

Escultura //**Técnicas de cultivos aplicadas a la conservación-restauración en caso de ataque fúngico sobre obras a intervenir**

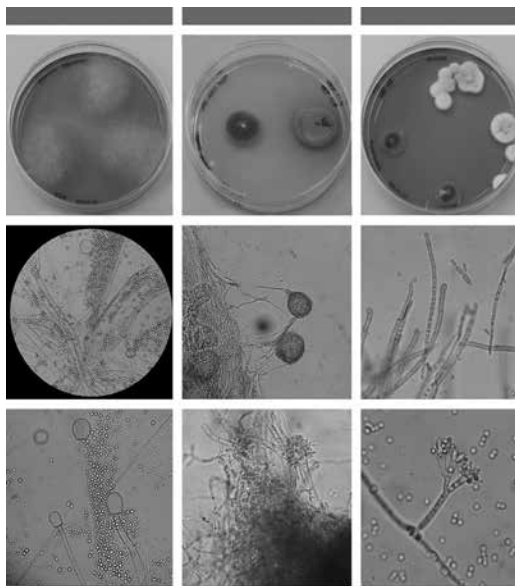
Este artículo está basado en un apartado del trabajo final *Caracterització d'atac fúngic en suport escultòric orgànic: eines necessàries per a un conservador-restaurador, per avaluar el tipus d'atac fúngic que té lloc en materials lignocel·lulòsics*; en el que se aplican técnicas de cultivo biológico para determinar el tipo de actividad enzimática que presenta una especie fúngica, la cual es causante de degradación en el soporte escultórico de madera.

Las técnicas experimentales se llevaron a cabo durante la estancia de Formación Práctica en Centros de Trabajo en el grupo GRAPAC-Cetec de la Universidad Autónoma de Barcelona, realizando una serie de ensayos en placa de cultivo para evaluar la actividad celulolítica y amilolítica de microorganismos aislados en cultivo.

Aitana Valderrama Maiques. Titulada Superior en Conservación y Restauración de Bienes Culturales en la especialidad de Escultura por la ESCRBC.

Palabras Clave: actividad enzimática, actividad hidrolítica, actividad celulolítica, actividad amilolítica, medios de cultivo, técnicas de tinción.

Fecha de recepción: 21-10-2016 > **Fecha de aceptación:** 25-10-2016

**MARCO TEÓRICO**

Muchas de las obras que tienen un interés histórico-artístico están constituidas, en gran medida, por materiales de origen orgánico, como pueden ser la tela, la madera, el papel, etc.

Este tipo de materiales es más susceptible al ataque de microorganismos y a las alteraciones causadas por éstos, generalmente su proliferación tiene lugar debido a factores medioambientales favorables para su desarrollo, mayoritariamente asociados a la humedad ambiental y a la temperatura.

Una humedad ambiental elevada, de entre 50-70 %, asociada a temperaturas cálidas, de entre 20-37 °C, son condiciones óptimas de proliferación de microorganismos, las cuales suelen localizarse en ambientes interiores, donde generalmente se almacenan este tipo de obras.¹

La susceptibilidad al biodeterioro no sólo está ligada a su naturaleza orgánica sino también a su composición química. De manera que los materiales orgánicos se pueden subdividir en función de su origen en: **vegetales** (papel, madera, algodón, etc.), es decir, celulósicos; o bien **animales** (piel, pergamino, seda, etc.), es decir, proteicos.

En este artículo sólo se trata el soporte escultórico de madera y el reino de los hongos como grupo de organismos causantes de su biodeterioro.

Para poder entender algunos de los conceptos descritos en este ensayo, es necesario hacer una introducción teórica sobre estos microorganismos, su desarrollo y las degradaciones que causan.

LOS HONGOS

Los hongos son organismos eucariotas unicelulares o pluricelulares. Los hongos pluricelulares están constituidos por filamentos microscópicos de células llamadas **hifas**; éstas son estructuras filamentosas pluricelulares, donde cada célula se comunica con la anterior mediante un punto interno a través de la membrana, la cual permite el intercambio de sustancias además de la movilidad citoplasmática. Envolviendo las diferentes hifas, se encuentra la pared celular que engloba todo el conjunto.

El conjunto de hifas tiene un crecimiento concéntrico y circular, formando el **micelio** del hongo; éste se considera como un único individuo, también denominado **colonia**, ya que, todos los núcleos de las células que lo conforman tienen el mismo código genético.

La mayoría de estos microorganismos se encuentran en ambientes terrestres, en el subsuelo o sobre un sustrato de materia orgánica muerta, de manera que contribuyen a su descomposición. Hay otros que son parásitos de animales y/o plantas, y algunos forman estructuras simbióticas con cianobacterias y algas unicelulares clorofíceas; a esta simbiosis se la conoce como **liquen**.

Condiciones de crecimiento

El metabolismo de los hongos es **heterótrofo**, es decir, que se alimentan de materia orgánica y necesitan de ciertos elementos para su desarrollo, como el carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, azufre y potasio, entre otros. Pero también pueden necesitar oligoelementos como el zinc, hierro, magnesio, cobre, etc.² Presentan una nutrición y una digestión extracelular, es decir, liberan enzimas³ sobre la materia a degradar rompiendo los enlaces de las macromoléculas y los restos, mayoritariamente azúcares, son reabsorbidos y utilizados para la funcionalidad celular.

¹ VALGAÑÓN, V. *Biología aplicada a la conservación y restauración*. Madrid: Editorial Síntesis, 2008. ISBN 978-84-975657-7-6, p. 124-125.

² CALVO TORRAS, M^o A.; ADELANTADO, C.; CORCUERA MARÍN, E. "Principales características de los hongos causantes de alteraciones en materiales celulósicos". *PH* (2005), n^o 53, (en línea) <<http://www.iaph.es/revistaph/index.php/revistaph/article/view/1965#.Vqi-rPnhDIU>> p. 19 [Consulta: 27 diciembre 2015].

³ Ver definición en el Glosario

⁴ Ver definición en el Glosario.

⁵ Ver definición en el Glosario.

⁶ Ver definición en el Glosario.

⁷ JIMENO, A.; BALLESTEROS, M.; UGEDO, L. *Biología: 2n Batxillerat*. Barcelona: Grupo Promotor-Santillana, 2003. ISBN 84-8435-616-7, p. 20.

⁸ VALGAÑÓN, V. *Biología aplicada a la conservación...*, p. 125.

⁹ Ver definición en el Glosario.

¹⁰ Ver definición en el Glosario.

¹¹ KRAEMER KOELLER, G.

Tratado de la previsión del papel y de la conservación de bibliotecas y archivos, Vol. 1. Madrid: Dirección General de Archivos y Bibliotecas, 1973, p. 340.

¹² CANEVA, G.; NUGARI, M.P.; SALVADORI, Q. *La biología en la restauración*. Guipúzcoa: Nerea - Junta de Andalucía - Consejería de Cultura-IAPH, 2000. ISBN 84-89569-48-7, p. 71.

¹³ Ver definición en el Glosario.

¹⁴ Ver definición en el Glosario.

¹⁵ LULEY, C. J. "Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos". *Arborist New* (2006), traducción de LLORENS, J. (en línea) <<http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/Identific-tipodepudric.pdf>> [Consulta: 7 septiembre 2015].

¹⁶ PREMIER HERITAGE. *Dry rot, wet rot and other forms of fungal decay*. 2014 (en línea) <<http://www.premier-heritage.co.uk/expertise/fungal-decay/>> [Consulta: 8 noviembre 2015].

¹⁷ STATE HERITAGE OFFICET. *Maintenance Series / Wood Preservation*. 2012 (en línea) <<http://stateheritage.wa.gov.au/docs/maintenance-series/wood-preservation.pdf?sfvrsn=8>> [Consulta: 8 noviembre 2015], p. 2.

En el caso que nos ocupa, los hongos que crecen sobre sustratos celulósicos alimentándose de ellos, son los llamados **hongos xilófagos**. Estos degradan principalmente los componentes de la madera como la celulosa,⁴ la hemicelulosa⁵ y la lignina,⁶ mediante la producción y excreción de enzimas, destruyen parcial o totalmente las paredes celulares, hidrolizando las moléculas estructurales.

Los hongos son organismos que, en general, necesitan un medio ácido (un pH entre 4-4,5) para poder formar sus colonias. Mayoritariamente son **aerobios**, por lo que la presencia de oxígeno en el ambiente favorece las reacciones de oxidación de las moléculas constitutivas de los materiales. Algunos en cambio son **anaerobios**, es decir, requieren ambientes con ausencia de oxígeno para funcionar, de manera que los tratamientos con anoxia no siempre son una metodología eficiente para su eliminación.

La temperatura es un factor indispensable para el desarrollo de cualquier organismo, ya que el conjunto de reacciones metabólicas que se producen durante la nutrición requieren de una fuente de energía calorífica. Los valores de temperaturas favorables pueden variar entre los 20-37 °C, en función de cada especie fúngica, algunas de ellas presentan rangos muy amplios de tolerancia térmica. En condiciones extremas de temperaturas muy bajas paralizan su metabolismo quedando en un estado latente de manera indefinida, hasta que las condiciones ambientales sean adecuadas. En caso contrario, a temperaturas superiores a los 60 °C, algunos de estos microorganismos pueden seguir desarrollándose con una humedad relativa inferior a la habitual.⁷

Pero el factor más relevante en relación a su actividad es la humedad. El contenido mínimo de humedad en la madera que permite su desarrollo es del 18-20 %. Toda la madera con un contenido de humedad superior a estos valores está expuesta al ataque de hongos xilófagos, aunque para el mantenimiento y conservación de las obras de madera es necesario establecer unos parámetros de almacenamiento para no dañar el soporte escultórico, de manera que los valores de humedad relativa ambiental estarían entre el 35-50 %.⁸

La falta de ventilación y la ausencia de luz, conjuntamente con las condiciones anteriormente descritas, favorecen la proliferación de una infección fúngica.

Procesos de degradación

Entre los diversos microorganismos, los hongos xilófagos son los principales agentes de degradación del material lignocelulósico que constituye las obras de arte y son capaces de desarrollarse tanto en superficie como en el interior de sus estructuras. Éstos encuentran una fuente orgánica de nutrición en los productos almacenados en el citoplasma de las células parenquimáticas, como el almidón⁹ y los azúcares, así como en los mismos compuestos de las paredes celulares: celulosa, hemicelulosa y lignina. **1** [pág. 90]

Cuando una obra de madera es atacada por microorganismos, concretamente por hongos xilófagos, el principal problema es el efecto de deterioro de la celulosa compositiva del tejido vegetal. Esto se debe a la capacidad de estos organismos para producir enzimas extra e intracelulares, conocidas como **complejo de celulosas**.¹⁰ Este complejo está formado por tres tipos de enzimas, cada uno de los cuales tiene capacidad para romper diferentes zonas o enlaces de la macromolécula de celulosa. Mediante fermentaciones hidrolíticas rompen en primer lugar las cadenas externas obteniendo celobiosa, un disacárido. A continuación penetran en las zonas cristalinas y rompen cadenas aleatoriamente, hasta obtener como producto final moléculas de glucosa.¹¹

Las celulasas fúngicas, igual que las bacterianas, son enzimas inductivas, es decir, que sólo se producen si en el sustrato de crecimiento hay celulosa disponible, aunque a veces van asociadas a otras condiciones, como por ejemplo de humedad y temperatura.¹² **2** [pág. 91]

La lignina es especialmente resistente a la degradación por parte de microorganismos. En la naturaleza sólo algunos hongos de la familia de los basidiomicetos¹³ son capaces de metabolizar este compuesto mediante procesos de oxidación. Otras especies como los actinomicetos¹⁴ sólo la degradan parcialmente.

Tipos de agentes patógenos y alteraciones causadas

Entre los hongos xilófagos podemos distinguir dos grandes grupos: en primer lugar los hongos de ataque superficial, como mohos y hongos cromógenos, y en segundo lugar los hongos de ataque estructural, como los causantes de la pudrición de la madera.¹⁵

- Hongos superficiales (mohos y hongos cromógenos)

Este grupo de hongos se desarrolla en superficie, ya que su fuente de alimentación proviene de las deposiciones de polvo y materia orgánica sobre la obra. Su crecimiento se detecta cuando el cuerpo fructífero aparece en superficie en forma de colonias de proliferación algodonosa, las cuales pueden tener una gran variedad cromática en función de la especie.

Estos hongos raramente producen degradaciones en la pared celular, de manera que no alteran las propiedades mecánicas, sino que causan cambios de coloración de la madera. Así pues, no resultan peligrosos por su acción degradadora, sino por el hecho de que crean las condiciones ideales para el desarrollo de los hongos de pudrición.¹⁶ **3** [pág. 91]

- Hongos estructurales (hongos de pudrición)

Los hongos de pudrición causan daños más graves en la madera, ya que se alimentan de los compuestos de la pared celular, llegando incluso a destruirla por completo. Las hifas segregan productos químicos (enzimas) que disuelven los nutrientes de la madera con los que se alimentan.

Los efectos de esta alteración son pérdidas de densidad y resistencia mecánica, acompañados de un cambio de coloración. En las etapas iniciales, no son fáciles de reconocer, porque las hifas se mantienen ocultas en el interior de la madera. Según se va desarrollando la pudrición se acentúa el cambio de coloración y la madera empieza a perder peso; es en la fase final del proceso cuando se llega a la total destrucción de la estructura de la madera, con la pérdida completa de sus propiedades mecánicas.¹⁷

La clasificación más común de los diferentes tipos de pudrición hace referencia al aspecto que adquiere la madera cuando tiene lugar la degradación. Esta coloración es consecuencia de la digestión diferenciada de algunos componentes de la madera y la conservación o degradación más lenta de otros.

En función de las moléculas prioritarias en la digestión, se pueden clasificar tres tipos de pudrición:

- **Pudrición blanca**: los hongos responsables de este tipo de alteración son capaces de destruir tanto la celulosa como la lignina; en función de la especie fúngica, iniciarán la descomposición de una sustancia antes que la otra.

Los que degradan la lignina y la hemicelulosa son conocidos como de **pudrición blanca selectiva** y aumentan la capa-

cidad de deformar la madera sin producir roturas, dejándola blanquecina, ligera y, en casos avanzados, con aspecto fibroso, incluso enharinado.¹⁸ Generalmente afectan más a maderas frondosas que a coníferas, debido a que las primeras tienen un mayor contenido de lignina.¹⁹ **4** [pág. 92]

- **Putrición parda:** es el tipo de pudrición más grave y peligrosa; es causada por hongos que degradan parcialmente la celulosa y la hemicelulosa. La madera afectada reduce de manera significativa la resistencia mecánica y se aprecian residuos marrones constituidos principalmente por lignina, de manera que la madera adquiere una coloración más oscura. Al secarse la obra, el material residual tiende a formar grietas cúbicas muy características que se disgregan con facilidad.²⁰ **5** [pág. 92]

- **Putrición blanda:** Este tipo de degradación es provocada por hongos inferiores, cuyas hifas se desarrollan en el interior de la pared celular de las células parenquimáticas de la madera y atacan principalmente la celulosa contenida en la pared secundaria. La madera afectada presenta un aspecto esponjoso y blando, y la pudrición se da cuando existen altas concentraciones de humedad, tanto ambientales como en el interior de la madera.²¹

ENSAYOS

La identificación del agente patógeno es importante, pero no es el objetivo principal para un conservador-restaurador. El factor determinante es saber si el microorganismo que afecta al soporte escultórico tiene o no capacidad celulolítica, es decir, si es capaz de degradar la celulosa o la lignina constitutiva.

Sin embargo, la degradación de soportes celulósicos, como el papel y la madera, no sólo involucra la degradación de la celulosa, sino también de otros componentes, sobre todo adhesivos, como pastas de almidón o colas animales (con un alto contenido en proteínas), etc. En el proceso de biodeterioro intervienen una gran variedad de enzimas producidas por los hongos (celulasas, amilasas²² y proteasas²³), que les proporcionan la capacidad para degradar los diferentes componentes de los soportes escultóricos.

De manera que en este estudio se realiza una evaluación de la actividad enzimática mediante el cultivo de hongos en placas con medios de cultivo ricos en celulosa y almidón. En el primer caso se utiliza un producto que puede encontrarse fácilmente en un taller de restauración como es el caso de la carboximetilcelulosa.²⁴

MUESTREO

Se trabaja a partir de cinco muestras obtenidas de la manera siguiente:

• Muestra 1: obra del taller nº E402292

Esta obra proviene de la iglesia románica de San Miguel de Marsenyac, cedida por la Comisión de Patrimonio de la Diócesis de Solsona. Esta iglesia forma parte del listado de Patrimonio Arquitectónico Inventariado Catalán de Navés (Solsonés).²⁵

Se trata de una escultura exenta que representa a la Virgen del Rosario, debido al atributo de la rosa que lleva en la mano derecha, con el Niño Jesús sujeto con el brazo izquierdo.

Durante el examen organoléptico se detecta un ataque biológico en la parte posterior de la obra producido por dos mecanismos diferentes. Por un lado, la presencia de galerías en la parte posterior de la cabeza de la Virgen indica la actividad de insectos xilófagos y, por otro lado, toda la superficie presenta pequeñas agrupaciones en relieve de coloración oscura y textura aterciopelada, propias de una infección fúngica.

Para poder determinar el tipo de patógeno fúngico, se extraen muestras de diferente naturaleza, con el objetivo de estudiar si dicho microorganismo presenta o no actividad celulolítica, así como para realizar el estudio histológico del soporte.

El material se obtuvo durante el examen organoléptico de la obra a principios de diciembre de 2015. El material se conservó hasta abril de 2016, momento en que fue utilizado para estos experimentos.

Debido a que esta obra ha sido objeto de estudio y de intervención durante el cuarto curso de la especialidad de Conservación y Restauración de Escultura, se amplió el muestreo realizando un desplazamiento hasta su lugar de origen, la iglesia de San Miguel de Marsenyac, para hacer un reconocimiento y recoger una serie de muestras clasificadas de la siguiente manera:

• Muestra 2: escalinata de la Sagrada Familia

Muestra recogida de la parte interna de una escalinata situada sobre el altar de la capilla lateral derecha, en devoción a la Sagrada Familia. Se siembra un fragmento del soporte con sospecha de infección fúngica sobre una placa con medio MEA²⁶ y otro sobre medio RBA.²⁷

• Muestra 3: pila bautismal

Muestra obtenida del interior de la cubierta de madera de nogal de la pila bautismal de la iglesia. Se siembra un fragmento del soporte con sospecha de infección fúngica sobre una placa con medio MEA y otro sobre medio RBA.

• Muestra 4: viga de madera mojada

Durante la visita a la iglesia de San Miguel de Marsenyac, se realiza una inspección en el piso superior. En esta estancia se observa una cubierta de madera y algunas de las vigas estructurales están almacenadas en un rincón, ya que han sido sustituidas por unas nuevas. Se extrae un fragmento de las antiguas vigas húmedas y con principio de pudrición, para inocular una placa con medio MEA y otra con medio RBA.

• Muestra 5: caja de madera de pino

Se trata de una caja hecha con madera de pino, la cual ha sido almacenada en contacto directo con el suelo húmedo de manera que, por capilaridad, la madera ha recibido una continua aportación de humedad, la cual favorece la proliferación de hongos xilófagos. Con el tiempo se desarrollan, en toda la superficie que estaba en contacto con el suelo, una serie de manchas grises-negras, pequeñas y agrupadas, las cuales traspasaron todo el grosor de la caja y se manifestaron en su parte interior. Se siembra un fragmento del soporte con sospecha de infección fúngica sobre una placa con medio MEA y otro sobre medio RBA.

Tabla resumen del muestreo del estudio:

Nomenclatura muestra	Descripción
M1	Material de la obra del taller (nº E402292)
M2	Escalinata de la Sagrada Familia
M3	Cubierta de madera de la pila bautismal
M4	Viga de madera mojada
M5	Caja de madera de pino

¹⁸ PASSOLA, G. *Hongos xilófagos que viven en los árboles*. El Ejido (Almería): Editorial Círculo Rojo, 2011. ISBN 978-84-9991-422-0, p. 47.

¹⁹ LULEY, C. J. "Identificación del tipo de pudrición...", p. 4.

²⁰ PASSOLA, G. *Hongos xilófagos...*, p. 48.

²¹ PASSOLA, G. *Hongos xilófagos...*, p. 51.

²² Ver definición en el Glosario.

²³ Ver definición en el Glosario.

²⁴ Ver definición en el Glosario.

²⁵ CALAIX. *Dipòsit Digital del Departament de Cultura, Generalitat de Catalunya* (en línea) <<http://calaix.gencat.cat/handle/10687/62317>> [Consulta: 5 abril 2016].

²⁶ Ver definición en el Glosario.

²⁷ Ver definición en el Glosario.

METODOLOGÍA

Para poder confirmar que los microorganismos del estudio tienen viabilidad, se siembra en medios MEA y RBA frescos una pequeña muestra a partir de las placas recogidas durante la visita, o bien una muestra almacenada de la obra del taller, o bien una muestra reciente, como es el caso de la caja de pino. Se incuban a 25 °C durante cinco días.

Pasados los cinco días se observan y analizan los cultivos 0 (o cultivos madre) para escoger las colonias de géneros fúngicos que serán utilizadas en el estudio de actividad hidrolítica.

Se elabora una preparación para cada colonia morfológicamente diferente sobre un portaobjetos y, mediante consulta bibliográfica y bajo la supervisión de un experto micólogo, se identifica el género de los diferentes hongos desarrollados para seleccionar una representación y proceder al ensayo de evaluación de actividad hidrolítica.

Ensayo de evaluación de la actividad hidrolítica:

Se prepararon medios de cultivo específicos para cada tipo de actividad hidrolítica:

- Medio agar-carboximetilcelulosa (CMC) al 1 % con o sin suplemento de calcio, para la actividad celulolítica.
- Medio agar-almidón al 1 % para la actividad amilolítica.

Se siembra en el centro de las placas, parte del material procedente de los últimos cultivos en MEA o RBA, para evaluar posteriormente la aureola que genera. Se incuban a 25 °C durante cinco días.

Se realizan tres experimentos: en la primera prueba se utilizan medios únicamente con agar-CMC, agar-CMC + suplemento de nitrato cálcico al 0,1 % y agar-almidón. En cambio, en la segunda y tercera prueba se preparan medios tal y como se describen en la revista *Conservamos* nº 5, de la Biblioteca Nacional de Colombia, y el suplemento cálcico, se substituye por cloruro de calcio (CaCl₂) al 1%.²⁸

Para poder poner de manifiesto la aureola hidrolítica, se deben teñir las placas con un colorante específico:

- Rojo Congo al 1 % en H₂O destilada:** este es un excelente tinte para la celulosa, por lo que se usa en las placas con carboximetilcelulosa.
- Lugol al 0,1 % en H₂O destilada:** esta solución acuosa de yoduro potásico tiñe el almidón, de manera que se utiliza para determinar las alteraciones de este compuesto en las placas que contienen almidón.

RESULTADOS

Pasados cinco días, se observan y analizan los cultivos 0 para escoger qué colonias serán seleccionadas para el estudio de actividad hidrolítica.

Tabla de identificación fúngica:

Nombre	Origen	Núm. colonias en medio MEA	Núm. colonias en medio RBA	Tipos de hongo
M1	Obra del taller	1	-	Bacterias
M2	Escalinata	5	4	a. <i>Cladosporium sp.</i> b. <i>Alternaria sp.</i> c. <i>Penicillium sp.</i>
M3	Pila bautismal	4	4	<i>Ascotricha sp.</i>
M4	Viga de madera	3	3	<i>Trichoderma sp.</i>
M5	Caja de pino	3	3	<i>Chaetomium sp.</i>

Las muestras de la obra del taller no presentan viabilidad, pero durante el examen organoléptico de la obra, se realiza una primera identificación y el género corresponde al mismo que la muestra M5. **6** y **7** [pág. 95]

Prueba de evaluación hidrolítica:

Pasados un mínimo de cinco días de cultivo en los medios de evaluación hidrolítica, se observa que las diferentes especies fúngicas tienen ritmos de crecimiento diversos. De manera que, en la segunda y tercera prueba, se intentan ajustar los tiempos de incubación para obtener colonias suficientemente grandes para efectuar la prueba de tinción, procurando que no ocupe toda la superficie de la placa de cultivo.

Tabla de resultados de las aureolas, una vez realizada la tinción de las placas: **8** [pág. 95] - **13** [pág. 96]

MUESTRA	Agar-CMC 1%			Agar- CMC 1% + Ca(NO ₃) ₂ 1%			Agar- ALMIDÓN 1%		
	1ª prueba	2ª prueba	3ª prueba	1ª prueba	2ª prueba	3ª prueba	1ª prueba	2ª prueba	3ª prueba
M2a [<i>Cladosporium sp.</i>]	-	-	+	+	-	+	+	+	+
M2b [<i>Alternaria sp.</i>]	-	-	-	-	-	-	+	-	-
M2c [<i>Penicillium sp.</i>]	-	++	+	-	-	-	+	++	++
M3 [<i>Ascotricha sp.</i>]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M4 [<i>Trichoderma sp.</i>]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M5 [<i>Chaetomium sp.</i>]	+	-	+	-	-	-	+	-	-

CONCLUSIONES

Observando algunos de los resultados de las primeras pruebas de tinción, como en el caso del *Cladosporium sp.* o el *Penicillium sp.*, se demuestra que esta técnica revela la capacidad que tienen algunos hongos de hidrolizar las moléculas de celulosa y/o almidón, creando una aureola alrededor de la colonia. Por tanto, el grado de agresividad que presenta el ataque fúngico sobre la obra dependerá del diámetro de esta aureola.

A falta de más ensayos para poder comparar los resultados de forma estadística y así determinar un patrón de actividad hidrolítica, a partir de estas primeras pruebas se pueden apreciar las diferencias en el crecimiento de un género respecto al otro; sería necesario optimizar los medios de cultivo en cada caso, para valorar la actividad celulolítica que cada especie presenta en función de su metabolismo.

A título personal, considero importante seguir desarrollando una vía de estudio que adapte las técnicas de laboratorio a

²⁸ BIBLIOTECA NACIONAL DE COLOMBIA. "Estudio del microbiodeterioro del fondo documental Anselmo Pineda de la Biblioteca Nacional de Colombia". *Conservamos. Guía Técnica de Preservación en Bibliotecas* (2010), nº 5 (en línea) <<http://www.biblioteca-nacional.gov.co/revistas/index.php/Conservamos/articulo/view/550/613>> [Consulta: 29 marzo 2016], p. 29.

un taller de restauración, como ha sido el caso de este ensayo introductorio, el cual, mediante sencillos ensayos, permite que un conservador-restaurador llegue a determinar la naturaleza de un ataque fúngico y que, de esta forma, pueda llevar a cabo una intervención más adecuada en una obra infectada y, posteriormente, tomar las medidas necesarias para prevenir la reaparición de nuevas colonias.

GLOSARIO

Actinomicetos: es un grupo de microorganismos entre las bacterias y los hongos. Tienen la capacidad de formar agregados filamentosos, similares a las hifas fúngicas. Este pseudomicelio ramificado puede subdividirse en células bacterianas aisladas. La importancia de este grupo radica en sus fermentaciones, ya que producen sustancias antibióticas. Algunas especies atacan la celulosa y el almidón, pero muy lentamente.

Almidón: es una macromolécula glucídica, compuesta por dos tipos de polisacáridos. También se utiliza como nutriente en medios de cultivo *in vitro*, para desarrollo de hongos y bacterias.

Amilasa: es una enzima que tiene la función de catalizar la reacción de hidrólisis en la digestión de glucógeno y almidón, para obtener azúcares más simples.

Anobios: son una familia de insectos xilófagos, conocidos comúnmente como carcoma. Producen graves alteraciones en la madera, tanto en estado natural como tratada, por ejemplo en vigas, retablos, muebles, tallas, etc. Causan alteraciones estructurales graves debido a la formación de galerías internas. Su tamaño oscila entre los 1,5-9 mm de longitud y son de coloración marrón, rojiza o negra.²⁹

Basidiomicetos: es el segundo grupo más importante de hongos superiores, coloquialmente conocidos como setas. Son frecuentes en ambientes forestales y requieren mucha cantidad de agua para llegar a proliferar. Son los principales responsables de la pudrición de la madera, ya sea como parásitos o como saprófitos.³⁰

Carboximetilcelulosa (CMC): es un compuesto orgánico derivado de la celulosa, concretamente un éter de celulosa. A diferencia de la celulosa natural, ésta es soluble en medio acuoso, y se utiliza como espesante o adhesivo en función de la concentración a la cual se prepare y de la viscosidad que presente la solución inicial.³¹

Celulasa: es una enzima compleja especializada en descomponer la celulosa, transformándola en múltiples monómeros de glucosa. Está producida en mayor parte por algunas especies de hongos y bacterias, pero también por insectos xilófagos.³²

Celulosa: es un polisacárido, formado por cadenas de glucosa unidas mediante un enlace especial. Es la cadena básica de la pared celular. Tiene propiedades elásticas y se encarga mayoritariamente de soportar las tensiones de un árbol, de una planta, o de un hongo superior, incluso presenta cierta resistencia mecánica cuando sus fibras se disponen de manera helicoidal.

Enzimas: son sustancias de origen proteico de acción biocatalizadora, es decir, que favorecen reacciones químicas en las células de los organismos, ya que reducen la energía de activación que necesitan estas reacciones para producirse.³³

Hemicelulosa: polisacárido formado por los mismos monosacáridos que la cadena de celulosa, pero con una estructura ramificada que facilita la unión entre moléculas de celulosa, y también entre ésta y la pectina.

Lignina: es un compuesto fenólico que endurece las zonas de la pared celular que lo requieren, actuando como un barniz que reduce la elasticidad de las fibras de celulosa y las endurece.

MEA: Malta Extract Agar. Medio de cultivo de amplio espectro. Utilizado en primeros cultivos para estudios globales.³⁴

Proteasas: son sustancias enzimáticas, especializadas en romper los enlaces peptídicos de las proteínas. Para ello utilizan moléculas de agua, por lo que se clasifican como hidrolasas.

RBA: Rose Bengal cloramphenicol Agar. Medio de cultivo para exclusión de bacterias, ya que el cloranfenicol actúa como bactericida. Utilizado en primeros cultivos para estudios globales de hongos.³⁵

IMÁGENES

1 Estructura de la celulosa (Imagen retocada: en línea en <http://es.slideshare.net/FranciscoGarciaBreijo/tema-1-introduccion-a-la-clula-eucariota-43987783> [Consulta: 16 mayo 2016]).

2 Esquema de la degradación de la celulosa (Imagen: Aitana Valderrama).

3 Imagen de una infección por hongos a causa de una inundación en un edificio (Imagen: en línea en <http://whyfiles.org/2012/after-the-flood-the-menace-of-mold/> [Consulta: 22 enero 2016]).

4 Aspecto fibroso de madera atacada por hongos que provocan pudrición blanca (Imagen: en línea en <http://drnelson.uthsc.edu/LaGrande/whiterot.png> [Consulta: 17 febrero 2016]).

5 Pudrición cúbica localizada en la base de la obra E402295 (Fotografía: Aitana Valderrama).

6 Aislamiento de colonias e identificación de las muestras (Fotografía: Aitana Valderrama).

7 Aislamiento de colonias e identificación de las muestras (Fotografía: Aitana Valderrama).

8 Resultados de la tinción de placas de la M2a (Fotografía: Aitana Valderrama).

9 Resultados de la tinción de placas de la M2b (Fotografía: Aitana Valderrama).

10 Resultados de la tinción de placas de la M2c (Fotografía: Aitana Valderrama).

11 Resultados de la tinción de placas de la M3 (Fotografía: Aitana Valderrama).

12 Resultados de la tinción de placas de la M4 (Fotografía: Aitana Valderrama).

13 Resultados de la tinción de placas de la M5 (Fotografía: Aitana Valderrama).

²⁹ SANTIBÁÑEZ TORO, J. "Anóridos y derméstidos: un riesgo latente". *Conserva* (2010), nº 14 (en línea) <http://www.dibam.cl/dinamicas/DocAdjunto_1651.pdf> [Consulta: 8 mayo 2016], p. 108.

³⁰ ROMERO ZARCO, C. "Clase basidiomicetos". *Programa de Botánica I, Grado de biología, Universidad de Sevilla*. 2012 (en línea) <http://www.aloj.us.es/CAR-ROMZAR/BOTANICA_I/TEMAS_BOTANICA_I/T6_BASIDIOMICETOS.HTML> [Consulta: 8 mayo 2016].

³¹ Acofarma. *Carboximetilcelulosa* (en línea) <http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4202-d2fa20f6ffb1f7c5e800e-786e4720c4ce163fe5f/main/files/Carboximetilcelulosa_s_dica.pdf> [Consulta: 5 abril].

³² MARTÍNEZ-ANAYA, C.; BALCÁZAR-LÓPEZ, E.; DANTÁN-GONZÁLEZ, E.; FOLCH-MALLOL, J. L. "Celulasas fúngicas: Aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética". *Medigraphic Artemisa en línea. Asociación Latinoamericana de Microbiología (ALAM)*. 2008 (en línea) <http://www.medigraphic.com/pdfs/lami-cro/mi-2008/mi08-3_4i.pdf> [Consulta: 8 mayo 2016].

³³ JIMENO, A.; BALLESTEROS, M.; UGEDO, L. *Biología...*, p. 172.

³⁴ *Sigma-Aldrich. Malta Extract Agar* (en línea) <<http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma-Aldrich/Datasheet/1/70145dat.pdf>> [Consulta: 5 abril 2016].

³⁵ *Sigma-Aldrich. Rose bengal agar base* (en línea) <<http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma-Aldrich/Datasheet/1/r1273dat.pdf>> [Consulta: 5 abril 2016].

BIBLIOGRAFÍA

FERNANDO PERAZA, S. *Protección preventiva de la madera*. Madrid: AITIM, 2002. ISBN 9788487381225

FLORIAN, Mary-Lou. *Heritage eaters: insects & fungi in heritage collections*. Londres: James & James, 1997. ISBN 1-873936-49-4

GUARRO, J.; GENÉ, J.; STCHIGEL, A. M.; FIGUERES, M. J. *Atlas of soil ascomycetes*. Reus: Universitat Rovira i Virgili, 2012. ISBN 978-90-70351-885

KÜNHNER, R.; ROMAGNESI, H. *Flore analytique des champignons supérieurs*. París: Masson et Cie., 1975. ISBN 2-225 53713-5

SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J. THRANE, U.; FRISUAD, J. C.; ANDERSEN, B. *Food and indoor fungi*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center, 2010. ISBN 978-90-70351-82-3

TROYA, M. T.; PRIETO, M.J.; RUBIO, F.; FERNÁNDEZ-GOLFÍN, J. I.; CONDE, M.; FERNÁNDEZ ROSA, L. "Estudios sobre el bio-control y bioprotección de la madera frente a organismos xilófagos y cromógenos". En: S.E.C.F.-JUNTA DE CASTILLA-LEÓN (Eds.), *Actas Del V Congreso Forestal Español. Junta de Castilla y León, 21 de septiembre de 2009*. Ávila: Sociedad Española de Ciencias Forestales, 2009. ISBN 978-84-936854-6-1

VON ARX, J. M.; GUARRO, J.; FIGUERES, J. M. *The ascomycete genus chaetomium*. Port Jervis (Nueva York): Lubrecht & Cramer Ltd., 1986. ISBN 9783443510053

Recursos electrónicos

BAZ RAMOS, A. "Catálogo provisional de los Psocópteros de Andalucía (Insecta, Psocóptera)". *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, Vol. 27, nº 1-4, 2003, p. 13-40. (En línea) <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1302780>> [Consulta: 9 mayo 2016].

CENTRE DE RECHERCHE SUR LA CONSERVATION DES COLLECTIONS. *Mycota: les contaminants fongiques du patrimoine culturel*. (En línea) <<http://mycota-crcr.mnhn.fr/site/genre.php>> [Consulta: 8 diciembre 2015].

GARCÍA, A. M. "La Microscopía en el Estudio del Biodeterioro y la Conservación del Patrimonio Histórico y Cultural". *XV Congreso Venezolano de Microscopía y Microanálisis. Acta microscópica*, Vol 21, sup. B, 2012. (En línea) <http://oa.upm.es/20369/1/INVE_MEM_2012_134119.pdf> [Consulta: 7 noviembre 2015].

INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE, QUEBEC. *Moulds fact sheets*. (En línea) <<https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/>> [Consulta: 31 octubre 2015].

LÓPEZ, P. "El mundo fascinante de los insectos psocópteros". *Gaceta digital UNAM* (2015). (En línea) <<http://www.gaceta.unam.mx/20150122/el-mundo-fascinante-de-los-insectos-psocopteros/>> [Consulta: 7 mayo 2016].

MINISTERIO DE TRABAJO Y ASUNTOS SOCIALES, ESPAÑA. NTP 611: *Agentes biológicos: análisis de las muestras*. (En línea) <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/601a700/ntp_611.pdf> [Consulta: 17 septiembre 2015].

SAMEÑO PUERTO, M.; RUBIO FAURE, C. "Métodos de control biológico aplicados a escultura en madera. Algunos ejemplos en el IAPH". *PH* (1998), nº 23. (En línea) <<http://www.iaph.es/revistaph/index.php/revistaph/article/view/645/645#.VkJOL-M7cvfIU>> [Consulta: 7 noviembre 2015].

STRANG, T. J. K.; DAWSON, J. E. "Controlling museum fungal problems". *Canadian Conservation Institute. Technical Bulletin* (1991), nº 12. (En línea) <<https://www.cci-icc.gc.ca/resources-ressources/publications/downloads/technicalbulletins/eng/TB12-ControllingMuseumFungalProblems.pdf>> [Consulta: 29 abril 2016].

VALENTÍN, N. "Análisis de biodeterioro. Infestaciones y su erradicación". *IPHE* (2003), p. 175-186 (En línea) <<http://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/1183365.pdf>> [Consulta: 16 enero 2016].

VALENTIN, N. "Biodeterioro de los materiales de archivos y museos. Conservación y prevención". *Instituto Cultural de España*. (En línea) <<http://www.aecidcf.org.co/documentos/M1%2018.283%20Valentin,%20Nieves.%20Biodeterioro.pdf>> [Consulta: 26 octubre 2015].

VALENTÍN, N.; GARCÍA R. "El biodeterioro en el Museo". *Arbor* (1999), p. 85-107 (En línea) <http://www.ahhp.es/documentacion/conservacion_preventiva/biodeterioro/Biodeterioro%20en%20el%20Museo.%20ARBOR.pdf> [Consulta: 27 noviembre 2015].