

Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá

**RESISTENCIA NATURAL DE *Guadua angustifolia* KUNTH. AL ATAQUE DE
HONGOS LIGNINOLÍTICOS COMO ALTERNATIVA HACIA NUEVAS
POSIBILIDADES DE USO**

TRABAJO DE GRADO

**Presentado como requisito parcial para optar el título de
Maestra en Ciencias Biológicas**

Bióloga: Ketty Alexandra Córdoba Mosquera

**Directora: Amanda Varela, Ph.D.
Codirector: Juan Carlos Camargo, Ph.D.**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
PROGRAMA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
BOGOTÁ D.C., JULIO 2009**

**RESISTENCIA NATURAL DE *Guadua angustifolia* KUNTH. AL ATAQUE DE
HONGOS LIGNINOLÍTICOS COMO ALTERNATIVA HACIA NUEVAS
POSIBILIDADES DE USO**

TRABAJO DE GRADO

**Presentado como requisito parcial para optar el título de
Maestra en Ciencias Biológicas**

Bióloga: Ketty Alexandra Córdoba Mosquera

APROBADO

**Amanda Varela, Ph.D.
Directora**

**Luis Felipe López
Jurado**

**María Ximena Rodríguez
Jurado**

**Carlos Devia
Jurado**

**Manuel Franco, Ph.D.
Director
Programa de Maestría en Ciencias Biológicas
Pontificia Universidad Javeriana**

NOTA DE AVERDTENCIA

Artículo 13 de la resolución N° 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo se velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre Manlio Ángel Córdoba (q.e.p.d), a mi madre Luz Zobeyda Mosquera Copete, a mis hermanos Alexa, Manlio e Indira, y a mis sobrinos Aishelly, Andrés, Adrian y Dilan, quiénes son mi mayor motivación para alcanzar las metas que me trazo a diario...

Ketty A. Córdoba M.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiar siempre mis pasos e iluminar el largo camino que me llevó a cumplir con esta meta.

Al CIEBREG por su apoyo económico en la financiación de este Proyecto.

A la Pontificia Universidad Javeriana por la formación integral y académica durante la maestría y por su apoyo económico y logístico para la culminación de este proyecto.

A la Dra. Amanda Varela, de manera muy especial por su excelente dirección, por su apoyo y colaboración en la realización de esta investigación.

Al Dr. Jorge Montoya, profesor de Ciencias Ambientales (UTP) por brindarme su apoyo y orientarme en muchos momentos cruciales de esta investigación.

Al Dr. Juan Carlos Camargo, profesor de Ciencias Ambientales (UTP) por sus asesorías y por su excelente atención y colaboración durante las visitas a la UTP.

Al Dr. Jorge Robles, Director del Departamento de Química (PUJ) por su importante colaboración en el préstamo de materiales, equipos y reactivos.

A USBA por permitirme el uso de sus instalaciones y equipos.

A la Universidad Tecnológica del Chocó “Diego Luis Córdoba” (UTCH), por su formación académica como Bióloga con Énfasis en Recursos Naturales y por brindarme su apoyo económico en la financiación del primer año de la maestría. A todas y cada una de las personas de la UTCH que me demostraron su aprecio en diferentes circunstancias de mi vida, me impulsaron a seguir en este camino y me

respaldaron cuando las cosas se complicaron, especialmente a: Alicia Ríos, Lisneider Hinestroza, Jessica Ferrer y Yesid Aguilar.

A Lina Sierra, Diego Sáenz, Mauricio Romero y demás compañeros del LESYHT por sus comentarios y sugerencias en la realización de este proyecto. Además de su amistad y su apoyo durante estos últimos años.

A Jorge Ferrer por ser un pilar fundamental en mi vida, por todo su amor y comprensión y por haber estado a mi lado animándome en los mejores y peores momentos de este largo camino.

A Jean Pierre Cáceres por su amor, paciencia y apoyo incondicional.

A todas aquellas personas a las que acudí por alguna razón durante la realización de la maestría y siempre estuvieron dispuestos a colaborarme: Dr. Jairo Pérez, Ing. Daniel Ruiz, Familia Torres (Camilo, Corina, Paola, Mabel, Jully y stefá), Yaira Abuhatab, Sandra Moreno y esposo.

Muchas gracias a todos!

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	13
2. MARCO CONCEPTUAL	15
2.1 Aspectos generales de <i>Guadua angustifolia</i> Kunth.....	15
2.2 Biodegradación de la madera	18
2.3 Los hongos como agentes de biodeterioro	19
2.3.1 <i>Xylaria hypoxylon</i> (L.) Grev.....	23
2.3.2 <i>Cookeina tricholoma</i> (Mont.) Kuntze.....	24
2.3.1 Condiciones básicas para el desarrollo de los hongos	25
2.3.2 Hongos ligninolíticos y efectos sobre la madera	27
2.3.2.1 Efectos de la pudrición en la madera.....	30
2.4 Durabilidad y resistencia natural de la madera al biodeterioro.....	32
2.5 Métodos para determinar la resistencia natural de la madera	34
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	36
3.1 Planteamiento del problema	36
3.2 Justificación	37
4. OBJETIVOS	38
4.1 Objetivo general	38
4.2 Objetivos específicos	38
5. PREGUNTAS, HIPÓTESIS Y PREDICCIONES	38
6. MÉTODOS	40
6.1. Diseño experimental	40
6.2. Obtención del material de prueba	40
6.3. Hongos de prueba.....	41

6.3.1. Pruebas cualitativas de actividad enzimática.....	41
6.3.2. Pruebas de interacción	42
6.4. Prueba de resistencia natural al ataque de hongos ligninolíticos.....	43
6.4.1 Elaboración de probetas	43
6.4.2 Preparación de las probetas	44
6.4.3 Inoculación.....	44
6.5 Determinación de la actividad enzimática	46
6.5.1 Preparación del extracto enzimático	46
6.5.2 Determinación de actividad lacasa	46
6.5.3 Determinación de actividad manganeso peroxidasa.....	46
6.6 Análisis químico	47
6.7 Pruebas mecánicas.....	47
6.8 Análisis estadístico.....	48
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
7.1 Prueba de resistencia natural al ataque de hongos ligninolíticos.....	49
7.1.1 Desarrollo de los hongos y colonización del sustrato	49
7.1.2 Pérdida de peso.....	53
7.1.3 Variación en el contenido de humedad.....	58
7.2 Actividad enzimática	60
7.3 Propiedades químicas.....	65
7.4 Propiedades mecánicas.....	69
7.5 Resistencia natural de <i>Guadua angustifolia</i> Kunth.....	74
8. CONCLUSIONES	76
9. RECOMENDACIONES	78
10. LITERATURA CITADA.....	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del Bambú	16
Tabla 2. Clasificación de Findlay para durabilidad natural de la madera.....	33
Tabla 3. Categorías de resistencia natural de la madera de acuerdo a la norma ASTM 2017-05 (ASTM, 2007).	34
Tabla 4. Relación entre clasificación de resistencia natural de la madera y el tiempo de vida útil esperado en condiciones de exposición frente a hongos de pudrición.	34
Tabla 5. Normas para la determinación química de <i>G. angustifolia</i>	47
Tabla 6. Promedio \pm desviación estándar de la pérdida de peso en probetas de <i>G. angustifolia</i> ocasionado por hongos ligninolíticos. Ct= <i>Cookeina tricholoma</i> , Xh= <i>Xylaria hypoxylon</i> y Ct + Xh= cultivo mixto. CH= indica el contenido de humedad inicial en (%) de las probetas. *n=12.	53
Tabla 7. Valores promedio de contenido de humedad en probetas de <i>G. angustifolia</i> expuestas a hongos ligninolíticos durante 16 semanas. Ct= <i>Cookeina tricholoma</i> , Xh= <i>Xylaria hypoxylon</i> y Ct + Xh = cultivo mixto. CH= indica el contenido de humedad inicial de las probetas. Los valores en paréntesis indican la desviación estándar.* n=12.....	58
Tabla 8. Producción enzimática total de lacasa (LAC) y manganeso peroxidasa (MnP) por hongos ligninolíticos. Ct= <i>Cookeina tricholoma</i> , Xh= <i>Xylaria hypoxylon</i> y Ct + Xh = cultivo mixto. CH= indica el contenido de humedad inicial en (%) de las probetas de <i>G. angustifolia</i>	60
Tabla 9. Composición química de la madera. Cantidad en base a peso seco.....	65
Tabla 10. Análisis inicial de Propiedades químicas de <i>Guadua angustifolia</i> Kunth.	66
Tabla 11. Comparación entre los componentes químicas de <i>G. angustifolia</i> por tratamiento. Análisis inicial (Ti) vs. Tratamientos (T1 a T6). T0= control, Ct= <i>Cookeina tricholoma</i> , Xh= <i>Xylaria hypoxylon</i> y Ct + Xh = cultivo mixto. CH= indica el contenido de humedad inicial en (%) de las probetas de <i>G. angustifolia</i>	67
Tabla 12. Promedio de resistencia a la compresión paralela a la fibra \pm desviación estándar en probetas de <i>G. angustifolia</i> expuestas a hongos ligninolíticos. Ct= <i>Cookeina tricholoma</i> , Xh= <i>Xylaria hypoxylon</i> y Ct + Xh= cultivo mixto. CH= Indica el contenido de humedad inicial en las probetas. *n= 12.....	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dimensiones de las probetas empleadas en los ensayos de resistencia natural.	43
Figura 2. Prueba de resistencia a la compresión en probetas de <i>G. angustifolia</i> . .	48
Figura 3. Colonización de <i>Xylaria hypoxylon</i> sobre probetas de <i>G. angustifolia</i>	50
Figura 4. Colonización de <i>Cookeina tricholoma</i> sobre probetas de <i>G. angustifolia</i> .	50
Figura 5. Colonización de cultivos mixtos <i>Ct + Xh</i> sobre probetas <i>G. angustifolia</i>	50
Figura 6. Promedio \pm desviación estándar de la pérdida de peso de <i>G. angustifolia</i> en los distintos tratamientos.....	54
Figura 7. Promedio \pm desviación estándar de la pérdida de peso de <i>G. angustifolia</i> en relacion con el contenido de humedad inicial.	57
Figura 8. Comparación entre las medias de la producción de LAC y MnP (U/g) por los hongos ligninolíticos.....	63
Figura 9. Promedio de resistencia a la compresión (MPa) \pm desviación estándar por tratamiento. T1= control al 40% de humedad inicial, T2= control al 60% de humedad inicial, T3= <i>C. tricholoma</i> al 40%, T4= <i>C. tricholoma</i> al 60%, T5= <i>X. hypoxylon</i> al 40%, T6= <i>X. hypoxylon</i> al 60%, T7= <i>Ct + Xh</i> al 40%, T8= <i>Ct + Xh</i> al 60%. <i>Ct</i> = <i>C. tricholoma</i> y <i>Xh</i> = <i>X. hypoxylon</i>	70
Figura 10. Promedio \pm desviación estándar de la resistencia a la compresión (MPa) para los diferentes tratamientos con los hongos ligninolíticos.	71

RESUMEN

Se evaluó la resistencia natural de culmos de *Guadua angustifolia* Kunth. frente al ataque de hongos ligninolíticos y se determinó su efecto sobre la composición química y las propiedades mecánicas del material a través de pruebas aceleradas de laboratorio, bajo condiciones controladas. Se utilizó el método propuesto en la norma ASTM D 2017-05. Utilizando 24 probetas por tratamiento de *G. angustifolia* de la parte basal del culm. Estas fueron expuestas a procesos acelerados de descomposición *in vitro*, Utilizando dos hongos como agentes de biodeterioro: *Xylaria hypoxylon* (L.) Grev. y *Cookeina tricholoma* (Mont.) Kuntze., por un periodo de 16 semanas en óptimas condiciones de desarrollo. Como tratamientos se probaron los hongos solos y en combinación, así como dos porcentajes de humedad inicial de las probetas (40% y 60%). Con los resultados de pérdida de peso obtenidos se determinó la clase de resistencia natural de las probetas ensayadas según la norma ASTM D 2017-05. *G. angustifolia* fue clasificada como altamente resistente, presentando valores de pérdida de peso < 5%. El mayor porcentaje de pérdida de peso fue ocasionado por el cultivo mixto *Ct + Xh* (4,3%), seguido de *X. hypoxylon* (3,2%) y el menor por *C. tricholoma* (1,6%). Los componentes estructurales de la pared celular no se vieron afectados, es decir que no fueron consumidos por los hongos ensayados. La resistencia a la compresión en las probetas de *G. angustifolia* fue alta, con un promedio de (71,0 MPa). La apariencia externa de las probetas durante el ensayo y el desarrollo del micelio sobre estas no reflejo la tasa real de biodegradación al interior de la guadua. Así se pudo contribuir a determinar la categoría de resistencia en la que se encuentra clasificada *G. angustifolia*, lo que nos brinda bases sólidas para poder determinar su factibilidad de uso en condiciones de alta humedad y temperatura.

Palabras clave: Ascomycota, biodegradación, Guadua, pérdida de peso, resistencia natural.

ABSTRACT

We evaluated the natural resistance of culm of *Guadua angustifolia* Kunth. against the attack of ligninolytic fungi and determined its effect on the chemical composition and mechanical properties of this material. We used the method proposed in ASTM D 2017-05. Using 24 samples per treatment of *G. angustifolia* in the basal part of culm. These were exposed to rapid decomposition *in vitro*. Two fungi were *Xylaria hypoxylon* (L.) Grev. and *Cookeina tricholoma* (Mont.) Kuntze. for a period of 16 weeks under optimal conditions of development. As treatments were tested fungi alone and in combination, as well as two levels of initial moisture of the test (40% and 60%). With the results of weight loss was determined from the kind of natural resistance of the specimens tested according to standard ASTM D 2017-05. *G. angustifolia* was classified as highly resistant, displaying values of weight loss <5%. The highest percentage of weight loss was caused by the mixed culture Ct + Xh (4.3%), followed by *X. hypoxylon* (3.2%) and lowest for *C. tricholoma* (1.6%). The structural components of the cell wall were not affected, they were not consumed by the fungi tested. The compressive strength test in *G. angustifolia* was high, averaging (71.0 MPa). The external appearance of the specimens during testing and development of mycelium on these do not reflect the actual rate of biodegradation within the bamboo. This could help determine the level of resistance which is rated *G. angustifolia*, which gives us a solid foundation in order to determine their feasibility for use in high humidity and temperature.

Keywords: Ascomycota, biodegradation, fungi, Guadua, weight loss, natural resistance.

1. INTRODUCCIÓN

Guadua angustifolia Kunth. es el producto forestal de uso tradicional en la construcción del paisaje campesino colombiano. En la zona cafetera y, en general, en la región Andina colombiana la guadua es un material típico en la construcción de vivienda, puentes, canaletas, acueductos y, en la elaboración de artesanías, utensilios de cocina e instrumentos musicales.

Al igual que la madera, la guadua, es un material biodegradable en razón a su origen orgánico, razón por la cual está sujeta a la destrucción ocasionada por diversos agentes entre los cuales influyen a su vez, numerosos factores ambientales y/o de carácter biológico (insectos y hongos, entre otros). La baja durabilidad del bambú es una de las mayores razones para la pobre aceptación de la guadua como material de construcción, considerada a menudo como un material de corto plazo, adecuado para usos temporales solamente.

El contenido de carbohidratos juega un papel importante en la durabilidad y vida en servicio de la guadua. En este sentido las altas cantidades de almidón presentes en los culmos de bambú lo hacen susceptible de ser atacado por agentes de biodeterioro. Los principales agentes de biodeterioro de la madera son los hongos de pudrición, razón por la cual son considerados descomponedores primarios de maderas duras, ya que son los únicos organismos capaces de degradar este tipo de compuestos, gracias a su complejo sistema enzimático, integrado por enzimas extracelulares que actúan sobre una amplia variedad de sustratos. La inespecificidad química y la intensa actividad oxidante de estas enzimas les otorgan una considerable capacidad para transformar y degradar diferentes compuestos orgánicos, de manera que pueden degradar moléculas simples y complejas como la celulosa, la hemicelulosa, las pectinas, el almidón y la lignina. Esta habilidad es la que hace que la actividad de los hongos sea de gran importancia a nivel industrial, y en la naturaleza para el reciclaje de los sustratos de carbono.

Con el objetivo de conocer el desempeño de culmos de *G. angustifolia* expuestos a hongos de pudrición durante 16 semanas, se evaluó en este estudio la resistencia

natural de *G. angustifolia* frente al ataque de hongos ligninolíticos (de pudrición blanca), a través de pruebas aceleradas de laboratorio, bajo condiciones controladas. Este estudio permitió determinar las condiciones más adecuadas para el desarrollo de dos hongos de pudrición en dicho sustrato; además de evaluar el efecto de este agente de biodeterioro sobre la composición química y las propiedades mecánicas de *G. angustifolia*, con propósitos de un mejor uso y aplicación de este material en diferentes actividades de acuerdo a su resistencia.

2. MARCO CONCEPTUAL

2.1 Aspectos generales de *Guadua angustifolia* Kunth.

La guadua es un de las especies de bambú leñoso, perteneciente a la familia de las gramíneas (*Poacecae*), a la sub-familia Bambusoideae y a la tribu Bambuseae. En 1820, el botánico Kunth constituye este género utilizando el vocablo “guadua” con el que los indígenas de Colombia y Ecuador se referían a este bambú (Londoño, 2001). Este género que reúne aproximadamente 30 especies se puede distinguir de los demás participantes por sus tallos robustos y espinosos, por sus bandas de pelos blancos en la región del nudo y por hojas en forma triangular (Pérez, 2006). Esta especie crece naturalmente en Colombia, Ecuador y Venezuela, pero ha sido introducida a Centro América, Islas del Caribe, Hawai y Asia. En Colombia se encuentra distribuida a lo largo de la Cordillera Central y la zona céntrica del país en los departamentos de Antioquia, Cauca, Caldas, Cundinamarca, Huila, Quindío, Risaralda, Tolima y Valle del Cauca (Camargo *et al.*, 2007)

Como se mencionó anteriormente, la especie *G. angustifolia* sobresale dentro del género por sus propiedades físico-mecánicas y por el tamaño de sus culmos que alcanzan hasta 30 m de altura y 25 cm de diámetro (Londoño, 2001). Reúne dos variedades: *G. angustifolia* var. bicolor y *G. angustifolia* var. negra, y varias formas: “cebolla”, “macana” y “castilla”(Pérez, 2006). Sus culmos son bien lignificados, con entrenudos huecos que tienen entre 10 y 40 cm según su variedad, biotipo y forma; la corteza es delgada lisa y brillante. La estructura anatómica del culmo tiene una parte interior gruesa y altamente lignificada, mientras que la exterior está cubierta de seda, de la que se deduce su resistencia a la absorción de agua. Sus fibras proporcionan resistencia a la pared y son largas, rectas y afiladas, con una estructura polilaminar, que trabaja con la máxima capacidad en la dirección longitudinal y se comporta dentro de la pared como las barras de acero en el hormigón armado, al que ayuda a rigidizar los nudos (Liese & Kumar, 2003).

La composición química del bambú es similar a la madera (Tabla 1). El 90% lo constituyen las sustancias estructurales que conforman la pared celular, donde se encuentran las principales macromoléculas, celulosa, hemicelulosas y ligninas. En menor proporción están los compuestos solubles en agua, azúcares, almidón, taninos, ceras y sales inorgánicas. (Liese & Kumar, 2003).

Tabla 1. Composición química del Bambú

Compuesto	Cantidad en base a peso seco (%)
Hemicelulosas	30
Holocelulosa	50 -70
Lignina	20 - 25
Sílice	0,5 - 5

Fuente: Liese (1992)

La proporción de estos componentes varía dependiendo de la especie, el sitio, la edad y otros factores ecológicos (Tamolang, 1980; Chen & Quin, 1985.; Liese & Kumar, 2003). Existen algunas diferencias entre estos componentes principales de acuerdo con la especie, pero no se conoce completamente su influencia sobre propiedades mecánicas (Liese, 1992). La durabilidad natural del bambú varía entre 1 y 36 meses dependiendo de la especie y de las condiciones climáticas (Juacida & Liese, 1980).

En Colombia *G. angustifolia* es la especie de bambú nativo de mayor importancia para el país. Ha recibido un importante apoyo de las corporaciones autónomas regionales dadas sus características ecológicas que le permiten ser una fuente importante de agua, contribuir en la regulación de los caudales, así como en la captura de CO₂ y a la purificación del ambiente (Camargo *et al.*, 2007). Es un excelente recurso renovable de rápido crecimiento y fácil manejo, además de brindar beneficios económicos, sociales y ambientales a las comunidades rurales en el país (Arbelaez *et al.*, 2001; Gómez-Dorado *et al.*, 2005; Camargo *et al.*, 2007).

Para Colombia se estima una producción anual de 30 millones de metros lineales de guadua que en su mayoría son utilizados en construcción como material auxiliar (Camargo *et al.*, 2007), No se tienen cifras de cuánto es utilizado en elaboración de viviendas, muebles o artesanías, ni qué cantidad de residuos de este material se producen en las diferentes actividades productivas, dado que es un mercado de carácter informal con escasa regulación (Gómez-Dorado *et al.*, 2005). Según cifras oficiales en el Eje Cafetero se tendría un consumo doméstico de \$380.000 por finca, teniendo en cuenta que cada finca aprovecha 134 guaduas, cada una con 4 piezas a \$700; según las cifras del proyecto Manejo Sostenible de Bosques en Colombia MSBC (Held & Manzano, 2002). Los principales usos de carácter doméstico de las fincas son: cercas, protección de aguas, en la casa principal, en corrales para aves, en la casa de los trabajadores, en corrales para el ganado, como barrera contra la erosión y los deslizamientos, como leña, en los beneficiaderos de café, entre otras (Held & Manzano, 2002). En la práctica no se aplica mucha tecnología en el proceso de aprovechamiento ya que este parte de conocimientos empíricos y ancestrales. La selección de la materia prima no se realiza de acuerdo a los requerimientos del mercado; los propietarios realizan muchos reclamos sobre el mal manejo del guadua y los empresarios no se sienten satisfechos con la materia prima. Buena parte de la guadua se pierde porque presenta cortes inadecuados y deterioros por las malas prácticas de transporte. Algunas veces los cortes en el guadua no se realizan a ras de nudo, lo que origina acumulación de agua y pudrimiento que conduce al deterioro del guadua (Mejía, 2004). La época ideal para cosechar el bambú es durante el período seco ya que la emisión de brotes en esta época es baja y el contenido de humedad de los culmos también, lo que facilita el transporte y reduce la aparición de plagas y enfermedades post – cosecha (Liese y Kurman, 2003). Según creencias de los campesinos de la zona cafetera, se debe cortar la guadua en cuarto menguante en las horas de la madrugada para que el material presente mayor resistencia al ataque de plagas y aumente notablemente sus propiedades mecánicas. Hasta 2 años de edad *G. angustifolia* es más vulnerable al ataque de plagas. De 6 a 3 años de edad es el estado óptimo para utilizar la guadua en diferentes actividades de construcción.

Las investigaciones sobre *G. angustifolia* realizadas en el país han sido enfocadas en el área de biología (Clark & Londono, 1991; Young & Judd, 1992; Bonilla, 1998; Londoño, 2002; Kleinn & Morales-Hidalgo, 2006; Potosí *et al.*, 2006), silvicultura (Manzur, 1988) tecnología de la construcción y tecnología de los materiales (Arbeláez, 1997) haciendo mayor énfasis en la parte biológica. Son escasos los estudios reportados para el área de tecnología de poscosecha (Arbelaez *et al.*, 2001). En la actualidad en Colombia no hay trabajos reportados sobre resistencia natural de la guadua frente al biodeterioro. En este sentido es de vital importancia explorar nuevas alternativas de uso y manejo de *G. angustifolia* en relación con su durabilidad y resistencia natural, que permitan avanzar hacia el desarrollo tecnológico de las comunidades, principalmente las rurales involucradas en el uso, aprovechamiento y transformación de este material.

2.2 Biodegradación de la madera

La madera es sin lugar a dudas un material orgánico que como muchos de este tipo tiene como principal característica ser biodegradable en razón a su origen orgánico; esto puede ser considerado como una ventaja o desventaja dependiendo el punto de vista considerado (Zabel & Morrell, 1992). El biodeterioro o biodegradación de la madera es un proceso muy necesario en la naturaleza para asegurar la circulación de la materia orgánica; sin embargo desde el punto de vista del desempeño en condiciones de servicio de los productos y estructuras de madera, se considera como un efecto negativo (Bech, 2006). El biodeterioro indica un cambio indeseable que afecta las propiedades químicas y físicas del material afectado, debido a la actividad de organismos vivos (Zabel y Morrell, 1992); 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 (Rayner & Boddy, 1988).

2.3 Los hongos como agentes de biodeterioro

Los hongos son los principales agentes de la descomposición de la materia orgánica. Degradan moléculas complejas como la celulosa, la hemicelulosa, las pectinas, el almidón y la lignina (Akhtar *et al.*, 1998; Breen & Singleton, 1999). Los hongos xilófagos pueden clasificarse en varios grupos de acuerdo a la naturaleza de su desarrollo en la madera y al tipo de deterioro que ocasionan. Los hongos lignícolas son los más importantes ya que son capaces de desintegrar las paredes de la célula y, por lo tanto, cambiar la composición química y las propiedades físicas de la madera; tal desorganización de la materia da lugar al estado llamado pudrición (Intini & Tello, 2003). Los hongos 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; Breen & Singleton, 1999). La pudrición blanda es de menor importancia debido a que se desarrolla generalmente a nivel superficial.

Los hongos de la pudrición blanca de la madera (hongos ligninolíticos y celulolíticos) son los únicos organismos descritos con la capacidad de degradar y mineralizar la lignina. Estos hongos en su mayoría pertenecientes a los órdenes Aphyllophorales y Agaricales (Have & Teunissen, 2001) poseen un complejo de enzimas oxidasas y peroxidasas que catalizan las primeras reacciones que rompen uniones dentro de la compleja molécula de lignina, generando moléculas más pequeñas; luego hay una incorporación de estos productos de degradación a los ciclos metabólicos del organismo, los cuales representan su fuente de carbono y energía, dando como producto final CO₂ (Pointing, 2001; Shui Yang *et al.*, 2007).

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. El 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). La degradación de la lignina se desencadena exclusivamente cuando el hongo en su medio de cultivo carece de uno de los nutrientes esenciales para su crecimiento. Durante esta fase denominada estacionaria, los organismos sintetizan la ligninasa, quizás con el fin de llegar a la celulosa o a algún nutriente, al cual la lignina les cierra el acceso. Se ha demostrado que la lignina no es una fuente aprovechable para el crecimiento de los hongos sino que es necesaria la presencia de un co-sustrato. Por lo tanto la adquisición de la habilidad para mineralizar lignina sería ventajosa para el aprovechamiento de otras moléculas más fácilmente metabolizables, teniendo en cuenta las relaciones intermoleculares presentes en la estructura de las paredes celulares (Deacon, 2006). Esto indica la existencia de factores represores de la actividad ligninolítica cuando todos los nutrientes están en exceso. En este sentido, el carbono es una de las principales fuentes represoras; por esta razón para iniciar la degradación de lignina este elemento debe reducirse a un estado basal o mínimo (Torres & Sáez, 2003; Hakala *et al.*, 2005). Los hongos ligninolíticos no son capaces de crecer sobre la lignina cuando ésta es la única fuente de carbono presente en el medio de cultivo. En efecto los hongos necesitan inicialmente un co-sustrato fácilmente degradable como la glucosa o la celulosa, para poder estar en condiciones de degradar la lignina (Torres & Sáez, 2003; Hakala *et al.*, 2005), debido a que la glucosa es la fuente de energía que induce la iniciación del metabolismo extracelular (glicólisis) para la degradación de otros sustratos (Deacon, 2006).

Los hongos ligninolíticos han desarrollado un sistema enzimático único y no específico que funciona en el ambiente extracelular. El mecanismo del sistema degradador de lignina está basado en la producción de enzimas oxidativas y radicales libres. Este mecanismo permite que estas enzimas sean catalíticamente activas sobre una gran diversidad de sustratos orgánicos (Breen & Singleton, 1999). 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). Hasta el momento han sido aisladas cuatro tipos de enzimas degradadoras de lignina de estos hongos: lacasa, manganeso peroxidasa, lignina peroxidasa y peroxidasa versátil (Highley & Dashek, 1998).

La lacasa (benzenediol oxygen oxidoreductase, EC 1.10.3.2) cataliza cuatro oxidaciones de un electrón de la mayoría de los compuestos fenólicos, formando radicales fenoxi libres como intermediarios (Highley & Dashek, 1998). La lacasa es producida por la mayoría de los hongos de pudrición blanca, pero no por todos. Como LiP, Lac no es aparentemente requerida para la degradación de la lignina en todos los hongos. La lacasa oxida unidades fenólicas en la lignina a radicales fenoxi (Akhtar *et al.*, 1998).

La manganeso-peroxidasa (MnP, E.C. 1.11.1.13) 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 (Highley & Dashek, 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. La manganeso peroxidasa 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+} . La manganeso peroxidasa es ligeramente más grande que la LiP, pero exhiben el mismo ciclo catalizador de peroxidasa (Akhtar *et al.*, 1998).

La lignino-peroxidasa (LiP, E.C.1.11.1.14) 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. La lignina peroxidasa al igual que otras enzimas se compone de ácidos isoenzimáticos codificados por genes de estructura múltiple, cuya expresión está 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.*, 1998).

Adicionalmente los Basidiomycota 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 peroxidases (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 (Papinutti *et al.*, 2003; Solórzano *et al.*, 2004). En cuanto a los Ascomycota de pudrición blanca, estos degradan preferencialmente hidratos de carbono en lugar de la lignina y, su sistema enzimático (celulolítico) se ha estudiado a fondo utilizando principalmente *Hypocrea jecorina* (anteriormente *Trichoderma reesei*) y *Aspergillus* sp. como modelos (Seiboth *et al.*, 1997). Comparados con los Basidiomycota de pudrición blanca, su capacidad ligninolítica es limitada, por lo tanto el contenido total de lignina en materiales de plantas afectados por estos hongos a veces no cambia significativamente (del Río *et al.*, 2001). Sin embargo se ha reportado que muchos Ascomycota son capaces de degradar la lignina a dióxido de carbono y productos solubles en agua (Liers *et al.*, 2006). Algunos de ellos pueden producir lacasa, una enzima que contribuye a la degradación de la lignina en muchos hongos (Baldrian, 2006).

Los estudios de las oxidases y sobre todo los referidos a las lacasas y manganeso peroxidases parecen poseer un mayor interés al haberse demostrado su actividad ligninolítica una vez purificadas (Zabel & Morrell, 1992). Aunque hay estudios que demuestran que no es necesaria la purificación (Silva, 2002).

Akhtar y colaboradores (1998) señalan que diversos estudios indican que tres enzimas oxidativas, lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa son responsables de la fragmentación inicial del polímero de lignina y producción de compuestos de bajo peso molecular en hongos de pudrición blanca (Jennings, 1995; Ferraz *et al.*, 2001). Aparentemente no todos estos hongos producen las tres enzimas, aunque algunos incluyendo *Trametes versicolor*, sí 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.

Pointing *et al.* (2003) indicaron que algunos taxones tropicales de la familia *Xylareaceae* en los géneros *Biscognauxia*, *Hypoxylon* y *Xylaria* son celulolíticos en distintos grados, con una actividad xylanolítica bastante débil. La producción de lacasa fue rara entre los géneros evaluados y sólo fue observada en tres especies de *Xylaria*.

Los hongos utilizados en este estudio como agentes de biodeterioro fueron dos Ascomycetes: *Xylaria hypoxylon* y *Cookeina tricholoma*.

2.3.1 *Xylaria hypoxylon* (L.) Grev.

Sinónimos: *Clavaria Hypoxylon* L. *Ing. Plantarum*: 1182 (1753) *Sphaeria Hypoxylon* (L.) Pers., (1796) *Xylosphaera Hypoxylon* (L.) Dumort., (1822). Especie que corresponde al orden Xylariales, clase Ascomycetes. Este hongo, por lo general tiende a desarrollarse en madera muerta de frondosas en zonas humedad y musgosas. Desarrolla cuerpos fructíferos erectos, resistentes y flexibles de hasta 8 cm de alto por 3-5 mm amplio, escomas, con estromas de 2-5 cm, de forma llamativa, al parecer sobre pedicelos o pies negros; sobre este se forma la parte fértil, por lo general ramificados en la parte superior con puntas de color blanco. Ascosporas 10-14 micras 4a-6to X, negro, liso, con forma de riñón. Esporas asexuales hialina, lisas, de forma elíptica alargada.

El tipo de pudrición causada por este hongo es blanca (pudrición simultánea); la lignina y los carbohidratos son atacados más o menos uniformemente, generando un aspecto quebradizo en el tronco. En este caso la característica anatómica es una erosión en la pared celular de la superficie del lumen alrededor de las hifas (Martínez *et al.*, 2005; Saldarriaga, 2001).

2.3.2 *Cookeina tricholoma* (Mont.) Kuntze.

Sinónimos: *Peziza tricholoma* Mont., Ann. Sci. Nat. II, 2:77 (1874)
Lachnea tricholoma (Mont.) Pat., Bull. Soc. Mycol. France 4:98 (1888)
Trichoscypha tricholoma (Mont.) Sacc., Syll. Fung. 8:160 (1889)
Pilocratera tricholoma (Mont.) Henn., Englers Bot. Jahrb. 17:9 (1893).

Especie que corresponde al orden Pezizales, clase Ascomycetes. 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. Presenta un cuerpo fructífero con forma de copa, de 0,5 a 3,0 cm de diámetro. La superficie es lisa de color anaranjado brillante en jóvenes y anaranjado muy pálido en adultos, cubierta con pelos de 0,1 a 0,5 cm de longitud, de color blanco anaranjado a parduzco. El contexto es de color blanco. No posee olor o sabor distintivos. El estípite es de 0,2 a 4,5 cm de longitud y de 0,1 a 0,3 cm de ancho, cilíndrico; normalmente está en posición central, aunque algunos presentan posición excéntrica. La superficie es de blanca a blanco-amarillenta, con algunos pelos dispersos. Las esporas son de color blanco cuando están agrupadas. Hasta la fecha no han sido reportados en la bibliografía datos sobre el tipo y la apariencia de la pudrición para esta especie de hongo en particular.

Es importante resaltar que son muy pocos los estudios que han examinado la participación y la aplicación de Ascomycota y hongos imperfectos (mitospóricos) en la degradación de materiales lignocelulósicos, a pesar que estos microorganismos representan el segundo grupo de hongos colonizadores de madera, después de los Basidiomycota. Algunos Ascomycota causan pudrición blanda de la madera con un

efecto significativo en la degradación de la celulosa, en comparación con la lignina. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que distintos Ascomycetes pueden producir degradación de la lignina en gran medida. A pesar de estas reconocidas capacidades, hay una notable falta de información sobre este grupo, y sus posibilidades deben explorarse.

2.3.1 Condiciones básicas para el desarrollo de los hongos

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

Oxígeno: 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 CO₂ se acumularía y finalmente el hongo moriría producto de sofocación (Findlay, 1967; Rayner & Boddy, 1988.; Moore-Landecker, 1996; Deacon, 2006).

Temperatura: 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). 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, pero no su muerte (Eslyn *et al.*, 1979; Rayner & Boddy, 1988.; Deacon, 2006).

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 hospedero, pero también pueden facilitar el alimento las sustancias almacenadas en las cavidades celulares, tales como almidones, azúcares y otros (Hunt & Garratt, 1962; Rayner & Boddy, 1988.; Moore-Landecker, 1996; Deacon, 2006).

Humedad: La humedad es un factor esencial para todas las funciones metabólicas. Además es necesaria 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 & Durán, 1986). Este es 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 estas aquellas maderas con contenido de humedad menor al 20% (Findlay, 1967; Rayner & Boddy, 1988.; Moore-Landecker, 1996; Deacon, 2006).

Otros factores que afectan el crecimiento de los hongos son la luz, la acidez o alcalinidad del sustrato. La luz no es necesaria para el crecimiento de los hongos; sin embargo muchas especies no pueden fructificar normalmente en total oscuridad (Findlay, 1967; Moore-Landecker, 1996). 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 *et al.*, 1996). 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, es decir con pH entre 4,5 y 5,5. 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; Rayner & Boddy, 1988.; Moore-Landecker, 1996; Deacon, 2006; Pereira *et al.*, 2007)

2.3.2 Hongos ligninolíticos y efectos sobre la madera

La madera es un biopolímero tridimensional cuya composición química general es la siguiente (Browning, 1967; Fengel & Weneger, 1984).:

Compuestos esenciales o primarios: celulosa (15 a 60%), hemicelulosa (10 a 30%) y lignina (10 a 30% de peso en seco). Compuestos extraños o secundarios: extractos (en agua, en solventes, volatilizados en vapor) y no extraíbles (compuestos inorgánicos, proteínas y sustancias pécticas). La proporción y composición química de la lignina y las poliosas difiere para las maderas de coníferas y latifolias, mientras que la celulosa es uniforme en composición en todas las maderas.

La celulosa es el homopolisacárido que se encuentra en mayor proporción en la madera. Es una estructura básica de las células de las plantas y la sustancia más importante producida por este organismo vivo (Marx-Figini, 1966), siendo el principal componente de la pared celular vegetal (Fengel & Weneger, 1984). La celulosa consiste en unidades de anhidro- β -D(+) glucopiranososa en conformación C_1 , unidos por enlaces glicosídicos β -1-4, por lo que se puede describir como un polímero lineal de glucanos. La unidad estructural de la celulosa es la celobiosa (disacárido) con una longitud de 1,03 nm (Fengel & Weneger, 1984). El grado de polimerización es del orden de los 15,000, lo que equivale a una masa molar en el orden de los 2,3 millones. Debido al tipo de enlace (β -1-4) la molécula de celulosa tiene una forma lineal, estabilizada por la formación de numerosos puentes de hidrógeno intra- e intercadenales. Entre 40 y 70 moléculas se encuentran agrupadas en fibrillas elementales de un espesor de 3,5 y 7,5 nm y una longitud de varios μ m. En ellas las moléculas de celulosa están orientadas longitudinalmente formando un agregado cristalino fuertemente ordenado, en el que todas las moléculas presentan la misma polaridad, lo que indica que tienen su extremo reductor orientado hacia el mismo extremo de la microfibrilla. En estos agregados las moléculas de celulosa no están unidas covalentemente, estabilizándose su estructura solamente por puentes de hidrógeno (C_3 - C_6) y (C_2 - C_5), que aunque muy débiles individualmente, en elevado número hace de la fibra de celulosa una estructura muy firme y poco sensible a la

degradación (Guardiola Barcena & Garcia Luis, 1995). La descomposición de la celulosa es lenta en relación con la de otros compuestos de carbono. Si bien existen muchos microorganismos que descomponen la celulosa, pocos descomponen la lignina que la acompaña. Esta es una razón por la cual la madera persiste en la naturaleza y constituye un excelente material de construcción. Tanto las bacterias aerobias (*Pseudomonas*, *Chromobacterias*) como las bacterias anaerobias (*Clostridium*) descomponen la celulosa. La descomposición de la celulosa también se produce entre los actinomicetos (*Streptomyces*) y las mixobacterias. Sin embargo la capacidad metabólica de la descomposición de la celulosa es más habitual en los hongos que en las bacterias. Algunos ejemplos de hongos capaces de descomponer la celulosa son *Trichoderma*, *Chaetomium* y *Penicillium*. La descomposición de la celulosa tiene lugar a través de las enzimas extracelulares llamadas celulasas. Presenta dos etapas distintas; en la primera se rompen los enlaces cruzados entre los polímeros de celulosa. En la segunda tienen lugar la despolimerización de la celulosa y los polímeros de celulosa son hidrolizados por enzimas tales como la celobiasa, para liberar celobiosa y glucosa. La hemicelulosa es un importante producto vegetal que se encuentra mezclado con una serie de compuestos y no participa en la biosíntesis de la celulosa. Las hemicelulosas son heteroglicanos (polímeros de hexosa, pentosas y, en ocasiones, ácidos urónicos) que contienen dos y cuatro tipos distintos de subunidades. Las hemicelulosas son complejas. De hecho están formadas por 50 a 200 unidades de azúcares que pueden estar vinculadas en una configuración lineal, ramificadas o con múltiples ramificaciones. Las subunidades más comunes en las hemicelulosas son las xilosas y las malosas. Las xilosas conforman el 30% de las maderas duras y el 12% de las maderas blandas (Kennedy *et al.*, 1987).

Por otra parte la lignina es una macromolécula componente de la madera, de naturaleza polimérica especial formada por la polimerización deshidrogenativa al azar de alcoholes parahidroxicinámicos (alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico), en reacción catalizada por enzimas vía radicales libres. Las unidades de fenil propano (C₉) se unen por enlaces C-O-C y C-C, presentando en su

estructura grupos hidroxilo, carbonilo, metoxilo y carboxilo (Fengel & Wegener, 1984). Las ligninas son fracciones no carbohidratadas de la madera libre de extraíbles, extremadamente complejas y difíciles de caracterizar. Constituyen un polímero aromático, heterogéneo, ramificado, donde no existe ninguna unidad repetida definidamente. Poseen propiedades aglutinantes que conforman la consistencia fibrosa de las maderas (revistiendo las células del xilema), donde realizan la función mecánica de sostén. Las ligninas suelen incrustarse en la celulosa y en hemicelulosa, protegiéndolas del ataque enzimático y aumentando su resistencia a la descomposición (Browning, 1967; Carballo, 1989). Asimismo es componente estructural de las plantas. De hecho les otorga rigidez estructural, así como resistencia a la compresión, a los dobleces y a la acción de los patógenos (Fengel & Weneger, 1984). La descomposición de lignina es realizada principalmente por los hongos. Esta en principio es un proceso de oxidación, mientras que la de celulosa es un fenómeno de hidrólisis. La pudrición de la madera es un proceso complejo de oxidación e hidrólisis. Las especies de hongos de pudrición blanca y marrón son fundamentalmente del Phylum Basidiomycota. Las especies de pudrición blanda suelen ser del Phylum Ascomycota. Los hongos de pudrición blanca son los agentes que en mayor medida descomponen la lignina. *Coriolus versicolor* descompone el anillo aromático, los grupos metoxilo y las cadenas laterales largas de lignina. *Phanerochaete chrysosporium* también descompone la lignina por completo. Estos hongos descomponen la lignina mientras que al mismo tiempo usan otra fuente de carbono degradable como fuente principal de energía (Trojanowski, 2001).

La descomposición de la lignina forma parte del metabolismo secundario. Las enzimas que la descomponen se conocen como ligninolíticas. Desafortunadamente no se conocen sus características en profundidad (Jennings, 1995; Ferraz *et al.*, 2001). El metabolismo de la lignina es un mecanismo activado por la escasez de nitrógeno, azufre o carbono (Breen & Singleton, 1999). Los hongos de pudrición blanca se inhiben frente a concentraciones elevadas de nitrógeno, debido a que las altas concentraciones de nitrógeno impiden la síntesis de proteínas en la membrana

para la absorción de otras fuentes de nitrógeno y previene la síntesis de las enzimas involucradas en la utilización del nitrato (Deacon, 2006).

La descomposición de la lignina no es inducible, de modo que su sola incorporación no desencadena su proceso de descomposición; de hecho muy poco carbono de lignina se encuentra en las células los hongos ligninolíticos (Trojanowski, 2001). 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 presente en la madera. La lignina de la madera dura, por ejemplo de la Haya es una mezcla de un 50% de bloques de coniferil y 50% de bloques de sinapil. La lignina de la madera suave como el caso de abeto tiene un 85% de coniferil. 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.*, 1998). En el bambú la lignina está constituida por tres unidades de phenyl-propano, P-cumaril, alcoholes de coniferil y sinapil interconectaron por sendas biosintéticas (Liese, 1987). La lignina presente en el bambú es única y contribuye con las propiedades resistencia en la capa exterior (Liese, 1992).

2.3.2.1 Efectos de la pudrición en la madera

Pueden clasificarse 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 y la descomposición de la lignina mediante enzimas oxidativas (Trojanowski, 2001). Los hongos ligninolíticos atacan simultáneamente todos los componentes de la pared celular en la madera, causando 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 (Kennedy *et al.*, 1987; Trojanowski, 2001). En fases avanzadas de pudrición, las paredes celulares son erosionadas extensamente, 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 (Trojanowski, 2001). 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 pared secundaria deslignificada, 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.*, 1998; Núñez, 2004).

Según Findlay (1967) y Alexopoulos *et al.* (1996) dentro de los efectos físicos que causan los hongos sobre la madera 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 ha progresado la pudrición.

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 púrpura. En latifoliadas son

manchas descoloridas o blanquecinas. Estrechadas 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.

En cuanto a degradación de madera por hongos se refiere se han reportado algunos trabajos tanto para el Phylum Ascomycota (Seiboth *et al.*, 1997; de Vries & Visser, 2001) como para el Phylum Basidiomycota (Janse *et al.*, 1998; Núñez, 2004; Zhang *et al.*, 2007). Experimentos realizados ha evidenciado que los hongos agrupados dentro del Phylum Ascomycota degradan de manera preferencial carbohidratos en vez de lignina; por lo tanto su sistema celulolítico está siendo estudiado completamente, utilizando principalmente *Hypocrea jecorina* (previamente *Trichoderma reesei*) y *Aspergillus* sp. como modelos (Seiboth *et al.*, 1997; de Vries & Visser, 2001). Comparados con los hongos agrupados dentro del Phylum Basidiomycota específicamente los de pudrición blanca, la capacidad degradante de los hongos del Phylum ascomycota es limitada, por lo que el contenido total de lignina en el material vegetal afectado por estos hongos a veces no presenta cambios apreciables (Ferraz *et al.*, 1998; del Río *et al.*, 2001). Los hongos de pudrición blanca (Phylum Basidiomycota) poseen un complejo sistema enzimático extracelular no específico, con el cual pueden remover selectivamente o alterar la lignina y permitir que las fibras de celulosa sean obtenidas fácilmente (Breen & Singleton, 1999).

2.4 Durabilidad y resistencia natural de la madera al biodeterioro

El amplio concepto de durabilidad natural comprende aquellas características de resistencia que posee la madera sin tratamiento frente al ataque de agentes degradadores tanto bióticos como abióticos, una vez puesta en servicio y sin utilizar ningún tratamiento preservador. Este concepto no debe confundirse con el de resistencia al biodeterioro, el cual sólo engloba las causas de degradación de tipo biótico, dentro de las cuales las más importantes y comúnmente mencionadas son: los hongos xilófagos, insectos y perforadores marinos (Juacida & Quintanar, 1992). Esta resistencia es debida a los componentes accesorios, los que actúan en forma

diferente dependiendo del agente de que se trate (Juacida & Liese, 1980). El índice de durabilidad permite situar las especies según su resistencia al biodeterioro. Uno de los índices más utilizados es el que se basa en la definición de Findlay que clasifica la durabilidad natural de la madera en cuatro grupos, según su resistencia al biodeterioro (Tabla 2). Esta clasificación considera condiciones de uso de la madera y la pérdida de masa durante 16 semanas en pruebas de laboratorio, bajo la acción de hongos de pudrición normalizados (Cartwright & Findlay, 1958). Esta clasificación es la que se aplicará para la especie de *Guadua angustifolia* Kunth. Este índice se mide a través de la pérdida de masa, y es similar al utilizado por normas internacionales para la determinación de durabilidad natural. Como la American Society for Testing and Materials (ASTM) (Tabla 3), British Standard (BS), y Deutsches Institut für Normung (DIN) (ASTM, D 2017-71; BS, Nº 838; DIN 52176). La clasificación planteada por Findlay en la Tabla 2 consulta cuatro clases de resistencia dependiendo de la pérdida de masa.

Tabla 2. Clasificación de Findlay para durabilidad natural de la madera.

Clase de resistencia	Pérdida de masa (%)
Altamente resistente	0 - 10
Resistente	11 - 24
Moderadamente resistente	25 - 44
No resistente	45 o más

Tabla 3. Categorías de resistencia natural de la madera de acuerdo a la norma ASTM 2017-05 (ASTM, 2007).

Clase de resistencia	Pérdida de peso (%)
Altamente resistente	0 - 10
Resistente	11 - 24
Moderadamente resistente	25 - 44
Ligeramente resistente	45 o más

Higley (1995) propuso una relación entre la relación de resistencia natural de la madera y el promedio de tiempo de vida útil esperado en condiciones propicias para el desarrollo de hongos de pudrición (Tabla 4).

Tabla 4. Relación entre clasificación de resistencia natural de la madera y el tiempo de vida útil esperado en condiciones de exposición frente a hongos de pudrición.

Clasificación de la madera	Vida útil (años)
No resistentes	<- 7
Moderadamente resistentes	8 - 13
Resistentes	14 - 19
Muy resistentes	>20

2.5 Métodos para determinar la resistencia natural de la madera

Los ensayos acelerados de laboratorio (Bloque-suelo y bloque-agar), basados en la determinación de pérdida de peso de la madera son las técnicas más usadas para evaluar la durabilidad natural de la madera actualmente (Clausen y Kartal, 2003). Además de los ensayos acelerados de laboratorio se emplean pruebas de campo (cementeros de estacas). Otras técnicas empleadas son la evaluación visual, evaluación microscópica, análisis de imágenes, análisis químico, determinación de densidad y ensayos de resistencia mecánica. En la mayoría de estas técnicas se

evalúa la tasa de degradación ocasionada por la exposición de muestras de madera frente a agentes de biodeterioro (hongos), durante periodos de tiempos determinados (Clausen y Kartal, 2003; Rabeg *et al.*, 2005 y ASTM 20007).

La importancia de los métodos acelerados de laboratorio respecto a las pruebas de campo radica en el poco tiempo que se emplea para obtener la información, por medio de índices, los cuales son datos valiosos, ya que la pérdida de peso que sufre la madera frente a un hongo específico, proporciona un criterio para clasificar a las maderas de acuerdo a su durabilidad natural y permite agruparlas según su aplicación en diferentes tipos de servicios (Rabeg *et al.*, 2005).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

3.1 Planteamiento del problema

La baja durabilidad atribuida al bambú es quizás una de las mayores razones para la pobre aceptación de *Guadua angustifolia* Kunth. como material de construcción, considerada a menudo como un material de corto plazo adecuado para usos temporales. La guadua está frecuentemente expuesta al ataque de hongos e insectos durante su utilización; sin embargo la vida útil de las estructuras en servicio está determinada principalmente por su tasa de deterioro biológico.

En general el bambú presenta una baja durabilidad comparado con la madera. Sin embargo la resistencia natural del bambú depende particularmente del tipo de organismo que le ataque y las condiciones ambientales a las cuales se encuentra expuesto como el contacto con el suelo, acceso a la humedad, temperatura, entre otras condiciones de uso.

La durabilidad del bambú contra hongos e insectos muestra cierta diferencia entre especies. Datos comparativos de exposiciones de campo y pruebas de laboratorio son todavía limitados, pero las observaciones prácticas proporcionan algunas indicaciones válidas. Las pruebas hasta la fecha han demostrado que la mayoría de las especies de bambú son destruidas en contacto con el suelo dentro de pocos meses principalmente por termitas y hongos de pudrición blanda.

A la fecha en Colombia no existen estudios de campo ni de laboratorio reportados para *G. angustifolia* que demuestren la escasa durabilidad atribuida a esta especie, por lo cual es difícil saber en realidad cuál es su resistencia natural en condiciones de uso frente al ataque de hongos de pudrición.

3.2 Justificación

El estudio de durabilidad natural, principalmente en lo que respecta a la resistencia natural de *Guadua angustifolia* Kunth. frente a la degradación ocasionada por hongos de pudrición es de gran importancia desde el punto de vista tecnológico y económico. Su conocimiento es necesario para establecer el efecto que pueden ocasionar los hongos sobre la composición química y las propiedades mecánicas de este material. Reconociendo los aspectos anteriores y mirando la necesidad de extender las bondades de la guadua hacia nuevos horizontes de aplicación es importante evaluar diferentes rangos de algunas variables ambientales como temperatura y humedad a las cuales se encuentra expuesta la guadua frecuentemente en distintas actividades y condiciones de uso. Estas variables son esenciales para el desarrollo y proliferación de diferentes agentes de biodeterioro como los hongos de pudrición, que utiliza la madera como fuente de carbono para su nutrición. El proceso de biodeterioro de la madera ocasionado por estos organismos involucra la digestión parcial o completa del complejo material orgánico que es la madera, produciendo cambios en sus constituyentes y por lo tanto alterando de manera irreversible sus propiedades anatómicas, químicas, físicas y mecánicas.

Conocer el comportamiento de un amplio rango de algunas variables que favorecen el desarrollo de los hongos y establecer el efecto que causan estos organismos sobre la composición química y las propiedades mecánicas de la guadua permitirá un mejor aprovechamiento del material en diferentes tipos de servicios de acuerdo a su categoría de resistencia, lo que trazaría diferentes alternativas para su comercialización. Mientras más conocimiento se tenga sobre el comportamiento de biodeterioro de las especies de bambú, así como las diferencias entre y dentro de las especies, mejor serán las bases para seleccionar a los bambúes y determinar su factibilidad de uso en condiciones de alta humedad, temperatura o en contacto con el suelo.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la resistencia natural de culmos de *Guadua angustifolia* Kunth. frente al ataque de dos hongos ligninolíticos (solos y en combinación), y determinar los cambios que se producen a nivel químico y sobre las propiedades mecánicas en condiciones de laboratorio.

4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar la actividad enzimática y la eficiencia de los hongos solos y en combinación en la biodegradación de *G. angustifolia*
2. Determinar la composición química y las propiedades mecánicas de *G. angustifolia* antes y después del proceso de biodegradación.
3. Determinar las condiciones humedad de *G. angustifolia* que aceleran la tasa de descomposición de los hongos y aumentan el porcentaje de pérdida de peso de las probetas en condiciones de laboratorio.

5. PREGUNTAS, HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

1. ¿Existen diferencias en el porcentaje de degradación de *G. angustifolia* y en la actividad enzimática (Lac y MnP) de hongos ligninolíticos (*Cookeina tricholoma* y *Xylaria hypoxylon*) cuando actúan de manera conjunta que cuando actúan en forma aislada?

H1: El porcentaje de degradación de *G. angustifolia* y la actividad enzimática de los hongos será mayor cuando los hongos estén combinados (cultivo mixto). En la madera al igual que en otros microambientes es típico para muchos hongos crecer y vivir cerca de otros. Estos hongos pueden expresar interacciones sinérgicas, es decir

que las especies pueden actuar en coordinación para la producción de enzimas y la degradación del mismo sustrato, lo cual haría que aumente el porcentaje de degradación en las probetas de *G. angustifolia*.

Predicción: Al dejar actuar dos hongos de manera simultánea sobre *G. angustifolia*, la producción enzimática de ambos se incrementará y el porcentaje de degradación en las probetas de *G. angustifolia* será mayor.

2. ¿Existen diferencias en cuanto al contenido de componentes químicos (lignina, celulosa y hemicelulosa) y en cuanto a las propiedades mecánicas de *G. angustifolia* antes y después de ser expuesta a la actividad enzimática de los hongos solos y en combinación?

H2: El contenido de componentes químicos y las propiedades mecánicas de *G. angustifolia* varían según la agresividad de los hongos ligninolíticos solos o en combinación. Los hongos ligninolíticos pueden ocasionar cambios en la composición química (transformación de la celulosa en glucosa por acción de las enzimas hidrolíticas, y la descomposición de la lignina mediante enzimas oxidativas) y por lo tanto, en las propiedades mecánicas de *G. angustifolia*. Estos cambios pueden ser mayores en guadua expuesta a la acción simultánea de dos hongos, debido a una posible actividad sinérgica de los mismos.

Predicción: Habrá una reducción en el porcentaje de componentes químicos (lignina, celulosa y hemicelulosa) y por consiguiente en las propiedades mecánicas (resistencia a la compresión y dureza) de las probetas de *G. angustifolia* expuestas a los diferentes tratamientos (hongos solos y en combinación). Sin embargo la reducción en los componentes químicos y las propiedades mecánicas será mayor en las probetas expuestas a la acción simultánea de dos hongos.

3. ¿Existe diferencia en la tasa de descomposición de probetas de *G. angustifolia* (expresada como el porcentaje de pérdida de peso) para cada una de los tratamientos (combinaciones de humedad y hongo ligninolítico)?

H3: La tasa de descomposición de *G. angustifolia*. varía de acuerdo con las combinaciones de humedad del sustrato y la actividad enzimática de los hongos (solos y en combinación).

Predicción: El porcentaje de pérdida de peso en las probetas de *G. angustifolia* será mayor en probetas con altos contenidos de humedad, expuestas a la acción simultánea de dos hongos de pudrición blanca.

6. MÉTODOS

6.1. Diseño experimental

La metodología empleada en este estudio está enfocada en el análisis de la incidencia de dos variables en el biodeterioro de *Guadua angustifolia* Kunth. Para evaluar la resistencia natural de *G. angustifolia* frente al ataque de hongos ligninolíticos se usó un diseño factorial (3x2). Los niveles del factor en este estudio son los hongos de prueba: *Xylaria hypoxylon* (*Xh*), *Cookeina tricholoma* (*Ct*), cultivo mixto de hongos *Ct + Xh* y el control (sin hongo); dos contenidos de humedad inicial del sustrato (40 % y 60 %).

6.2. Obtención del material de prueba

El material empleado para este estudio fue colectado en guaduales naturales de la vereda Kerman, en el municipio de Quimbaya (Quindío, Colombia). Se seleccionaron cinco individuos mayores a cinco años (por ser guaduales naturales la edad no fue plenamente establecida) de *Guadua angustifolia* Kunth. variedad macana. De cada individuo se elaboraron probetas procedentes de la parte basal del culmo (cepa), sin cutícula y sin nudos.

6.3. Hongos de prueba

Los hongos empleados para este estudio fueron *Xylaria hypoxylon* (*Xh*) y *Cookeina tricholoma* (*Ct*), seleccionados por su capacidad enzimática y su presencia en el área de estudio (Chaparro *et al.*, 2009). Empleando agar extracto de malta (AEM) como medio de cultivo se realizaron los aislamientos a partir de los basidiocarpos procedentes de la Reserva Natural de La montaña del Ocaso, en el municipio de Quimbaya (Quindío, Colombia). Los ejemplares pertenecen a la colección de hongos del Laboratorio de Ecología de Suelos y Hongos Tropicales (LESYHT) de la Pontificia Universidad Javeriana (Bogotá).

6.3.1. Pruebas cualitativas de actividad enzimática

De acuerdo a la metodología propuesta por Herrera & Rosas (2003) se realizaron pruebas cualitativas de actividad enzimática para determinar la actividad lacasa de los hongos de prueba. Se tomó un disco de agar de los hongos aislados en agar extracto de malta con un diámetro de 0,5 cm y se depositó en forma de sándwich sobre el medio agarizado. Para la identificación de los hongos con actividad lacasa, estos fueron sembrados en un medio modificado, reportado Ha *et al.* (2001), cuya composición (p/v) es: 1% de celulosa, 0,5% de peptona, 0,2% de extracto de levadura, 0,0075% de $MnSO_4 \cdot H_2O$, 0,01% de $CuSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,2 g de ABT [2,2 azinobis, 3 etil-benzotiazolina-6-sulfonato] y 2% de agar-agar, disuelto en una solución de extracto de salvado de trigo, previamente preparada por extracción inmediata de 175 g de salvado de trigo con 1000 ml de agua destilada. El pH se ajustó a 5,8-6,0 con la adición de sales KH_2PO_4 al 0,1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ al 0,05%. El ABTS se utilizó como inductor enzimático. La actividad enzimática de lacasa se determinó por el diámetro de los halos de oxidación de ABT en el medio de cultivo (Herrera & Rosas, 2003). Como control negativo se utilizó una placa de agar con la misma composición del medio de cultivo sin inocular.

La temperatura de incubación fue de 25°C y se realizaron mediciones diarias durante 8 días, evaluándose el diámetro del halo y el cambio de color (verde) en el medio de cultivo, indicativo de actividad enzimática de lacasa.

6.3.2. Pruebas de interacción

De acuerdo a la metodología propuesta por Chi *et al.* (2007) y Quiroz-Sarmiento *et al.* (2008) se realizaron pruebas pareadas de interacción de tres especies de hongos (*Cookeina tricholoma*, *Xylaria hypoxylon* y *Earliella* sp.) en todas las posibles combinaciones. Esto se hizo para poder seleccionar la pareja de hongos que exhibiera mayor compatibilidad para desarrollarse juntos, dado que uno de los tratamientos definidos en el estudio estaban basados en la combinación de dos hongos ligninolíticos para degradar material lignocelulósico (cultivo mixto). Los hongos fueron evaluados en pareja, colocando en cada uno de los extremos de las cajas de Petri con PDA, a 40 mm de distancia, discos de agar de 10 mm de los hongos aislados. Las interacciones entre el crecimiento de los hongos opuestos fueron valoradas visualmente día de por medio (durante 10 días), midiendo el diámetro (cm) de la colonia de cada hongo hasta el enfrentamiento de estas. Se usó la siguiente relación matemática:

$$IM = \frac{C_l - C_i}{C_l} \times 100$$

donde:

IM= Inhibición micelial

Cl= Crecimiento libre

Ci= Crecimiento influenciado

6.4. Prueba de resistencia natural al ataque de hongos ligninolíticos

6.4.1 Elaboración de probetas

Se elaboraron probetas de *Guadua angustifolia* Kunth. siguiendo el procedimiento descrito por el Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC)- (NTC5525, 2007) basada la norma ISO 22157-1:2004. Se dimensionaron probetas de 5 x 1 x 1 cm (largo x ancho x grosor) de manera que el largo de la probeta coincidiera con la dirección de la fibra (Figura 1) Se seleccionaron para el ensayo sólo probetas libres de defectos (nudos, grietas, manchas, alabeos), con el fin de que estos no influyeran en la colonización y desarrollo de los hongos.

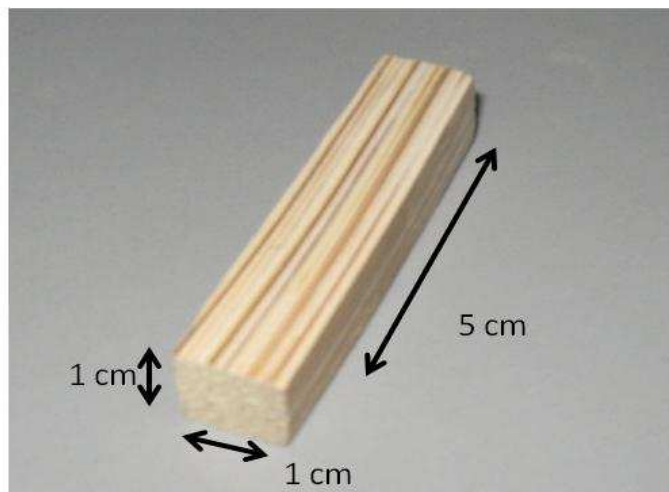


Figura 1. Dimensiones de las probetas empleadas en los ensayos de resistencia natural.

6.4.2 Preparación de las probetas

Las probetas fueron saturadas en agua. Posteriormente se determinó el volumen (V) por el método de desplazamiento de agua en una probeta volumétrica de 60 ml; la densidad básica (Db) se determinó de acuerdo con la ecuación 1. Las probetas fueron secadas en un horno a $100^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ para determinar el peso seco inicial.

$$Db = \frac{Ps}{V} \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde:

Db= densidad básica (g/cm^3)

Ps = peso seco (g)

V = volumen (cm^3)

Inmediatamente después de obtener el peso seco las probetas fueron envueltas en papel aluminio y fueron esterilizadas en autoclave mediante vapor saturado a $1,05 \text{ Kg}/\text{cm}^2$ (120°C) durante 20 minutos. Posteriormente las probetas fueron rehidratadas con agua destilada estéril hasta alcanzar un contenido de humedad de 40% o de 60%, según el tratamiento correspondiente.

6.4.3 Inoculación

Se prepararon 84 cámaras de biodeterioro empleando frascos de vidrio de 400 ml con tapa metálica. En cada uno de los frascos se depositaron 60 ml de agar extracto de malta al 0.2 % y se esterilizaron durante 20 minutos en autoclave mediante vapor saturado a $1,05 \text{ Kg}/\text{cm}^2$ (120°C). Se emplearon monocultivos y cultivos mixtos de los hongos de prueba. En el primer caso en el centro de cada frasco se depositó un inóculo de 0,5 cm del hongo correspondiente y se dejaron incubando a 25°C y de 70% humedad relativa hasta que el micelio cubrió completamente la superficie del agar (*Cookeina tricoloma* cubrió el agar en 12 días y *Xylaria hipoxylon* en 8 días). Para los cultivos mixtos se depositó a cada extremo de un mismo frasco conteniendo el medio de cultivo, un inóculo de cada hongo de prueba y se dejaron incubando a

25°C y de humedad relativa del 70% hasta que el micelio cubrió completamente la superficie del agar (*Cookeina tricoloma* cubrió el agar en 9 días y *Xylaria hipoxylon* en 7 días). En cada una de las cámaras de pudrición se depositaron dos probetas de *G. angustifolia* y se dejaron incubando por 16 semanas a 25°C y 70% de humedad relativa. Adicionalmente se emplearon como control probetas de *G. angustifolia* depositadas en frascos de vidrio sin inocular.

Al finalizar el período de exposición de 16 semanas, se extrajeron las probetas y se retiró el micelio desarrollado sobre la superficie. Inmediatamente se registró el peso húmedo de cada una de las probetas para determinar el contenido de humedad. Posteriormente, las probetas fueron secadas en un horno a $100^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ para determinar el porcentaje de pérdida de peso, empleando la siguiente relación matemática:

$$PP = [(1 - P_f)/P_i] * 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

PP: pérdida de peso (%)

P_i: peso seco inicial, antes del biodeterioro (g).

P_f: peso seco final, después del biodeterioro (g).

Determinación del contenido de humedad: el contenido de humedad (CH) en las probetas de *G. angustifolia* se determinó empleando la siguiente relación matemática:

$$CH = [(1 - P_s)/P_f] * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

CH: contenido de humedad (%)

P_s: peso seco (g)

P_f: peso fresco (g)

6.5 Determinación de la actividad enzimática

6.5.1 Preparación del extracto enzimático

La extracción de las enzimas se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Quintero *et al.* (2006). Se trituró en un mortero 0,7 g de micelio fresco (crecido sobre las probetas) en 20 ml de una solución de acetato de sodio 50 mM pH 4,8. La solución fue agitada en forma intermitente por 2 horas. El líquido sobrenadante fue centrifugado por 50 minutos a 15,000 Hz y filtrado a través de papel filtro de 0,5 μ antes de determinar su actividad enzimática. La presencia y la actividad de las enzimas lacasa y manganeso peroxidasa se evaluó por espectrofotometría U.V. de acuerdo a los protocolos existentes para tales efectos.

6.5.2 Determinación de actividad lacasa

Este análisis fue realizado de acuerdo con la metodología propuesta por Tinoco *et al.*, (2001). La actividad lacasa fue estimada como la oxidación de ABTS. Se tomaron 800 μ l del sobrenadante en un tubo de ensayo y se adicionaron 1 ml de mezcla de solución que contiene 100 μ l de 2,2 azinobis, 3 etil-benzotiazolina-6-sulfonato (ABTS) 0.5 mM y 100 μ l de una solución amortiguadora de acetato de sodio 60 mM, pH 4.5; utilizando como blanco agua desionizada en lugar de ABTS. Finalmente, se leyó la absorción a 436 nm (ϵ_{436} 29,300 l mol⁻¹ cm⁻¹). Una unidad de lacasa es definida como un micromol de ABTS oxidado por minuto.

6.5.3 Determinación de actividad manganeso peroxidasa

Este análisis fue realizado de acuerdo con la metodología propuesta por Fujian *et al.*, (2001). La actividad manganeso peroxidasa fue determinada por el cambio en la oxidación de Mn²⁺ a Mn³⁺ (Michel *et al.*, 1991). En 1,70 ml de tartrato de sodio Buffer (pH 3.0, 0.24 mol/l), 0.05 ml de sulfato de manganeso (0.40 mol/l), 0.2 ml de extracto enzimático y 0.05 de ml de peróxido de hidrogeno (0.016 mol/l). Una unidad de Mnp es definida como 0.1 de absorción a 240 nm (ϵ_{240} 11,590 l mol⁻¹ cm⁻¹) que incrementa por minuto.

6.6 Análisis químico

El análisis de componentes químicos se realizó siguiendo los procedimientos de ensayo descritos por la Technical Association of Pulp and Paper Industry (TAPPI, 2007). El análisis químico se realizó en el Laboratorio de Servicios Analíticos del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Valle). Se emplearon los siguientes estándares (Tabla 5).

Tabla 5. Normas para la determinación química de *G. angustifolia*.

Compuesto	Protocolo
Lignina	Standard Method T222-om83 D1106 - 96(2007)
Celulosa	Standard Method T212-os76 D1109 - 84(2007)
Hemicelulosa	Standard Method T212-os76 D1109 - 84(2007)

6.7 Pruebas mecánicas

Para la determinación de la resistencia a la compresión paralela a fibra en las probetas de *Guadua angustifolia* Kunth. se siguió el procedimiento de ensayo descrito por el Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Científicas (ICONTEC, 2007), NTC 5525. Las pruebas de resistencia a la compresión se realizaron en el Laboratorio de Pruebas y Ensayos de Ingeniería Civil de la Pontificia Universidad Javeriana (Bogotá). Las probetas se colocaron en una prensa universal, la cual presiona la madera en dirección de su eje longitudinal, aplicando una carga estática que tiende a provocar un acortamiento de la misma y cuyo valor se va incrementando hasta cuando el material comience a presentar alguna fractura (Figura 2).



Figura 2. Prueba de resistencia a la compresión en probetas de *G. angustifolia*.

6.8 Análisis estadístico

El análisis de los resultados se realizó a través del programa estadístico (Statistica 8.0.). Se determinó la normalidad y la homogeneidad de varianzas de los datos usando las pruebas de Shapiro-wilk's y Levene respectivamente.

Se realizó un análisis de varianza factorial para determinar la interacción entre los factores (hongos de prueba y contenidos de humedad inicial) y sus distintos niveles. Como no se evidenció interacción entre los factores de diseño se utilizó una prueba de Kruskal-Wallis para determinar el efecto de cada factor de manera independiente. Para determinar qué tratamiento era el diferente se realizó una prueba de comparaciones múltiples. Se utilizó un nivel de significancia del 5% para todas las pruebas.

El tamaño de la muestra fue de 12 por tratamiento para las variables pérdida de peso (%) y resistencia a la compresión (MPa), debido a que los datos obtenidos de las probetas (2) de una misma cámara se promediaron, considerando que son una sola muestra. Para la variable actividad enzimática (Lac y MnP) el tamaño de la muestra fue 5, debido a que para determinar la presencia y la actividad de las enzimas solo fueron seleccionadas las cámaras que presentaron abundante crecimiento de micelio sobre las probetas de guadua. En cuanto a la composición química sólo se tuvieron en cuenta los datos de una muestra analizada a partir de la homogenización de 12 probetas de *G. angustifolia* tanto para el análisis inicial como para el final.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Prueba de resistencia natural al ataque de hongos ligninolíticos

7.1.1 Desarrollo de los hongos y colonización del sustrato

La colonización de los hongos en las probetas de *Guadua angustifolia* Kunth. fue distinta para ambos hongos: *Xylaria hypoxylon* colonizó rápidamente los bloques de *G. angustifolia*, desarrollando micelio abundante, de color blanco, de textura algodonosa y apariencia estriada. Adicionalmente cubrió uniformemente la superficie total de las probetas después de ocho días de incubación, en algunas muestras después de seis días de incubación. Finalmente el micelio fue tornándose gradualmente de color verde oscuro a negruzco, después de ocho semanas (Figura 3).

Cookeina tricholoma mostró un crecimiento más lento. Sólo logró colonizar parcialmente las probetas de *G. angustifolia*. Desarrolló escaso micelio de color blanco, poco denso, de textura algodonosa inicialmente, y posteriormente se torno a un color crema claro, perdiendo volumen y textura después de seis semanas (Figura 4).

En cuanto a los cultivos mixtos *Ct + Xh*, *X. hypoxylon* presentó un desarrollo más vigoroso en comparación con *C. tricholoma* cubriendo parcialmente las probetas de *G. angustifolia* con un micelio abundante de color blanco y textura algodonosa; comparado con el escaso crecimiento micelial de *C. tricholoma*, siendo este en algunos casos casi ausente (Figura 5).



Figura 3. Colonización de *Xylaria hypoxylon* sobre probetas de *G. angustifolia*



Figura 4. Colonización de *Cookeina tricholoma* sobre probetas de *G. angustifolia*.



Figura 5. Colonización de cultivos mixtos *Ct* + *Xh* sobre probetas *G. angustifolia*

Las diferentes formas de colonización de *X. hypoxylon* y *C. tricholoma* al parecer dependieron principalmente de las características intrínsecas de *G. angustifolia*, debido a que este es un material heterogéneo y anisotrópico en razón a su origen orgánico. Así como de la agilidad del hongo para desarrollarse y su capacidades de invasión. El crecimiento abundante y vigoroso de *X. hypoxylon* sobre *G. angustifolia* estuvo relacionado posiblemente con una mayor capacidad de este hongo para colonizar el sustrato respecto a *C. tricholoma*, dado que ambos hongos se desarrollaron bajo las mismas condiciones de (humedad y temperatura).

De acuerdo con Pointing *et al.* (2003), *X. hypoxylon* actúa rápidamente en la colonización de algunos medios de cultivo como agar extracto de malta (AEM). Sin embargo, Chaparro *et al.*, (2009) encontraron que *X. hypoxylon* encontrada sobre un tronco poco descompuesto presentó un crecimiento limitado en (AEM). . Contrario a *C. tricholoma* que presentó un crecimiento abundante en este mismo medio de cultivo y fue colectada en el mismo tronco. El crecimiento de este hongo solo se vió limitado en el estado cinco de descomposición (cepas colectados sobre troncos en un estado muy avanzado de pudrición, es decir maderas muy blandas al tacto). Sin embargo, aunque *X. hypoxylon* presentó un crecimiento limitado en este estudio, se observó que otras especies del mismo género como *Xylaria polymorpha* presentaron un abundante crecimiento para cada uno de los troncos con estados de descomposición intermedios donde fueron encontrados.

De este modo es posible que la colonización del sustrato *G. angustifolia* por los hongos ensayados esté dado por las características intrínsecas del material, más que por la habilidad de crecimiento de los hongos. En cuanto al cultivo mixto *Ct + Xh* se sugiere que pudo haberse presentado algún tipo de interacción (competencia por espacio y por recurso), que ocasionó la disminución del área de colonización de *C. tricholoma* y aumentó del rango de colonización para *X. hypoxylon* (Chi *et al.*, 2007). Sin embargo esto debería probarse mediante un experimento.

De otro lado, se pudo determinar que el desarrollo del micelio sobre la superficie de las probetas no tiene relación directa con la acción de estos organismos al interior de la madera. Dado que en algunos casos probetas totalmente cubiertas por el micelio del hongo no presentaron porcentajes altos de pérdida de peso, en cambio probetas que no mostraron a simple vista una capa notable de micelio que las recubriera totalmente, exhibieron mayores pérdidas de peso, como es el caso del cultivo mixto *Ct + Xh*. (Figuras 3 y 5, Tabla 6) Esta tendencia es confirmada por Núñez (2004), quien expuso madera de Eucalipto al ataque de dos hongos de pudrición blanca (*Peniophora gigantea* y *Coriolus versicolor*) bajo condiciones controladas de laboratorio (contenido de humedad: 40% y 80%, temperatura de 20°C y 25°C, tiempo de exposición: uno, dos y tres meses y métodos silviculturales: monte alto y monte bajo). En este estudio también se evidenció que la apariencia externa de las probetas durante el ensayo y el desarrollo del micelio sobre estas no reflejó la tasa real de biodegradación (pérdida de peso) a nivel microscópico o al interior de la madera. En este sentido es importante resaltar que no es posible establecer una tendencia con relación a la acción de los hongos sobre las probetas provenientes de distintos materiales (guadua o madera) e incluso entre probetas del mismo material, ya que el comportamiento de estos organismos sobre un sustrato determinado está relacionado con las características intrínsecas del material (Núñez, 2004). Este puede ser muy heterogéneo en razón a su origen orgánico. Además de la fisiología de los hongos empleados. A estos factores se le puede atribuir la notable variación en los resultados del ensayo (Tablas 6 y 12).

7.1.2 Pérdida de peso

Los valores promedio de pérdida de peso en las probetas de *G. angustifolia* expuestas a hongos ligninolíticos durante 16 semanas se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Promedio \pm desviación estándar de la pérdida de peso en probetas de *G. angustifolia* ocasionado por hongos ligninolíticos. Ct= *Cookeina tricholoma*, Xh= *Xylaria hypoxylon* y Ct + Xh= cultivo mixto. CH= indica el contenido de humedad inicial en (%) de las probetas. *n=12.

Probetas*	Pérdida de peso (%)			
	Control	<i>C. tricholoma</i>	<i>X. hypoxylon</i>	Ct + Xh
<i>G. angustifolia</i> 40% CH	1,3 \pm (0,8)	0,8 \pm (0,7)	1,1 \pm (0,2)	2,5 \pm (0,5)
<i>G. angustifolia</i> 60% CH	1,7 \pm (0,8)	1,6 \pm (0,5)	3,2 \pm (1,6)	4,3 \pm (5,1)

El análisis estadístico determinó que no existe interacción entre los factores de diseño ($F= 1,05$, $P= 0,37$), razón por la cual se usó un prueba de Kruskal-Wallis para cada uno de los factores por separado. Este análisis señaló que existen diferencias significativas entre los distintos niveles del factor hongos de prueba utilizados ($H= 5,73$, $P= 0,00$) y entre los distintos contenidos de humedad inicial de las probetas ($H=9,31$, $P= 0,00$). A nivel general, el porcentaje de pérdida de peso ocasionado por los hongos ligninolíticos fue relativamente bajo. El mayor porcentaje de pérdida de peso fue ocasionado por el cultivo mixto Ct + Xh (4,3%), seguido de *X. hypoxylon* (3,2%) y finalmente el control y *C. tricholoma* (1,7 % y 1,6%), respectivamente. Las diferencias se presentaron al comparar el cultivo mixto Ct + Xh vs. *C. tricholoma*, y entre el cultivo mixto Ct + Xh vs. Control (Figura 5).

La ausencia de diferencias significativas entre el cultivo mixto y *X. hypoxylon* en cuanto a las pérdidas de peso ocasionadas en las probetas de *G. angustifolia*, ($H=23,36$, $P= 0,12$) pudo deberse a que en el cultivo mixto Ct + Xh, según el análisis de actividad enzimática realizado, el hongo que presentó mayor actividad lacasa fue *X. hypoxylon* ($H= 0,15$, $P= 0,92$), razón por la cual los porcentajes de pérdida de peso fueron muy cercanos entre estos dos tratamientos. Sin embargo, de acuerdo a lo observado se puede señalar que la acción conjunta de dos hongos sobre el mismo sustrato es más fuerte que la acción aislada de cada género de hongo, dado que

promediando ambos contenidos de humedad, se hizo evidente que el cultivo mixto provocó entre 1,7% y 2,7 % más de pérdidas de peso en comparación con los demás tratamientos.

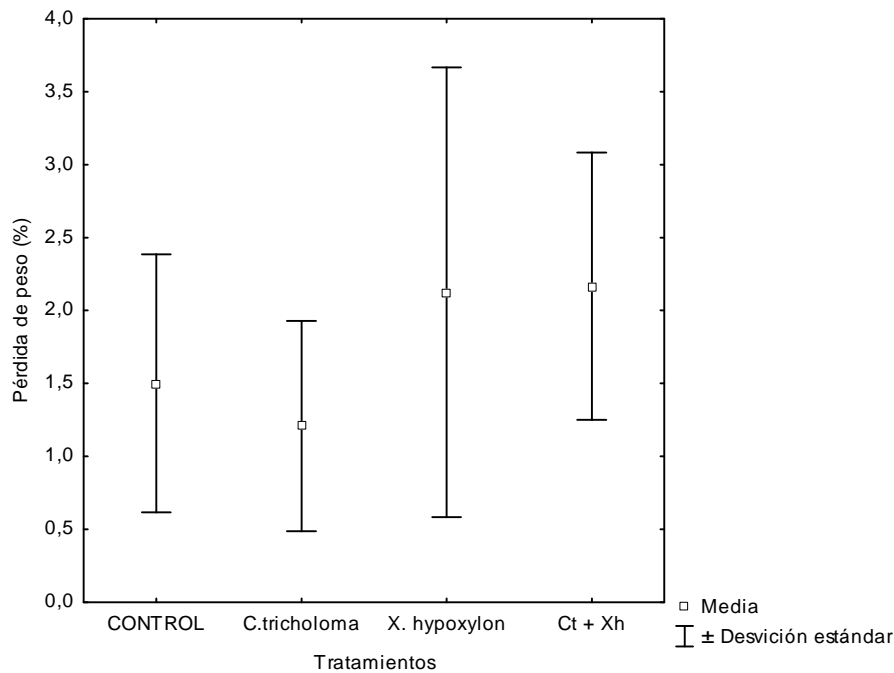


Figura 6. Promedio \pm desviación estándar de la pérdida de peso de *G. angustifolia* en los distintos tratamientos.

Autores como Chi *et al.* (2007) han indicado que la mezcla de algunas especies de hongos puede ocasionar mayores pérdidas de peso en la madera expuesta. Durante su investigación, los resultados señalaron que el cultivo mixto de *Ceriporiopsis subvermispora* y *Pleurotus ostreatus* provocó el mayor porcentaje de pérdida de peso en comparación con otros cultivos mixtos y con monocultivos. Sin embargo, los autores aseguran que el resultado final en el proceso de descomposición parece depender de la combinación de algunas especies en particular o del modo de interacción entre las especies, además de las condiciones microambientales y

nutricionales en el sustrato. Asimismo Sundman & Näse (1972), observaron que en la interacción micelial de *P. ostreatus* con veinte especies de diferentes hongos en diversas pruebas de laboratorio presentaron efectos sinérgicos en la degradación de lignina y lignosulfonatos con la mayoría de estas especies estudiadas. Esto sugiere que el sistema fúngico de degradación de la lignina en algunos hongos descomponedores de la madera, puede ser estimulado por la interacción interespecífica con otros hongos de pudrición blanca, de tal manera que se puede incrementar la explotación de los recursos y la producción de enzimas. Esto fue evidenciado en este estudio en donde la acción simultánea de dos hongos *Ct* + *Xh* (Cultivo mixto) sobre el mismo sustrato, mostró los mayores valores de descomposición de *G. angustifolia*.

De otro lado, las bajas pérdidas de peso a nivel general pueden estar relacionadas con el hecho de que los hongos utilizados para el estudio pertenecen al Phylum Ascomycota. En este sentido autores como Pointing *et al.* (2003) ponen de manifiesto la capacidad relativamente débil que presenta el Phylum Ascomycota para efectos de descomposición (pérdida de peso) de la madera, en relación con el Phylum Basidiomycota. Durante su investigación el promedio de pérdida de peso ocasionado por los miembros de la familia Xylareaceae en las probetas de madera fue del 10% durante 12 semanas de exposición. De los 11 taxones de la familia Xylareaceae evaluados, sólo cinco fueron capaces de efectuar importantes pérdidas de peso (entre 5,6 y 10,3 %) en *Betula alleghaniensis* (Abedul amarillo).

Este valor es ligeramente superior a lo registrado en el presente estudio para *G. angustifolia*, donde los valores fueron relativamente bajos (0,8 % - 4,3 %) durante un periodo de exposición de 16 semanas. En el caso específico de *X. hypoxylon*, el valor registrado durante el presente estudio (3,1%) es un dato muy cercano a lo reportado por Pointing *et al.* (2003), para esta misma especie (4,4%). En cuanto a *C. tricholoma* los datos del presente estudio serían los primeros datos reportados sobre pérdida de peso para esta especie.

A pesar de que los hongos Ascomycota tienen poca capacidad de degradación, según Pointing *et al.* (2003) fueron usados en este estudio debido a que en los reportes más recientes sobre actividad enzimática de hongos descomponedores de la madera, de acuerdo con Chaparro *et al.* (2009) se indica que algunas especies de hongos pertenecientes a este Phylum poseen una actividad enzimática lacasa bastante alta, con valores entre 4,50 mm a 11,42 mm de ABTS oxidado/día. Con base en esto se seleccionaron hongos Ascomycota y Basidimycota a partir de las cepas conservadas en este estudio. También se tuvo en cuenta que las cepas provenían de la misma área de estudio en donde fueron recolectados los individuos de *G. angustifolia* y compartían características de sitio, estando adaptadas a las condiciones ambientales de la zona. Con las cepas escogidas (*Cookeina tricholoma*, *Xylaria hypoxylon* y *Earliella* sp.) que presentaron una mayor actividad enzimática según lo reportado por Chaparro *et al.*, (2009) se realizaron pruebas de interacción antagónica en todas las posibles combinaciones de los hongos. De acuerdo con los reportes de Quiroz-Sarmiento *et al.* 2008, el mecanismo de interacción que se pudo haber presentado durante las pruebas fue competencia por espacio de *Cookeina tricholoma* vs. *Earliella* sp. y de *Xylaria hypoxylon* vs. *Earliella* sp. Aunque los autores trabajaron con otros hongos se podría pensar que un mecanismo similar está presente en la interacción de los hongos evaluados en este estudio. Es así como *Earliella* sp. mostró una mayor habilidad en la colonización del sustrato, lo que ocasiona la disminución del área de crecimiento de *Cookeina tricholoma* y *Xylaria hypoxylon* respectivamente. Se observó que *C. tricholoma* y *X. hypoxylon* fueron las especies que presentaron mayor compatibilidad para desarrollarse juntas. Razón por la cual fueron escogidas para el tratamiento cultivo mixto.

Adicionalmente es importante resaltar que son muy pocos los estudios que han examinado la naturaleza de la madera descompuesta por hongos del Phylum Ascomycota, a pesar de su distribución cosmopolita. Esta falta de información resalta la especial atención que debe ponerse en los trópicos y subtrópicos donde se estima una alta biodiversidad y abundancia de este grupo de organismos (Pointing *et al.* 2003). En este sentido los fragmentos de bosques subandino en el eje cafetero

evidenciaron una alta abundancia de algunos géneros como *Xylaria* y *Cookeina* representan del Phylum Ascomycota (Avellaneda, 2006). Estos hongos nativos poseen mucha importancia desde el punto de vista ecológico por su papel fundamental en el ciclaje de los sustratos de carbono dentro de estos ecosistemas (Avellaneda, 2006).

Con respecto al contenido de humedad inicial de las probetas, el estudio indicó que las mayores pérdidas de peso se producen en los tratamientos con un contenido de humedad más alto (60%), comparado con aquellos tratamientos que presentaron un contenido de humedad inicial más bajo (40%) (Figura 6). Según Winandy *et al.* (2005) los hongos manifiestan una tendencia a provocar mayores pérdidas peso en la madera cuando las condiciones de humedad del sustrato se encuentran por encima del punto de saturación de la fibra, es decir por encima del 30% de humedad para la madera y 22% para el bambú (Ota M, 1955).

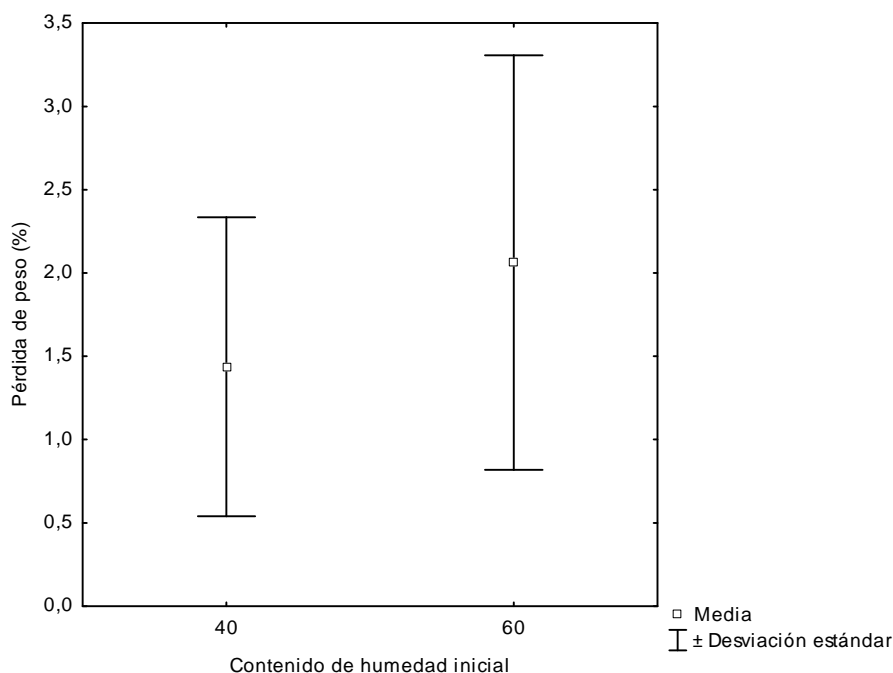


Figura 7. Promedio \pm desviación estándar de la pérdida de peso de *G. angustifolia* en relacion con el contenido de humedad inicial.

Un factor importante en el inicio de la descomposición de la madera por hongos es el contenido de humedad del sustrato (Winandy *et al.*, 2005). Generalmente un contenido de humedad de 20% es considerado como un valor por debajo del umbral en el cual la pudrición no ocurre, aunque en algunos trabajos han sugerido que la pudrición no se produce por debajo del 25% de humedad (Rapp *et al.*, 2000 citado por Winandy *et al.*, 2005).

De acuerdo con Zabel & Morrell (1992), la mayoría de los hongos xilófagos requieren contenidos de humedad superiores al punto de saturación de la fibra (40-80%), donde existe agua libre disponible para que pueda ocurrir la secreción y difusión de las exoenzimas hifales que favorecen el proceso de descomposición de la madera.

7.1.3 Variación en el contenido de humedad

Los resultados del contenido de humedad final de las probetas de *G. angustifolia* expuestas a hongos ligninolíticos durante 16 semanas se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Valores promedio de contenido de humedad en probetas de *G. angustifolia* expuestas a hongos ligninolíticos durante 16 semanas. Ct= *Cookeina tricholoma*, Xh= *Xylaria hypoxylon* y Ct + Xh = cultivo mixto. CH= indica el contenido de humedad inicial de las probetas. Los valores en paréntesis indican la desviación estándar.* n=12.

Probetas*	Contenido de humedad (%)			
	Control	<i>C. tricholoma</i>	<i>X. hypoxylon</i>	Ct + Xh
<i>G. angustifolia</i> 40% CH	47 ± (3,5)	52 ± (3,2)	53 ± (2,0)	53 ± (2,1)
<i>G. angustifolia</i> 60% CH	48 ± (4,4)	57 ± (1,9)	56 ± (2,4)	56 ± (3,6)

Todas las probetas de los tratamientos en los que el contenido de humedad inicial fue de 40% ganaron hasta un 13% de humedad durante el ensayo. El aumento en el contenido de humedad de las probetas de *G. angustifolia* está relacionado con la liberación de agua, producto del proceso metabólico de los componentes de la pared celular por la acción fúngica (Cartwright y Findlay, 1958; Van Acker y Stevens 2003). Con las probetas de los tratamientos en las que el contenido de humedad inicial fue

de 60% ocurrió lo contrario, estas perdieron humedad durante el ensayo. Las pérdidas de humedad oscilaron entre 3% y 12% según el tratamiento.

Este comportamiento está relacionado con el hecho de que la guadua es un material higroscópico y se comporta de acuerdo a las leyes que rigen para los cuerpos porosos y se denomina sorción (Montoya, 2007). En este sentido, las probetas de guadua fueron dejadas suficiente tiempo en un ambiente cuyas características de temperatura y humedad relativa permanecieron constantes, con el fin de que se estableciera un equilibrio entre la presión parcial del vapor de agua en el aire y la que existe en el interior de la pieza de madera (Winandy *et al.*, 2005) Cuando este equilibrio es alcanzado la humedad del material no varía más y se dice que ha llegado al contenido de humedad de equilibrio o humedad límite, permaneciendo constante mientras las características del aire alrededor de la probeta no cambien (Montoya, 2007). De esta manera las probetas tanto las de 40% como las de 60% de contenido de humedad inicial mostraron diferentes tendencias para alcanzar su contenido de equilibrio (ganando o perdiendo humedad). Es importante anotar que este equilibrio no se alcanza instantáneamente y el tiempo empleado depende de varios factores tales como la densidad de la madera, el espesor, la cantidad y calidad de sustancias extraíbles, la humedad inicial, el agente de biodeterioro, entre otros (Winandy *et al.*, 2005). Asimismo el control del contenido de humedad se altera cuando ocurre la degradación por hongos, ya que la madera absorbe mayor cantidad de agua y se hincha más rápido que la madera sana (tratamiento control), debido a la formación de cavidades en la pared celular que facilitan la entrada del agua proveniente del medio ambiente y del metabolismo del hongo de pudrición (Cartwright & Findlay, 1958).

7.2 Actividad enzimática

La producción de enzimas ligninolíticas lacasa (LAC) y manganeso peroxidasa (MnP) bajo las condiciones experimentales empleadas durante el estudio fueron bajas (Tabla 8).

Tabla 8. Producción enzimática total de lacasa (LAC) y manganeso peroxidasa (MnP) por hongos ligninolíticos. Ct= *Cookeina tricholoma*, Xh= *Xylaria hypoxylon* y Ct + Xh = cultivo mixto. CH= indica el contenido de humedad inicial en (%) de las probetas de *G. angustifolia*.

Probetas	Producción enzimática					
	<i>C. tricholoma</i>		<i>X. hypoxylon</i>		Ct + Xh	
	LAC (U/g)	MnP (U/g)	LAC (U/g)	MnP (U/g)	LAC (U/g)	MnP (U/g)
<i>G. angustifolia</i> 40% CH	1,15	0,62	0,77	0,57	0,91	0,58
<i>G. angustifolia</i> 60% CH	1,04	0,55	3,73	0,72	1,07	0,64

Los niveles detectados de MnP fueron siempre bajos en comparación con los niveles de LAC (Figura 7). Esta última enzima (LAC) presentó valores superiores para los hongos ensayados durante el estudio. La mayor actividad LAC la produjo *X. hypoxylon* con un valor de (3,75 U/g biomasa seca), superior a la que presentó *C. tricholoma* y el cultivo mixto (1,15 U/g y 1,07 U/g), respectivamente.

Según Hernández *et al.* (2002), la habilidad de los hongos para producir lacasa varía entre especies y aún entre cepas de la misma especie, lo cual ha sido confirmado por Savoie *et al.* (1998). De igual manera Chaparro *et al.*, (2009), afirman que no se puede establecer el comportamiento de la tasa de actividad enzimática según el Phylum en que se encuentren los hongos. Los autores indican que el comportamiento en la tasa de actividad enzimática depende solamente de la fisiología de cada hongo en particular.

Los valores de actividad lacasa registrados en este estudio para los hongos ensayados son bastante bajos en relación con los valores reportados para el hongo

Trametes versicolor con un valor de 28,7 U/g biomasa en peso seco (Schlosser *et al.* 1997). Esta notable diferencia en la producción de LAC puede deberse a que durante el presente estudio no se le agregó al medio de cultivo agar extracto de malta (AEM) ningún componente que sirviera como inductor de la actividad lacasa como sí se hace en la mayoría de investigaciones sobre actividad enzimática y producción de enzimas a nivel industrial, en las que se utilizan una gran variedad de compuestos aromáticos como la xilidina y el ácido ferúlico que inducen a los hongos a la producción de altas concentraciones de esta enzima (Ramírez *et al.* 2003).

De otro lado, el estado del medio de cultivo también pudo influir de manera negativa en los resultados del estudio dado que la producción y cuantificación de las enzimas no fue realizada en cultivos bajo fermentación líquida en medios modificados por la adición de diferentes nutrientes y/o componentes inductores de la actividad enzimática, sino que fue realizada sobre cultivos sólidos de agar extracto de malta al 2%, utilizando una probeta de guadua como fuente de carbono adicional. Esto debido a que sólo se quería estimar la producción enzimática de los hongos al finalizar el tiempo de exposición de las probetas frente a los hongos. A este aspecto se le pueden atribuir también los bajos niveles detectados de ambas enzimas durante el estudio.

Desafortunadamente los resultados obtenidos en esta investigación no son comparables con la mayoría de trabajos reportados sobre actividad enzimática LAC y MnP debido a los diferentes procesos metodológicos que se utilizan para la obtención de dichas actividades. Por ejemplo, Chaparro *et al.*, (2009), indican que *Xylaria polymorpha* presentó una tasa de actividad lacasa de 4,50 mm de ABT oxidado/día y *Cookeina sulcipes* tuvo una producción de lacasa con una actividad de 157 UL⁻¹. Sin embargo en este trabajo no se presenta la relación entre la cantidad de líquido y la masa sólido seca que se empleó en los ensayos. Además de esto la mayoría de los estudios de actividad enzimática (Jiménez *et al.*, 1999; Tinoco *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2003; Pointing *et al.*, 2003; Papinutti *et al.*, 2003; Quintero *et al.*, 2006 y Chaparro *et al.*, 2009) realizan mediciones de las enzimas durante un periodo de tiempo que osciló entre 8 y 20 días. Durante este tiempo se registran los picos

altos y bajos en la cinética de la enzima. No obstante para este estudio se realizó sólo una medición de la actividad enzimática al finalizar el tiempo de exposición de las probetas frente a los hongos ligninolíticos, es decir, al cabo de 16 semanas se evaluó la presencia y la actividad de las enzimas.

En el caso de MnP los resultados coinciden con lo reportado por Quintero *et al.* (2006) para algunos materiales lignocelulósicos como corozo de maíz (0,8 U/g) y compost de jardinería (0,13 U/g). Según Papinutti (2003) la producción de enzimas ligninolíticas en algunos hongos de pudrición blanca está estrechamente relacionada con el tipo de madera o material que se use como sustrato. Son varios los factores que afectan la presencia y/o ausencia de la actividad de estas enzimas. Respecto a los bajos niveles de MnP, es muy probable que la producción de MnP en las especies de hongos utilizadas esté regulada por limitaciones de Manganese como en el caso de *Phanerochaete chrysosporium* (Quintero *et al.* 2006). El manganeso se encuentra en todos los tejidos de la madera y juega un papel importante en la degradación de la misma por los hongos ligninolíticos (Blanchette, 1984 citado por Jiménez *et al.*, 1999). La expresión de MnP es dependiente de la presencia del ión manganeso (Mn^{+2}) en altas cantidades, este tiene un efecto de estimulación en la producción de la MnP (Orth *et al.* 1995 citado por Jiménez *et al.*, 1999). Ajustando los niveles de (Mn^{+2}) puede ser posible maximizar los niveles de producción de esta enzima.

La prueba estadística determinó que no existen diferencias significativas entre los hongos de prueba para la actividad LAC ($H= 0,15$, $P= 0,92$) y para la actividad MnP ($H= 3,50$, $P=0,17$). De igual manera no se presentaron diferencias en cuanto al contenido de humedad inicial del sustrato para la actividad lacasa ($H=1,40$, $P= 0,23$) y MnP ($H=1,94$, $P=0,16$). Esto hace suponer que otros factores como la concentración de nitrógeno en el medio de cultivo (AEM) y la ausencia de elementos inductores como Mn^{2+} o Cu^{2+} pueden estar afectando la producción de las enzimas. Dado que la inducción por este tipo de compuestos fue probada en varios hongos de pudrición blanca (Márquez, 2004).

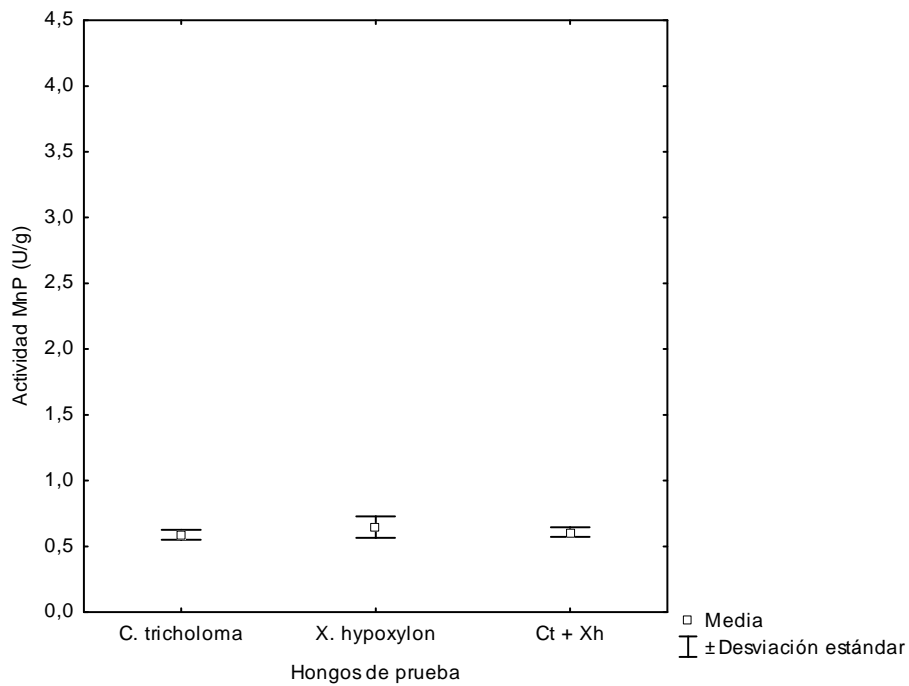
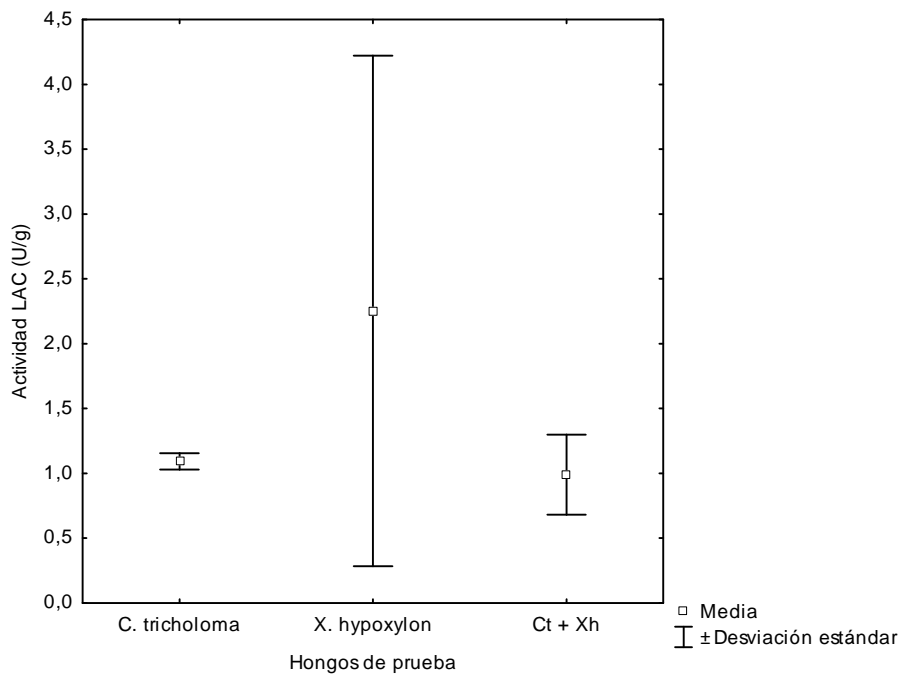


Figura 8. Comparación entre las medias de la producción de LAC y MnP (U/g) por los hongos ligninolíticos.

Los valores de actividad enzimática LAC registrada para los hongos de prueba (*C. tricholoma* y el cultivo mixto) (Tabla 8), concuerdan con los reportes de producción basal máxima de la enzima lacasa (1,01 U/g) para el hongo mitospórico *Cladosporium cladosporioides*. Este hongo también presentó valores en el mismo rango de *X. hypoxylon* aunque en presencia de fenantreno. Este compuesto actúa como inductor, aumentando la actividad de la enzima lacasa (3,09 U/g biomasa fúngica) (Chávez-López *et al.* 2005). De acuerdo a lo anterior se podría sugerir que los hongos de los grupos Ascomycota y Deuteromycota comparados con los Basidiomycota de pudrición blanca poseen una capacidad relativamente baja para la producción de enzimas ligninolíticas en presencia o ausencia de inductores, aunque los estudios usan condiciones de medición distintas (Chávez- López *et al.*, 2005).

La actividad de la enzima LAC fue reportada en *Xylaria hypoxylon* por Pointing *et al.*, (2003). De acuerdo con estos autores la producción de LAC fue rara entre las doce especies de la familia *Xylariaceae* evaluadas, sólo se detectó para tres especies de *Xylaria* (*X. hypoxylon* y *X. sp.*, dos especies indeterminadas) mostrando una baja actividad LAC para *X. hypoxylon* y una moderada actividad para *X. sp.* mediante la técnica de ABTS. Sin embargo otras especies de este mismo género como *X. polymorpha* han mostrado una alta actividad de esta enzima (Chaparro *et al.*, 2009).

De otro lado son escasos los trabajos publicados de actividad lacasa para *Cookeinia* spp. Este es el segundo reporte de actividad enzimática lacasa para la especie *C. tricholoma*, ya que el primer reporte fue realizado por Chaparro *et al.* (2009). Cabe resaltar que tanto *Xylaria hypoxylon* como *Cookeinia tricholoma* son hongos nativos colectados en fragmentos de bosque subandino. Estos hongos son muy importantes desde el punto de vista ecológico dado que juegan un papel fundamental en la descomposición de la madera dentro de estos ecosistemas.

Es importante señalar que la producción de estas dos enzimas (LAC y MnP), bajo las condiciones descritas en este estudio, no ha sido reportada. Aunque la producción enzimática obtenida no es alta, la presencia de las dos enzimas en el cultivo mixto *Ct*

+ *Xh* es importante de resaltar, por que amplía las opciones que tienen este tipo de combinaciones entre hongos y su maquinaria enzimática en diferentes campos de aplicación dado que las enzimas podrían actuar sinérgicamente o de manera secuencial sobre un sustrato determinado.

7.3 Propiedades químicas

La composición química de la *Guadua angustifolia* Kunth. es similar a la de la madera (Tabla 9). En la Tabla 10 se presentan los resultados del análisis inicial de las propiedades químicas de *G. angustifolia* antes de ser expuesta a los hongos de pudrición. La proporción con que participan los compuestos principales es semejante a la de madera de latifoliadas, observándose una cantidad de lignina relativamente baja (15,4 %) en relación a las coníferas, pero comparable con los valores reportados para algunos bambúes (20-25%); sin embargo este valor se encuentra dentro del rango (15-35%) de valores registrados para productos maderables (Mariani & Torres, 2004). El contenido de lignina en el bambú contribuye en gran medida a una mayor resistencia frente al biodeterioro, además de darle rigidez estructural, lo que la convierte en un valioso material de construcción (Liese & Kumar, 2003; Li, 2004).

Tabla 9. Composición química de la madera. Cantidad en base a peso seco

Compuesto	Cantidad en base a peso seco (%)
Celulosa	≈ 50
Hemicelulosa	≈ 20
Lignina	15 - 35
Extractos	
• Conífera	5 - 8
• Latifoliadas	2 - 4
Inorgánicos	0,5

Fuente: D' Almeida (1981)

Tabla 10. Análisis inicial de Propiedades químicas de *Guadua angustifolia* Kunth.

Compuesto	Cantidad en base a peso seco (%)
Holocelulosa	63,6
α-celulosa	47,8
Lignina	15,4
Ceniza	4,2
Sílice	7,7

El porcentaje de holocelulosa, compuesta por α-celulosa y hemicelulosas principalmente (63,6 %), es típico para los bambúes cuyo contenido de holocelulosa está entre 50 % y 70 % en base seca. La α-celulosa es el principal componente del bambú, además de ser un factor importante en la determinación de las propiedades mecánicas del bambú y la madera. Aproximadamente 40-55% de masa seca en el bambú es α-celulosa (Li, 2004). En general, el contenido de α-celulosa en el bambú está entre 40-50%; lo que coincide con el valor reportado en el análisis para *G. angustifolia* (α-celulosa = 47,8%). Estos valores se encuentran dentro del rango reportado para el contenido de celulosa en maderas blandas (40 - 52%) y en maderas duras (38 - 56%); el alto contenido de celulosa en *G. angustifolia* indica el potencial uso de esta importante materia prima para la industria de pulpa y papel (Li *et al.*, 2007).

La ceniza es un término que hace referencia generalmente a las sustancias inorgánicas como silicatos, los sulfatos, los carbonatos o iones metálicos (Liese & Kumar, 2003). El contenido de las cenizas en *G. angustifolia* es notablemente superior a los valores registrados en madera de diferentes especies. Tanto en coníferas como en latifoliadas estos compuestos normalmente no superan el 0,6% (Rutiaga *et al.* 2000). El alto contenido de cenizas en *G. angustifolia* puede afectar

negativamente la maquinaria para su procesamiento y transformación (Li *et al.*, 2007).

La Tabla 10 presenta los valores de las propiedades químicas de las probetas de *G. angustifolia* expuesta a hongos ligninolíticos durante 16 semanas. La prueba estadística determinó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a los porcentajes de los componentes químicos de *G. angustifolia*. Para el contenido de holocelulosa ($H=3,01$, $P= 0,55$), α -celulosa ($H=4,83$, $P= 0,30$), lignina ($H=6,75$, $P=0,14$) y sílice ($H=3,96$, $P= 0,41$). Estos resultados indican que posiblemente los hongos ensayados no afectaron los componentes estructurales de la pared celular de *G. angustifolia* en ninguno de los tratamientos evaluados. Lo cual podría estar relacionado con los reducidos porcentajes de pérdida de peso que experimentaron las probetas de *G. angustifolia*.

Tabla 11. Comparación entre los componentes químicos de *G. angustifolia* por tratamiento. Análisis inicial (Ti) vs. Tratamientos (T1 a T6). T0= control, Ct= *Cookeina tricholoma*, Xh= *Xylaria hypoxylon* y Ct + Xh = cultivo mixto. CH= indica el contenido de humedad inicial en (%) de las probetas de *G. angustifolia*.

Tratamientos			Componentes			
			Holocelulosa (%)	α -Celulosa (%)	Lignina (%)	Sílice (%)
	Inicial	Ti	63,6	47,6	15,4	7,7
Control (-) sin hongos	Control	T0	73,5	77,1	43,8	5,0
<i>C. tricholoma</i>	CH 40%	T1	73,5	48,9	22,0	4,2
	CH 60%	T2	71,4	81,9	21,7	4,3
<i>X. hypoxylon</i>	CH 40%	T3	71,7	84,6	24,8	4,3
	CH 60%	T4	77,6	85,5	28,3	4,3
Ct + Xh	CH 40%	T5	74,6	86,5	31,9	5,0
	CH 60%	T6	66,0	81,1	36,6	3,0

Los valores registrados en la tabla 10 muestran que hubo un aumento entre los componentes químicos de *G. angustifolia* según el tratamiento aplicado, en relación al análisis inicial. Aunque esto parezca contradictorio se podría explicar teniendo en cuenta lo propuesto por Curling *et al.* (2002), los autores han indicado que con frecuencia se establecen relaciones entre el porcentaje de peso perdido de la

madera y la alteración en la composición química y las propiedades físicas y mecánicas de la misma. Esto es debido a que cuando ocurre la degradación de la madera por hongos xilófagos se presenta una disminución de los compuestos estructurales de la madera (celulosa, lignina y hemicelulosa), lo que se manifiesta en la disminución del peso de la misma (Zabel y Morell, 1992).

Curling *et al.* (2002) demostraron que considerables pérdidas de peso en la madera se asocian con una significativa pérdida de mananas y xilanas. Mientras que incrementos más significativos ocurren por la disminución de glucanas. Sin embargo autores como Zabel y Morell (1992) indicaron que se pueden presentar pérdidas de peso relativamente bajas (1 y 3%) cuando algunos hongos utilizan los nutrientes más accesibles presentes en tejidos de almacenamiento o las sustancias extraíbles como azúcares, almidón, ceras y sales inorgánicas. En este sentido de acuerdo con Liese y Kumar (2003) las altas cantidades de almidón presentes en los culmos de bambú son la fuente principal de carbono utilizada por los hongos para su nutrición. Razón por la cual en este estudio para el caso específico de *G. angustifolia* los hongos ligninolíticos debieron aprovechar este tipo de compuestos no estructurales, de fácil obtención almacenados como productos de reserva, por lo tanto los compuestos estructurales no se vieron afectados principalmente. Sin embargo, es importante repetir el ensayo bajo las mismas condiciones experimentales para corroborar estos resultados.

7.4 Propiedades mecánicas

En Colombia se han realizado algunos estudios sobre resistencia a la compresión de la *Guadua angustifolia* Kunth. para determinar la carga en el límite proporcional. Los resultados obtenidos muestran escasas variaciones entre los valores. González & Díaz (1992) reportan valores de esfuerzo en el límite proporcional de 12,38 MPa para guaduas provenientes de Santafé de Antioquia, y para las de Risaralda de 19,79 MPa. De otro lado Janssen (1999) registró como resistencia última valores promedio de 63,3 MPa para elementos sometidos a compresión paralela a la fibra. Asimismo Osorio *et al.* (2007) indican un valor promedio para el esfuerzo a compresión admisible en el diseño de elementos cortos de *G. angustifolia* de 27,15 MPa. Sin embargo Takeuchi & González (2007) afirman que aunque en Colombia se ha determinado la resistencia a la compresión paralela a la fibra en guadua en trabajos de distintos autores, los valores de los resultados obtenidos no pueden ser comparados por diferentes razones. En primer lugar, debido a la falta de una norma para el ensayo de resistencia a la compresión en guadua las investigaciones realizadas utilizan procedimientos diferentes. En segundo caso, las edades de ensayos para los culmos varían entre uno y siete años, y además en muchos de estos trabajos el número de ensayos es bastante reducido (Li, 2004; Takeuchi & González, 2007 y Li *et al.*, 2007).

La Tabla 12 muestra los resultados de los valores de resistencia a la compresión de las probetas de *G. angustifolia* expuestas a hongos ligninolíticos durante 16 semanas. El análisis de varianza determinó que no hubo interacción entre los factores de diseño ($F=0,56$, $P=0,64$), por lo tanto se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para cada factor. El contenido de humedad inicial no fue significativamente distinto entre las probetas de los distintos tratamientos ($F=0,40$, $P = 0,52$). En cuanto a los hongos de prueba ensayados se encontró que el valor más alto de resistencia ($H= 16,22$, $P=0,00$) se registró para el tratamiento (T7), con un contenido de humedad del 40% y la combinación de los dos hongos (*Ct +Xh*) cultivo mixto. El valor

más bajo de resistencia fue el tratamiento (T6) *X. hypoxylon* al 60% de humedad (Figura 8 y 9).

Tabla 12. Promedio de resistencia a la compresión paralela a la fibra \pm desviación estándar en probetas de *G. angustifolia* expuestas a hongos ligninolíticos. Ct= *Cookeina tricholoma*, Xh= *Xylaria hypoxylon* y Ct + Xh= cultivo mixto. CH= Indica el contenido de humedad inicial en las probetas. *n= 12.

Probetas*	Resistencia a la compresión (Mpa)			
	Control	<i>C. tricholoma</i>	<i>X. hypoxylon</i>	Ct + Xh
<i>G. angustifolia</i> 40% CH	68 \pm 14,9	73 \pm 13,1	74 \pm 9,9	85 \pm 11,6
<i>G. angustifolia</i> 60% CH	69 \pm 14,9	75 \pm 9,4	67 \pm 13,3	82 \pm 9,3

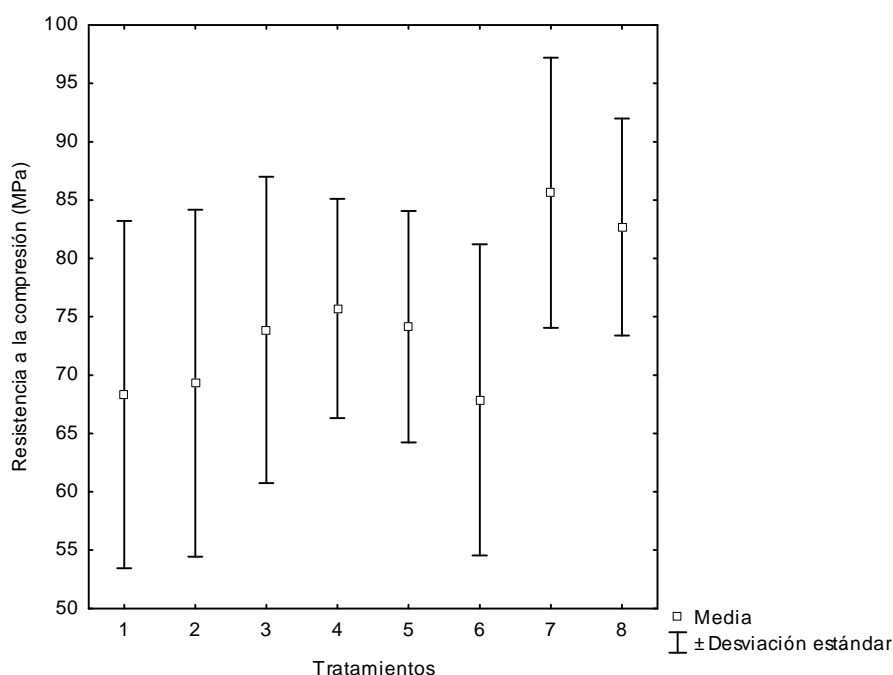


Figura 9. Promedio de resistencia a la compresión (MPa) \pm desviación estándar por tratamiento. T1= control al 40% de humedad inicial, T2= control al 60% de humedad inicial, T3= *C. tricholoma* al 40%, T4= *C. tricholoma* al 60%, T5= *X. hypoxylon* al 40%, T6= *X. hypoxylon* al 60%, T7= Ct + Xh al 40%, T8= Ct + Xh al 60%. Ct= *C. tricholoma* y Xh= *X. hypoxylon*.

La figura 8 indica que hay un incremento significativo de la resistencia a la compresión de las probetas de *G. angustifolia* expuestas a los diferentes tratamientos (hongos solos y en combinación). Sin embargo, aunque el análisis estadístico señale que existe un efecto positivo (Incrementó de la resistencia) de los hongos sobre la resistencia a la compresión; los argumentos bibliográficos son contundentes y manifiestan que el proceso de biodeterioro ocasionado por los hongos de pudrición, involucra la digestión parcial o completa del complejo material orgánico que es la madera, produciendo cambios en su composición y por lo tanto alterando de manera irreversible sus propiedades anatómicas, químicas, físicas y mecánicas (Zabel y Morrell, 1992).

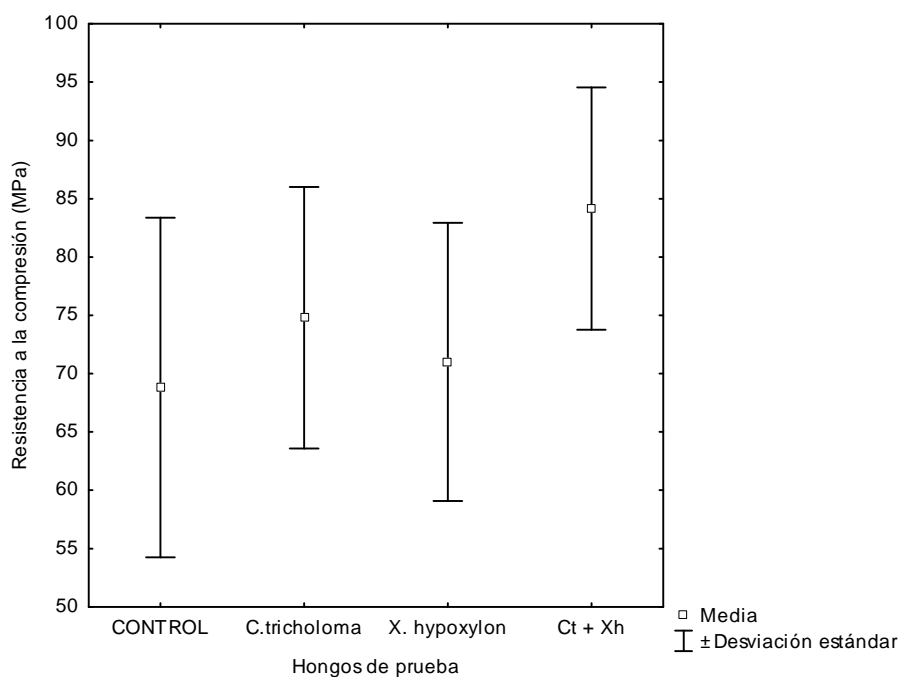


Figura 10. Promedio \pm desviación estándar de la resistencia a la compresión (MPa) para los diferentes tratamientos con los hongos ligninolíticos.

De acuerdo con Liese y Kumar (2003) la degradación del bambú conduce a una pérdida de sustancias de la pared celular, que tiene como consecuencia la reducción de sus propiedades de resistencia, incluso antes de que se presente un ligero

cambio en el color o pérdida de peso. Las propiedades de fuerza son las que más se reducen, en particular la resistencia a la flexión, compresión e impacto (Zabel y Morrell, 1992). Razón por la cual el aumento de la resistencia a la compresión paralela a la fibra de las probetas de *G. angustifolia* no es ocasionado por los hongos. Es decir, que existen otros factores que no se tuvieron en cuenta en este estudio que posiblemente pudieron estar afectando la resistencia de la guadua, como por ejemplo el proceso de curado.

Este proceso se pudo producir al sumergir las probetas en agua durante varios días (8-16) para obtener los contenidos de humedad deseados según el tratamiento. Este paso durante la adecuación de las probetas pudo ser uno de los muchos factores que influyeron en las diferencias entre los valores de compresión en las probetas de *G. angustifolia*. En el caso de las probetas sometidas a los tratamientos (hongos), estas fueron preparadas durante ocho semanas y sometidas a diferentes condiciones de humedad relativa y del sustrato (saturación en agua destilada), cambios de temperatura (secado) dentro y fuera de las cámaras de descomposición. Esto explicaría por qué la notable diferencia entre la resistencia de los diferentes tratamientos.

En este sentido autores como Anwar *et al.* (2009) han indicado que el tiempo de curado tiene un efecto positivo sobre el módulo de rotura (MOR) y el módulo de elasticidad (MOE) en la compresión paralela a la fibra, incrementado significativamente algunas propiedades en comparación con el tratamiento control. Además de mejorar la estabilidad y las propiedades de resistencia de las tiras de bambú.

De otro lado, según Abd. Latif & Mohd. Zin (1992) la mayoría de las propiedades mecánicas del bambú varían significativamente con la edad y la ubicación en el culmo. La compresión paralela al grano, aumenta gradualmente con la edad y la altura. En este sentido dado que las probetas provienen de especímenes con edades

entre 5 y 6 años (sobremaduros), esto podría explicar los altos valores de resistencia, aun cuando todas las muestras provengan de la parte basal del culmo.

Es importante resaltar que *G. angustifolia* se caracteriza por ser un material heterogéneo y con comportamiento anisotrópico. Por lo tanto sus propiedades tanto físicas como mecánicas dependen de muchas variables entre las cuales podemos mencionar la variedad o biotipo, factores de sitio: suelo y condiciones climáticas, tratamiento silvicultural, técnicas de cosecha, edad, densidad, contenido de humedad, posición en el culmo, nodos o internodos, agentes de biodegradación, entre otros (Kumar *et al.* 1994), que podrían haber influenciado los resultados de la investigación. Teniendo en cuenta que el material utilizado en este estudio proviene de guaduales naturales, en donde no se encuentra plenamente establecido la edad de cada espécimen, este factor podría explicar la alta variación de los resultados obtenidos.

En cuanto al contenido de humedad autores como Abd. & Mohd. (2003) afirman que el contenido de humedad del sustrato presenta una relación inversamente proporcional con la resistencia a la compresión, es decir, que la resistencia se incrementa cuando el contenido de humedad disminuye. Sin embargo aunque a simple vista los datos parecieran seguir esta tendencia, el análisis estadístico demuestra lo contrario, es decir que bajo las condiciones de este estudio, el contenido de humedad no influyó en la resistencia a la compresión. Esto puede estar relacionado con el hecho de que el contenido de humedad final de las probetas de *G. angustifolia* independientemente de los diferentes tratamientos de humedad inicial (40% y 60%) a la que fueron sometidos, no presentaron mucha variación. Es decir que dadas las condiciones de humedad relativa y temperatura del ambiente, además de la edad de los culmos utilizados durante el estudio, todos estos factores indujeron a las probetas a alcanzar un contenido de humedad de equilibrio muy cercano entre los diferentes tratamientos el cual osciló entre 53% y 56 %. Esta variación no es suficiente para provocar cambios significativos en las propiedades mecánicas entre

los distintos tratamientos pero sí muestra una notable diferencia entre las probetas del análisis inicial y las sometidas a descomposición.

Aun cuando en Colombia se han llevado a cabo diversos estudios acerca de las propiedades físico-mecánicas de la guadua, las cuales la han presentado como un material estructural con moderada resistencia para la flexión y con alta resistencia a la compresión (García, 2004), todavía no se han publicado estudios en los que se determine el efecto del deterioro biológico sobre las propiedades físicas y mecánicas de la guadua. Por esta razón los datos de resistencia obtenidos en este estudio no son comparables con los resultados de los numerosos ensayos realizados en la mayoría de las investigaciones sobre resistencia a la compresión paralela a la fibra en *G. angustifolia*. Este es el primer reporte sobre propiedades mecánicas de *G. angustifolia* donde se establece el efecto que pueden ocasionar algunos factores de biodeterioro como los hongos de pudrición sobre algunas de las propiedades mecánicas de este material, lo cual es de gran importancia desde el punto de vista de su aplicación en diversos usos.

7.5 Resistencia natural de *Guadua angustifolia* Kunth.

Debido a que durante el ensayo las pérdidas de peso ocasionadas por los hongos ligninolíticos (pudrición blanca) en las probetas de *G. angustifolia* siempre fueron menores del 5%, los culmos (tallos) de esta especie se clasifican como altamente resistentes al ataque de hongos de pudrición blanca, de acuerdo a la categoría de clasificación de la resistencia natural de la madera de la norma ASTM D 2017-05.

De acuerdo con Findlay (1967), las maderas clasificadas en esta categoría pueden ser usadas en condiciones favorables a los hongos de pudrición y sin tratamiento preservador en usos que requieren contacto con el suelo. De este modo, aunque el material se encuentre frecuentemente expuesto al ataque de hongos durante su utilización, el efecto de este agente de biodeterioro en particular (Ascomycota de pudrición blanca) será poco significativo. Sin embargo para que este importante

realizar pruebas de laboratorio complementarias con hongos de pudrición café como agentes de biodeterioro para determinar el efecto de este tipo de organismos sobre este material.

Esta investigación es de gran importancia dado que en Colombia no existen estudios de campo ni de laboratorio que demuestren la escasa o alta durabilidad atribuida a esta especie de bambú en condiciones de uso frente a diferentes agente de biodeterioro.

De ahí que el uso y aprovechamiento de la guadua esté relacionado casi siempre con la categoría de trabajos estructurales, que deben adelantarse con máximo grado de seguridad para lo cual los diseñadores, arquitectos y operarios deben desarrollar una habilidad en lo referente a la elección de las características específicas de la guadua para su utilización como material constructivo.

8. CONCLUSIONES

De acuerdo a la categoría de clasificación de la resistencia natural de la madera de la norma ASTM D 2017-05, *Guadua angustifolia* Kunth. presenta una alta resistencia al ataque de hongos de pudrición blanca del Phylum Ascomycota.

En relación a la primera hipótesis se cumplió uno de los supuestos y fue que las probetas expuestas al cultivo mixto *Ct + Xh* experimentaron una pérdida de peso promedio superior a las probetas expuestas a cada uno de los hongos de manera aislada. Sin embargo en cuanto a la actividad enzimática (LAC y MnP) pasó lo contrario a lo esperado ya que *X. hypoxylon* fue quien produjo los mayores niveles de las enzimas evaluadas en comparación con los otros tratamientos, incluso la mezcla de los hongos.

Respecto a los componentes estructurales de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina) de las probetas de *G. angustifolia* estos no fueron afectados como se esperaba que ocurriera por los hongos ensayados, lo que se vió reflejado en los bajos valores de pérdida de peso que manifestaron las probetas. Asimismo la resistencia a la compresión paralela a la fibra tampoco se vió afectada manteniendo un valor promedio alto (71,0 MPa).

En relación con el contenido de humedad inicial del sustrato como se planteó inicialmente, este tuvo una influencia directa sobre el porcentaje de pérdida de peso, ya que las probetas con mayor contenido de humedad (60%) alcanzaron una mayor degradación, comparadas con aquellas probetas con 40% de humedad inicial.

La apariencia externa de las probetas durante el ensayo y el desarrollo del micelio sobre estas no refleja necesariamente la tasa real de biodegradación (pérdida de peso) al interior de la guadua.

9. RECOMENDACIONES

Evaluar la resistencia natural de *G. angustifolia* utilizando como agentes de biodeterioro hongos de pudrición blanca (Phyllum Basidiomycota), de pudrición café y hongos cromógenos con el fin de determinar si la guadua es igualmente o menos resistente a estos agentes de biodeterioro.

Estandarizar una técnica para la cuantificación de enzimas ligninolíticas producidas sobre materiales lignocelulósicos debido a que esto reflejaría mejor la actividad enzimática de los hongos en cada período de tiempo.

Determinar el efecto de la descomposición sobre otras propiedades mecánicas importantes de la guadua como la resistencia al corte, flexión y dureza debido a que estas propiedades también pueden verse influenciadas por las alteraciones que ocasionan los hongos de pudrición y mejoraría las bases para seleccionar a los bambúes y determinar su posibilidad de uso en diferentes actividades.

Utilizar para los experimentos material guadua de cultivos para poder establecer la edad con exactitud, ya que es un factor determinante de variación, que de no ser controlado no permitirá establecer de manera adecuada si el cambio en las muestras analizadas es ocasionado por los tratamientos aplicados debido a la alta variación que se puede generar.

Realizar un mayor número de réplicas de las pruebas mecánicas (resistencia a la compresión) bajo condiciones controladas para determinar la variación en los datos por la ejecución de la técnica.

Ampliar el periodo de tiempo (16, 24 y 32 semanas) de exposición de las probetas frente a los agentes de biodeterioro, debido a que el tiempo evaluado durante el estudio fue relativamente corto para establecer el estado de resistencia de la guadua frente al biodeterioro. Esta variable puede ser un factor determinante en el incremento del porcentaje de descomposición, teniendo en cuenta el uso y las aplicaciones comerciales de este material.

Utilizar un tamaño de muestra mayor para la cuantificación de las variables químicas, utilizando como mínimo tres réplicas por tratamiento para poder realizar evaluaciones objetivas en cuanto al efecto sobre el cambio en composición por acción de los hongos.

10. LITERATURA CITADA

- Abd. Latif, M. & Mohd Tamizi, M. 1992. Variation of anatomical properties of three Malaysia bamboos from natural stand. *Journal of Tropical Forest Sciences* 5(1):90-96.
- Abd. Latif, M. & Mohd Tamizi, M. 2003. Variation of Moisture Content and Specific Gravity of *Gigantochloa scortechinii* Gamble along the Internodes Sixth Height in Bamboo in the Asia Pacific. *International Bamboo Workshop* (27): 222-236.
- Akhtar, M.; Blanchette, R.; Kent, T. 1998. Fungal Delignification and Biomechanical Pulping of wood. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology* (57): 159-195.
- Alexopoulos, J. 1966. *Introductory mycology*. John Wiley and Sons. New York, U.S.A. 869 p.
- American Society for Testing and Materials (ASTM) 2007a Standard D2017-05. Standard Test Method of Accelerated Laboratory Test of Natural Decay Resistance of Woods. *Annual Book of ASTM Standard*, West Consohohocken Philadelphia. pp. 270-271.
- Anwar, U. M. K., Paridah, M.T., Hamdan, H., Sapuan, S.M. y Bakar, E.S. 2009. Effect of curing time on physical and mechanical properties of phenolic-treated bamboo strips. *Industrial Crops and Products* (29):214-219.
- Arbeláez, A. 1997. Morteros reforzados con fibras de bambú. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. Medellín, Colombia. 50 p.
- Arbeláez, A., Rodríguez, S. y Hurtado, A. 2001. *Investigaciones sobre Guadua angustifolia* kunth. Realizadas en Colombia. 1950-2000. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Departamento de bibliotecas. Corporación Autónoma Regional del Quindío (CRQ) Medellín, Colombia. 92 p.
- Avellaneda, S. 2006. Efecto borde sobre hongos degradadores de madera en dos fragmentos de bosques subandino en la reserva natural de la montaña del

- Ocaso, Quimbaya-Quindío. Tesis. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 121p.
- Baldrian, P. 2006. Fungal laccases occurrence and properties. *FEMS Microbiology Reviews* 30, 215–242.
- Bench, A. J. 2006. Biological breakdown of wood in buildings. *Journal of Building Appraisal* 2(1): 3-15.
- Bonilla, F. E. 1998. Inoculación y evaluación de hongos endomicorrizicos en *Guadua angustifolia* Kunth. En etapa de vivero. *Acta Agronómica* 48:71-76.
- Breen, A. y Singleton, F. L. 1999. Fungi in lignocellulose breakdown and biopulping. *Current Opinion in Biotechnology* 10:252-258.
- Browning, B. L. 1967. *Methods of Wood Chemistry*. Interscience. New York, EUA. Vol. 2, 882 p.
- Camargo, J. C., Dossman, M., Cardona, G., García, J. y Arias, L. 2007. Zonificación detallada del Recurso *Guadua* en el Eje Cafetero, Tolima y Valle del Cauca. Universidad Tecnológica de Pereira. Bogotá, Colombia. 146 p.
- Cartwright, K. y Findlay, W. 1958. Decay of timber and its prevention. Her Majesty's Stationery Office. London, England. 332 p.
- Clark, L. y Londono, X. 1991. A New Species and New Sections of *Rhipidocladum* (Poaceae: Bambusoideae). *American Journal of Botany* 78:1260-1279.
- Clausen, C.A. y Kartal, S.N. 2003. Accelerate detection of brown rot decay: comparison of soil block test, chemical analysis, chemical properties and immunodetection. *Forest products Journal* 53(11-12):90-94.
- Colorado, A. 2002. La *Guadua*, Una maravilla natural de grandes bondades y promisorio futuro. *Revista M & M* 34:22-25.
- Curling, S.F., Clausen, C.A. y Winandy, J.E. 2002. Relationships between mechanical properties, weight loss y chemical composition of wood during incipient brown rot-decay. *Forest Product Journal* 53(7/8):34-39.
- Chaparro, D.F., Rosas, D.R. y Varela, A. 2009. Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática de hongos descomponedores de madera (Quindío, Colombia). *Revista Iberoamericana de Micología* (en prensa).

- Chapin, F. S., Matson, P. A. y Mooney, H. A. 2002. Principles of terrestrial ecosystem ecology. Springer Verlag. New York, USA. 436 p.
- Chavez-López, C., García, J.F., Hidalgo-Lara, E. M., Loera-Corral, O., Rodríguez-Vázquez, R. 2005. Producción de la enzima lacasa por el hongo *Cladosporium cladosporioides* en presencia de fenantreno. VI Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería. Habana, Cuba. 4 p.
- Chen, Y. D. y Quin, W. L. 1985. The chemical composition of Ten Bamboo Species. Recent research on bamboo. Proceedings of the International Bamboo Workshop, Hangzhou, China, 6-14 October. Chinese Academy of Forestry, Beijing China; International Development Research Center, Ottawa, Canada. pp. 110-113.
- Chi, Y., Hatakka, A. y Maijala, P. 2007. Can co-culturing of two white-rot fungi increase lignin degradation and the production of lignin-degrading enzymes? *International Biodeterioration & Biodegradation* 59 (2007) 32–39.
- De Vries, R. P. y Visser, J. 2001. *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 65:497-522.
- Deacon, J. 2006. *Fungal Biology*. Blackwell Publishing. Edinburgh, United Kingdom. 371 p.
- Del Río, J. C., Gutiérrez, A. Martínez, M. J. y Martínez, A. T. 2001. Py-GC/MS study of *Eucalyptus globulus* wood treated with different fungi. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 58-59:441-452.
- Esllyn, W. E., Clark, J. W., X 1979. *Wood Bridges: Decay Inspection and Control*. Forest Products Laboratory. Washington D.C., U.S.A. 32 p.
- Fengel, D. y Weneger, G. 1984. *Wood chemistry, ultrastructure, reactions*. Wayter de Gruyter Inc. Berlin, Germany. 605 p.
- Ferraz, A., Esposito, E., Bruns, R. E. y Durán, N. 1998. The use of principal component analysis (PCA) for pattern recognition in *Eucalyptus grandis* wood biodegradation experiments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 14:487-490.

- Ferraz, A., Parra, C., Freer, J., Baeza, J. y Rodríguez, J. 2001. Occurrence of iron-reducing compounds in biodelignified "palo podrido" wood samples. *International Biodeterioration & Biodegradation* 47:203-208.
- Findlay, W. P. K. 1967. *Timber Pests and Diseases*. Oxford. London, England. 279 p.
- Fujian, X., Hongzhang, C. y Zuohu, L. 2001. Solid-state production of lignin peroxidase (LiP) and manganese peroxidase (MnP) by *Phanerochaete chrysosporium* using steam-exploded straw as substrate. *Bioresource Technology* 80:149-151.
- García, S. J. H. 2004. Definición de aéreas óptimas de calidad de guadua (*Guadua angustifolia* Kunth.), orientada a satisfacer las necesidades del mercado. (Tesis). Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ingeniería Industrial. Pereira, Colombia. 122 p.
- González, E., Díaz, J. 1992. Propiedades físicas y mecánicas de la Guadua (*Guadua angustifolia* Kunth.) Universidad Nacional de Manizales, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Manizales, Colombia. 134 p.
- Gómez-Dorado, C., Martínez-Salgado, M., Nieto-Mosquera, D., Pedrosa-Rodríguez, A., Rodríguez-Vázquez, R. y Rosas-Acosta, J. 2005. Estudio del efecto de dos inductores y un protector enzimático sobre la actividad de las enzimas Mn-peroxidasa y lacasa producidas por *Trametes versicolor* y su efecto en la decoloración de efluentes de la industria papelera. *Revista de la Facultad de Ciencias* 10:37-45.
- Guardiola-Barcena, J. L. y García-Luis, A. 1995. *Fisiología vegetal: nutrición y transporte*. Síntesis. Madrid, España. 440 p.
- Hakala, T. K., Lundell, T., Galkin, S., Maijala, P., Kalkkinen, N. y Hatakka, A. 2005. Manganese peroxidases, laccases and oxalic acid from the selective white-rot fungus *Physisporinus rivulosus* grown on spruce wood chips. *Enzyme and Microbial Technology* 36:461-468.
- Have, R. y Teunissen, P. J. 2001. Oxidative mechanisms involved in lignin degradation by white-rot fungi. *Chemical Reviews* 101:3397-3413.
- Held, C. y Manzano, I. D. 2002. La cadena productiva de la guadua en el Eje Cafetero Colombiano. Secretaría de Desarrollo Económico, Rural y Ambiental.

- Gobernación del Quindío. Consejo Consultivo Quindío. Armenia, Colombia 25 p.
- Hernández, M. M., Mata, G. y Iglesias, G. L. 2002. Cambios en la producción de lacasa por el hongo *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. Cultivado en pulpa de café en confrontación con *Trichoderma virede* Pers., un moho contaminante. *Foresta Veracruzana* 4(1):45-52
- Herrera, J., Rosas, J. 2003. Estudio preliminar de la producción de enzimas ligninolíticas por los hongos *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* y *Pleurotus ostreatus* para el tratamiento de efluentes en la industria papelera (Tesis de pregrado de la carrera Microbiología Industrial). Bogotá, Colombia. 171p.
- Higley, T.L. 1995. Comparative durability of untreated wood in use aboveground. *International Biodeterioration y Biodegradation* 35(4): 409-419.
- Highley, T. L. y Dashek, W. V. 1998. Biotechnology in the study of brown-and white-rot decay. *Forest Products Biotechnology* (5):15–36.
- Hunt, G. M. y Garratt, G. A. 1962. Preservación de la madera. Salvat editores S.A. Barcelona, Madrid. 486 p.
- Intini, M. y Tello, M. L. 2003. Investigations on the xylophagous fungi of urban trees in Europe: *Inonotus rickii* (Pat.) Reid found in Spain. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* (29):277-279.
- ICONTEC, 2007. Métodos de ensayo para determinar las propiedades físicas y mecánicas de la *Guadua angustifolia* Kunth. NTC 5525.
- Janssen, J. J. 1999. Laboratory Manual On Testing Methods For Determination Of Physical And Mechanical Properties Of Bamboo On behalf of INBAR The International Network on Bamboo and Rattan. 3rd draft.
- Janse, B. J. H., Gaskell, J., Akhtar, M. y Cullen, D. 1998. Expression of *Phanerochaete chrysosporium* Genes Encoding Lignin Peroxidases, Manganese Peroxidases, and Glyoxal Oxidase in Wood. *Applied and Environmental Microbiology* (64):35-36.
- Jennings, D. H. 1995. *The Physiology of Fungal Nutrition*. Cambridge University Press. USA. 662 p.

- Jiménez, T., Mejía, G. y López, O. 1999. Actividad de las enzimas ligninolíticas de *Phanerochaete chrysosporium* y su variación con la adición de Mn^{+2} . Revista Académica Colombiana de ciencia. vol XXIII. (89):125-130.
- Juacida, P. y Quintanar, J. 1992. Protección de la madera: Agentes causales de degradación. Universidad Austral de Chile. Santiago de Chile, Chile. 26 p.
- Juacida, R. y Liese, W. 1980. Durabilidad natural de maderas frente al ataque de hongos. Bosque 3:77-85.
- Kleinn, C. y Morales-Hidalgo, D. 2006. An inventory of Guadua (*Guadua angustifolia*) bamboo in the Coffee Region of Colombia. European Journal of Forest Research 125:361-368.
- Kuhad, R. C., Singh, A. y Eriksson, K. E. L. 1997. Biotechnology in the Pulp and Paper Industry, Microorganisms and their Enzymes Involved in the Degradation of Plant Fiber Cell Walls. Advances in Biochemical Engineering Biotechnology 57:45-125.
- Li, X. B. 2004. Physical, Chemical, and Mechanical Properties of Bamboo and Its Utilization Potential For Fiberboard Manufacturing. (Thesis). Chinese Academy of Forestry. Forestry University Beijing, China. 139 p.
- Li, X.B., Shupe, T.F., Peter T.F., Hse, C.Y. y Eberhardt, T.L. 2007. Chemical changes with maturation of bamboo species *Phyllostachys pubescens*. Journal of Tropical Forest Science 19(1):6-12.
- Liers, C., Ullrich, R., Steffen, K.T., Hatakka, A., Hofrichter, M., 2006. Mineralization of ^{14}C -labelled synthetic lignin and extracellular enzyme activities of the wood-colonizing ascomycetes *Xylaria hypoxylon* and *Xylaria polymorpha*. Applied Microbiology and Biotechnology 69, 573–579.
- Liese, W. 1987. Anatomy and properties of bamboo. In: (A.N. Rao, G. Dhanarajan and C.B. Sastry eds.). Recent Research on Bamboos. Chinese Academy of Forestry, China and International Development Research Centre, Canada. pp. 196-208.
- Liese, W. 1992. The structure of bamboo in relation to its properties and utilization. Proceedings of the International Symposium on Industrial Use of Bamboo, Beijing, China. (11):95–100.

- Liese, W. y Kumar, S. 2003. Bamboo preservation compendium. Centre for Indian Bamboo Resource and Technology. New Delhi, India. 231 p.
- Londoño, X. 2002. Distribución, morfología, taxonomía, anatomía, silvicultura y usos de los bambúes del nuevo mundo. *Cespedesia* 19:87-137.
- Maltby, L. 1996. Detritus processing. *The Rivers Handbook* 1:331–353.
- Manzo, S. V. y Hernández, J. V. 1997. Método empírico para estimar la densidad básica en muestras pequeñas de madera. *Madera y Bosques* 3:81-87.
- Manzur, D. 1988. Propagación vegetativa de *Guadua angustifolia* Kunth. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Fitotecnia. Manizales, Colombia. 2 p.
- Marx-Figini, M. 1966. Comparison of the biosynthesis of cellulose in vitro and in vivo in cotton bolls. *Nature* 210:754-755.
- Martinez, A., Speranza, M., Ruiz- Dueñas, F., Ferreira, P., Camarero, S., Guillen, F., Martivez, M., Gutierrez, A., del Rio, J. 2005. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical and enzymatic aspects of de fungal. *International Microbiology* (8):114-120.
- Mariani, A.S. y Torres, U.M. 2004. Análisis químico cuantitativo y condiciones depulpaje kraft de colihue: Parte I. Avances de investigación. *Bosque* 25(1): 117-122.
- Márquez, O. A. 2004. Determinación de patrones de inducción de lacasas en el hongo *Trametes sp.* EUM1. (Tesis) Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa. México, D.F. 70 p.
- Mason, C. F. 1976. Relative importance of fungi and bacteria in the decomposition of phragmites leaves. *Hydrobiologia* 51:65-69.
- Mathew, G. y Nair, K.S.S. 1990. Storage pests of bamboos in Kerala. *International Bamboo Workshop* (2):212-214.
- Mejía, N. 2004. Cadena productiva de la guadua: organización de la Cadena, caracterización de eslabones, actores y procesos. Gobernación del Quindío. Secretaría de Desarrollo Económico, Rural y Ambiental. Consejo Consultivo Quindío. Armenia, Colombia. 30 p.

- Michel, J.R.F.C., Dass, S.B., Grulke, E.A., Reddy, C.A. 1991. Role of manganese peroxidase and lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology* 57, 2368-2375.
- Montoya, A. J. 2007. Determinación de las curvas isotermas de sorción y el psf-punto desaturación de fibra-de la especie de bambú *phyllostachys pubescens* mazel. *Scientia et Technica. Universidad Tecnológica de Pereira* (35):497-502.
- Moore-Landecker, E. 1996. *Fundamentals of the fungi*. Englewood Cliffs. New Jersey, U.S.A. 574 p.
- Núñez, L. K. Z. 2004. Estudio del biodeterioro en madera de *Eucalyptus globulus* Lab. por método gravimétrico. (Tesis). Facultad de Ciencias Forestales. Departamento de Ingeniería de la Madera. Escuela de Ciencias Forestales. Santiago de Chile, Chile. 111 p.
- Osorio, J. A., Vélez, J. M. y Ciro, H. J. 2007. Estructura interna de la guadua y su incidencia en las propiedades mecánicas. *Dyna* 74(153):81-94.
- Papinutti, V. L., Diorio, L. A. y Forchiassin, F. 2003. Degradación de madera de álamo por *Fomes sclerodermeus*: producción de enzimas ligninolíticas en aserrín de álamo y cedro. *Revista Iberoamericana de Micología* 20:16-20.
- Pérez-Florez, A. M. 2006. *Guadua angustifolia* Kunth, 1822. <http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=280&method=displayAAT>.
- Pereira, G. C., Herrera, J. S., Machuca, A. H. y Sánchez, M. O. 2007. Efecto del pH sobre el crecimiento in vitro de hongos ectomicorrícicos recolectados de plantaciones de *Pinus radiata*. *Bosque* 28:215-219.
- Pesutic, S. 1978. Análisis de estructura-estado sanitario en un bosque de Lenga. (Tesis). Facultad de Ciencias Forestales. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 100 p.
- Pointing, S. 2001. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57:20-33.
- Pointing, S. B., Parungao, M. M. y Hyde, K.D. 2003. Production of wood-decay enzymes, mass loss and lignin solubilization in wood by tropical Xylariaceae. *Mycological Research* 107 (2): 231–235.

- Potosí, C. T., Vallejo, F. A. y Palacio, J. D. 2006. Estimación mediante RAPD's de la diversidad genética en Guadua en el departamento del Cauca, Colombia. *Acta Agronómica* 55:214-223.
- Quintero, D.J., Feijoo, C.G. y Melar, M.J. 2006. Producción de enzimas ligninolíticas con hongos Basidiomicetos cultivados sobre materiales lignocelulósicos. *Vitae* 13(2): 61-67.
- Quiroz-Sarmiento, V. F., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Lara, M. E. 2008. Antagonismo *in vitro* de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo. *Revista Mexicana de Micología* 26: 27-34.
- Rabeg, U., Edlund, M.L., Terziev, N. y Land, C.J. 2005. Testing and evaluation of natural durability of wood in above ground conditions in Europe-an overview. *Journal Wood Science* 51: 429-440.
- Ramírez, M. 2001. Detección de la pudrición central en trozas de lenga (*Nothofagus pumilio* (Poepp et Endl.) Krasser) mediante técnicas ultrasónicas. (Tesis). Escuela de Ciencias Forestales. Universidad de Chile. Santiago de Chile, Chile. 208 p.
- Ramírez, E. N., Vargas, C.M., Ariza, J.C. y Martínez, C. 2003. Caracterización de la lacasa obtenido por dos métodos de producción con *Pleurotus ostreatus*. *Revista Colombiana de Biotecnología* (2): 64-72.
- Rayner, A. D. M. y Boddy, L. 1988. *Fungal Decomposition of Wood: Its Biology and Ecology*. Wiley & Sons Ltd. New York, U.S.A. 587p.
- Rutiaga, Q. J. G., Windeisen, E. y Strobel, C. 2000. Composición química del duramen de la madera de *Quercus candicans* Neé. *Madera y Bosques* 6(2):73-80.
- Saldarriaga, Y. 2001. *Manual de micología aplicada*. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 97p.
- Savoie, J-M., Mata, G., Billette, C. 1998. Extracellular laccase production during hyphal interactions between *Trichoderma* sp. and Shiitake, *Lentinula edodes*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 49:589-593.

- Schlosser, D., Grey, R., Fitsche, W. 1997. Patterns of ligninolytic enzymes in *Trametes Versicolor*. Distribution of extra-and intracellular enzymes activities during cultivation on glucose, wheat straw and beech wood. Applied Microbiology and Biotechnology 47:412-418.
- Satchell, J. E. 1974. Litter-interface of animate/inanimate matter. Biology of Plant Litter Decomposition 1(3): 18-24.p
- Seiboth, B., Hakola, S., Mach, R. L., Suominen, P. L. y Kubicek, C. P. 1997. Role of four major cellulases in triggering of cellulase gene expression by cellulose in *Trichoderma reesei*. Journal of Bacteriology 179:5318-5320.
- Shui Yang, J., Ren Ni, J., Li Yuan, H. y Wang, E. T. 2007. Biodegradation of three different wood chips by *Pseudomonas* sp.PKE117. International Biodeterioration & Biodegradation 60:90-95.
- Silva, R. 2002. Antibiosis entre hongos lignívoros y hongos antagónicos para efecto del biopulpaje de madera de *Pinus radiata*. (Tesis) Ingeniería Forestal. Universidad de Chile. Santiago de Chile, Chile. 120 p.
- Smith, W. H. 1970. Tree pathology: a short introduction; the mechanisms and control of pathological stresses of forest trees. Academic Press. New York, U.S.A. 557 p.
- Solórzano, E., Chacón, O. y Fernández, A. 2004. Expresión diferencial de peroxidasas, glucanasas y fenilalanina amonio liasas en la interacción tabaco-*Phytophthora parasitica* variedad nicotianae. Revista de Protección Vegetal, 19:86-96.
- Sundman, V., Nase, L., 1972. The synergistic ability of some wood degrading fungi to transform lignins and lignosulfonates on various media. Archives of Microbiology 86, 339–348.
- Takeuchi, T.P. y González, C.E. 2007. Resistencia a la compresión paralela a la fibra de la *guadua angustifolia* y Determinación del módulo de elasticidad. Ingeniería y Universidad 11(1):89-1003.
- Tamolang, F. N. 1980. Properties and utilization of philippine erect bamboos. Forpridge Digest (9):14-27

- TAPPI. Technical Association of Pulp and Paper Industry. 2007. Test Methods; TAPPI Press, Atlanta, GA.
- Tinoco, R., Pickard, M. A. y Vazquez-Duhalt, R. 2001. Kinetic differences of purified laccases from six. Letters in Applied Microbiology 32:331-335.
- Torres, A. M. G. y Sáez, R. G. T. 2003. Producción de enzimas lignolíticas por Basidiomycetes mediante la técnica de fermentación en sustrato sólido. Revista Colombiana de Biotecnología 5:56-64.
- Trojanowski, J. 2001. Biological degradation of lignin. International Biodeterioration and Biodegradation 48:213-218.
- Tuset, R. y Durán, F. 1986. Manual de maderas comerciales, equipos y procesos de utilización. Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay. 150 p.
- Van Acker, J. y Stevens, M. 2003. Biological durability of wood in relation to end-use Part:2 The use of an accelerated outdoor L-joint performance test. Holz als Roh-und Werkstoff 61(2):125-132.
- Wetzel, R. G. y Likens, G. E. 1991. Limnological analysis. Springer. New York. 657 p.
- Winandy, J. E., Curling, S. F. y Lebow P. K. 2005. Controlling moisture content of wood samples using a modified soli-pan decay method. Forest Products Journal 55(6): 80-85.
- Young, S. M. y Judd, W. S. 1992. Systematics of the *Guadua angustifolia* Complex (Poaceae: Bambusoideae). Annals of the Missouri Botanical Garden, 79:737-769.
- Zabel, R. A. y Morrell, J. J. 1992. Wood Microbiology. Decay and its prevention. Chapter 8 and 9. Harcourt Brace Jovanovich Publishers. Academic Press, Inc.USA. 476 p.
- Zhang, X., Yu, H., Huang, H. y Liu, Y. 2007. Evaluation of biological pretreatment with white rot fungi for the enzymatic hydrolysis of bamboo culms. International Biodeterioration & Biodegradation 60:159-164.