementos en oxígeno y contenido de hidroxil. Lo anterior es corroborado por Eaton y Hale (1993), quienes indican además que la lignina degradada por hongos de pudrición blanca contiene menos carbono, hidrógeno y grupos metoxilos, pero más oxígeno, grupos carbonilos y carboxílicos.

## **2.5 Biopulpaje**

El rápido desarrollo de la producción industrial coincide con un interés creciente en la biotecnología, la cual involucra la utilización de procesos biológicos o enzimáticos en diversas áreas industriales. Esta ha llegado a ser posible por el desarrollo de microorganismos altamente especializados, los que pueden ser directamente empleados en los procesos o a través del aislamiento de las enzimas que ellos producen.



La biotecnología para la pulpa de madera de uso industrial fue definida en 1985 por Eriksson cuando estudió la degradación de la lignina por la acción de hongos de pudrición blanca, siendo la principal aplicación de éstos el bioblanqueo (González y Carmona, 1998).

Los grandes avances de la biotecnología forestal en los últimos años se han centrado en la industria de la pulpa y papel, particularmente en los procesos de biopulpaje y bioblanqueo, demostrando que estos procesos pueden tener una baja tasa de contaminación con ventajas económicas (González y Donoso, 1999).

Según Akhtar y colaboradores (1997) el biopulpaje, definido como el tratamiento de astillas de madera con hongos de pudrición blanca que degradan selectivamente lignina antes del pulpaje, es un proceso experimental que ha sido investigado extensamente durante los últimos años. Éste ha sido estudiado principalmente como un pretratamiento para el pulpaje mecánico. La aplicación de este pre-tratamiento trae consigo una serie de ventajas, como la reducción del consumo de energía eléctrica, la cual para el caso del pulpaje termo-mecánico, corresponde al mayor costo; un aumento en la calidad del papel mejorando sus propiedades, y la reducción del impacto medio ambiental negativo del proceso de pulpaje, debido a la disminución en el uso de reactivos.

Messner (1998) también define el biopulpaje como el pretratamiento de astillas con hongos degradadores de lignina anterior al pulpaje, ya sea mecánico o químico. Esto toma ventaja, debido a enzimas excretadas por estos hongos durante la incubación de las astillas de madera para romper los enlaces químicos en el tejido leñoso, lo que se verifica durante el pulpaje químico o mecánico. Lo anterior conduce a una reducción en el consumo de energía y a un menor contenido de lignina después de la cocción.

Para el caso del pulpaje Kraft, según Gómez (1995) también existe un aumento del rendimiento de pasta cruda.

Los efluentes de algunas de las etapas del proceso de blanqueo no pueden ser reciclados por su alto nivel de cloro corrosivo. Además, éstos contienen grandes cantidades de compuestos orgánicos clorados, que se saben de efectos tóxicos, genéticamente mutantes y cancerígenos.

En la mayor parte de los países, la creciente preocupación pública sobre el medio ambiente está teniendo un gran impacto sobre la industria de pulpa y papel. Consecuentemente, esta industria se está moviendo rápidamente hacia alternativas

tecnológicas para aliviar este y otros problemas relacionados con el medio ambiente (Akhtar *et al.* 1997).

Existen numerosos estudios acerca de los hongos de pudrición blanca y su utilización en el biopulpaje, sin embargo, es esencial conocer con anterioridad el efecto de determinadas especies de hongos sobre las diferentes maderas pulpables, ya que no hay que olvidar que estos organismos también tienen la capacidad de degradar celulosa.

## 2.6 Métodos silviculturales en el manejo de eucalipto

Vita (1996) señala que el sistema silvicultural de monte bajo se basa en la capacidad que tienen preferentemente especies latifoliadas de regenerarse vegetativamente a partir de retoños provenientes de cepa o de raíz.

La regeneración por semillas origina lo que se conoce como monte alto, el que difiere del sistema anterior en variados aspectos.

Si se compara el desarrollo en el tiempo de monte bajo y monte alto, al comienzo y en igualdad de condiciones de sitio, los retoños crecen más rápidamente que las plántulas provenientes de semillas, debido a que la cepa tiene un sistema radicular completo con gran reserva de nutrientes que son utilizados para su desarrollo. Sin embargo, esta ventaja no se mantiene a lo largo de la rotación, ya que existe un punto en que el sistema radicular viejo o proveniente de cepa es superado por el sistema radicular nuevo (Figura N°6).

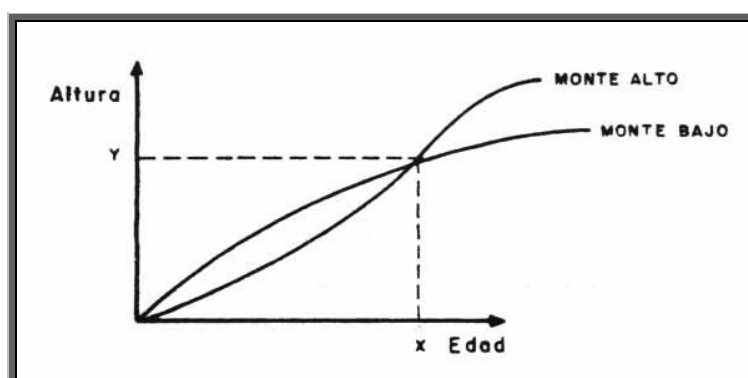


Figura N°6: Comparación del desarrollo en el tiempo de monte alto y monte bajo.  
Fuente: Vita (1996)

El monte bajo es de aplicación muy simple y, generalmente, la reproducción es más segura y más barata que la proveniente de semilla, obteniéndose además, fustes con mayor rectitud. No obstante, según Matthews (1991) en ciertas ocasiones es fuertemente afectado por hongos a partir de la cepa.

La madera proveniente de monte bajo se utiliza en general para productos de pequeñas o medianas dimensiones, como postes, polines, briquetas, leña, carbón, fibra, etc.

Por otro lado, se dice que ejemplares provenientes de cepa son más intolerantes y producen menos frutos, a más temprana edad, que aquellos provenientes de semillas (Mesón y Montoya, 1993).

En *Eucalyptus globulus* los retoños de origen proventicio, provenientes de yemas latentes que están conectadas con el xilema primario y se mueven hacia afuera a medida que el árbol crece en radio cada año, son los más abundantes y los que mejor se desarrollan, especialmente en altura (Cameratti, 1969).

Según Vita (1996) factores importantes que influyen en la retoñación son la edad o tamaño del tocón en el momento de la corta, la estación del año en la cual se efectúa la corta y la técnica de corta.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General

Evaluar el biodeterioro en madera de *Eucalyptus globulus* Lab. ocasionado por dos hongos de pudrición blanca, para propósitos de biopulpaje.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la eficacia de dos hongos de pudrición blanca, *Peniophora gigantea* (PG) y *Coriolus versicolor* (CV), en la degradación de madera de *Eucalyptus globulus* Lab., mediante la pérdida de peso.
  
- Determinar la influencia de dos métodos silviculturales en el manejo de *Eucalyptus globulus* Lab. (monte alto y monte bajo) en la tasa de biodeterioro, mediante la pérdida de peso.
  
- Determinar la interacción de los factores ecológicos, contenido de humedad, temperatura y tiempo, en el proceso de biodeterioro, considerando la densidad de la madera (hibridismo).

## 4 MATERIAL Y MÉTODO

### 4.1 Material

#### 4.1.1 Madera

Las probetas utilizadas en este estudio fueron obtenidas de madera juvenil de *Eucalyptus globulus* proveniente de plantaciones con diferentes métodos silviculturales: monte bajo y monte alto, ubicadas en la séptima región, precisamente en el predio Pantanillos.

La madera ensayada proviene de árboles de aproximadamente 8-9 años de edad, con un diámetro promedio de 15 cm. a la altura del DAP, generados tanto de semilla como de retoño (Figura N°7).



Figura N°7: Trozas utilizadas en el estudio

#### 4.1.2 Hongos de prueba

Los hongos utilizados fueron obtenidos de la micoteca del Laboratorio de Biodeterioro y Preservación del Departamento de Ingeniería de la Madera, Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Chile. Estos hongos corresponden a *Peniophora gigantea* (PG) y *Coriolus versicolor* (CV), ambos de pudrición blanca (Figura N°8).

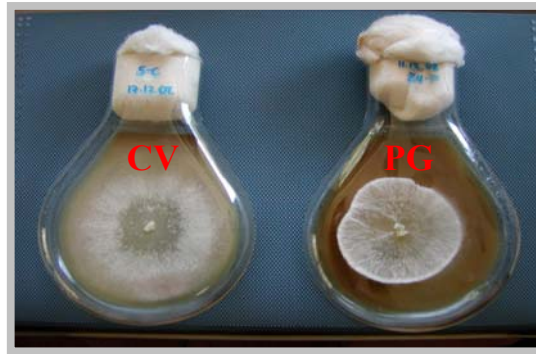


Figura N°8: Hongos utilizados en el estudio

#### 4.1.2.1 Descripción de hongos

A continuación se realiza una descripción de los siguientes hongos de pudrición blanca:

- ***Peniophora gigantea*** (Fr.) Masee

Sinónimos: *Corticium giganteum* Fr. , *Kneiffia gigantea* (Fr.) Bres.

Especie que corresponde al orden Aphylophorales, clase Basidiomycetes.

Este hongo, de amplia distribución, por lo general tiende a desarrollarse en coníferas, aunque puede hacerlo en cualquier clase de árbol, atacando generalmente albura de leños y de madera aserrada.

En el esporóforo, los cuerpos fructíferos consisten en una irregular corteza cerosa que, cuando húmeda, es muy parecida a una cutícula gruesa vítrea. Cuando joven éstos son translúcidos blancos cremosos, pero cuando envejecen a menudo muestran tintes parduscos o lilas. Pueden alcanzar un tamaño bastante grande (sobre 30 cms.) y a veces lograr un espesor de varios centímetros. Seco, el cuerpo fructífero se vuelve delgado como pergamino. Las descoloridas esporas son ovoides y miden 5-8 x 2,5-4  $\mu$ . Las numerosas cistidias fusiformes (40-100 x 9-16  $\mu$ ) tienen paredes muy delgadas, frecuentemente con incrustaciones en su ápice (Cartwright y Findlay, 1950).

Según García (1976), este hongo forma extensas costras, a veces de más de 25 cm., blanquecinas o grisáceas, delgadas e irregulares, sobre tocones, ramas y acículas

mueras de coníferas (Figuras N°9 y N°10). De consistencia coriácea, se puede separar del soporte, sobre todo por los bordes que son algo denticulados y fibrillosos. Su aspecto recuerda a las secreciones resinosas cuando se secan.

La apariencia de la pudrición causada por este hongo es café-amarillenta, rayada; con fructificación usualmente presente. La penetración de las paredes deja grandes perforaciones ( $11\mu$ ) y las hifas corroen los canales longitudinales en las paredes. La textura es suelta, de aspecto similar a una telaraña y polvorienta y su color es blanco. Dentro de las características microscópicas, las hifas son bastante anchas (sobre  $7\mu$ ) y de paredes delgadas (Cartwright y Findlay, 1950).

Con respecto al cultivo del hongo éste crece muy rápidamente sobre agar malta a temperatura de laboratorio. En relación a su fisiología, el estudio de la tasa de crecimiento a diferentes temperaturas de cultivos sobre agar malta en placas petri, ha determinado que el crecimiento óptimo correspondiente a 16,2 mm. de promedio diario en diámetro, se produce a una temperatura de 28°C. En cambio, existe un mínimo crecimiento de 2,1 mm. a 35°C, llegando a ser nulo a los 40°C.

El cultivo entrega una reacción positiva para oxidasa, lo que significa que este hongo posee este tipo de enzimas (Cartwright y Findlay, 1950).



Figura N°9: Rama con ataque



Figura N°10: Tocón con pudrición

Fuente: The Mary T. And Frank L. Hoffman Family Foundation (2001-2002)

- ***Coriolus versicolor*** (Linn.) Fr.

Sinónimos: *Polystictus versicolor* (Linn.) Quél. , *Polyporus versicolor* L. Ex Fr. , *Hansenia versicolor* Karst. , *Trametes versicolor* Pil. , *Polyporus steroides* Rostk. , *Polyporus zonatus* Rostk. , *Polyporus nigricans* Lasch.

Especie que corresponde al orden Aphylophorales, clase Basidiomycetes

Este hongo es cosmopolita, siendo muy común en países de clima templado. Crece preferentemente sobre latifoliadas y puede atacar la albura de todas las maderas, encontrándose frecuentemente en madera que está en contacto con el suelo.

En el esporóforo, los cuerpos fructíferos son delgados, coriáceos, con ramificaciones imbricadas de 3-8 cm. transversalmente, grises o cafés en la parte superior, con una superficie inferior de poros color crema. La superficie superior es siempre aterciopelada, con zonas concéntricas satinadas de varios colores. Los cuerpos fructíferos desarrollados en la oscuridad, como en una mina de carbón, son crema-amarillento o casi blancos, y menos duros que lo normal. Los tubos blancos son muy cortos, y los poros primero son pequeños y redondos llegando a ser rasgados e irregulares cuando se han desarrollado.

Las esporas oblongas miden 6-8 x 3  $\mu$  y asemejan una masa cremosa, pero decolorada bajo el microscopio (Cartwright y Findlay, 1950).

Según García (1976) este hongo forma una placa delgada (menos de 0,5 cm. de grosor), coriácea, de contorno redondeado, conchoide, en abanico o casi circular, de 1 a 10 cm., a menudo soldado a otros por la base o imbricados, formando rosetas muy decorativas (Figuras N°11 y N°12). La trama es blanca, elástica, aunque al secarse se pone dura y frágil.

La apariencia de este tipo de pudrición es al principio un moteado blanco, pasando después a ser sólo blanca. Penetra libremente las paredes dejando pequeñas perforaciones. La textura es uniforme y áspera; su color en primera instancia es blanco, luego crema, algunas veces con pedazos amarillentos o parduscos. Dentro de las características microscópicas las hifas son muy finas (0,5-4  $\mu$  de diámetro) y producen numerosas fíbulas semejantes a un aro en relieve. Las hifas pasan a través de las puntuaciones y en los estados avanzados de pudrición perforan libremente la pared celular, formando pequeñas aberturas de 2,5 $\mu$  de diámetro. Ocurre un notable



adelgazamiento de la pared celular indicando el progresivo consumo de pared desde el lumen hacia el exterior (García, 1976).

Entre otros datos fisiológicos se puede mencionar que el crecimiento de este hongo aumenta rápidamente en cultivos sobre agar malta a una tasa de alrededor de 2 cm. por día, a una temperatura óptima de 29°C. Además, es evidente una vigorosa producción de oxidasa (Cartwright y Findlay, 1950).



Figura N°11: Micelio



Figura N°12: Árbol con ataque

Fuente: The Mary T. And Frank L. Hoffman Family Foundation (2001-2002)

#### 4.1.3 Equipos

- Plato calefactor
- Autoclave
- Balanza digital (0,01 gramo de precisión)
- Campana de flujo laminar
- Cámaras de incubación
- Bomba de vacío
- Estufa de secado



Figura N°13: Cámara de incubación



Figura N°14: Autoclave



Figura N°15: Campana de flujo laminar

#### 4.1.4 Materiales de Laboratorio

- Agar-Agar
- Extracto de Malta
- Agua Destilada
- Alcohol
- Matraz
- Vaguetas
- Vasos de precipitado
- Papel indicador de pH (0-14)
- Frascos kolle

- Algodón Cardé
- Asa de platino para inoculación
- Pinzas
- Mecheros
- Campana de Vacío
- Herramientas de corte para preparación de probetas



Figura N°16: Campana de vacío

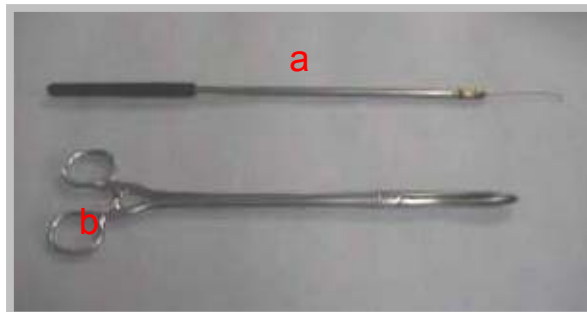


Figura N°17: (a)Asa de platino (b) pinzas

## **4.2 Método**

### **4.2.1 Tratamientos**

La metodología empleada en este estudio está enfocada al análisis de la incidencia de cinco variables en el biodeterioro de la madera. Los niveles de las variables en estudio corresponden a dos hongos: *Peniophora gigantea* (PG) y *Coriolus versicolor* (CV); dos métodos silviculturales: monte alto (MA) y monte bajo (MB); dos contenidos de humedad de la madera: 40% y 80%; dos temperaturas: 20°C y 25°C; y tres tiempos de exposición: uno, dos y tres meses. De la combinación de los distintos niveles de las variables indicadas surgen 48 tratamientos, realizándose tres repeticiones para cada uno de ellos.

### **4.2.2 Preparación del medio de cultivo**

El medio de cultivo que se utilizó corresponde a agar-malta, a una concentración de 2% agar y 3% malta, y cuya preparación se desarrolló de la siguiente forma:

En primer lugar se hierve agua destilada en un matraz, luego se pesan las cantidades necesarias de agar-agar y extracto de malta, y se disuelven en forma separada para luego mezclar ambas soluciones gradualmente. Posteriormente, la mezcla se calienta por unos segundos con el fin de obtener una consistencia adecuada.

Una vez preparado el medio de cultivo, se le mide el pH con el fin de verificar que sea el adecuado para un buen desarrollo del hongo; éste debe ser de 5,5. Si es necesario se ajusta con ácido clorhídrico (HCl) o hidróxido de sodio (NaOH), para bajar o subir el pH, respectivamente.

Por último, se colocan 60 ml. aproximadamente de la solución en cada frasco kolle, se dejan enfriar y se tapan con algodón.

### **4.2.3 Esterilización**

Para esterilizar el medio de cultivo, los frascos se llevan a un autoclave a una presión de vapor saturado de 1,05 Kg/cm<sup>2</sup> (120°C), por un tiempo de 20 minutos.

Una vez transcurrido el tiempo, se sacan del autoclave y se dejan enfriar en un lugar plano para que el medio de cultivo cuaje y cubra toda el área basal del frasco.

#### 4.2.4 Inoculación

Para evitar contaminaciones, la inoculación se realiza manteniendo ciertas precauciones, como el limpiar la superficie externa de cada uno de los frascos kolle con hipoclorito de sodio al 1%. Se prepara la cámara de flujo laminar, desinfectando con alcohol la mesa de trabajo y las herramientas a utilizar. Se dejan sobre la mesa los frascos que contienen medio de cultivo y una de las placas con el hongo de ensayo y se enciende la luz ultravioleta y ventilador por 15 a 20 minutos para esterilizar el ambiente.

Pasado este tiempo, se apaga la luz ultravioleta y se procede a inocular, sacando con un asa de platino un trozo de medio de cultivo con el hongo y colocándolo en el centro de cada uno de los frascos. La manipulación de los frascos se realiza en torno a dos mecheros dentro de un radio de 5 cm. aproximadamente, donde se van esterilizando las herramientas de trabajo cada cierto tiempo, sumergiéndolas en alcohol y calentándolas en la llama. Este mismo procedimiento se realiza para cada uno de los hongos.

#### 4.2.5 Incubación

Una vez que los frascos kolle son identificados, señalando el hongo utilizado y fecha de inoculación, se dejan en una cámara de incubación a 25°C, hasta que el hongo se desarrolle y cubra sobre el 50% de la superficie del medio de cultivo contenido en los frascos (Figura N°18). Este tiempo es variable dependiendo del hongo de que se trate; para el caso de *Coriolus versicolor* correspondió a 11 días y para *Peniophora gigantea*, 12 días. Durante el transcurso de este tiempo es necesario realizar controles en forma periódica, para detectar y controlar posibles contaminaciones (Figura N°19).



Figura N°18: Hongos en cámara de incubación

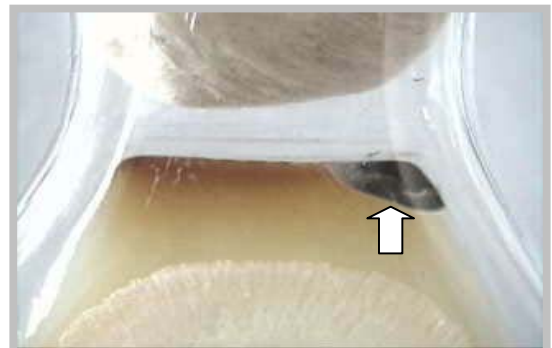


Figura N°19: Frasco con contaminación

#### 4.2.6 Preparación de probetas

La preparación de las probetas se realiza en forma paralela a la incubación de los hongos.

##### 4.2.6.1 Confección de probetas

La madera se corta de manera que el largo de la probeta coincida con la dirección de la fibra, según lo señalado en la norma British Standard 838, obteniendo probetas de corte floreado en la cara de mayor superficie (Figura N°20).

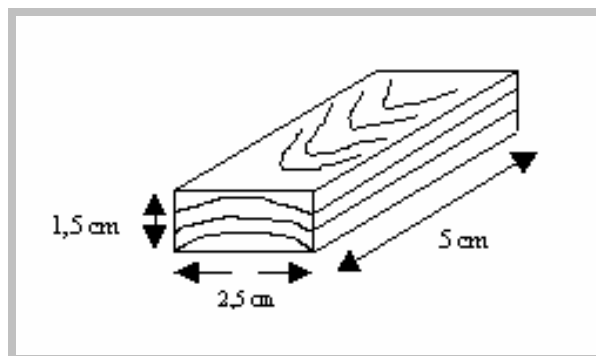


Figura N°20: Dimensiones de probeta

##### 4.2.6.2 Selección de probetas

De las probetas confeccionadas se seleccionan sólo aquellas que no presentan defectos, tales como nudos, grietas, manchas, alabeos, etc., con el fin de que éstos no influyan en la colonización y desarrollo de los hongos; permitiendo de esta forma tener una muestra más homogénea de probetas de madera.

##### 4.2.6.3 Determinación de la densidad básica

Una vez seleccionadas, las probetas se identifican y se saturan en agua. Para acelerar el proceso de saturación se puede aplicar vacío. Posteriormente se mide el volumen verde de las probetas por el método de desplazamiento de agua.

Luego, las probetas son secadas lentamente con el fin de evitar la aparición de grietas hasta alcanzar una temperatura de  $100^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ; controlando su peso en forma sucesiva hasta que éste se estabilice y alcancen su peso anhidro.

En consecuencia, conociendo ambos valores, volumen verde (Vv) y peso anhidro inicial ( $Po_1$ ), se determina la densidad básica ( $Do,v$ ) a través de la siguiente relación:

$$D_{o,v} = Po_1 / Vv$$

#### **4.2.6.4 Acondicionamiento**

Inmediatamente después de obtener el peso anhidro, las probetas son rehidratadas hasta alcanzar un contenido de humedad de 40% u 80% según el tratamiento que corresponda. Para acelerar el proceso de saturación de las probetas se les aplica vacío y se realizan sucesivos controles de peso con el fin de alcanzar el contenido de humedad deseado.

#### **4.2.6.5 Esterilización**

Finalmente, teniendo la mitad de las probetas con un contenido de humedad de 40% y la otra mitad con 80%, se envuelven en papel y se llevan al autoclave para esterilizar mediante vapor saturado a  $1,05 \text{ Kg/cm}^2$  ( $120^{\circ}\text{C}$ ) durante 20 minutos.

#### **4.2.7 Disposición de probetas**

Teniendo las probetas esterilizadas, se procede a ubicarlas en los frascos kolle. Para esto se prepara la cámara de flujo laminar de igual manera que en el proceso de inoculación, se limpia cada uno de los frascos kolle con cloro, y se dejan sobre la mesa de trabajo las probetas para darles un baño de luz ultravioleta.

El sembrado consiste en colocar dos probetas de eucalipto, una proveniente de monte alto y otra de monte bajo, dentro de frascos kolle que contienen los distintos hongos (Figura N°21). Esto se debe realizar tomando las mismas precauciones que en la inoculación, para evitar contaminaciones.

Una vez sembradas las probetas, se rotula sobre cada frasco la fecha de sembrado y el contenido de humedad de las probetas al interior de éste. Posteriormente, se enumeran los frascos y se registra la identificación de las probetas contenidas en cada uno de éstos. Finalmente, los frascos con las probetas se distribuyen en cámaras de incubación, a 20°C y 25°C durante períodos de uno, dos y tres meses.



Figura N°21: Disposición de probetas

#### 4.2.8 Determinación de peso anhidro final

Una vez transcurridos los tiempos establecidos, los frascos se sacan de la cámara de cultivo. Las probetas se limpian, eliminando el micelio desarrollado sobre la madera y se pesan rápidamente para registrar el peso húmedo con que terminaron. Luego, las probetas se llevan a una estufa para secarlas (Figura N°22), controlando su peso en forma sucesiva hasta que no exista variación y alcancen un peso anhidro constante. Al igual que la vez anterior, las probetas se colocan en una campana de vacío, para evitar que ganen humedad antes de pesarlas.

El peso registrado corresponde al peso anhidro final, después del ataque de los respectivos hongos.



Figura N°22: Probetas en estufa de secado



#### 4.2.9 Cálculo de pérdida de peso

Para determinar el porcentaje de pérdida de peso ocasionada por ambos hongos de pudrición blanca en las distintas probetas de madera y bajo las diferentes condiciones de cultivo (temperatura, humedad y tiempo), se utilizó la siguiente relación matemática:

$$\% Pp = [(Po_1 - Po_2) / Po_1] * 100$$

Donde:

Pp: pérdida de peso

Po<sub>1</sub>: peso anhidro inicial, antes del biodeterioro.

Po<sub>2</sub>: peso anhidro final, después del biodeterioro.

#### 4.2.10 Análisis estadístico

a) Análisis estadístico empleado para evaluar hongos y métodos silviculturales

Para determinar si existe diferencia entre la pérdida de peso ocasionada por los distintos hongos de pudrición blanca en madera de eucalipto con diferentes métodos silviculturales, se realizó un análisis de varianza con un diseño bifactorial de efectos fijos (Cuadro N°4).

El modelo de análisis de varianza de dos factores, donde el factor A corresponde a hongo de pudrición y el factor B a método silvicultural, es:

$$Y_{ijl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijl}$$

Con  $i = 1, \dots, a$  ( $a = 2$ )  
 $j = 1, \dots, b$  ( $b = 2$ )  
 $l = 1, 2, \dots, n$  ( $n = 36$ )

Donde:

$Y_{ijl}$  : l-ésima observación de pérdida de peso (%) para el tratamiento (i,j)

$\mu$  : Efecto de la media

$\alpha_i$  : Efecto principal causado por el i-ésimo nivel del factor A (hongo)

$\beta_j$  : Efecto principal causado por el j-ésimo nivel del factor B (tratamiento silvicultural)

$(\alpha\beta)_{ij}$  : Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor A (hongo) con el j-ésimo nivel del factor B (tratamiento silvicultural)

$\varepsilon_{ijl}$  : Error aleatorio

Con el propósito de normalizar la variable respuesta expresada en porcentaje, es necesario, antes de efectuar el análisis de varianza, transformar los valores porcentuales de pérdida de peso (p) en valores angulares ( $y'$ ) con la fórmula  $y' = \arcsen \sqrt{p}$  (Ostle, 1965).

Cuadro N°4: Tabla ANDEVA para el modelo bifactorial de efectos fijos

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	$F_0$
Tratamientos A	$SS_A$	$a - 1$	$MS_A = \frac{SS_A}{a - 1}$	$F_0 = \frac{MS_A}{MS_E}$
Tratamientos B	$SS_B$	$b - 1$	$MS_B = \frac{SS_B}{b - 1}$	$F_0 = \frac{MS_B}{MS_E}$
Interacción	$SS_{AB}$	$(a - 1)(b - 1)$	$MS_{AB} = \frac{SS_{AB}}{(a - 1)(b - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{AB}}{MS_E}$
Error	$SS_E$	$ab(n - 1)$	$MS_E = \frac{SS_E}{ab(n - 1)}$	
Total	$SS_T$	$abn - 1$		

Fuente: Montgomery (1991)

b) Análisis estadístico empleado para determinar los efectos de los factores ecológicos

Para determinar si existe interacción entre los tres factores ecológicos en el proceso de biodeterioro, como son contenido de humedad, temperatura y tiempo de exposición, se realizan análisis de varianza empleando un diseño trifactorial de efectos fijos (Cuadro N°5).

El primer análisis involucra ambos hongos de pudrición de manera conjunta, con doce repeticiones para cada tratamiento. El segundo análisis se hace de manera

individual para cada hongo, con seis repeticiones para cada tratamiento, con el fin de obtener resultados más específicos para cada especie de hongo estudiada.

El modelo de análisis de varianza de tres factores, donde el factor A corresponde al tiempo de exposición, el factor B a la temperatura, y el factor C al contenido de humedad, es:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Con  $i = 1, \dots, a$  ( $a = 3$ )  
 $j = 1, \dots, b$  ( $b = 2$ )  
 $k = 1, 2, \dots, c$  ( $c = 2$ )  
 $l = 1, 2, \dots, n$  ( $n = 12$ )

Donde:

$Y_{ijkl}$  : l-ésima observación de pérdida de peso (%) para el tratamiento (i,j,k)

$\mu$  : Efecto de la media

$\alpha_i$  : Efecto principal causado por el i-ésimo nivel del factor A (tiempo de exposición)

$\beta_j$  : Efecto principal causado por el j-ésimo nivel del factor B (temperatura)

$\gamma_k$  : Efecto principal causado por el k-ésimo nivel del factor C (contenido de humedad)

$(\alpha\beta)_{ij}$  : Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor A (tiempo de exposición) con el j-ésimo nivel del factor B (temperatura)

$(\alpha\gamma)_{ik}$  : Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor A (tiempo de exposición) con el k-ésimo nivel del factor C (contenido de humedad)

$(\beta\gamma)_{jk}$  : Efecto de la interacción del j-ésimo nivel del factor B (temperatura) con el k-ésimo nivel del factor C (contenido de humedad)

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$  : Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor A (tiempo de exposición) con el j-ésimo nivel del factor B (temperatura) y el k-ésimo nivel del factor C (contenido de humedad)

$\varepsilon_{ijkl}$  : Error aleatorio

Cuadro N°5: Tabla ANDEVA para el modelo trifactorial de efectos fijos

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Valor esperado de la media de cuadrados	$F_0$
A	$SS_A$	$a - 1$	$MS_A$	$\sigma^2 + \frac{bcn \sum \tau_i^2}{a - 1}$	$F_0 = \frac{MS_A}{MS_E}$
B	$SS_B$	$b - 1$	$MS_B$	$\sigma^2 + \frac{acn \sum \beta_j^2}{b - 1}$	$F_0 = \frac{MS_B}{MS_E}$
C	$SS_C$	$c - 1$	$MS_C$	$\sigma^2 + \frac{abn \sum \gamma_k^2}{c - 1}$	$F_0 = \frac{MS_C}{MS_E}$
AB	$SS_{AB}$	$(a - 1)(b - 1)$	$MS_{AB}$	$\sigma^2 + \frac{cn \sum \sum (\tau\beta)_{ij}^2}{(a - 1)(b - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{AB}}{MS_E}$
AC	$SS_{AC}$	$(a - 1)(c - 1)$	$MS_{AC}$	$\sigma^2 + \frac{bn \sum \sum (\tau\gamma)_{ik}^2}{(a - 1)(c - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{AC}}{MS_E}$
BC	$SS_{BC}$	$(b - 1)(c - 1)$	$MS_{BC}$	$\sigma^2 + \frac{an \sum \sum (\beta\gamma)_{jk}^2}{(b - 1)(c - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{BC}}{MS_E}$
ABC	$SS_{ABC}$	$(a - 1)(b - 1)(c - 1)$	$MS_{ABC}$	$\sigma^2 + \frac{n \sum \sum \sum (\tau\beta\gamma)_{ijk}^2}{(a - 1)(b - 1)(c - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{ABC}}{MS_E}$
Error	$SS_E$	$abc(n - 1)$	$MS_E$	$\sigma^2$	
Total	$SS_T$	$abcn - 1$			

Fuente: Montgomery (1991)

Al existir diferencias estadísticamente significativas, se utiliza la Prueba de Intervalos Múltiples de Duncan, para comparar las medias de los diferentes tratamientos.

## 5.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Hongos

Al analizar el efecto causado por los distintos hongos empleados en el ensayo (pérdida de peso), se verifica que existen diferencias estadísticamente significativas entre éstos, al considerar un nivel de confiabilidad de un 99% (Apéndice N°1).

Al promediar los tres periodos de tiempo ensayados se puede establecer que la mayor pérdida de peso correspondió a la madera proveniente de monte bajo atacada por *Coriolus versicolor* (CV MB), cuyo porcentaje de pérdida de peso promedio fue de 9,52%, presentándose un valor similar en madera de monte alto, bajo el efecto de esta misma especie correspondiente a 9,28% (CV MA) (Figura N°23).

Los tratamientos en que se utilizó *Peniophora gigantea* presentaron porcentajes bastante más bajos, lográndose una pérdida de peso promedio de 5,08% para madera proveniente de monte bajo y 3,2% para madera de monte alto.

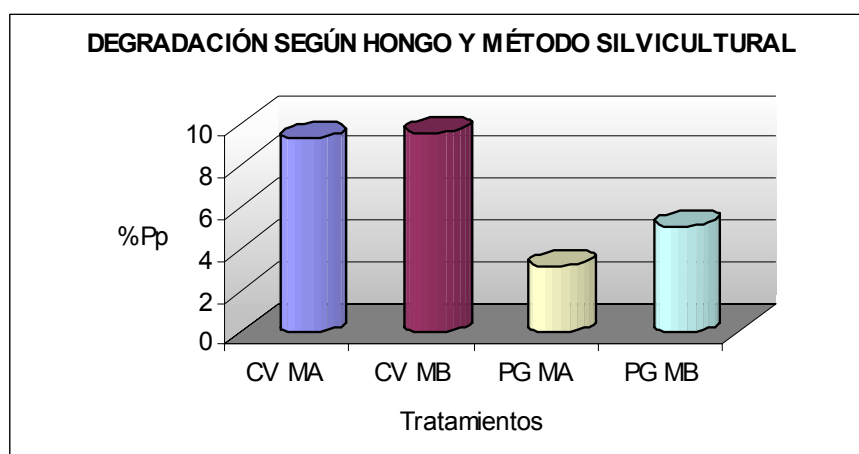


Figura N°23: Pérdida de peso (%) promedio de los tres tiempos de exposición.

Según esto se puede señalar que *Coriolus versicolor* es bastante más agresivo, ya que promediando ambos métodos silviculturales se logró provocar un 5,2% más de pérdida de peso en comparación con *Peniophora gigantea*. Esto se explica por la preferencia que tienen algunas especies de hongos por la madera de latifoliadas, como es el caso de *Coriolus*, a diferencia de *Peniophora* que se encuentra con más frecuencia en madera de coníferas.

En un estudio realizado por Leandro (2002) en donde se determinó la resistencia a la pudrición de madera de melina bajo la acción de *Coriolus versicolor*, se lograron pérdidas de peso promedio de 30% en un período de tiempo de cuatro meses, lo cual ratifica la agresividad de esta especie de hongo.

En relación a las variaciones de pérdida de peso producidas por estos organismos a través del tiempo se puede señalar que la tasa relativa de degradación de *Coriolus versicolor* muestra una tendencia irregular, siendo de 4,77% al primer mes y disminuyendo a 4,17% en el segundo mes, elevándose finalmente a 5,56% en el tercer mes. En cambio, la tasa relativa de degradación de *Peniophora gigantea* disminuye a medida que aumenta el tiempo, variando de un 2,68% en el primer mes a un 1,83% en el segundo mes, y a un 0,71% en el tercer mes (Figura N°24). La disminución de la acción del hongo en este caso se puede deber a que algunas de las condiciones ambientales, como por ejemplo la humedad, no hayan sido suficientes para el desarrollo y crecimiento del hongo, produciéndose una debilitación de éste y por ende de su efecto sobre el material leñoso; o también al envejecimiento del hongo (colonia).

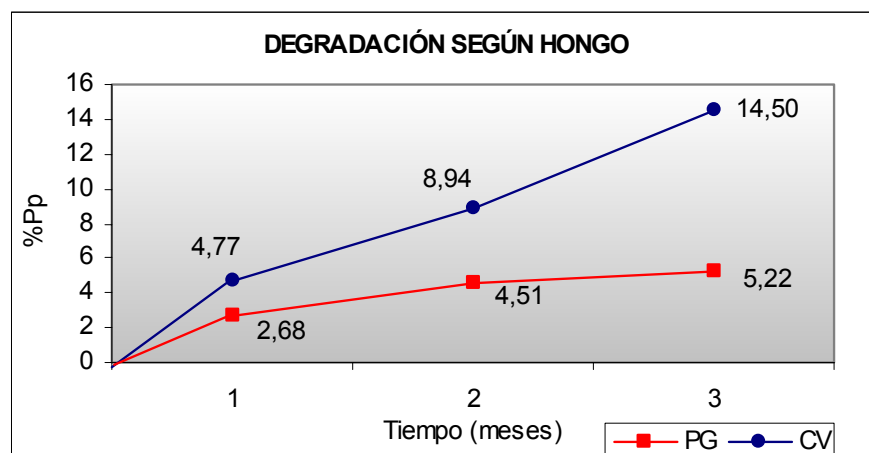


Figura N°24: Pérdida de peso (%) en el tiempo según hongos

## 5.2 Método silvicultural

El análisis estadístico indica que no existe una diferencia significativa en la pérdida de peso entre la madera proveniente de monte alto y monte bajo, ya sea bajo el efecto del hongo *Coriolus versicolor* o *Peniophora gigantea*. Esto último quiere decir que no existe

interacción entre los distintos niveles de las variables estudiadas, es decir, hongo y método silvicultural (Apéndice N°1).

Comparando ambos métodos silviculturales, los mayores porcentajes de pérdida de peso promedio de los tres tiempos de exposición se presentaron en madera de monte bajo, alcanzando un valor promedio de 7,3% contra un 6,23% en madera de monte alto.

La tendencia en el biodeterioro en ambos tipos de madera, se mantiene en los diferentes períodos de tiempo, alcanzando monte bajo los mayores porcentajes de pérdida de peso durante los tres meses. Sin embargo, la diferencia entre la madera de monte bajo y monte alto no supera el 1%, a excepción del segundo mes en donde ésta alcanza un 2,3% (Figura N°25).

En cuanto a la tasa de degradación, en el segundo período de tiempo los hongos disminuyen su acción sobre la madera proveniente de monte alto y la aumentan en madera de monte bajo, alcanzando una tasa promedio de 4,1% de pérdida de peso mensual.

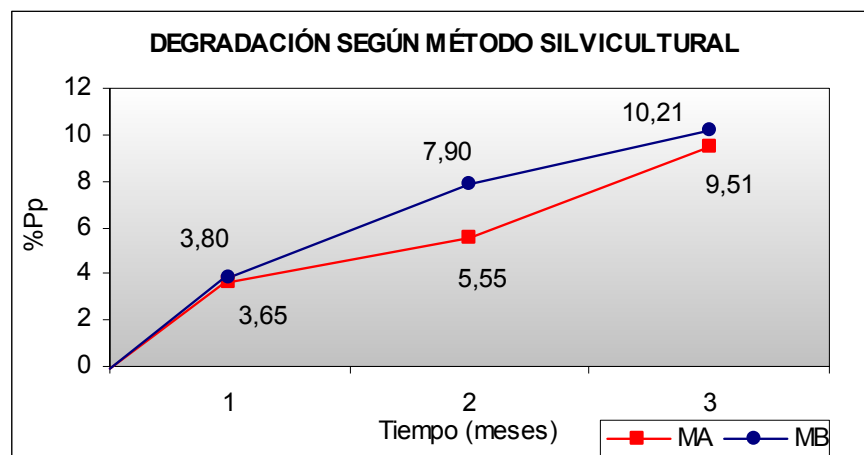


Figura N°25: Variación de la pérdida de peso (%) según método silvicultural

### 5.2.1 Método silvicultural y densidad

Las propiedades del material leñoso se ven afectadas por la aplicación o no, de diferentes métodos silviculturales a los árboles. No obstante, existen otros factores como los de sitio, que influyen en el desarrollo de éstos y por ende en las propiedades de la

madera, por lo que es difícil determinar de manera cuantitativa el efecto de la aplicación de los tratamientos silviculturales, como es el caso de monte alto y monte bajo. Sin embargo, en los resultados se observa que la madera proveniente de monte bajo presenta valores de densidad menores a aquella proveniente de monte alto, asociándose a esta última las menores pérdidas de peso en los tres tiempos de ensayo.

Los valores de densidad en madera de monte bajo son aproximadamente un 10% menores a los de madera proveniente de monte alto, presentándose en ésta última la densidad máxima y el valor mínimo en madera proveniente de monte bajo (Cuadro N°6).

Cuadro N°6: Variación de la densidad según método silvicultural

Densidad básica (gr/cm <sup>3</sup> )	Método silvicultural	
	MA	MB
Tiempo de exposición		
1 mes	0,5261	0,4641
2 meses	0,5151	0,4659
3 meses	0,5240	0,4698
<i>Promedio</i>	0,5217	0,4666
<i>Máximo</i>	0,5598	0,5224
<i>Mínimo</i>	0,4593	0,4219
<i>Desviación estándar</i>	0,0195	0,0177

Méndez (2003), en un estudio similar evaluó la acción de un *Basidiomycetes* de pudrición blanca sobre madera de eucalipto, obteniendo los mayores porcentajes de pérdida de peso en aquellas maderas con menor densidad, alcanzando una pérdida promedio de 2,87% en un período de 45 días. Además, señala que este comportamiento puede explicarse debido a que existe abundante oxígeno libre en madera de albura (menor densidad), región rica en almidón y otros carbohidratos de bajo peso molecular; a diferencia de madera de duramen (mayor densidad) la cual presenta menos oxígeno libre, mayor cantidad de extraíbles e incluso toxinas que la hacen menos susceptible a ser degradada por el hongo.

A pesar de que la madera de mayor densidad es más difícil de colonizar por el hongo, una vez colonizada, la alta densidad contribuye a la degradación del material leñoso ya que las condiciones ambientales al interior de éste son más estables que en madera de densidad más baja (Donoso J., comunicación personal).



Para complementar el estudio se realizó un análisis de regresión múltiple para las variables densidad, tratamiento silvicultural y pérdida de peso (%), obteniéndose un bajo coeficiente de correlación ( $r = 0,1778$ ). Además, el análisis de varianza realizado a partir de la regresión indica que no existe una relación entre estas variables (Apéndice N°2).

### 5.3 Factores ecológicos

#### 5.3.1 Análisis general

El análisis de varianza señala que existen diferencias significativas entre los distintos niveles de los factores estudiados, no así en sus interacciones, a un nivel de confianza del 99%. Según esto, se puede afirmar que existe diferencia entre las distintas temperaturas, contenidos de humedad y tiempos utilizados. Para este último factor en estudio, y de acuerdo al análisis de Duncan, las diferencias se presentan sólo entre el primer y tercer mes de ataque (Apéndice N°3).

En términos generales con respecto a las variables temperatura y humedad de la madera, los mayores porcentajes de pérdida de peso se presentaron en aquellos tratamientos con la temperatura más alta (25°C) y con madera a un contenido de humedad de 80% (Figura N°26).

Producto de la combinación de los distintos niveles de los tres factores en estudio, resultan doce tratamientos diferentes según se indica en el Cuadro N°7.

Cuadro N°7: Tratamientos según niveles de factores

Tratamiento	Tiempo (Mes)	T° (°C)	CH (%)	Pérdida de peso (%)
T1	1	20	40	2,59
T2	1	20	80	3,80
T3	1	25	40	3,13
T4	1	25	80	5,38
T5	2	20	40	4,42
T6	2	20	80	8,21
T7	2	25	40	4,72
T8	2	25	80	9,54
T9	3	20	40	5,17
T10	3	20	80	11,26
T11	3	25	40	10,34
T12	3	25	80	12,67

Dentro de los tratamientos, aquellos con un contenido de humedad de 80% presentaron siempre una mayor biodegradación comparados con aquellos con 40% de contenido de humedad. Esto se puede comprobar al comparar T1 con T2, T3 con T4, y así sucesivamente. Algo similar ocurre con el factor temperatura, presentándose siempre el mayor porcentaje de pérdida de peso en aquellos tratamientos con la temperatura más alta, como es posible observar al comparar T1 con T3, T2 con T4, etc. (Figura N°28).

Por otro lado, también se aprecia un aumento en el deterioro de la madera bajo los diferentes tratamientos al aumentar el factor tiempo, lo que se refleja al comparar T1, T5 y T9; T2, T6 y T10, etc. (Figura N°27).

En el tratamiento T12 se produjo la mayor degradación de madera, alcanzando un porcentaje de pérdida de peso cercano al 13%; correspondiente a la combinación de los mayores niveles de temperatura, contenido de humedad y tiempo, es decir, 25°C, 80% y 3 meses, respectivamente (Figura N°27).

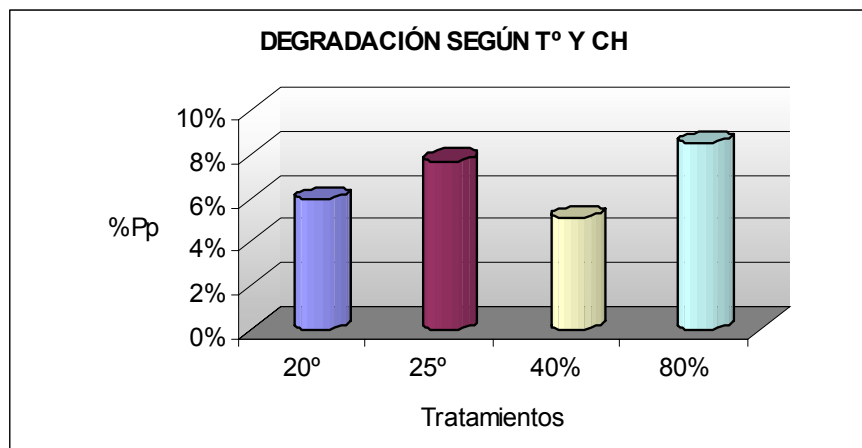


Figura N°26: Pérdida de peso (%) según T° y CH

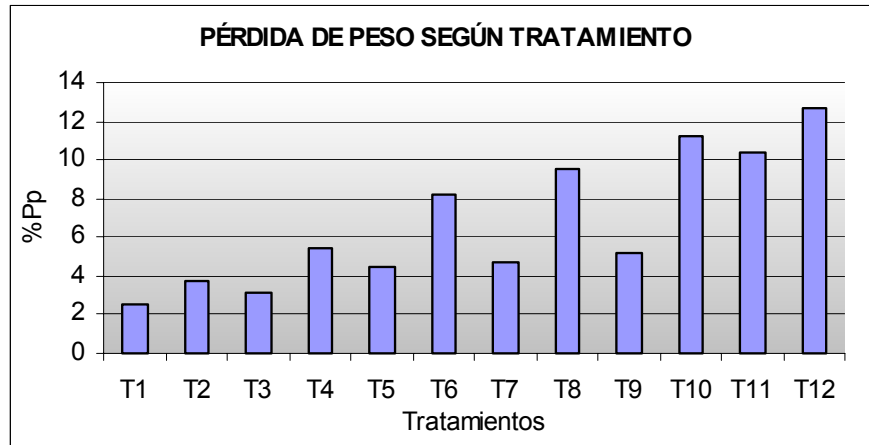


Figura N°27: Variación de pérdida de peso según tratamientos

El porcentaje de pérdida de peso muestra un incremento a través del tiempo, alcanzando un valor promedio cercano al 10% en el tercer mes. Con respecto a la tasa de biodeterioro, no hubo una gran diferencia entre los intervalos de tiempo, presentándose un aumento del 3% entre el primer y segundo mes, y un 3,13% entre el segundo y tercer mes (Figura N°28).

La variación del porcentaje de pérdida de peso en el tiempo nos demuestra que mientras existan las condiciones necesarias para el hongo, éste puede seguir desarrollándose y degradando la madera.

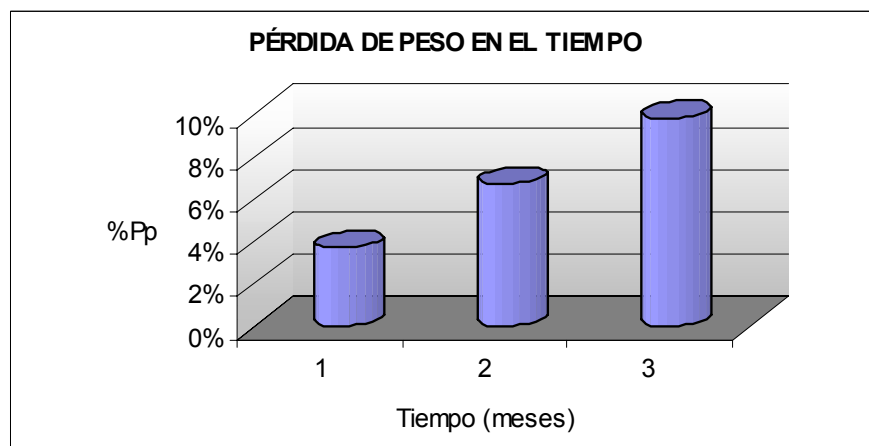


Figura N°28: Variación de pérdida de peso (%) en el tiempo

El comportamiento en el tiempo de la pérdida de peso asociada a las diferentes combinaciones en los niveles de los factores temperatura y contenido de humedad, refleja que esta última variable es el factor que más influye en el desarrollo de los hongos, puesto que los mayores porcentajes de pérdida de peso se lograron en aquellos tratamientos con humedad de 80% (temperaturas de 25°C y 20°C) (Figura N°29). Esto concuerda con lo planteado por Findlay (1967), quien indica que la humedad es lejos el factor más influyente en el crecimiento de estos organismos.

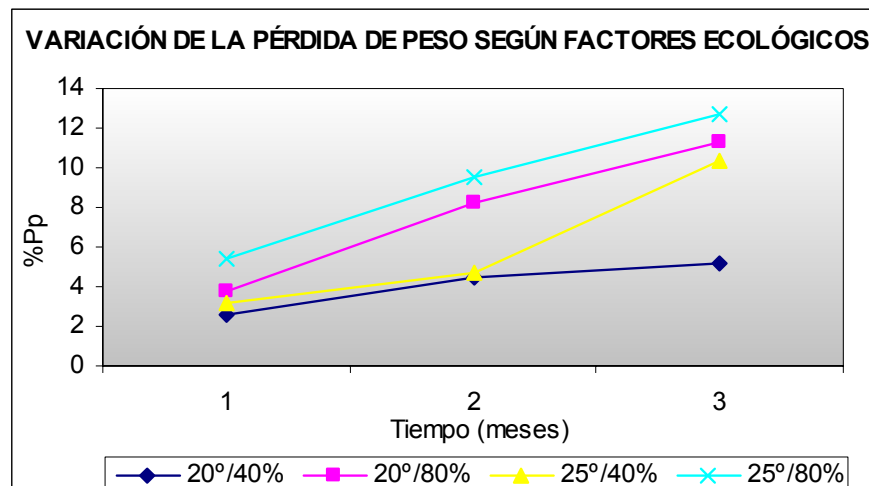


Figura N° 29: Tendencia del proceso de pudrición según T° y CH

### 5.3.2 Análisis según especie de hongo

#### 5.3.2.1 *Coriolus versicolor*

El análisis de varianza para esta especie de hongo en particular señala que existen diferencias significativas entre los distintos niveles de tiempo, temperatura y contenido de humedad de la madera, a un nivel de confianza del 99%. Además, existe interacción entre los factores tiempo y temperatura, es decir, el efecto de un factor sobre la variable respuesta que en este caso corresponde a la pérdida de peso, es diferente para los distintos niveles del otro factor.

En relación al factor tiempo, el análisis de comparaciones múltiples de medias según Duncan, indica diferencias entre cada uno de los diferentes tiempos (Apéndice N°4).

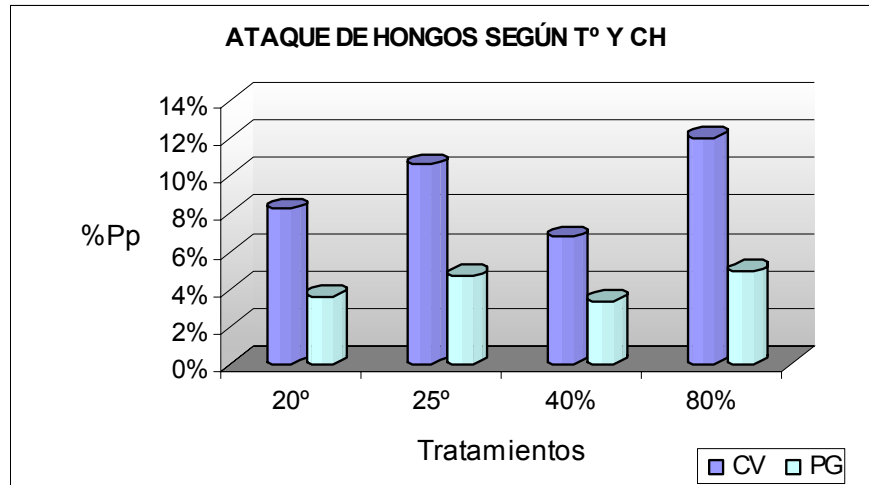


Figura N°30: Variación del %Pp por hongo según T° y CH

En general, ambos hongos muestran una tendencia a degradar con mayor facilidad el material leñoso cuando las condiciones de temperatura y humedad son más altas (Figura N°30). Al igual que las plantas, este tipo de organismos se desarrolla más rápidamente en climas cálidos y húmedos, donde encuentran la temperatura y humedad necesarias para su crecimiento (Ramírez, 2001).

Con respecto al contenido de humedad inicial de la madera, el estudio indica que las mayores pérdidas de peso se producen en los tratamientos con un contenido de humedad más alto. Un comportamiento similar se aprecia en la temperatura, con algunas excepciones como los tratamientos T7 y T8; los cuales presentaron una menor pérdida de peso, 5,64% y 12,08% respectivamente, comparados con los tratamientos T5 y T6, que con temperatura más baja alcanzaron una pérdida de 5,73% y 12,32% (Figura N°31). Estas excepciones se deben a la variabilidad inherente a este tipo de ensayos biológicos.

La mayor pérdida de peso, 20,06%, se presentó en el tratamiento T12, correspondiente al nivel mayor de tiempo, temperatura y contenido de humedad (3 meses, 25°C, 80%, respectivamente) (Figura N°31).

### 5.3.2.2 *Peniophora gigantea*

El análisis estadístico indica, con un 99% de confianza, que existen diferencias significativas entre los diferentes niveles de los factores tiempo, temperatura y contenido de humedad, no así en la interacción de éstos.

Según el análisis de comparaciones múltiples de Duncan, para el factor tiempo, las diferencias se presentan entre los períodos de 1 y 2 meses, y entre 1 y 3 meses, no existiendo una diferencia significativa entre el segundo y tercer período de tiempo de exposición (Apéndice N°5).

El mejor tratamiento, T8, correspondió a aquel que combina una temperatura de 25°C, un contenido de humedad de 80% y dos meses de exposición, donde se alcanzó una pérdida de peso de 7,01% (Figura N°31).

Esta especie de hongo también muestra mayores porcentajes de pérdida de peso en aquellos tratamientos con temperatura y contenido de humedad más altos, a excepción del tratamiento T12 en el cual se produjo una menor degradación de la madera (5,29%) comparada con los tratamientos T11 y T10, de menor contenido de humedad y temperatura (6,02% y 6,52%), respectivamente. Esto último puede explicarse con la variabilidad de la madera, junto con la variación en este tipo de ensayos biológicos.

En un estudio de condiciones óptimas para el crecimiento de distintas especies, Silva (2002) señala una temperatura ideal de 25°C para el desarrollo de este hongo, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

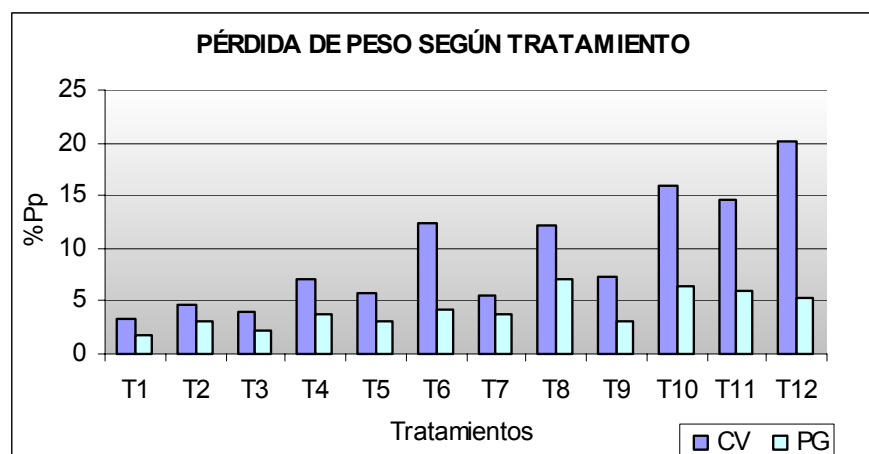


Figura N°31: Variación de pérdida de peso(%) de ambos hongos según tratamiento

### 5.3.3 Variación del contenido de humedad de la madera

La mayor parte de las probetas ganaron humedad durante el ensayo, terminando con un contenido de humedad superior al inicial al finalizar el período de exposición establecido, aumentando hasta un 44,29% su humedad. Este aumento del contenido de humedad en la madera se debe a la liberación de agua, producto del proceso de depolimerización de los componentes de la pared celular por la acción fúngica. La excepción se presentó en aquellas probetas expuestas a una temperatura de 25°C durante el período máximo de tiempo (3 meses), en las cuales la pérdida de humedad promedio correspondió en el caso de *Coriolus versicolor* a 5,26% y 11,61% para los tratamientos con contenido de humedad inicial de 40% y 80%, respectivamente. Del mismo modo, en *Peniophora gigantea* la pérdida de humedad promedio alcanzó un 20,93% correspondiente al tratamiento con contenido de humedad inicial de 80%. Este comportamiento, en ambas especies de hongos, puede deberse en gran medida a que estas probetas fueron sometidas a una temperatura más elevada por un mayor periodo de tiempo, favoreciendo así la pérdida de humedad. Sin embargo, los contenidos de humedad finales promedio sobrepasaron el 50%. Además con respecto a la temperatura, aquellos tratamientos con 20°C terminaron siempre con mayor humedad final que aquellos con 25°C, en cada uno de los tiempos ensayados y para cada especie de hongo.

Las probetas de madera aumentaron su humedad, en promedio, hasta en un 26,7% en el caso de *Coriolus* y en un 28% en *Peniophora* (Figura N°32). El mayor incremento de humedad se produjo en el segundo mes para ambas especies de hongos, alcanzando las probetas valores de contenido de humedad promedio superiores a 86%.

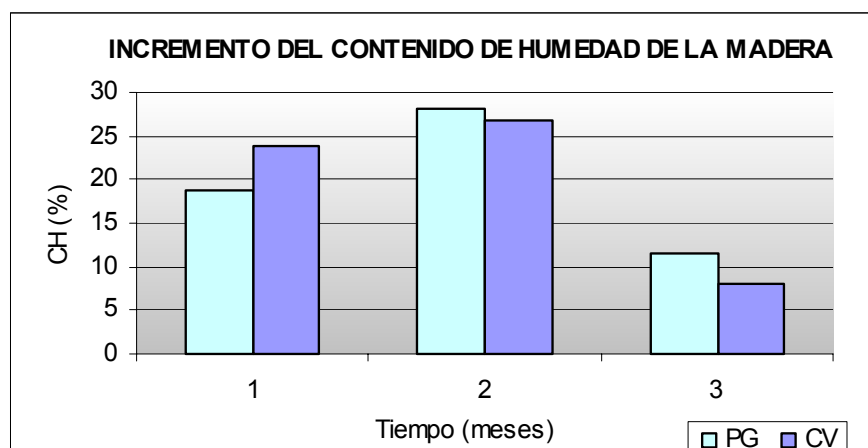


Figura N°32: Aumento promedio del contenido de humedad de las probetas

#### 5.4 Estado de las probetas

En términos generales *Coriolus versicolor* desarrolló un micelio blanco, fino y pulverulento, bastante más tenue y menos denso comparado con la otra especie en estudio. El micelio desarrollado sobre la superficie de las probetas durante el primer mes cubrió sólo parte de ellas. En los meses siguientes éste cubrió la madera en su totalidad, con algunas excepciones en donde no se apreció a simple vista un crecimiento del hongo sobre la superficie. En algunos casos logró desarrollar un micelio de consistencia más algodonosa y densa en las caras laterales de las probetas, correspondientes a cortes transversales de madera (Figura N°33). Esto se puede explicar por la existencia de vías más fáciles de colonizar por parte del hongo, debidas a la anatomía propia del material leñoso.

*Peniophora gigantea* desarrolló un micelio más notorio y grueso, blanco, algodonoso y muy abundante, presentándose en algunos casos bastante fibroso (Figura N°34) y en otros moteado (Figura N°35). En algunas probetas de madera se presentó un crecimiento exuberante (aéreo) en zonas localizadas de la superficie, desarrollando racimos de hifas de un color más amarillento (Figura N°36). A partir del primer mes, esta especie desarrolló un notorio micelio sobre la superficie de la madera, cubriendo tenue y parcialmente las probetas. En los meses siguientes el micelio se volvió más denso, intensificando con esto su color blanquecino y cubriendo completamente la superficie de las probetas sin permitir ver la madera a través de él.



Figura N°33: Micelio desarrollado por CV



Figura N°34: Micelio fibroso de PG





Figura N°35: Micelio moteado de PG



Figura N°36: Micelio aéreo de PG

A simple vista, no existe una diferencia entre el estado final de las probetas de madera provenientes de monte alto y monte bajo. Sin embargo, se puede señalar que durante el ensayo algunas probetas de monte bajo presentaron un menor desarrollo del micelio en su superficie, coincidiendo este comportamiento con una menor acción del hongo expresada en el porcentaje de pérdida de peso. Esto se puede constatar en la figura N°37, donde la probeta de monte bajo obtuvo una menor pérdida (9,13%) comparada con la probeta de monte alto (16,72%). Una situación similar puede observarse en la figura N°38, donde monte bajo logró un 9,50% de pérdida de peso y monte alto un 10,97%.



Figura N°37: Probetas MB (izq) y MA (der)



Figura N°38: Probetas MB (izq) y MA (der)

A pesar de esto no es posible establecer una tendencia en relación a la acción de los hongos sobre las probetas provenientes de árboles con distintos métodos silviculturales, ya que los valores promedio de pérdida de peso indican lo contrario. Con esto se puede concluir que la apariencia externa de las probetas durante el ensayo y el desarrollo del micelio sobre éstas no refleja necesariamente la tasa real de biodegradación a nivel microscópico o al interior de la madera.

El daño provocado por los hongos en los diferentes períodos de tiempo se ve reflejado en la apariencia externa de las probetas una vez secas, apreciándose a simple vista un aumento gradual en la decoloración y deformación de la madera (Figuras N°39, 40, 41).

Es importante destacar que la degradación del material leñoso provocada por la acción de los hongos, la cual se refleja en este estudio en la pérdida de peso de las probetas, y posiblemente en la disminución del contenido de lignina (substancia cementante y que otorga rigidez a la pared celular) trae como consecuencia una disminución de la resistencia de la madera, lo que provoca una mayor contracción y deformación al secarse, perdiendo las probetas sus dimensiones iniciales (colapso).

La pérdida de lignina se aprecia de manera más clara en el plano tangencial de la madera, donde se presenta una decoloración irregular en algunas zonas apareciendo manchas de color blanquecino (Figura N°42). Esta apariencia final de las probetas atacadas, demuestra que se trata de hongos de pudrición blanca.



Figura N°39: Probetas MB con 1 mes de biodeterioro



Figura N°40: Probetas de MB con 2 meses de biodeterioro



Figura N°41: Probetas de MB con 3 meses de biodeterioro



Figura N°42: Madera biodegradada

## 6 CONCLUSIONES

Referente a la degradación causada por las dos especies de hongos de pudrición blanca ensayadas sobre madera de eucalipto, *Coriolus versicolor* fue bastante más agresivo provocando un porcentaje de pérdida de peso promedio de 9,4%, comparado con *Peniophora gigantea* que sólo alcanzó un valor promedio de 4,1%.

*Coriolus versicolor* logró mayores porcentajes de pérdida de peso en los diferentes tiempos ensayados, alcanzando valores de 4,77%, 8,94% y 14,5% para períodos de tiempo de 1, 2 y 3 meses, respectivamente. Además mostró una tasa de degradación irregular, disminuyendo en el segundo mes y aumentando en el tercer mes de exposición.

*Peniophora gigantea* provocó una menor degradación de las probetas de madera, alcanzando porcentajes de pérdida de peso promedio de 2,68%, 4,51% y 5,22% para 1, 2 y 3 meses, respectivamente. Su tasa de degradación disminuyó en forma continua con el tiempo.

A pesar de no existir diferencia estadísticamente significativa entre el biodeterioro de madera proveniente de la aplicación de dos diferentes métodos silviculturales, es importante destacar que las probetas provenientes de monte bajo experimentaron una pérdida de peso promedio superior a la de monte alto; 7,3% y 6,23%, respectivamente.

La madera proveniente de monte bajo fue más fácilmente degradada por los hongos, alcanzando valores promedio de pérdida de peso de 3,8%, 7,9% y 10,21% para los periodos de tiempo de 1, 2 y 3 meses, respectivamente.

La madera proveniente de monte alto presentó menores valores de pérdida de peso durante los tres períodos de tiempo, 1, 2 y 3 meses, siendo éstos de 3,65%, 5,55% y 9,51%, respectivamente.

Se presentó una baja correlación ( $r = 0.1778$ ) entre la densidad de la madera, tratamiento silvicultural y pérdida de peso provocada por la acción de los hongos estudiados.

En relación a los factores ecológicos, el factor humedad inicial de la madera parece ser el que más influye en el porcentaje de pérdida de peso, ya que las probetas con

mayor contenido de humedad (80%) alcanzaron una mayor degradación, comparadas con aquella madera con 40% de humedad inicial. A su vez, la mayoría de las probetas finalizaron el ensayo con un contenido de humedad mayor al inicial.

Con respecto a la temperatura, al comparar los dos niveles de este factor, los mayores porcentajes de pérdida de peso se presentaron en aquellos tratamientos con temperatura más alta (25°C).

Referente al factor tiempo, ambas especies de hongos presentaron los mayores promedios de pérdida de peso en el período de tiempo de tres meses, alcanzando valores de 14,5% en *Coriolus* y 5,22% en *Peniophora*.

La mejor combinación de los factores tiempo, temperatura y humedad correspondió al tratamiento T12, con 3 meses, 25°C y 80%, respectivamente, alcanzando una pérdida de peso promedio de 12,67%.

El estudio de los factores ecológicos para la especie *Coriolus versicolor* reflejó una interacción entre los factores tiempo y temperatura. Además, la mayor degradación causada por esta especie (20,06%) se logró en el tratamiento de mayor tiempo, temperatura y humedad inicial de la madera, es decir, 3 meses, 25°C y 80% respectivamente (T12).

El estudio de los factores ecológicos para la especie *Peniophora gigantea* muestra, al igual que *Coriolus*, un aumento del biodeterioro al utilizar mayores temperaturas y contenidos de humedad, provocando la mayor pérdida de peso (7,01%) en el tratamiento T8, que combina un tiempo de 2 meses, una temperatura de 25°C y un contenido de humedad inicial de la madera de 80%.

El desarrollo del micelio de los hongos sobre la superficie de las probetas no tiene relación directa con la acción de estos organismos al interior de la madera. Tal acción se ve reflejada tenuemente en la apariencia final de las probetas una vez secas.

## 7 RECOMENDACIONES

Considerando las dos especies de hongos ensayadas, *Coriolus versicolor* mostró mayor efectividad que *Peniophora gigantea* en el ataque a madera de eucalipto, por lo que podría recomendarse esta especie para ser utilizada en la deslignificación inicial de madera de eucalipto previo al proceso de pulpaje.

En cuanto al método silvicultural aplicado a *Eucalyptus globulus* para fines pulpables, se recomienda la madera proveniente de monte bajo por ser más susceptible al ataque de estos organismos.

Para conocer la tasa real de deslignificación de la madera provocada por estos organismos, se recomienda hacer estudios de la composición química de la madera residual, con el objetivo de determinar las pérdidas exactas de lignina, celulosa y poliosas (hemicelulosas).

Finalmente, se recomienda repetir este estudio con otros niveles de las variables analizadas, es decir, diferentes temperaturas, contenidos de humedad inicial de la madera, etc., con el fin de conocer el comportamiento de los hongos en rangos más amplios de estas variables.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

- AKHTAR, M.; BLANCHETTE, R.; KENT, T. 1997. Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology, "Fungal Delignification and Biomechanical Pulping of wood". Vol 57: 159-195.
- ALEXOPOULOS, J. 1966. Introducción a la micología. Buenos Aires, Editorial Universitaria. 568 p.
- ANÓNIMO. 1968. Marine Borers and Methods of Preserving Timber Their Attack. Forest Products Research Laboratory. Leaflet N°46.
- BODIG, J.; JAYNE, B. 1993. Mechanics of Wood and Wood Composites. Krieger Publishing Company. Malabar, Florida. E.E.U.U.
- CAMERATTI, G. 1969. Estudio de la brotación de tocones de *Eucalyptus globulus* Lab. Tesis Ing. Forestal. U. Austral de Chile, Facultad de Ingeniería Forestal. Valdivia. 50 p.
- CARTWRIGHT, M. 1958. Decay of timber and its prevention. London, Her Majesty`s Stationery Office. 332 p.
- CARTWRIGHT, M. and FINDLAY, W. 1950. Decay of timber and its prevention. Forest Products Research Laboratory. Chemical Publishing Co. INC. Brooklyn, N.Y. 294 p.
- COLONELLI, P. 1996. Efecto del tratamiento con hongos de pudrición blanca sobre pasta kraft, su refinación y propiedades físico-mecánicas del papel. Tesis Universidad de Chile. 79 p.
- DEL POZO, C. y PARRA, P. 1984. Durabilidad natural. Análisis de algunos factores establecidos en la norma americana (ASTM) y en la norma británica (BS). Tesis Universidad de Chile. 117 p.

- DONOSO J. y GONZALEZ, J. 1999. Influence of ecological factors in the behavior of white decay fungi. 53<sup>rd</sup> APPITA Annual General Conference. Rotorua, New Zeland. Appita (1) : 75-78.
- EATON, R.; HALE, M. 1993. Wood. Decay, Pests and Protection. Chapman Hall, London. 546 p.
- ESLYN, W. and CLARK, J. 1979. Wood bridges. Decay Inspection and Control. U.S., Dep. Agric. Handb. N°557. 32 p.
- FENGEL, D. Y WEGWNER, H. 1984. Wood Chemistry ultraestructure and reactions. D.W. de Grmyter, Berlín. 422 p.
- FINDLAY, W. 1967. Timber pests and Diseases. Pergamon Press. 1º Edición. London, England. 280 p.
- GOMEZ, A. 1995. Evaluación de la biodegradación de la lignina en *Pinus radiata* D. Don por la acción de hongos de pudrición blanca y su efecto en pulpaje kraft. Tesis Universidad de Chile. 83 p.
- GOMEZ, M.; ECHENIQUE, R.; SALINAS, R. 1969. Índices de laboratorio sobre resistencia de la madera a la pudrición en once especies forestales mexicanas. Boletín Técnico. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. México. 40 p.
- GONZALEZ, J.; CARMONA, R. 1998. El Biopulpaje, una alternativa para coníferas. El Papel. Revista de la Industria Papelera para España y América Latina. N°84.2000
- GONZALEZ, J.; DONOSO, J.; ALLISON, B.; VALENZUELA, C. 2001. Biotechnologies for Kraft pupl production: results of experiences in Chile and future perspectives. Revue ATIP 55 (5) :14-17.
- GONZALEZ, J.; DONOSO, J. 1999. Biopulping in Radiata pine and Eucalyptus globulus. 32º Congreso Anual de Celulosa y Papel. ABTCP. Sao Paulo, Brasil.

- HERRERA, M.; IPINZA, R. 1978. Contribución al Conocimiento del Proceso de Pudrición causado por *Gleosoma vitellinum* (Lev.) Bres., sobre *Nothofagus dombeyi* (Mirb) Bl. Memoria Ingeniero Forestal. Facultad Cs. Agrarias y Forestales. Universidad de Chile.
- HICKIN, N. 1965. The dry rot problem. British standard 838:1961. The Rentokil Library, 2º Edition. Hutchinson of London. 116 p.
- HIGHLEY, T. 1999. Biodeterioration of Wood. Forest Products Laboratory. Wood handbook - Wood as an engineering material. Department of Agriculture, Forest Service. Madison, WI. 463 p
- HIGUCHI, T. 1990. Lignin biochemistry: Biosíntesis and biodegradation. Wood Sci. Technol. 24: 23-63.
- HUNT, G. y GARRAT, G. 1962. Preservación de la madera. Salvat editores, S.A. Barcelona, Madrid. 486 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION. 1979. Norma Chilena Oficial. Maderas. Clasificación de maderas comerciales por su durabilidad natural. NCh 789/1 of.87. Chile.
- KUHAD, R.C.; SINGH, A.; ERIKSSON, K. 1997. Biotechnology in the Pulp and Paper Industry, Microorganisms and their Enzymes Involved in the Degradation of Plant Fiber Cell Walls. p: 45-125.
- LEANDRO, L. 2002. Las maderas de plantaciones forestales. Resistencia a la pudrición de la madera de melina de dos zonas de Costa Rica, utilizando el hongo *Trametes versicolor*. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Centro de investigación en integración bosque industria. Año 2, N° 2. p:4. [En línea]. Disponible en el sitio <http://www.itcr.ac.cr/profesores/rmoya/melinateca/boletin%20las%20maderas%20de%20plantaciones%20forestales/boletin%204.pdf>. Consultada el 10/3/04.
- LIBBY, C. 1967. Ciencia Y Tecnología sobre pulpa y papel. Tomo: Pulpa. Mc Graw-Hill Co.Inc. 534 p.



- MATTHEWS, J. 1991. *Silvicultural Systems*. Oxford Science Publications. 284 p.
- MESON, M. y MONTOYA, M. 1993. *Silvicultura Mediterránea (El cultivo del monte)*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 368 p.
- MESSNER, K. 1998. *Forest Products Biotechnology*. Edit by Bruce, A. And Palfreyman, j. Chapter 3: Biopulping: 63-82p. Taylor & Francis Publishers. Scottish Institute for Wood Technology. University of Abertay Dundee, Scotland. UK. 326 p.
- MONTGOMERY, D. 1991. *Diseño y Análisis de Experimentos*. Grupo Editorial Iberoamérica S.A. México. 589 p.
- OSTLE, B. 1965. *Estadística aplicada: técnicas de la estadística moderna, cuándo y dónde aplicarlas*. Editorial Limusa, México. 629 p.
- PAVEZ, R. 2001. Detección de pudrición central en trozas de lenga (*Nothofagus pumilio* (Poepp et Endl.) Krasser) mediante atenuación de radiación gamma. Memoria Ingeniero Forestal. Departamento de Ingeniería de la madera. Escuela de Cs. Forestales. Universidad de Chile. 224 p.
- PESUTIC, S. 1978. Análisis de estructura-estado sanitario en un bosque de Lengua. Memoria Ingeniería Forestal. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Forestales.
- RAMIREZ, M. 2001. Detección de la pudrición central en trozas de lenga (*Nothofagus pumilio* (Poepp et Endl.) Krasser) mediante técnicas ultrasónicas. Memoria Ingeniero Forestal. Departamento de Ingeniería de la madera. Escuela de Cs. Forestales. Universidad de Chile. 208 p.
- SILVA, R. 2002. Antibiosis entre hongos lignívoros y hongos antagónicos para efecto del biopulpaje de madera de *Pinus radiata*. Memoria Ingeniero Forestal. Universidad de Chile. 120 p.

- SILVA, R. 2002. Obtención de enzimas lignolíticas producidas por hongos basidiomicetos. Evaluación de su aplicación al blanqueo de pastas de madera. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid. 211 p.
- SMITH, W. 1970. Tree pathology. A short introduction. London, Academic Press. 309 p.
- STEGEL, M. and SISLER, H. 1977. Antifungal compounds. Discovery development and uses. New york, Senior Ed. Vol 1.
- THE MARY T. AND FRANK L. HOFFMAN FAMILY FOUNDATION. 2001-2002. The fungus among us. –*Coriolus versicolor* [En línea]. Disponible en el sitio <http://www.all-creatures.org/pica/fau-coriolusversicolor.html>. Consultada el 24/4/03.
- TORRES, H. 1971. Maderas. Corporación Chilena de la Madera. 263 p.
- TUSET, R.; DURAN, F. 1986. Manual de maderas comerciales, Equipos y Procesos de utilización. Ed. Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay. 688 p.
- URIBE, C. 2002. Evaluación del ataque de horadores marinos en la madera de obras portuarias en Chile. Memoria Ingeniero Forestal. Departamento de Ingeniería de la madera. Escuela de Cs. Forestales. Universidad de Chile. 48 p.
- VITA, A. 1996. Los tratamientos silviculturales. Facultad de Cs. Agrarias y Forestales. Departamento de Silvicultura. 147 p.
- WORRAL, J.; ANAGNOST, S.; ZABEL, R. 1997. Comparison of wood decay among diverse lignicolous fungi. *Mycologia*, 89 (2) : 199-219.
- ZABEL, R. Y MORRELL, J. 1992. Wood Microbiology. Decay and its prevention. Chapter 8 and 9. Harcourt Brace Jovanovich Publishers. Academic Press, Inc. USA. 476 pp.

## APÉNDICE N° 1

Cuadro N°8: Tabla ANDEVA para modelo bifactorial de efectos fijos

Fte. de variación	GL	SC	CM	Fo	Fcrit (0.01)
A (Hongo)	1	1173,87	1173,87	54,61	6,63
B (Mét. silvicultural)	1	47,48	47,48	2,21	6,63
AB	1	58,42	58,42	2,72	6,63
Error	140	3009,18	21,49		
Total		4288,95			

## APÉNDICE N° 2

Cuadro N°9: Tabla ANDEVA para regresión múltiple

Fte. de variación	GL	SC	CM	Fo
Regresión	2	122,54	61,27	2,30
Residuos	141	3754,25	26,63	
Total	143	3876,79		

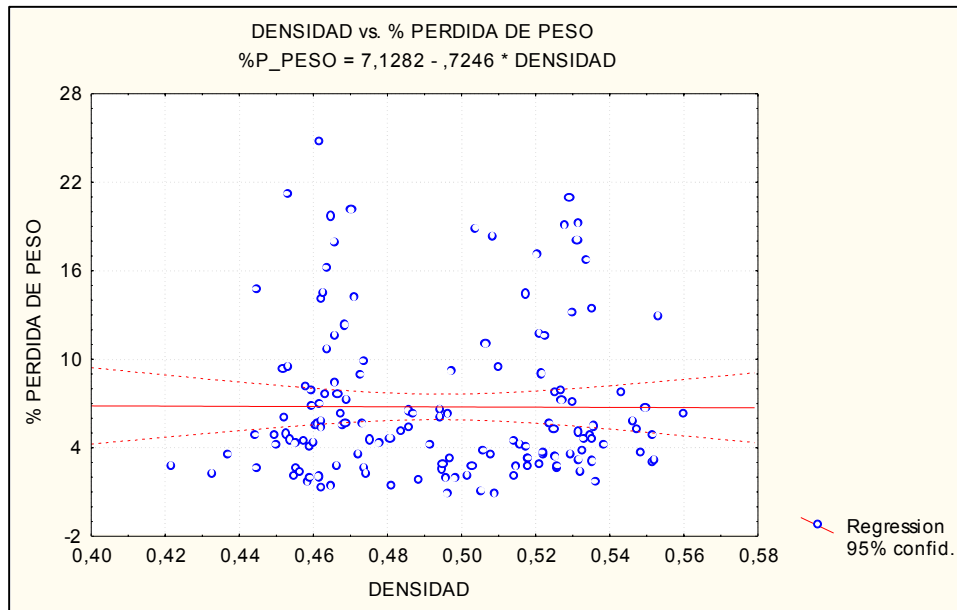
Cuadros N°10: Cuadro resumen de regresión múltiple

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,1778
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,0316
R <sup>2</sup> ajustado	0,0179
Error típico	5,1600
Observaciones	144

Cuadro N°11: Cuadro de regresión múltiple

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	-14,9800	12,1423	-1,2337	0,2194	-38,9844	9,0244
Variable X 1	40,6638	23,2430	1,7495	0,0824	-5,2861	86,6137
Variable X 2	3,3096	1,5433	2,1445	0,0337	0,2586	6,3605

Gráfico: Análisis de regresión



### APÉNDICE N° 3

Cuadro N°12 : Tabla ANDEVA para modelo trifactorial de efectos fijos

Fte. de variación	GL	SC	CM	Fo	Fcrit (0.01)
A (tiempo)	2	1085,01	542,51	29,41	4,61
B (Temperatura)	1	133,26	133,26	7,22	6,63
C (Cont. humedad)	1	519,36	519,36	28,16	6,63
AB	2	32,34	16,17	0,88	4,61
AC	2	21,20	10,60	0,57	6,63
BC	1	5,02	5,02	0,27	6,63
ABC	2	58,01	29,01	1,57	4,61
Error	132	2434,75	18,45		
Total		4288,95			

Cuadro N°13: Comparación de medias según Duncan para el tiempo

Duncan	Mes 1	Mes 2	Mes 3
Tiempo	10,72	14,39	17,43
Mes 3	17,43	6,71	3,04
Mes 2	14,39	3,67	*
Mes 1	10,72	*	

## APÉNDICE N°4

Cuadro N°14: Tabla ANDEVA para modelo trifactorial de efectos fijos de *Coriolus versicolor*

Fte. de variación	GL	SC	CM	Fo	Fcrit (0.01)
A (tpo)	2	1137,47	568,73	69,91	4,98
B (T°)	1	89,97	89,97	11,06	7,08
C (Ch)	1	508,02	508,02	62,45	7,08
AB	2	81,50	40,75	5,01	4,98
AC	2	42,36	21,18	2,60	4,98
BC	1	1,09	1,09	0,13	7,08
ABC	2	28,65	14,32	1,76	4,98
Error	60	488,11	8,14		
Total		2377,17			

Cuadro N°15: Comparación de medias según Duncan para tiempo y temperatura

Duncan		1/20°	1/25°	2/25°	2/20°	3/20°	3/25°
Tiempo/Temperatura		11,32	13,19	16,78	16,95	19,49	24,49
3/25°	24,49	13,17	11,30	7,71	7,54	5,00	*
3/20°	19,49	8,17	6,29	2,70	2,53	*	
2/20°	16,95	5,63	3,76	0,17	*		
2/25°	16,78	5,46	3,59	*			
1/25°	13,19	1,87	*				
1/20°	11,32	*					

## APÉNDICE N°5

Cuadro N°16: Tabla ANDEVA para modelo trifactorial de efectos fijos de *Peniophora gigantea*

Fte. de variación	GL	SC	CM	Fo	Fcrit (0.01)
A (tpo)	2	176,37	88,19	14,23	4,98
B (T°)	1	46,79	46,79	7,55	7,08
C (Ch)	1	93,89	93,89	15,15	7,08
AB (tpo/T°)	2	2,64	1,32	0,21	4,98
AC (tpo/Ch)	2	2,61	1,31	0,21	4,98
BC (T°/Ch)	1	4,51	4,51	0,73	7,08
ABC (tpo/T°/Ch)	2	39,31	19,65	3,17	4,98
Error	60	371,79	6,20		
Total		737,92			

Cuadro N°17: Comparación de medias según Duncan para el tiempo

<b>Duncan</b>		Mes 1	Mes 2	Mes 3
Tiempo		9,18	11,91	12,88
Mes 3	12,88	3,70	0,97	*
Mes 2	11,91	2,73	*	
Mes 1	9,18	*		