

# Tècniques de cultius aplicades a la conservació-restauració en cas d'atac fúngic sobre peces a intervenir

Aquest article està basat en un apartat del treball 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 qual s'apliquen tècniques de cultiu biològic per tal de determinar el tipus d'activitat enzimàtica que presenta una espècie fúngica, la qual és causant de degradació al suport escultòric de fusta.

Les tècniques experimentals es van dur a terme durant l'estada de Formació Pràctica en Centres de Treball al grup GRAPAC-Cetec de la Universitat Autònoma de Barcelona, efectuant una sèrie d'assajos en placa de cultiu per avaluar l'activitat cel·lulolítica i amilolítica de microorganismes aïllats en cultiu.

## **Cultivation Techniques Applied in Preservation-Restoration in the Case of Fungal Attack on Artworks to be Treated**

*This article is based on a section of the final project Characterisation of a Fungal Attack in an Organic Sculpture Support Medium: the equipment needed by a curator-restorer to evaluate the type of fungal attack occurring in lignocellulosic materials; the biological cultivation techniques applied to determine the type of enzyme activity presented by a fungal species which is responsible for the deterioration in the wooden sculptural support.*

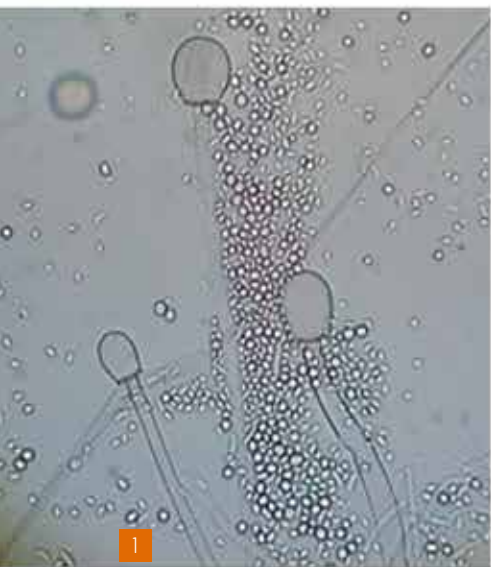
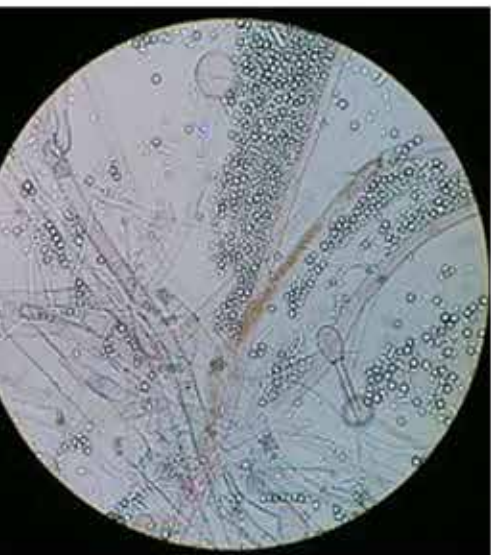
*The experimental techniques were carried out during a period of Practical Training in the Workplace in the GRAPAC-Cetec Group at the Autonomous University of Barcelona, carrying out a series of tests using a culture plate to assess the cellulolytic and amylolytic activity of microorganisms being cultured.*

**Aitana Valderrama Maiques.** Titulada Superior en Conservació i Restauració de Béns Culturals en l'especialitat d'Escultura per l'ESCRBCC. Post Graduate Degree in Conservation and Restoration of Cultural Heritage specialising in Sculpture from the ESCRBCC.

**Paraules clau:** activitat enzimàtica, activitat hidrolítica, activitat cel·lulolítica, activitat amilolítica, medis de cultiu, tècniques de tinció.

**Keywords:** enzyme activity, hydrolytic activity, cellulolytic activity, amylolytic activity, culture mediums, staining techniques. .

**Data de recepció:** 21-10-2016 > **Data d'acceptació:** 25-10-2016 / **Date received:** 21-10-2016 > **Date accepted:** 25-10-2016.



## MARC TEÒRIC

Moltes de les obres que tenen un interès historicoartístic estan constituïdes, en gran mesura, per materials d'origen orgànic, com poden ser la tela, la fusta, el paper, etc.

Aquest tipus de materials és més susceptible a l'atac de microorganismes i a les alteracions causades per aquests, generalment la seva proliferació té lloc a causa de factors mediambientals favorables per al seu desenvolupament, majoritàriament associats a la humitat ambiental i a la temperatura.

Una humitat ambiental elevada, d'entre 50-70%, associada a temperatures càlides, d'entre 20-37 °C, són condicions òptimes per a la proliferació de microorganismes, les quals se solen localitzar en ambients interiors, on generalment s'emmagatzemen aquets tipus d'obres.<sup>1</sup>

La susceptibilitat al biodeteriorament no només està lligada a la seva naturalesa orgànica sinó també a la seva composició química. De manera que els materials orgànics es poden subdividir en funció del seu origen en: **vegetals** (paper, fusta, cotó, etc.), és a dir, cel·lulòsics; o bé **animals** (pell, pergamí, seda, etc.), és a dir, proteics.

En aquest article sols es tracta el suport escultòric de fusta i el regne dels fongs com a grup d'organismes causants del seu biodeteriorament.

Per tal d'entendre alguns dels conceptes descrits en aquest assaig, cal fer una introducció teòrica sobre aquests microorganismes, el seu desenvolupament i les degradacions que causen.

## ELS FONGS

Els fongs són organismes eucariotes unicel·lulars o pluricel·lulars. Els fongs pluricel·lulars estan constituïts per filaments microscòpics de cèl·lules anomenades **hifes**; aquestes són estructures filamentoses pluricel·lulars, on cada cèl·lula es comunica amb l'anterior mitjançant un punt intern a través de la membrana, la qual permet l'intercanvi de substàncies a més de la mobilitat citoplasmàtica. Envoltant les diferents hifes es troba la paret cel·lular que engloba tot el conjunt.

El conjunt d'hifes té un creixement concèntric i circular i forma el **miceli** del fong; aquest es considera com un sol individu, també denominat **colònia**, ja que tots els nuclis de les cèl·lules que el conformen tenen el mateix codi genètic.

La majoria d'aquests microorganismes es troben en ambients terrestres, al sòl o a sobre d'un substrat de matèria orgànica morta, de manera que contribueixen a la seva descomposició. Hi ha altres que són paràsits d'animals i/o plantes, i alguns formen estructures simbiòtiques amb cianobacteris i algues unicel·lulars clorofícies; a aquesta simbiosi se l'anomena **liquen**.

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

**Condicions de creixement**

El metabolisme dels fongs és **heteròtrof**, és a dir, que s'alimenten de matèria orgànica i necessiten de certs elements per al seu desenvolupament, com el carboni, l'hidrogen, el nitrogen, l'oxigen, el sofre i el potassi, entre d'altres. Però també poden necessitar oligoelements com el zenc, el ferro, el magnesi, el coure, etc.<sup>2</sup> Presenten una nutrició i una digestió extracel·lular, és a dir, alliberen enzims<sup>3</sup> sobre la matèria a degradar, i trenquen els enllaços de les macromolècules i les restes, majoritàriament sucres, són reabsorbides i utilitzades per a la funcionalitat cel·lular.

En el cas que ens ocupa, els fongs que creixen en substrats cel·lulòsics i s'alimenten d'ells, són els anomenats **fongs xilòfags**. Aquests degraden principalment els components de la fusta com la cel·lulosa,<sup>4</sup> l'hemicel·lulosa<sup>5</sup> i la lignina,<sup>6</sup> mitjançant la producció i excreció d'enzims i destrueixen parcialment o totalment les parets cel·lulars, hidrolitzant les molècules estructurals.

Els fongs són organismes que, en general, necessiten un medi àcid (un pH d'entre 4-4,5) per poder formar les seves colònies. Majoritàriament són **aerobis**, per tant la presència d'oxigen a l'ambient afavoreix les reaccions d'oxidació de les molècules constitutives dels materials. Alguns, en canvi, són **anaerobis**, és a dir, requereixen d'ambients amb absència d'oxigen per funcionar, de manera que els tractaments amb anòxia no sempre són una metodologia eficient per a la seva eliminació.

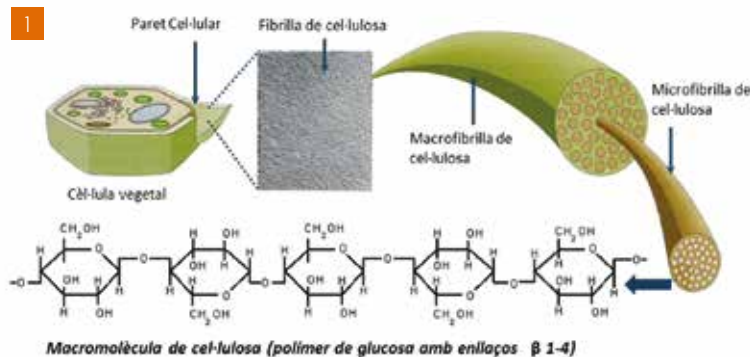
La temperatura és un factor indispensable per al desenvolupament de qualsevol organisme, ja que el conjunt de reaccions metabòliques que es donen durant la nutrició requereixen d'una font d'energia calorífica. Els valors de temperatura favorables poden variar entre els 20-37 °C, en funció de cada espècie fúngica, i algunes d'elles presenten rangs molt amplis de tolerància tèrmica. En condicions extremes de temperatures molt baixes paralitzen el seu metabolisme i queden en estat latent de manera indefinida, fins que les condicions ambientals siguin les adequades. En cas contrari, a temperatures superiors a 60 °C, alguns d'aquests microorganismes poden seguir desenvolupant-se amb una humitat relativa inferior a l'habitual.<sup>7</sup>

Però el factor més rellevant amb relació a la seva activitat és la humitat. El contingut mínim d'humitat en la fusta que permet el seu desenvolupament és del 18-20%. Tota la fusta amb un contingut d'humitat superior a aquests valors està exposada a l'atac de fongs xilòfags, tot i que per al manteniment i conservació de les peces de fusta cal establir uns paràmetres d'emmagatzematge per no malmetre el suport escultòric, de manera que els valors d'humitat relativa ambiental estarien entre el 35-50%.<sup>8</sup>

La falta de ventilació i l'absència de llum, conjuntament amb les condicions anteriorment esmentades, afavoreixen la proliferació d'una infecció fúngica.

**Processos de degradació**

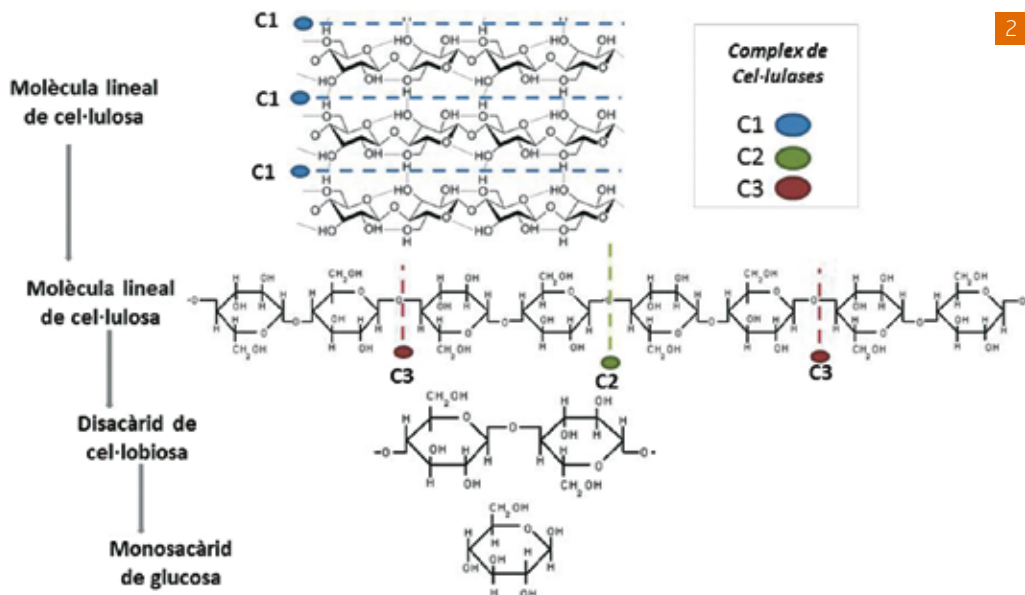
Entre els diversos microorganismes, els fongs xilòfags són els principals agents de degradació del material lignocel·lulòsic que constitueix les obres d'art i són capaços de desenvolupar-se tant en superfície com a l'interior de les seves estructures. Aquests troben una font orgànica de nutrició en els productes emmagatzemats en el citoplasma de les cèl·lules parenquimàtiques, com el midó i els sucres, així com en els mateixos components de les parets cel·lulars: cel·lulosa, hemicel·lulosa i lignina. **[1]**



[1] Estructura de la cel·lulosa (imatge retocada: en línia a <http://es.slideshare.net/FranciscoGarciaBreijo/tema-1-introduccion-a-la-clula-eucariota-43987783> [Consulta: 16 maig 2016]).

Quan una obra de fusta és atacada per microorganismes, concretament per fongs xilòfags, el principal problema és l'efecte de deteriorament de la cel·lulosa compositiva del teixit vegetal. Això es deu a la capacitat d'aquests organismes per produir enzims extra i intracel·lulars, coneguts com a **complex de cel·lulases**.<sup>10</sup> Aquest complex el formen tres tipus d'enzims, cadascun dels quals té capacitat per trencar diferents zones o enllaços de la macromolècula de cel·lulosa. Mitjançant fermentacions hidrolítiques trenquen en primer lloc les cadenes externes i obtenen cel·lobiosa, un disacàrid. A continuació penetren en les zones cristal·lines i trenquen

<sup>2</sup> CALVO TORRAS, M<sup>o</sup> A.; ADELANTADO, C.; CORCUERA MARÍN, E. "Principales características de los hongos causantes de alteraciones en materiales celulósicos". *PH* (2005), núm. 53, (en línia) <<http://www.iaph.es/revistaph/index.php/revistaph/article/view/1965#.Vqi-rPnhDIU>> p. 19 [Consulta: 27 desembre 2015].  
<sup>3</sup> Veure definició al Glossari.  
<sup>4</sup> Veure definició al Glossari.  
<sup>5</sup> Veure definició al Glossari.  
<sup>6</sup> Veure definició al Glossari.  
<sup>7</sup> JIMENO, A.; BALLESTEROS, M.; UGEDO, L. *Biología: 2n Batxillerat*. Barcelona: Grupo Promotor-Santillana, 2003. ISBN 84-8435-616-7, p. 20.  
<sup>8</sup> VALGAÑÓN, V. *Biología aplicada a la conservación...*, p. 125.  
<sup>9</sup> Veure definició al Glossari.  
<sup>10</sup> Veure definició al Glossari.



2

[2] Esquema de la degradació de la cel·lulosa (Imatge: Aitana Valderrama).

[3] Imatge d'una infecció per fongs a causa d'una inundació en un edifici (Imatge: en línia a <http://whyfiles.org/2012/after-the-flood-the-menace-of-mold/> [Consulta: 22 gener 2016]).

cadena aleatòriament, fins a obtenir com a producte final molècules de glucosa.<sup>11</sup>

Les cel·lulases fúngiques, igual que les bacterianes, són enzims inductius, és a dir, que només es produeixen si en el substrat de creixement hi ha cel·lulosa disponible, tot i que a vegades van associades a altres condicions, com per exemple d'humiditat i temperatura.<sup>12</sup> [2]

La lignina és especialment resistent a la degradació per part de microorganismes. En la natura sols alguns fongs de la família dels basidiomicets<sup>13</sup> són capaços de metabolitzar aquest compost mitjançant processos d'oxidació. Altres espècies com els actinomicets<sup>14</sup> sols la degraden parcialment.

#### Tipus d'agents patògens i alteracions produïdes

Entre els fongs xilòfags podem distingir dos grans grups: en primer lloc els fongs d'atac superficial, com floridures i fongs cromògens, i en segon lloc els fongs d'atac estructural, com els causants del podriment de la fusta.<sup>15</sup>

#### - Fongs superficials (floridures i fongs cromògens)

Aquest grup de fongs es desenvolupa en superfície, ja que la seva font d'alimentació prové de les deposicions de pols i matèria orgànica sobre la peça. El seu creixement es detecta quan el cos fructífer apareix en superfície en forma de colònies de proliferació cotonosa, les quals poden tenir una gran varietat cromàtica en funció de l'espècie.



3

Aquests fongs rarament produeixen degradacions en la paret cel·lular, de manera que no alteren les propietats mecàniques, sinó que causen canvis de coloració de la fusta. Així, doncs, no resulten perillosos per la seva acció degradadora, sinó pel fet que creen les condicions idònies per al desenvolupament dels fongs de podriment.<sup>16</sup> [3]

#### - Fongs estructurals (fongs de podriment)

Els fongs de podriment produeixen danys més greus a la fusta, ja que s'alimenten dels components de la paret cel·lular i arriben inclús a destruir-la per complet. Les hifes segreguen productes químics (enzims) que dissolen els nutrients de la fusta amb els que s'alimenten.

Els efectes d'aquesta alteració són pèrdues de densitat i resistència mecànica, acompanyats d'un canvi de coloració. A les etapes inicials no són fàcils de reconèixer, perquè les hifes es mantenen ocultes a l'interior de la fusta. Segons es va desenvolupant el podriment s'accentua el canvi de coloració i la fusta comença a perdre pes; és en la fase final del procés quan s'arriba a la destrucció total de l'estructura de la fusta, amb la pèrdua completa de les seves propietats mecàniques.<sup>17</sup>

<sup>11</sup> KRAEMER KOELLER, G. *Tratado de la prevención del papel y de la conservación de bibliotecas y archivos*, Vol. 1. Madrid: Dirección General de Archivos y Bibliotecas, 1973, p. 340.

<sup>12</sup> CANEVA, G.; NUGARI, M.P.; SALVADORI, O. *La biología en la restauración*. Guipúzcoa: Nerea - Junta de Andalucía -

Consejería de Cultura-IAPH, 2000. ISBN 84-89569-48-7, p. 71.

<sup>13</sup> Veure definició al Glossari.

<sup>14</sup> Veure definició al Glossari.

<sup>15</sup> LULEY, C. J. "Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos". *Arborist New* (2006), traducció de LLORENS, J. (En línia) <<http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/Identificaciopdepudric.pdf>> [Consulta: 7 setembre 2015].

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

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

La classificació més comuna dels diferents tipus de podriment fa referència a l'aspecte que adquireix la fusta quan té lloc la degradació. Aquesta coloració és conseqüència de la digestió diferenciada d'alguns components de la fusta i la conservació o degradació més lenta d'altres.

En funció de les molècules prioritàries en la digestió, es poden classificar tres tipus de podriment:

- **Podriment blanc:** els fongs responsables d'aquest tipus d'alteració són capaços de destruir tant la cel·lulosa com la lignina; en funció de l'espècie fúngica iniciaran la descomposició d'una substància abans que de l'altra.

Els que degraden la lignina i l'hemicel·lulosa s'anomenen de **podriment blanc selectiu** i augmenten la capacitat de deformar la fusta sense produir trencaments, deixant-la emblanquinada, lleugera i, en casos avançats, amb aspecte fibrós, fins i tot enfarinat.<sup>18</sup> Generalment afecten més a fustes frondoses que a coníferes, a causa del fet que les primeres tenen un major contingut en lignina.<sup>19</sup> 4

- **Podriment bru:** és el podriment més greu i perillós; és causat per fongs que degraden parcialment la cel·lulosa i l'hemicel·lulosa. La fusta afectada redueix de manera significativa la resistència mecànica i s'aprecien residus marronosos constituïts principalment de lignina, de manera que la fusta adquireix una coloració més fosca. En assecat-se la peça, el material residual tendeix a formar esquerdes cúbiques molt característiques que es disgreguen amb facilitat.<sup>20</sup> 5

- **Podriment tou:** aquest tipus de degradació és provocada per fongs inferiors, les hifes dels quals es desenvolupen a l'interior de la paret cel·lular de les cèl·lules parenquimàtiques de la fusta i ataquen principalment la cel·lulosa continguda en la paret secundària. La fusta afectada presenta un aspecte esponjós i tou, i el podriment té lloc quan existeixen altes concentracions d'humitat, tant ambiental com a l'interior de la fusta.<sup>21</sup>

## ASSAJOS

La identificació de l'agent patògen és important, però no és l'objectiu principal per a un conservador-

restaurador. El factor determinant és saber si el microorganisme que afecta al suport escultòric té capacitat cel·lulolítica o no, és a dir, si és capaç de degradar la cel·lulosa o bé la lignina constitutiva.

No obstant això, la degradació de suports cel·lulòsics, com el paper i la fusta, no només involucra la degradació de la cel·lulosa, sinó també

d'altres components, sobretot adhesius, com pastes de midó o coles animals (amb un alt contingut de proteïnes), etc. En el procés de biodeteriorament intervenen una gran varietat d'enzims produïts pels fongs (cel·lulases, amilases<sup>22</sup> i proteases<sup>23</sup>), que els proporcionen capacitat per degradar els diferents components dels suports escultòrics.

De manera que en aquest estudi es realitza una avaluació de l'activitat enzimàtica mitjançant el cultiu de fongs en plaques amb medis rics en cel·lulosa i midó. En el primer cas s'utilitza un producte que pot trobar-se fàcilment en un taller de restauració com és la carboximetilcel·lulosa.<sup>24</sup>

## MOSTREIG

Es treballa a partir de cinc mostres obtingudes de la següent manera:

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

<sup>19</sup> LULEY, C. J. "Identificación del tipo de pudrición...", p. 4.

<sup>20</sup> PASSOLA, G. *Hongos xilófa-gos...*, p. 48.

<sup>21</sup> PASSOLA, G. *Hongos xilófa-gos...*, p. 51.

<sup>22</sup> Veure definició al Glossari.

<sup>23</sup> Veure definició al Glossari.

<sup>24</sup> Veure definició al Glossari.



[4] Aspecte fibrós de fusta atacada per fongs que provoquen podriment blanc (imatge: en línia a <http://drnelson.uthsc.edu/LaGrande/whiterot.png> [Consulta: 17 febrer 2016]).

[5] Podriment cúbic localitzat a la base de la peça E402295 (Fotografia: Aitana Valderrama).

#### • **Mostra 1: peça del taller núm. E402292**

Aquesta peça prové de l'església romànica de Sant Miquel de Marsenyac, cedida per la Comissió de Patrimoni de la Diòcesi de Solsona. Aquesta església forma part del llistat de Patrimoni Arquitectònic Inventariat Català de Navès (Solsonès).<sup>25</sup>

Es tracta d'una escultura exempta que representa la Verge del Roser, a causa de l'atribut de la rosa que du a la mà dreta, amb el Nen Jesús agafat amb el braç esquerre.

Durant l'examen organolèptic es va detectar un atac biològic en la part posterior de la peça produït per dos mecanismes diferents. Per una banda, la presència de galeries en la zona posterior del cap de la Verge indica l'activitat d'insectes xilòfags i, per altra banda, tota la superfície presenta petites agrupacions en relleu de coloració fosca i textura vellutada, pròpies d'una infecció fúngica.

Per tal de determinar el tipus de patògen fúngic, s'extreuen mostres de diferent naturalesa, amb l'objectiu d'estudiar si aquests microorganismes presenten o no activitat cel·lulolítica, així com per realitzar l'estudi histològic del suport.

El material es va obtenir durant l'examen organolèptic de la peça a principis de desembre de l'any 2015. El material es va conservar fins a l'abril de l'any 2016, moment en què ha estat utilitzat per a aquests experiments.

A causa del fet que aquesta peça ha estat objecte d'estudi i d'intervenció durant el quart curs de l'especialitat de Conservació i Restauració d'Escultura, es va ampliar el mostreig realitzant un desplaçament fins al seu lloc d'origen, l'església de Sant Miquel de Marsenyac, per fer un reconeixement i recollir una sèrie de mostres classificades de la següent manera:

#### • **Mostra 2: graonada de la Sagrada Família**

Mostra recollida de la part interna d'una graonada col·locada sobre l'altar de la capella lateral dreta, en devoció a la Sagrada Família. Se sembla un fragment del suport amb sospita d'infecció fúngica sobre una placa amb medi MEA<sup>26</sup> i una altra sobre medi RBA.<sup>27</sup>

#### • **Mostra 3: pica baptismal**

Mostra obtinguda de l'interior de la coberta de fusta de noguera de la pica baptismal de l'església. Se sembla un fragment del suport amb sospita d'infecció fúngica sobre una placa amb medi MEA i una altra sobre medi RBA.

#### • **Mostra 4: biga de fusta mullada**

Durant la visita a l'església de Marsenyac, es fa una inspecció al pis superior. En aquesta estança es detecta

una coberta de fusta i algunes de les antigues bigues estructurals es troben emmagatzemades en un racó, ja que han estat substituïdes per unes de noves. S'extreu un fragment de les antigues bigues humides i amb principi de podriment, per inocular una placa amb medi MEA i una altra sobre medi RBA.

#### • **Mostra 5: caps de fusta de pi**

Es tracta d'una caps de fusta de pi, la qual ha estat emmagatzemada en contacte directe amb el terra humit de manera que, per capillaritat, la fusta té una continua aportació d'humitat, la qual afavoreix la proliferació de fongs xilòfags. Amb el temps es van començar a desenvolupar, en tota la superfície que estava en contacte amb el terra, una sèrie de taques grises-negres petites i agrupades, les quals varen traspasar tot el gruix de la caps i es van manifestar per la part interior. Se sembla un fragment del suport amb sospita d'infecció fúngica sobre una placa amb medi MEA i una altra sobre medi RBA.

Taula resum del mostreig de l'estudi:

Nomenclatura mostra	Descripció
M1	Material de la peça del taller (núm. E402292)
M2	Graonada de la Sagrada Família
M3	Coberta de fusta de la pica baptismal
M4	Biga de fusta mullada
M5	Caps de fusta de pi

## METODOLOGIA

Per tal de confirmar que els microorganismes de l'estudi tenen viabilitat, se sembla en medis MEA i RBA frescos una petita mostra a partir de les plaques recollides durant la visita, o bé una mostra emmagatzemada de la peça del taller, o bé una mostra recent, com és el cas de la caps de pi. S'incuben a 25 °C durant cinc dies.

Passats els cinc dies s'observen i analitzen els cultius O (o cultius mare) per tal d'escollir les colònies de gèneres fúngics que seran utilitzades en l'estudi d'activitat hidrolítica.

S'elabora una preparació per a cada colònia morfològicament diferent sobre un portaobjectes i, mitjançant consulta bibliogràfica i sota la supervisió d'un expert micòleg, s'identifica el gènere dels diferents fongs

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

<sup>26</sup> Veure definició al Glossari.

<sup>27</sup> Veure definició al Glossari.

desenvolupats per tal de seleccionar una representació i procedir a l'assaig d'avaluació d'activitat hidrolítica.

#### Assaig d'avaluació de l'activitat hidrolítica:

Es van preparar medis de cultiu específics per a cada tipus d'activitat hidrolítica:

- a. Medi agar-carboximetilcel·lulosa (CMC) a l'1%, amb o sense suplement de calci, per l'activitat cel·lulolítica.
- b. Medi agar-midó a l'1% per l'activitat amilolítica.

Se sembla al centre de les plaques part del material provinent dels últims cultius en MEA o RBA, per tal d'avaluar posteriorment l'aurèola que genera. S'incuben a 25 °C durant cinc dies.

Es fan tres experiments: en la primera prova d'avaluació hidrolítica s'utilitzen medis únicament amb agar-CMC, agar-CMC + un suplement de nitrat càlcic al 0,1% i agar-midó. En canvi, en la segona i tercera prova es preparen medis tal i com estan descrits en la revista *Conservamos*, núm. 5, de la Biblioteca Nacional de Colòmbia, i el suplement càlcic se substitueix per clorur de calci (CaCl<sub>2</sub>) a l'1%.<sup>28</sup>

Per poder posar de manifest l'aurèola hidrolítica, cal tenir les plaques amb un colorant específic:

- a. *Vermell Congo a l'1% en H<sub>2</sub>O destil·lada*: aquest és un excel·lent tint per a la cel·lulosa, per tant s'utilitza en les plaques amb carboximetilcel·lulosa.
- b. *Lugol al 0,1% en H<sub>2</sub>O destil·lada*: aquesta solució aquosa de iodur de potassi tenyeix el midó, de manera que s'utilitza per determinar alteracions d'aquest compost en les plaques que contenen midó.

#### RESULTATS

Passats cinc dies, s'observen i analitzen els cultius 0 per tal d'escollir quines colònies seran seleccionades per a l'estudi d'activitat hidrolítica.

Taula d'identificació fúngica:

Nom	Origen	Núm. colònies en medi MEA	Núm. colònies en medi RBA	Tipus de fong
M1	Peça del taller	1	-	Bacteris
M2	Graonada	5	4	a. <i>Cladosporium sp.</i> b. <i>Alternaria sp.</i> c. <i>Penicillium sp.</i>
M3	Pica baptismal	4	4	<i>Ascotricha sp.</i>
M4	Biga de fusta	3	3	<i>Trichoderma sp.</i>
M5	Capsa de pi	3	3	<i>Chaetomium sp.</i>

Les mostres de la peça del taller no presenten viabilitat, però durant l'examen organolèptic de la peça, es va fer una primera identificació i el gènere correspon al mateix de la mostra M5. <sup>6</sup> i <sup>7</sup>

#### Prova d'avaluació hidrolítica:

Passat un mínim de cinc dies de cultiu en els medis d'avaluació hidrolítica s'observa que les diferents espècies fúngiques tenen ritmes de creixement diversos. De manera que, en la segona i tercera prova, s'intenten ajustar els temps d'incubació per tal d'obtenir colònies suficientment grans per efectuar la prova de tinció, procurant que no ocupi tota la superfície de la placa de cultiu.

Taula de resultats de les aurèoles, un cop realitzada la tinció de les plaques: <sup>8</sup> - <sup>13</sup>

MOSTRA	Agar-CMC 1%			Agar-CMC 1% + Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 1%			Agar-MIDÓ 1%		
	1a prova	2a prova	3a prova	1a prova	2a prova	3a prova	1a prova	2a prova	3a prova
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>	+	-	+	-	-	-	+	-	-

[6 i 7] Aïllament de colònies i identificació de les mostres.

[8] Resultats de la tinció de plaques de la M2a.

[9] Resultats de la tinció de plaques de la M2b.

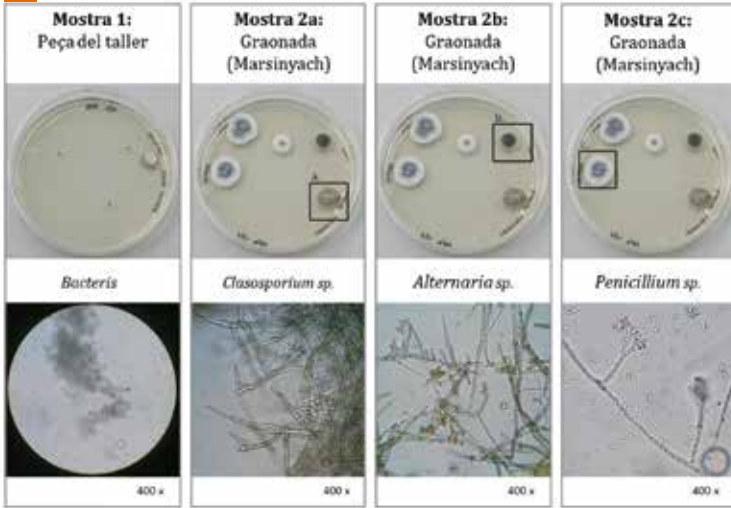
[10] Resultats de la tinció de plaques de la M2c.

[11] Resultats de la tinció de plaques de la M3 (Fotografies: Aitana Valderrama).

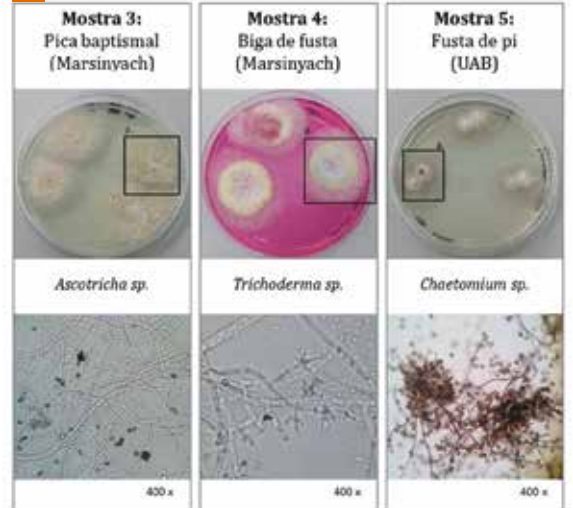
<sup>28</sup> BIBLIOTECA NACIONAL DE COLOMBIA. "Estudio del microbiodeterioro del fondo documental Anselmo Pineda de la Biblioteca Nacional de Colombia". *Conservamos. Guía Técnica de Preservación en Bibliotecas* (2010), núm. 5. (En línia) <<http://www.biblioteca-nacional.gov.co/revistas/index.php/Conservamos/article/view/550/613>> [Consulta: 29 març 2016], p. 29.



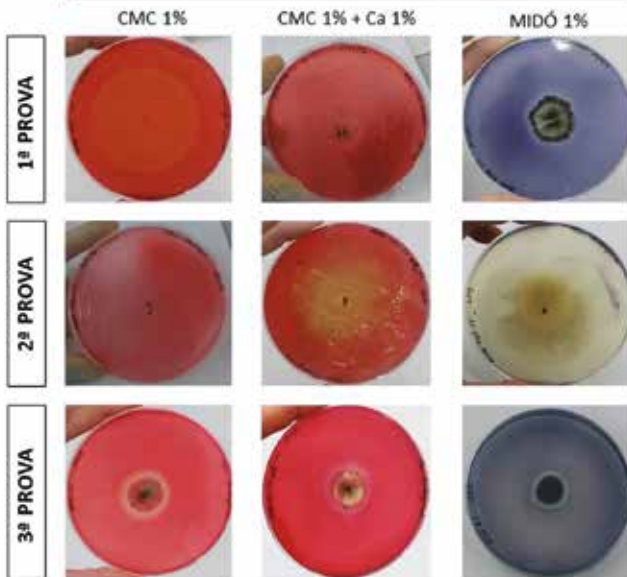
6



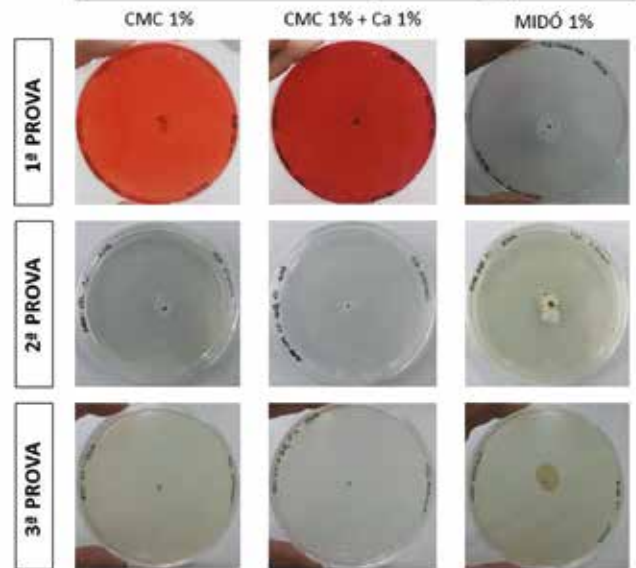
7



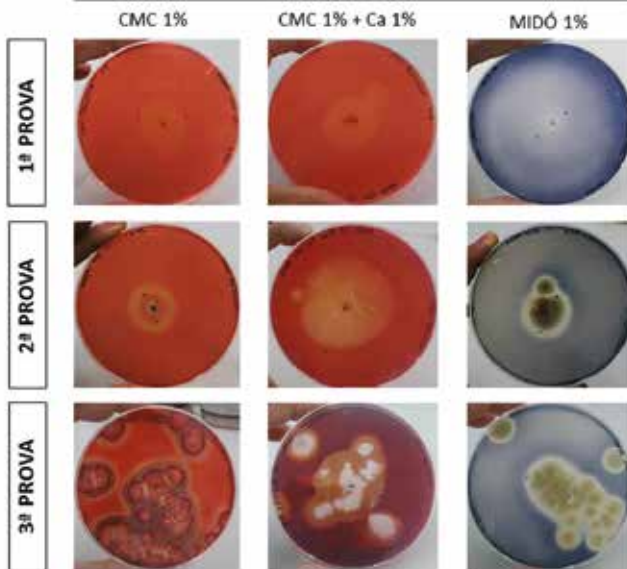
8

M2a: GRAONADA (*Cladosporium sp.*)

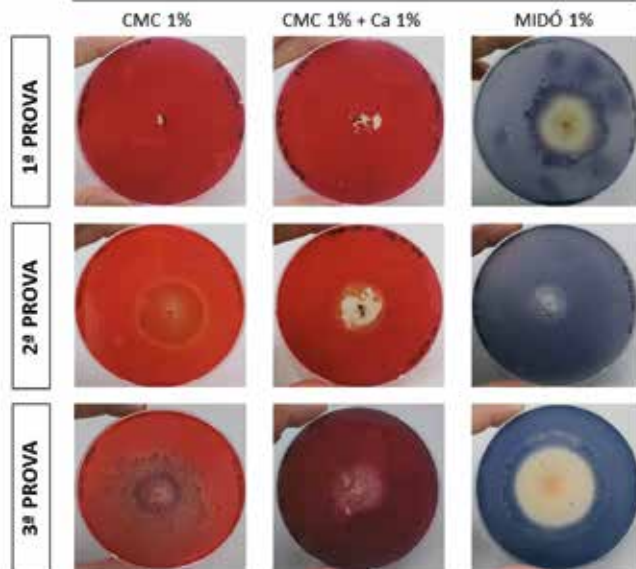
9

M2b: GRAONADA (*Alternaria sp.*)

10

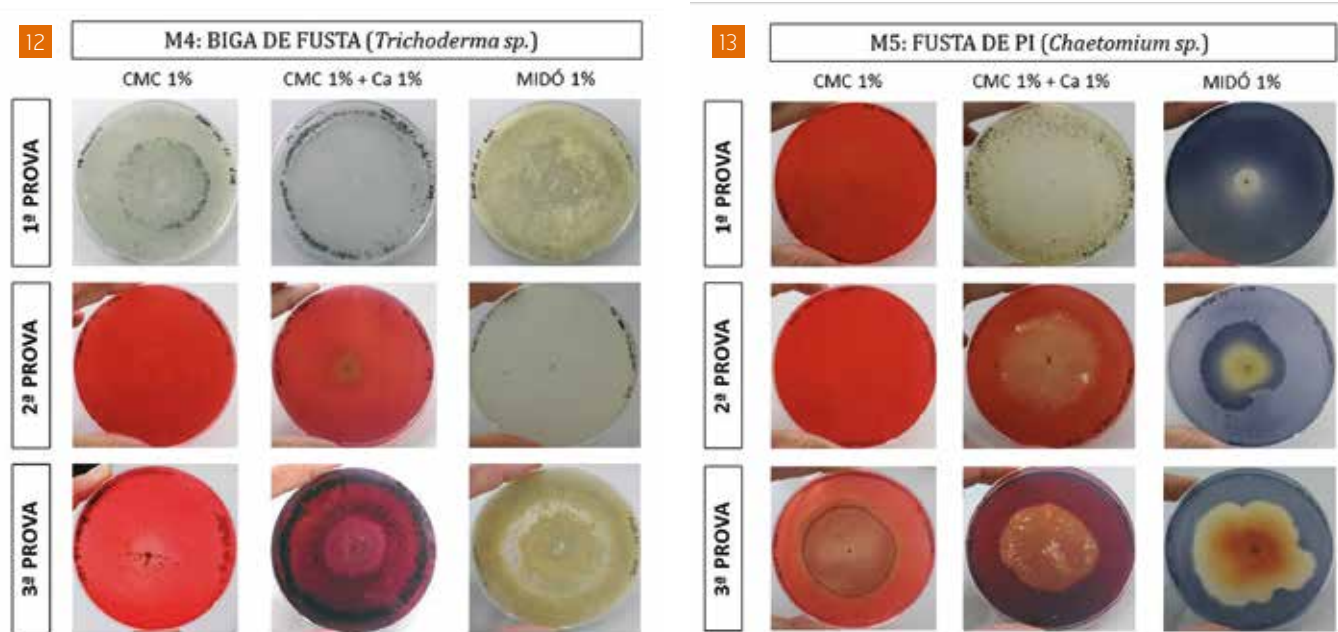
M2c: GRAONADA (*Penicillium sp.*)

11

M3: GRAONADA (*Ascotricha sp.*)

[12] Resultats de la tinció de plaques de la M4.

[13] Resultats de la tinció de plaques de la M5 (Fotografies: Aitana Valderrama).



### CONCLUSIONS

Veient alguns dels resultats de les primeres proves de tinció, com és el cas del *Cladosporium sp.* o el *Penicillium sp.*, es demostra que aquesta tècnica revela la capacitat que tenen alguns fongs per hidrolitzar les molècules de cel·lulosa i/o de midó, creant l'aurèola al voltant de la colònia. Per tant, el grau d'agressivitat que presenta l'atac fúngic sobre la peça dependrà del diàmetre d'aquesta aurèola.

A falta de més assajos per poder comparar els resultats de manera estadística i determinar un patró d'activitat hidrolítica, a partir d'aquestes primeres proves es pot apreciar la diferència de creixement que presenta un gènere fúngic respecte a l'altre; caldria optimitzar els medis de cultiu en cada cas, per tal de valorar l'activitat cel·lulolítica que cada espècie fúngica presenta en funció del seu metabolisme.

En l'àmbit personal, considero important seguir desenvolupant una via d'estudi que adapti les tècniques de laboratori a un taller de restauració, com ha estat el cas d'aquest assaig introductori, el qual, mitjançant assajos senzills, permet a un conservador-restaurador arribar a determinar la naturalesa d'un atac fúngic i, d'aquesta manera, dur a terme una intervenció més adequada a una peça afectada i, posteriorment, prendre les mesures pertinents per prevenir la formació de noves colònies.

### GLOSSARI

**Actinomicets:** és un grup de microorganismes entre els bacteris i els fongs. Tenen la capacitat de formar agregats

filamentosos, similars a les hifes fúngiques. Aquest pseudomiceli ramificat pot subdividir-se en cèl·lules bacterianes aïllades. La importància d'aquest grup radica en les seves fermentacions, ja que produeixen substàncies antibiòtiques. Algunes espècies ataquen la cel·lulosa i el midó, però molt lentament.

**Amilasa:** és un enzim que té la funció de catalitzar la reacció d'hidròlisi en la digestió de glucogen i midó, per tal de formar sucres més simples.

**Anòbids:** són una família d'insectes xilòfags, coneguts comunament com a corcs. Produeixen greus alteracions a la fusta, tant en estat natural com tractada, és a dir, en bigues, retauls, mobles, talles, etc. Causen alteracions estructurals greus per la formació de galeries internes. La seva mida oscil·la entre els 1,5-9 mm de longitud i són de coloració marró, vermellosa o negra.<sup>29</sup>

**Basidiomicets:** és el segon grup més important de fongs superiors, col·loquialment coneguts com a bolets. Són freqüents en ambients forestals i necessiten molta quantitat d'aigua per proliferar. Són els principals responsables del podritment de la fusta, ja sigui com a paràsits o com a sapròfits.<sup>30</sup>

**Carboximetilcel·lulosa (CMC):** és un compost orgànic derivat de la cel·lulosa, concretament un èter de cel·lulosa. A diferència de la cel·lulosa, aquesta és soluble en medi aquós, i s'utilitza com a espessidor o adhesiu en funció de la concentració a la qual es prepara i de la viscositat que presenti la solució inicial.<sup>31</sup>

<sup>29</sup> SANTIBÁÑEZ TORO, J. "Anòbids y dermatóidos: un riesgo latente". *Conserva* (2010), núm. 14. (En línia) <[http://www.dibam.cl/dinamicas/DocAdjunto\\_1651.pdf](http://www.dibam.cl/dinamicas/DocAdjunto_1651.pdf)> [Consulta: 8 maig 2016], p. 108.

<sup>30</sup> ROMERO ZARCO, C. "Clase basidiomicetos". *Programa de Botánica I, Grado de biología, Universidad de Sevilla*, 2012 (en línia) <[http://www.aloj.us.es/CARROMZAR/BOTANICA\\_I/TEMAS\\_BOTANICA\\_I/T6\\_BASIDIOMICETOS.HTML](http://www.aloj.us.es/CARROMZAR/BOTANICA_I/TEMAS_BOTANICA_I/T6_BASIDIOMICETOS.HTML)> [Consulta: 8 maig 2016].

<sup>31</sup> Acofarma. *Carboximetilcel·lulosa* (en línia) <[http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4202-d2fa20f6ffb1f7c5e800e-786e4720c4ce163fe5f/main/files/Carboximetilcelulosa\\_s\\_dica.pdf](http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4202-d2fa20f6ffb1f7c5e800e-786e4720c4ce163fe5f/main/files/Carboximetilcelulosa_s_dica.pdf)> [Consulta: 5 abril].

**Cel·lulosa:** és un enzim complex especialitzat en descompondre la cel·lulosa, transformant-la en múltiples monòmers de glucosa. És produïda en major part per alguns espècies de fongs i bacteris, però també per insectes xilòfags.<sup>32</sup>

**Cel·lulosa:** és un polisacàrid, format per cadenes de glucosa, unides per un enllaç especial. És la cadena bàsica de la paret cel·lular. Té propietats elàstiques i s'encarrega majoritàriament de suportar les tensions d'un arbre, una planta o d'un fong superior, fins i tot presenta certa resistència mecànica quan les seves fibres es disposen de manera helicoidal.

**Enzims:** són substàncies d'origen proteic d'acció biocatalitzadora, és a dir, que afavoreixen reaccions químiques a les cèl·lules dels organismes, ja que redueixen els requeriments d'energia d'activació que aquestes reaccions necessiten per desenvolupar-se.<sup>33</sup>

**Hemicel·lulosa:** polisacàrid format pels mateixos monosacàrids de la cadena de cel·lulosa, però amb una estructura ramificada que facilita la unió entre molècules de cel·lulosa, i també entre aquesta i la pectina.

**Lignina:** és un compost fenòlic que endureix les zones de la paret cel·lular que ho requereixen, actuant com un vernís que redueix l'elasticitat de les fibres de cel·lulosa i les endureix.

**MEA: Malta Extract Agar.** Medi de cultiu d'ample espectre. Utilitzat en primers cultius per a estudis globals.

**Midó:** és una macromolècula de glúcid, composta per dos tipus de polisacàrids. També s'utilitza com a nutrient en medis de cultiu *in vitro*, per a fongs i bacteris.

**Proteases:** són substàncies enzimàtiques, especialitzades en trencar els enllaços peptídics de les proteïnes. Per fer-ho utilitzen molècules d'aigua, fet pel qual es classifiquen com a hidrolases.

**RBA: Rose Bengal cloramfenicol Agar.** Medi de cultiu per exclusió de bacteris, ja que el cloramfenicol actua com a bactericida. Utilitzat en primers cultius per a estudis globals de fongs.<sup>35</sup>

## BIBLIOGRAFIA

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

KÜNNHER, 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 biocontrol y bioprotección de la madera frente a organismos xilófagos y cromógenos". A: 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*. Àvila: 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 (Nova York): Lubrecht & Cramer Ltd., 1986. ISBN 9783443510053

<sup>32</sup> 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 línia) <[http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2008/mi08-3\\_4i.pdf](http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2008/mi08-3_4i.pdf)> [Consulta: 8 maig 2016].

<sup>33</sup> JIMENO, A.; BALLESTEROS, M.; UGEDO, L. *Biología...*, p. 172.

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

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

## RECURSOS ELECTRÒNICS

BAZ RAMOS, A. "Catálogo provisional de los Psocópteros de Andalucía (Insecta, Psocóptera)". *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, Vol. 27, núm. 1-4, 2003, p. 13-40 (en línea) <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1302780>> [Consulta: 9 maig 2016].

CENTRE DE RECHERCHE SUR LA CONSERVATION DES COLLECTIONS. *Mycota: les contaminants fongiques du patrimoine culturel* (en línea) <<http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/genre.php>> [Consulta: 8 desembre 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](http://oa.upm.es/20369/1/INVE_MEM_2012_134119.pdf)> [Consulta: 7 novembre 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 maig 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](http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/601a700/ntp_611.pdf)> [Consulta: 17 setembre 2015].

SAMEÑO PUERTO, M.; RUBIO FAURE, C. "Métodos de control biológico aplicados a escultura en madera. Algunos ejemplos en el IAPH". *PH* (1998), núm. 23 (en línea) <<http://www.iaph.es/revistaph/index.php/revistaph/article/view/645/645#.VkOLM7cvfIU>> [Consulta: 7 novembre 2015].

STRANG, T. J. K.; DAWSON, J. E. "Controlling museum fungal problems". *Canadian Conservation Institute. Technical Bulletin* (1991), núm. 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 gener 2016].

VALENTIN, N. "Biodeterioro de los materiales de archivos y museos. Conservación y prevención". *Instituto Cultural de España* (en línea) <<http://www.aacidcf.org.co/documentos/MI%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](http://www.ahhp.es/documentacion/conservacion_preventiva/biodeterioro/Biodeterioro%20en%20el%20Museo.%20ARBOR.pdf)> [Consulta: 27 novembre 2015].