

# Identificación de los hongos que afectan a un monumento histórico

ADRIANA HLADKI DE SANZ\*

\* Investigadora de la Fundación Miguel Lillo - Área Botánica Miguel Lillo 251 - S.M. de Tucumán - 4000 Tucumán - Trabajo financiado por el CIUNT.

## SUMMARY

Identification of fungi that affect a historical monument. A number of fungi inducing biodeterioration of a historical monument are here reported. The mentioned taxa are described and illustrated. Efficiency tests of biocides on isolated fungi were carried out. Fungi present in the air, being considered as potential pollutants, were identified.

Keys Words: Biodeterioration, Fungi Flora, Stone Monuments, Argentina.

## RESUMEN

Identificación de los Hongos que Afectan a un Monumento Histórico. Se citan, describen e ilustran numerosos hongos que inducen el biodeterioro de un monumento histórico. Se incluyen pruebas de efectividad de los biocidas sobre los microorganismos aislados. Se citan, describen e ilustran los hongos presentes en el aire considerados potenciales agentes de biodeterioro.

Palabras claves: Biodeterioro, Hongos, Monumentos Históricos, Argentina.

## Introducción

Este trabajo forma parte del proyecto "Restauración Conservativa de la estatua de La Libertad" del "Instituto de Arte Americano y Regional" (IAAR) con el asesoramiento de especialistas del "Istituto Centrale del Restauro de Roma".

La estatua de "La Libertad", de la célebre escultora Lola Mora, ubicada en la plaza Independencia de la ciudad de San Miguel de Tucumán, fue esculpida en mármol de Carrara y no fue restaurada desde su inauguración en el año 1904.

Los monumentos históricos, cuando están expuestos a la interperie, se deterioran debido a una serie de procesos físicos-químicos,

a la acción de la contaminación atmosférica (lluvia ácida) y al ataque de numerosos microorganismos (Hopton 1988, Paine *et al.* 1933, Reddy *et al.* 1986). Estos sustratos inorgánicos son colonizados preferentemente por organismos autótrofos (algas, líquenes, musgos y angiospermas); sin embargo, la presencia de materia orgánica en su superficie, debida a tratamientos aplicados al monumento con anterioridad (aceites, ceras, etc.), a vestigios de colonizaciones biológicas previas y a excrementos de aves, favorecen el desarrollo de una variada microflora heterotrófica -bacterias y hongos- (Caneva *et al.*, 1991).

Los líquenes y las algas azules juegan un rol importante como pioneros en la colonización de las rocas (Wessels & Schoeman, 1988). Los primeros por contracción y expansión del talo, bajo condiciones de sequía y humedad, producen una acción de remo-

ción de la superficie rocosa calculada en 9.6 mm cada 100 años (Wessels & Schoeman, 1988); a su vez, las algas exudan al medio compuestos orgánicos nitrogenados que estimulan el crecimiento fúngico (Caneva *et al.*, 1991). Los hongos también contribuyen al deterioro de la roca, ejerciendo acciones físicas -pérdida de cohesión- y químicas -acidificación, quelatinización y tinción- (Braams 1992, Eckhardt 1978, 1980, 1985a,b, Krasilnikov 1949, Kuroczkin *et al.* 1988).

Las tinciones son ocasionadas por compuestos químicos presentes en las hifas de hongos, principalmente *dematiáceos* responsables de la producción de melaninas que ocasionan manchas oscuras difíciles de remover (Caneva *et al.*, 1991).

La acidificación es el efecto más destructivo en los procesos de biodeterioro: los microorganismos producen y liberan al medio ácido carbónico, nítrico, sulfúrico, y muchos otros ácidos orgánicos (cítrico, oxálico, glucónico, glucurónico, láctico y fumárico), los cuales pueden formar quelatos con cationes metálicos del sustrato, disolviendo piedra caliza, silicatos, minerales de hierro, magnesio y diferentes fosfatos (Williams & Rudolph, 1974).

El proceso de "restauración conservativa" abarca varias etapas. La primera de ellas es el "control del crecimiento biológico" que se realiza con el propósito de minimizar los daños ocasionados por los microorganismos. Mediante un convenio entre el IAAR y la Fundación Miguel Lillo se encararon los trabajos de esta etapa, los que comprendieron tres meses de muestreos en la estatua y más de doce en el laboratorio. En las otras etapas intervinieron licenciados en arte, geólogos, químicos, fotógrafos, restauradores, arquitectos y técnicos.

En América del Sur no se conocen antecedentes de "restauraciones conservativas", por lo que este trabajo puede considerarse pionero. La mayoría de las referencias bibliográficas se restringen a monumentos europeos donde los procesos de deterioro (variación térmica diaria y anual, contamina-

ción atmosférica, microorganismos) son diferentes a los que se presentan en esta región. Por lo tanto, consideramos que los resultados obtenidos significan un valioso aporte para emprender futuras restauraciones conservativas en la Argentina.

Cuando se inició este proyecto, la estatua de "La Libertad" mostraba la superficie corroída, con fisuras, un pequeño líquen grisáceo y numerosas manchas circulares, de contornos regulares y coloración que variaba desde el oliváceo, rojizo y negro. Para su restauración, fue necesario investigar el "grado de alteración biológica", lo que implicaba aislar los microorganismos, clasificarlos y cuantificar los daños ocasionados, a fin de encarar las tareas de limpieza, desinfección y reparación de la escultura.

El propósito de este trabajo es investigar el "grado de alteración biológica" y realizar el "control del crecimiento biológico", para lo cual se aislaron e identificaron los microorganismos causantes del biodeterioro; se comprobó bajo condiciones de laboratorio, la efectividad de los biocidas sobre los hongos aislados y se realizó un relevamiento de los mismos presentes en el aire, considerados agentes potenciales de biodeterioro.

Para cada objetivo se requirió metodologías propias, las cuales son tratadas en este trabajo por separado, como así también los resultados obtenidos. A continuación se describirán e ilustrarán los hongos que afectaron la estatua y los presentes en el aire. También se incluye una tabla en la que se muestra la reacción de los hongos aislados de la escultura a los biocidas ("Metatin" y "Preventol") aplicados sobre diferentes medios de cultivos.

### Materiales y Métodos

La estatua fue cercada y se construyó a su alrededor una estructura de tres pisos dispuestos a diferentes alturas, a fin de optimizar el trabajo en cada sector del monumento. Los restauradores obtuvieron un registro fotográfico y en papel de cada sector deteriorado a fin de cuantificar los daños.

### I) *Obtención de las muestras en la superficie de la estatua*

Se realizaron 3 muestreos, el 1ero. (oct. 95) previo a las tareas de limpieza y desinfección encarada por los restauradores, el 2do. (nov.95) con posterioridad a las mismas donde se comprobó la persistencia de microorganismos contaminantes, por lo que se debió hacer una nueva desinfección, y se luego se tomó el 3er. muestreo (dic.95).

Los trabajos de limpieza consistieron en cepillar la superficie rocosa, lavar con agua destilada y secar con papel de filtro, prosiguiendo con la desinfección, en la cual se aplicaron distintos biocidas con pincel.

En cada muestreo se rasparon las manchas más frecuentes, de mayor tamaño y coloración fuerte, tarea que realizó personal especializado (licenciados en arte) utilizando bisturí para evitar dañar la superficie.

#### A) *Aislamiento de los microorganismos*

En el laboratorio se observaron las muestras (el raspado) macro y microscópicamente con el propósito de identificar esporas y/o estructuras fúngicas. Se hizo la siembra directa de los raspados en (APG) agar-papagulosado al 2%, porque es un medio de cultivo adecuado para la siembra de numerosos saprófitos, y se incubó en estufa a 27 °C durante 10 días. En algunos casos fue necesario realizar microcultivos para facilitar las identificaciones. Las preparaciones microscópicas se montaron en floxina 1 %, KOH 5 %, azul de algodón al lactofenol 2%.

#### B) *Pruebas de efectividad de los biocidas*

##### B<sub>1</sub>) *aplicación de los biocidas sobre la superficie de la estatua*

Para realizar el "control del crecimiento biológico", los restauradores limpiaron y aplicaron biocidas a la estatua para modificar las características químicas de la superficie y de esa forma impedir el desarrollo de microorganismos contaminantes.

Los biocidas utilizados fueron el "Meta-

tin" (bromuro de lauril-dimetil-benzil-amonio) y el "Preventol" (cloruro de alquil-dimetil-benzil-amonio). Se trata de mezclas de compuestos orgánicos de amonio cuaternarios, de gran estabilidad, caracterizados por la ausencia de color y olor, activos a bajas concentraciones excepto con bacterias Gram (-), y que no reaccionan químicamente con el mármol de Carrara, por lo que no producen alteraciones en el color de la piedra (Caneva *et al.* 1991).

Posteriormente a esta aplicación se realizaron el 2do. y el 3er. muestreo mencionados en el punto I.

##### B<sub>2</sub>) *aplicación de los biocidas "in vitro"*

Con el objeto de comprobar "in vitro" la efectividad de estos productos químicos, se sembró una suspensión de esporas, provenientes de los hongos aislados en los tres muestreos, en cajas de Petri que contenían medios de cultivos con "Metatin" o "Preventol" en idéntica concentración a la utilizada por los restauradores en la estatua.

Se efectuaron siembras en medios de cultivo pobre en nutrientes agar-agua (AG) y rico en nutrientes (APG), a los que se les agregaron los biocidas sobre la superficie de los medios. También se experimentó incorporarlos como componente de los mismos. Se incubó en estufa a 27 °C durante 15 días con 8 hs. diarias de luz. Las experiencias se repitieron tantas veces como fue necesario hasta confirmar los resultados. Las observaciones se realizaron diariamente durante los primeros 15 días, y luego periódicamente hasta los 45 días posteriores a la siembra, con el objeto de comprobar el efecto residual.

#### II) *Obtención de los hongos presentes en el aire*

Los hongos llegan accidentalmente a la superficie de las rocas a través del aire, el viento, la lluvia, la nieve o bien son llevados por animales. El aire es considerado la principal vía de dispersión, por la gran cantidad de esporas fúngicas que contiene (Hirsch *et al.*, 1995), razón por la cual, se estimó adecuado

realizar un relevamiento de las mismas para tener una idea aproximada de los potenciales microorganismos saprófitos que pudieran afectar la estatua.

Se realizaron dos muestreos, el 1ero. (nov. 95) utilizando cajas de Petri con APG y el 2do. (dic. 95) con AG. Se expusieron las cajas durante 15' a corrientes de aire en los tres pisos de la estructura que rodeaba a la estatua.

## Resultados

### I) Organismos causantes del biodeterioro de la estatua

Macroscópicamente "in situ" se observó en la parte posterior del manto de la estatua, un líquen saxícola, crustoso, grisáceo, pequeño, que no fué posible identificar debido a la intervención de los restauradores, también había manchas verdes ocasionadas por algas microscópicas. No se encontraron angiospermas, helechos ni musgos en la estatua.

#### A) Hongos aislados de las manchas presentes en la superficie de la estatua

Fueron identificados de acuerdo con los criterios de: Ainsworth *et al.* (1973), Arx (1981), Barron (1972), Carmichael *et al.* (1980), Ellis (1971-76), Gams (1971), Mercado Sierra (1984), Zycha *et al.* (1969).

Las especies determinadas en el 1er. muestreo (oct. 95) fueron: *Acremonium roseolum* (Smith) Gams, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Aspergillus niger* van Tiegh, *Chrysonilia sitophila* (Mont.) v. Arx, *Gilmaniella humicola* Barron, *Nigrospora sphaerica* (Sacc.) Mason, *Rhizoctonia* sp y *Mucor* sp. En el 2do. muestreo (nov. 95) realizado con posterioridad a las tareas de limpieza y desinfección con biocidas, se constató únicamente la presencia de *A. niger*, y en el 3er. muestreo (dic. 95) no se aisló ningún microorganismo.

Se observó que las manchas circulares de contornos regulares y coloración olivácea o negra, difíciles de remover se correspondían con: *G. humicola*, *Mucor* sp., *N. sphaerica*, *Rhizoctonia* sp., *A. alternata* y *A. niger*, siendo estas dos últimas especies las predomi-

nantes, mientras que las manchas de color rojizo pálido se deben a la presencia de *A. roseolum* y *C. sitophila*.

### B) Pruebas de efectividad de los biocidas

#### B<sub>1</sub>) aplicación de los biocidas sobre la superficie de la estatua

En la estatua, luego de la aplicación de "Metatin" y "Preventol" se aisló solamente a *Aspergillus niger*, y después de reiterar la desinfección no se encontró ningún microorganismo, lo que se atribuiría a la acción de los biocidas utilizados.

#### B<sub>2</sub>) aplicación de los biocidas "in vitro"

En el cuadro n° 1 se muestran los resultados obtenidos en los ensayos "in vitro", comprobándose que la mayoría de los hongos no crecieron en AG cuando se encontraban los biocidas en superficie o incorporados al medio. En APG se observó un crecimiento abundante o escaso e irregular con los biocidas aplicados a la superficie, obteniéndose un mayor control del crecimiento fúngico cuando los biocidas se incorporaron al medio.

### II) Hongos presentes en el aire

Como resultado del 1er. muestreo (nov. 95) tomado sobre APG se aisló únicamente a *Cladosporium sphaerospermum* Penz., a consecuencia de ello se decidió realizar un 2do. muestreo (dic. 95) empleando AG con el fin de permitir el desarrollo de saprófitos débiles y fuertes. De este modo fueron identificados: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Aspergillus niger* van Tiegh, *Curvularia brachyspora* Boedijn, *Drechslera biseptata* (Sacc. & Roum.) Richardson & Fraser, *Fusarium* spp, *Penicillium* sp, *Trichoderma viride* Pers. ex S.F. Gray, *Sphaeropsidales* y *Aspergillus* spp..

En la Fig. IV se muestran la frecuencia relativa de los hongos presentes en el aire, predominando los conidios de *Alternaria alternata* (27%), *Cladosporium sphaerospermum* (22%) y *Trichoderma viride* (13%).

#### TRATAMIENTO TAXONÓMICO

#### B) Microorganismos aislados de la superficie de la estatua:

*Acromonium roseolum* (Smith) Gams

(Fig. I, 3)

Gams, W. *Cephalosporium-artige Schimmelpilze* (Hyphomycetes) 68-70 (1971)*Paecilomyces roseolum* G., Smith. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 45(3): 388 (1962).

*Colonias* en APG de crecimiento rápido, 18-30 mm diám. después de 10 días, al principio blanca tornándose rosa pálido a rosa intenso, pulverulenta, de aspecto aterciopelado a compacto. *Hifas* con paredes tenues a delgadas, postradas, irregularmente ramificadas, raramente septadas. *Conidióforos* laterales erectos, simples. Esporulación abundante. *Fialides* en general solitarias, pero en cultivos maduros la célula conidiógena prolifera terminal o subterminalmente, rectas o algo curvadas, 20-30  $\mu\text{m}$  long. y 2-3  $\mu\text{m}$  diám. en la base, luego se adelgaza hacia el extremo 0,5-1  $\mu\text{m}$  diám. *Conidios* unicelulares, terminales, dispuestos en cadenas largas, limoniformes, lisos, hialinos, en masa color rosado pálido, de 5,4 - 6,5 X 2,5 - 3  $\mu\text{m}$ .

*Hábitat*: saprófito sobre detritos vegetales y suelo.

*Distribución geográfica*: cosmopolita, predominando en los trópicos.

*Observaciones*: se lo cita mundialmente por primera vez como agente de biodeterioro de monumentos históricos.

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki 1R, X-95 (LIL)

*Alternaria alternata* (Fr.) Keissler

(Fig. I, 4)

Keissler, *Beih. Bot. Zbl.* 29: 434. (1912)

*Alternaria tenuis* Nees. *Syst. Pilze Schwämme*: 72. (1816-1817)

*Torula alternata* Fries, *Syst. Mycol.* 3: 500. (1832)

*Colonias* en APG de crecimiento rápido, 60 mm diám. después de 10 días, efusa, al principio blanca algodonosa, tornándose negra

olivácea a gris negruzca. *Conidióforos* surgiendo solitarios o en pequeños grupos, simples o ramificados, rectos o flexuosos, a veces geniculados, cilíndricos, septados, pardo dorado, de paredes lisas, hasta 50  $\mu\text{m}$  long. por 3-4  $\mu\text{m}$  diám., llevando células conidiógenas con una o varias cicatrices. *Conidios* multicelulares con septos transversales, longitudinales y oblicuos; obclaviformes, obpiriformes, ovoides o elipsoidales, generalmente con un cuello corto cónico o cilíndrico pardo pálido de 2-5  $\mu\text{m}$  diám., pardo dorado a pardo oscuro con paredes lisas a verrugosas; en cadenas largas y ramificadas, de 20- 63 X 9-18  $\mu\text{m}$ .

*Hábitat*: saprófito común, citado sobre diversas plantas. También ha sido encontrado sobre alimentos, suelos y textiles.

*Distribución geográfica*: cosmopolita.

*Observaciones*: este hongo afectó en gran medida a la escultura, ocasionando numerosas manchas. Se lo cita como un importante agente de biodeterioro por su capacidad de producir tinciones muy difíciles de remover (Ionita 1971, Ivanona 1983).

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki 3, Hladki 5A, Hladki 5B, X-95 (LIL)

*Aspergillus niger* van Tiegh.

(Fig. II, 6-10)

van Tiegh., *Annls Sci. Nat. (Bot.)*, Ser. 5, 8: 240 (1867)

*Colonias* en APG efusas, pardo negruzca a negra. *Micelio* superficial o parcialmente inmerso en el medio. *Hifas* poco coloreadas o amarillas pálidas, lisas, ramificadas, septadas, de pared gruesa, 2- 4  $\mu\text{m}$  diám. *Conidióforos* erectos, derechos o flexuosos, no ramificado, liso, hasta 300  $\mu\text{m}$  de long., 13-16  $\mu\text{m}$  diám., hialino tornándose pardo hacia el ápice que se ensancha en una vesícula esférica de 40-70  $\mu\text{m}$ . La superficie de la vesícula está cubierta por células conidiógenas en forma de clava, 7- 10  $\mu\text{m}$  long., 3- 3,5  $\mu\text{m}$  diám., 1- 1,5  $\mu\text{m}$  en el ápice. *Conidios* unicelulares en cadenas, globosos, 3-5  $\mu\text{m}$

diám., en masas secas, pardo oscuros verrugosos.

*Hábitat:* debido a su gran versatilidad fisiológica, es factible encontrarlo en todo tipo de detritos orgánicos y en el suelo.

*Distribución geográfica:* cosmopolita, preferentemente en zonas tropicales y subtropicales.

*Observaciones:* este microorganismo afectó severamente la estatua de "La Libertad", y persistió luego de la aplicación de los biocidas, por lo que fué necesario repetir las tareas de limpieza y desinfección. Se trata de un importante agente de biodeterioro que se caracteriza por su gran actividad enzimática liberando ácidos orgánicos al medio lo cual favorece la corrosión del sustrato, y por producir melaninas que tiñen las esculturas. (Avari & Allsopp 1983, Bassi & Chiatante 1976, Hirsch *et al.* 1995, Ionita 1971)

*Material estudiado:* ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki 2N, X-95; Hladki 8N, XII-95. (LIL)

*Chrysonilia sitophila* (Mont.) v. Arx  
(Fig. I, 1)

Arx, J.A. von. Sydowia 34: 16 (1981)

*Penicillium sitophilum* Mont. Ann. Sci. Nat., Bot. 2, 20: 377 (1843)

*Colonias* de color blanco, flocosa. *Hifas* hialinas, libremente ramificadas, septadas, anchas, de pared gruesa. *Esporodocios* anaranjados, compuestos por conidióforos muy ramificados. *Conidióforos* no septados y sin constricción, tornándose en la madurez septados en sucesión basípeta. *Arthroconidios* unicelulares, cilíndricos a ovoides, 5,2 -13,4 µm diám., dispuestos en cadenas largas.

*Hábitat:* crece comunmente sobre suelo y otros sustratos orgánicos (Gilman, 1945).

*Distribución geográfica:* cosmopolita.

*Observaciones:* se lo cita por primera vez como agente de biodeterioro.

*Material estudiado:* ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki 4B, X-1995 (LIL)

*Gilmaniella humicola* Barron  
(Fig. I, 5)

Barron, G. Mycologia 56: 514-518 (1964)

*Adhrogamia rucherana*. Subramaniam & Lodha, Antonie van Leeuwenhoek 30: 319-320 (1964)

*Colonias* de crecimiento rápido, 40-50 mm diám. después de 7 días, al principio blancas, tornándose pardo verdoso en la madurez. *Micelio* abundante, superficial e inmerso. *Hifas* hialinas, lisas, tornándose pardo, verrugosas o finamente equinuladas a la madurez, septos transversales prominentes y pardo oscuro. *Conidióforos* semimacronematosos-mononematosos, simples o ramificados. *Célula conidiógena* monoblástica, integrada, terminal o intercalar, discreta, determinada, cilíndrica o inflada, 3- 4 X 6- 15 µm. *Conidios* unicelulares, esféricos, 8- 11 µm diám., pardos en la madurez con gran cantidad de contenido, lisos, con poro germinativo prominente, solitarios sin formar cadenas.

*Hábitat:* terrícola y coprófilo.

*Distribución geográfica:* cosmopolita.

*Observaciones:* se lo aisló de manchas en la base de la estatua, de aspecto pulverulento y de color pardo-negruzco. Se lo cita por primera vez como agente de biodeterioro de monumentos históricos.

*Material estudiado:* ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki 4D, X-95 (LIL).

*Nigrospora sphaerica* (Sacc.) Mason  
(Fig. II, 11)

Mason. Trans. Br. Mycol. Soc., 12: 158 (1927)

*Trichosporum sphaericum* Sacc., Michelia, 2: 579 (1882)

*Hadrotrichum arundinaceum* Cooke et Mass., Grevillea, 16: 11 (1887)

*Epicoecium hyalopes* Mykaye, J. Coll. Agr. Imp. Univ., Tokyo, 2: 264 (1910)

*Coniosporium extremorum* Sydow, Ann. Mycol. Berlín, 11: 270 (1913)

*Colonias* al principio blancas, tornándose negras en la madurez cuando la esporulación es abundante. *Micelio* totalmente inmerso o parcialmente superficial. *Conidióforos* micronematosos, muy cortos, oliváceos o pardo pálidos, septados, lisos, flexuosos, ramificados, 3,8-8  $\mu\text{m}$  diám. *Célula conidiógena* hialinas o subhialinas, monoblásticas, discretas, ampuliformes o subesféricas, 7,5-10,7  $\mu\text{m}$  diám. *Conidios* unicelulares, generalmente esféricos o subesféricos, a veces comprimidos dorsiventralmente, negros, lisos, solitarios, acrógenos, 14- 20 (15,5 -18)  $\mu\text{m}$ .

*Hábitat*: parásito de plantas y ocasionalmente saprófito de suelo y alimentos.

*Distribución*: cosmopolita, muy frecuente en los trópicos.

*Observaciones*: se lo cita por primera vez como agente de biodeterioro de monumentos históricos.

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki 4A, X-95 (LIL)

#### *Rhizoctonia* de Candolle

(Fig. I, 2)

de Candolle. Syst. Mycol. 1: 2(1): 265 (1823)

*Colonias* al principio blancas tornándose negras en la madurez. *Micelio* inmerso o efuso. *Hifas* anchas, irregulares, frecuentemente anastomosadas, ramificadas en ángulo recto, pardo pálidas a pardo. *Conidios* ausentes. *Esclerocios* irregulares en forma y tamaño, a veces confluentes, pardos o negros, laxamente apiñados.

*Hábitat* patógeno de raíz y saprófito de suelo.

*Distribución geográfica*: cosmopolita

*Observaciones*: este hongo se caracteriza por presentar un micelio estéril, por lo tanto los caracteres morfológicos proveen un valor limitado para diferenciar las especies. En la actualidad se tiene en cuenta la citoquímica de las células esclerociales para su delimitación (Tu & Kimbrough, 1975).

Se lo cita por primera vez como agente de biodeterioro

*Material estudiado*: ARGENTINA, Tucumán, Depto. Capital. Hladki 1N, X-95 (LIL).

#### *Mucor* Mich. ex Fr.

(Fig. II, 1-5)

Micheli. Nov. Pl. Gen. 215 (1729)

*Colonias* homo o heterotálicas, cespitosa. *Micelio* abundante y superficial. *Hifas* hialinas, generalmente sin septos transversales. *Esporangióforos* hialinos, simples o escasamente ramificados, con ramas parcialmente curvadas. *Esporangios* multiesporados, variables en diámetro, globoso o esférico, con una columela típica, sin apófisis. Pared esporangial delicuescente o persistente. *Esporangiosporas* esféricas o elipsoidales. *Cigosporas* pardo o negras, ornamentadas, con sensores generalmente iguales y lisos.

*Hábitat*: saprófito de suelo, detritos vegetales, estiércol y granos almacenados.

*Distribución geográfica*: cosmopolita.

*Observaciones*: existen cerca de 600 especies de *Mucor* identificadas de acuerdo con los caracteres observados en medios de cultivos estándar (Ainsworth *et al.*, 1973).

Este hongo fue aislado de manchas pardo oscuras a negras presentes en la base de la estatua. *Mucor racemosus* es considerado un importante agente de biodeterioro de obras de arte (Caneva *et al.*, 1991).

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán. Depto. Capital. Hladki 2B, Hladki 4C, X-95 (LIL)

## II) Hongos del aire

Las identificaciones se hicieron de acuerdo con los criterios de: Arx (1981), Carmichael *et al.* (1980), Ellis (1966-71-76).

Se decidió incluir las descripciones e ilustraciones de los hongos presentes en el aire porque la mayoría de ellos son citados como agentes de biodeterioro.

*Cladosporium sphaerospermum* Penz.

(Fig. III, 10)

Penz., *Michelia* 2: 473 (1882)

*Colonias* pulverulentas, verde olivácea a olivácea parda, a menudo surcada. *Conidióforos* macronematoso y micronematoso, a veces mayores de 300  $\mu\text{m}$  de long. pero generalmente muchos más cortos, 3-5  $\mu\text{m}$  diám., pardo pálido a pardo oliváceo, liso o verrugoso. *Ramo-Conidios* 0-3 septados, mayores de 33  $\mu\text{m}$  de long., 3-5  $\mu\text{m}$  diám., liso o verrucoso. *Conidios* en su mayoría globoso o subgloboso, 3 - 4,5  $\mu\text{m}$  diám., pardo oliváceo a pardo oscuro, verrucoso.

*Hábitat*: saprófito muy común, sobre detritos vegetales, suelo, pintura, textiles y alimentos. Es un invasor secundario que afecta diferentes plantas, y ocasionalmente al hombre y otros animales.

*Distribución geográfica*: cosmopolita.

*Observaciones*: *Cladosporium sphaerospermum* no ha sido citado como agente de biodeterioro, pero en cambio *C. herbarum* causa el deterioro de importantes obras de arte; por tratarse de un *Deuteromycete Dematiáceo* causa tinciones muy difíciles de remover (Caneva *et. al.* 1991, Hyvert 1966b).

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki A1, Hladki A2, Hladki A3; Hladki A5, Hladki A6, XI-95 (LIL)

*Curvularia brachyspora* Boedijn

(Fig. III, 8, 9)

Boedijn. *Bull. Jard. Bot. Buitenz.*, III, 13 (1): 126 (1933)

*Colonias* pardo grisácea a pardo negruzca, algodonosa, a veces flocosa ocasionalmente zonada. *Micelio* inmerso, hifas ramificadas, septadas, subhialinas a pardas, lisas, de 1- 6  $\mu\text{m}$ , a veces verrugosas y ocasionalmente con células globulosas mayores de 12  $\mu\text{m}$ . *Estromas* pardo oscuros a negros, cilíndricos. *Conidióforos* solitarios o en grupos, surgiendo terminales y laterales sobre las hifas o sobre el estroma, a veces ramificados, derechos o flexuosos, septados, pardos a pardo oscu-

ros, pálidos hacia el ápice, mayores de 250  $\mu\text{m}$  long., 13- 20  $\mu\text{m}$  diám. en la base, 4- 7  $\mu\text{m}$  diám. en el ápice. *Célula conidiógena* politrética, integrada, terminal, a veces tornándose intercalar, simpodial, cilíndrica u ocasionalmente ensanchada, con cicatriz. *Conidios* naciendo en grupos en el ápice del conidióforo y en verticilos en los nudos, ligeramente curvado, elipsoidal o anchamente fusiforme, 3-septados, el septo del medio es ligeramente engrosado y más oscuro que los otros, ubicado en la zona más ancha del conidio, las células de los extremos son subhialinas a pardo pálidas, lisas, 19-26(22) X 10-14(12)  $\mu\text{m}$ .

*Hábitat*: aislado de diversas plantas (*Agave*, *Olea*, *Saccharum*, *Triticum*) y de suelo.

*Distribución geográfica*: Australia, Puerto Rico, Tanzania, Venezuela.

*Observaciones*: *C. lunata* deteriora obras de arte (Hyvert, 1966a), sin embargo no se cita a *C. brachyspora* como agente de biodeterioro.

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán, Depto: Capital. Hladki M2O3, Hladki M2E4, Hladki M2E3, XII-95 (LIL)

*Drechslera biseptata* (Sacc. & Roum.)

Richardson &amp; Fraser

(Fig. III, 7)

Richardson & Fraser, *Trans. Br. Mycol. Soc.* 51: 148. (1968)*Helminthosporium biseptatum* Sacc. &Roum., *Revue. mycol.*, 3 (11):56. (1881)*H. biforme* Mason & Hughes, *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 30:114-117. (1948)

*Colonias* de crecimiento rápido, efusas, grisáceas a negras, de aspecto aterciopelado, a veces pilosa. *Conidióforos* surgiendo solitarios de las hifas o en fascículos sobre un estroma pulvinado pardo oscuro. *Conidióforos* de dos tipos, flexuosos o geniculados, pardo pálido, las paredes son delgadas en el ápice, 80  $\mu\text{m}$  long. y 3- 8  $\mu\text{m}$  diám.; y conidióforos subulados, derechos o flexuosos, pardo oscuros, pared gruesa, 800  $\mu\text{m}$  long., 10- 14  $\mu\text{m}$  diám. en la base, adelgazándose

en el ápice 6-8  $\mu\text{m}$ , pardo pálido. *Conidios* derechos, típicamente obovoide a anchamente claviforme, ocasionalmente elipsoidales, pardo pálido a pardos, lisos o verrugosos, con 2-3 seudoseptos, 23-33 X 14-17  $\mu\text{m}$ .

*Hábitat*: sobre plantas, la mayoría gramíneas, y saprófito de suelo.

*Distribución geográfica*: Australia, Europa y Norteamérica.

*Observaciones*: este hongo no es considerado agente de biodeterioro, pero su presencia en el aire y su gran capacidad saprofitica deben tenerse en cuenta para prevenir su posible desarrollo en la escultura.

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki M2O4, XII-95 (LIL)

#### *Fusarium* Link ex Fr.

(Fig. III, 4-6)

Link. Syst. mycol. 1: XLI (1821)

*Colonias* de crecimiento rápido, algodonosas, rosado-purpúras o amarillentas, puede teñir el medio de cultivo. *Conidióforos* variables, delgados y simples o gruesos y cortos, ramificados irregularmente o llevando filídes en espiral, simples o agrupados en esporoquios. *Conidios* hialinos, variables, principalmente de dos tipos, a menudo agrupados en una masa gelatinosa; macroconidios pluricelulares curvados en sus extremos, típicamente en forma de canoa; microconidios unicelulares, ovoides u oblongos, solitarios o dispuestos en cadenas; algunos conidios intermedios, 2 ó 3-celulares, oblongos o ligeramente curvados.

*Hábitat*: parásito de plantas superiores o saprófito de detritos vegetales.

*Distribución geográfica*: cosmopolita.

*Observaciones*: el género *Fusarium* es considerado agente de biodeterioro (Hirsch *et al.*, 1995).

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki M2O3, XII-95 (LIL).

#### *Penicillium* Link. ex Gray Link. Nat. Arr. Br. Pl. 1: 554 (1821)

*Colonias* de crecimiento rápido, efusas. Hifas vegetativas septadas y ramificadas. *Conidióforos* erectos, septados, surgiendo solitarios o, a veces, de un sinema, se ramifican cerca del ápice formando un verticilo de ramificaciones primarias, cada una de las cuales lleva ramificaciones secundarias o metulas, a veces con ramificaciones terciarias o con verticilos de células conidiógenas (filídes) de las cuales surgen cadenas de conidios. *Conidios* hialinos o de colores brillantes en masa, 1-celulares, globosos, ovados a elípticos, lisos o rugosos.

*Hábitat*: parásitos de plantas y saprófitos de diversos sustratos.

*Distribución geográfica*: cosmopolita.

*Observaciones*: se lo considera al género *Penicillium* como un importante agente de biodeterioro (Caneva *et al.*, 1991)

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki M3E2, XII-95 (LIL)

#### *Trichoderma viride* Pers. ex S.F. Gray. (Fig. III, 1-3)

Gray. Nat. Arrang. br. Pl. 1: 560 (1821)

Fries. Syst. mycol. 3: 214 (1829)

*Trichoderma lignorum* Tode ex Harz, Bull. Soc. Imp. Moscow 44: 116 (1871)

*Pyreniopsis vulgaris* Tode ex O. Kuntze, Rev. Gen. Plantarum 3: 508 (1898)

*Trichoderma viride* Pers., Römer's Neues Mag. Bot. 1: 92 (1794)

*Acrostalagmus (Trichoderma) viridis* (Pers. ex S.F. Gray) Vuill., Bull. Séanc. Soc. Sci. Nancy II, 8: 115 (1887)

*Sporoderma chlorogenum* Mont., Syll. Gen. Spec. Crypt.: 291 (1856)

*Trichoderma glaucum* Abbott, Iowa St. Col. J. Sc. 1: 27 (1926)

*Sporotrichum narcissi* Tochinai & Shimada, Trans. Sapporo Nat. Hist. Soc. 12: 24

(1931)

*Trichoderma lignorum* Tode ex Harz var. *narcissi* (Tochinai & Shimada) Pidoplichko, Fung. Fl. Coarse Fodders: 182 (1953)

*Colonias* de crecimiento rápido, blanca sedosa, tornándose verde azulada, reverso incoloro. *Conidióforos* hialinos, macronematoso-mononematosos, derechos, muy ramificados, de ramificación irregular, con las ramas laterales en ángulo recto. *Células conidiógenas* monofialídicas, discretas, en verticilos de 2-3 variables en tamaño 7- 13 X 2-3  $\mu\text{m}$ . *Conidios* hialinos, unicelulares, globosos, con pared rugosa, verdes en masa, 2-4,5  $\mu\text{m}$  diám., quedando agrupados en el ápice de las células conidiógenas.

*Hábitat*: saprófito de suelo y madera, raramente parásitos de otros hongos.

*Distribución geográfica*: cosmopolita.

*Observaciones*: se lo cita como agente de biodeterioro. (Caneva *et al.*, 1991)

*Material estudiado*: ARGENTINA. Tucumán: Depto. Capital. Hladki M2O2, Hladki M1E2, Hladki M1E1, XII-95 (LIL)

## Discusión y conclusiones

Respondiendo a los objetivos planteados en la Introducción (pág. 72) concluimos que:

- El "grado de alteración biológica" fue alto debido a la acción conjunta de algas, hongos y líquenes, los que provocaron numerosas fisuras, grietas y tinciones en la superficie del mármol. Muchos de los hongos encontrados (*Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* y *Mucor* sp.), corroen la roca debido a la producción de ácidos y formación de quelatos (Caneva *et al.*, 1991).

- Para realizar el "control del crecimiento biológico" se aplicaron biocidas comprobándose, en la estatua e "in vitro", la acción efectiva de los mismos sobre los hongos. En la escultura se debió aplicar dos veces conse-

cutivas los biocidas para inhibir el desarrollo de todos los hongos. Cuando se experimentó "in vitro" se comprobó que el "Preventol" es más eficiente en el control del crecimiento fúngico cuando actúa en un medio de cultivo enriquecido con materia orgánica (APG), por lo que se aconseja su uso en la estatua de "La Libertad" debido a la presencia de materia orgánica (excrementos de aves e insectos) en la superficie de la misma.

Sin embargo ninguno de los dos biocidas utilizados pudo inhibir el desarrollo de *Aspergillus niger* y *Mucor* sp., que mostraron en el laboratorio y en la escultura un crecimiento escaso y/o lento en presencia de estos productos químicos. La resistencia de las cepas de *A. niger* a la acción distintos fungicidas, fue comprobada anteriormente por Martínez *et al.* (1987), y corroborada en este trabajo.

- Como consecuencia de la presente investigación se citan 5 nuevos agentes de biodeterioro: *Acremonium roseolum*, *Gilmanella humicola*, *Monilia sitophila*, *Nigrospora sphaerica*, *Rhizoctonia* sp.. Estos microorganismos son, predominantemente, *Deuteromycetes* saprófitos de suelo y no están restringidos a habitat saxícola, coincidente con los resultados obtenidos en roca caliza, silícea y granítica, por Caneva *et al.* (1991), Hirsch *et al.* (1995) y Manoharachary (1986).

- Como resultado del relevamiento de los hongos presentes en el aire, se encontró numerosas esporas de *Deuteromycetes*, los que fueron aislados e identificados.

Se consideran agentes potenciales de biodeterioro a: *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Curvularia brachyspora*, *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. y *Trichoderma viride*, porque están presentes en el aire que circunda a la estatua y, son citados por Caneva *et al.* (1991) y Hirsch *et al.* (1995) como responsables de ocasionar procesos de deterioro en las rocas. Se comprobó que el aire es una importante vía de dispersión de microorganismos por la

alta proporción de conidios de *Aspergillus niger* y *Alternaria alternata* que contiene, siendo estos hongos los que más afectaron la escultura como se constató al realizar los muestreos.

#### Agradecimientos

Quiero agradecer a la Prof. B. Cassaniga (Directora del proyecto Restauración Conservativa de la estatua de "La Libertad") por su colaboración y apoyo en las tareas de investigación.

A los Dres. A. Romero, J. Wright y M.M. Schiavone por sus sugerencias y correcciones del manuscrito; y a la Sra. I. Jaume de Cuellar Velásquez por la realización de los dibujos.

#### Bibliografía

- Ainsworth, G.C., F.K. Sparrow y A.S. Sussman, 1973. The Fungi. An advanced treatise. A taxonomic review with Keys. Ascomycetes and Fungi Imperfecti. IV A. Acad. Press, London, 634 p.
- Arx, J.A. von, 1981. The genera of fungi sporulating in pure culture, 3rd Ed., J. Cramer, Vaduz, 424 p.
- Avari, G.P. y D. Allsopp, 1983. The combined effect of pH, solutes and water activity on the growth of some xerophilic *Aspergillus* species. En: Biodeterioration 5. Oxley T.A. and S. Barry (eds.) John Wiley and Sons, New York, 548-56 pp.
- Barron, G.L., 1972. The Genera of Hyphomycetes from soil. Robert E. Krieger Publishing Company, EE.UU., 364 p.
- Bassi, M, y D. Chiatante, 1976. The role of pigeon excrement in stone biodeterioration. Int. Biodet. Bull., 12(3): 73-79.
- Braams, J., 1992. Ecological studies on the fungal microflora inhabiting historical sandstone monuments. Ph. D. thesis, University of Oldenburg, Germany.
- Caneva, G., M.P. Nugari y O. Salvadori, 1991. Biology in the conservation of Work of Art. I.C.C.ROM.. International Centre for the Study of the Preservation and the Restoration of Cultural Property, Rome R.M., Italy, 150 pp.
- Carmichael, J.W., W. Bryce Kendrick, I.L. Conners y L. Singler, 1980. Genera of Hyphomycetes. The University of Alberta Press, EE.UU., 386 p.
- Eckhardt, F.E.W., 1978. Microorganisms and weathering of a sandstone monument. En: Environmental biogeochemistry and Geomicrobiology II. The terrestrial environment. W.E. Krumbein. Ann Arbor Science Publ. (eds.), Mich., 675-686 pp.
- , 1980. Microbial degradation of silicates. Release of cations from aluminosilicate minerals by yeasts and filamentous fungi. En: Biodeterioration. Proceedings of the 4th International Symposium, Berlín. Edited by T.A. Oxley, D. Allsopp, G. Becker. Pitman Publ. Ltd., London, 107-116 pp.
- , 1985a. Solubilization, transport, and deposition of mineral cations by microorganisms-efficient rock weathering agents. En: The chemistry of weathering, edited by J.I. Drever. D. Reidel Publ. Comp., Dordrecht, The Netherlands, 161-173 pp.
- , 1985b. Mechanisms of the microbial degradation of minerals in sandstone monuments, medieval frescoes, and plaster. En: The 5th International Congress on Deterioration and Conservation of Stone, Lausanne, 643-652 pp.
- Ellis, M.B., 1966. Dematiaceous Hyphomycetes VII. *Curvularia*, *Brachysporium*, etc. Mycol. papers, 106: 25-26.
- , 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England, 608 p.
- , 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England, 507 p.
- Gams, W., 1971. Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 39-141 pp.

- Gilman, W., 1971. A manual of soil fungi. The Collegiate Press, Inc. Ames, Iowa. 178-180 pp.
- Hirsch, P., F.E.W. Eckhardt, y R.J. Palmer, Jr., 1995. Fungi active in weathering of rock and stone monuments. Can. J. Bot. 73(1): 1384-1390.
- Hopton, J.W., 1988. Physical conditions and microbial growth: some implications for biodeterioration 7, D.R. Houghton, R.N. Smith and H.O.W. Egging Elsevier Applied Science (eds.), 511-516 pp.
- Hyvert, G., 1966a. "Accumulation du fer par *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijin," Revue de Mycologie, 31 (2): 173-175
- , 1966b. "Notes sur *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link, isolé du temple de Banteay Srei. Revue de Mycologie, 31 (2): 176-178.
- Ionita, I., 1971. Contributions to the study of the biodeterioration of works of art and historic monuments. III. Species of fungi isolated from stone monuments, Rev. Roum. Biol. Botanique 16(6): 433-436.
- Ivanova, A.M., 1983. Studies on the stability of cultural and morphological features of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler isolated from non-metal materials. Mikologiya y Fitopatologiya 18(2): 94-98.
- Krasilnikov, N.A., 1949. Role of microorganisms in the weathering of rocks. Microbiology 18: 318-323.
- Kuroczkin, J., Bode, K., Petersen, K. y Krumben, W.E., 1988. Some physiological characteristics of fungi isolated from sandstones. En: The 6th International Congress on Deterioration and Conservation of Stone. Torun, Part. I., 21-25 pp.
- Manoharachary, C., 1986. Mycoflora of soil samples associated with rocks. Journal of Archaeological Chemistry. M.C. Ganorkark (ed.) 4: 17-18 pp.
- Martinez, P., J. Díaz Mayans, A.I. Sánchez y A.L. Brizuela., 1987. Efecto "in vitro" de fungicidas sobre cepas de *Aspergillus niger* y *A. ficuum*. Parte I. En: Documentos. Grupo de Información Esfera de las Artes Visuales. La Microbiología en el Arte. Centro Nacional de Conservación, Restauración y Museología. Ministerio de Cultura (ed), Havana, Cuba, 1-7 pp.
- Mercado Sierra, A., 1984. Hifomicetes dematiaceos. Academia de Ciencias de Cuba (de.). Cuba, 88 p.
- Paine, S.G., Linggood, F.L., Schimmer, F. y Thrupp, T.C., 1933. The relationship of microorganisms to the decay of stone. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 222: 97-127.
- Reddy, M.M., Sherwood, S.J. y Doe, B.R., 1986. Limestone and marble dissolution by acid rain: an onsite weathering experiment. En: The 5th International Congress of Deterioration and Conservation of Stone. Proceedings N° 1, 517-526 pp.
- Tu, C.C. y J.W. Kimbrough, 1975. Systematic and phylogeny of fungi in the Rhizoctonia complex. Bot. Gaz. 139 (4): 454-466
- Wessels, D.C.J. y Schoeman, P., 1988. Mechanism and rate of weathering of Clarens sandstone by an endolithic lichen. S. Afr. J. Sci. 84: 274-278.
- Williams, M.E., y E.D. Rudolph, 1974. The role of lichens and associated fungi in the chemical weathering of rock. Mycologia 66: 648-660
- Zycha, H. y R. Siepmann, 1969. Mucorales. Lehre Verlag Von J. Cramer. Germany, 355 p

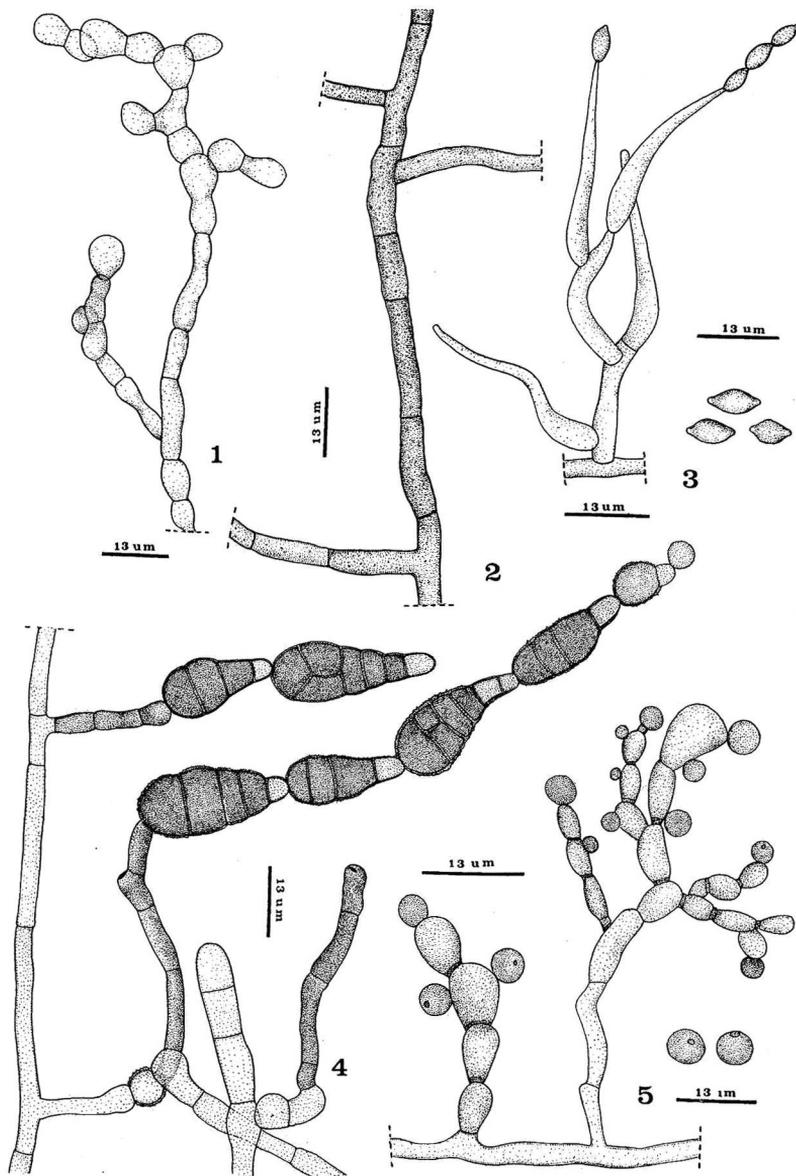


Fig. I.- 1, *Chrysonilia sitophila* (Mont.) v. Arx; 2, *Rhizoctonia* spp. de Candolle; 3, *Acremonium roseolum* (Smith) Gams; 4, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler; 5, *Gilmaniella humicola* Barron.

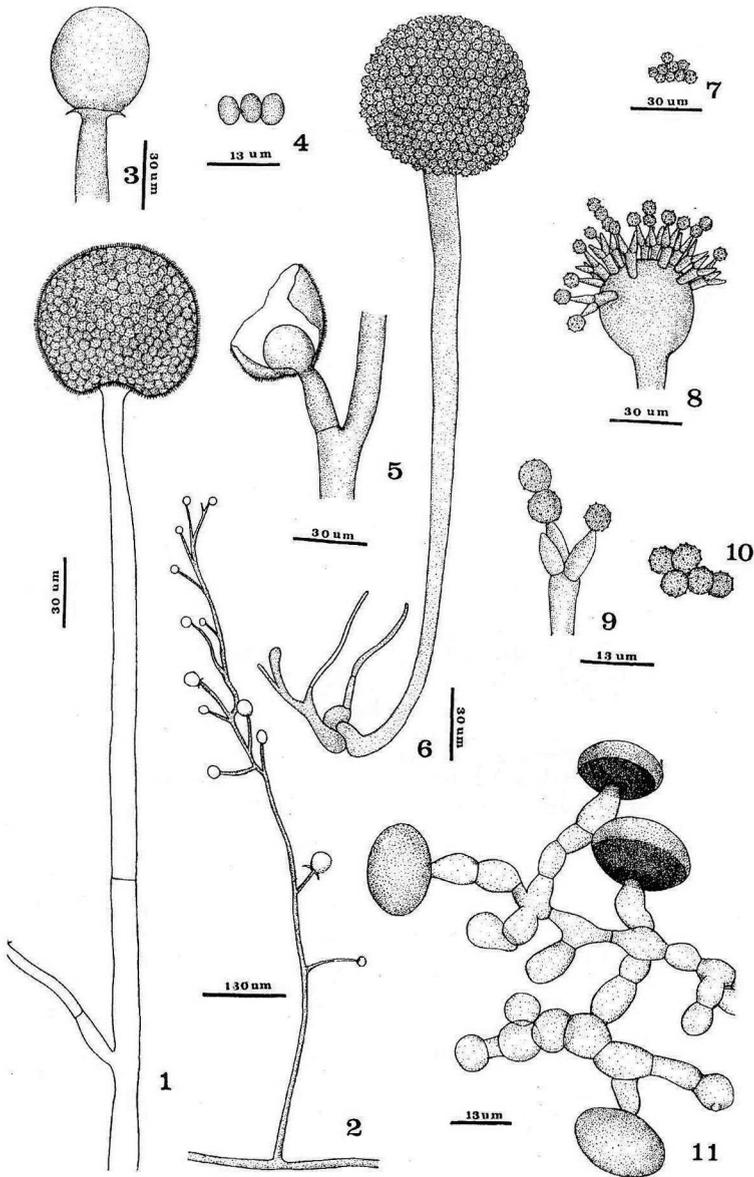


Fig. II.- 1-5, *Mucor* spp. Mich. ex Fr.; 6-10, *Aspergillus niger* van Tiegh.; 11, *Nigrospora sphaerica* (Sacc.) Mason.

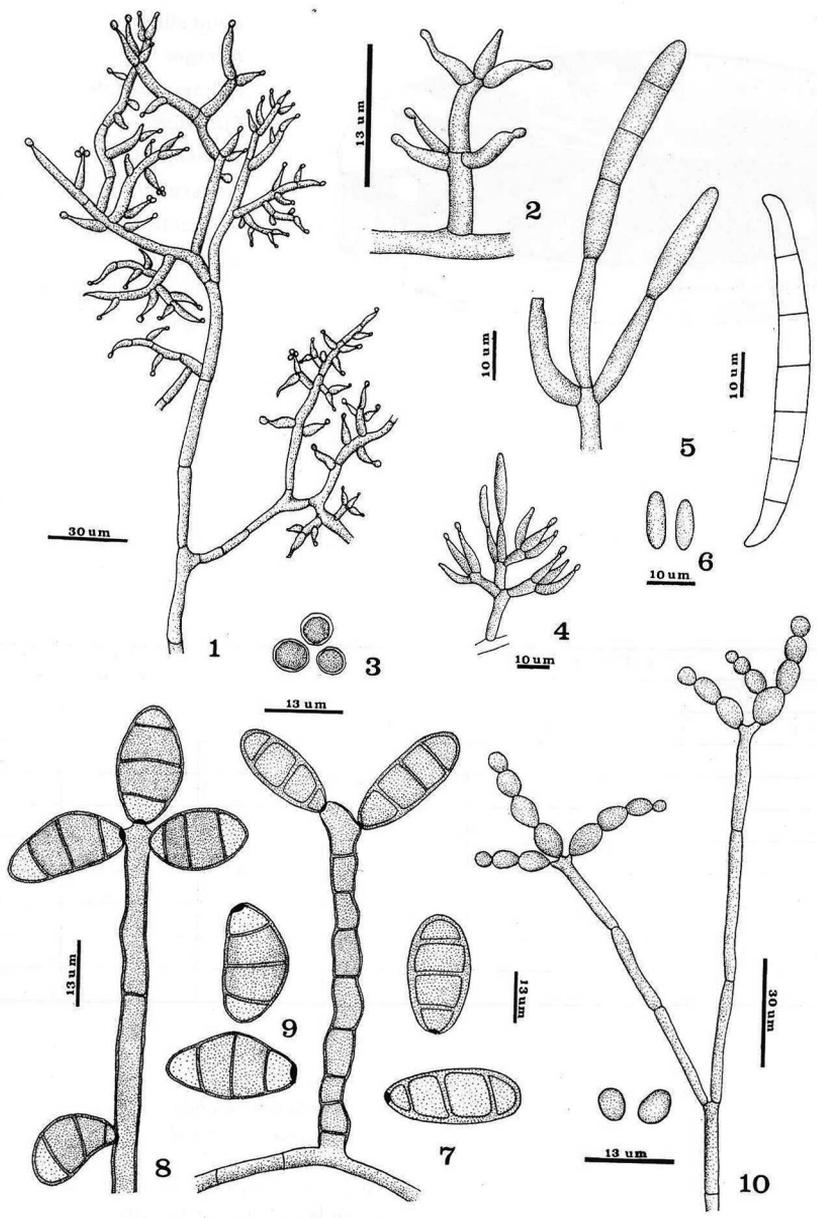
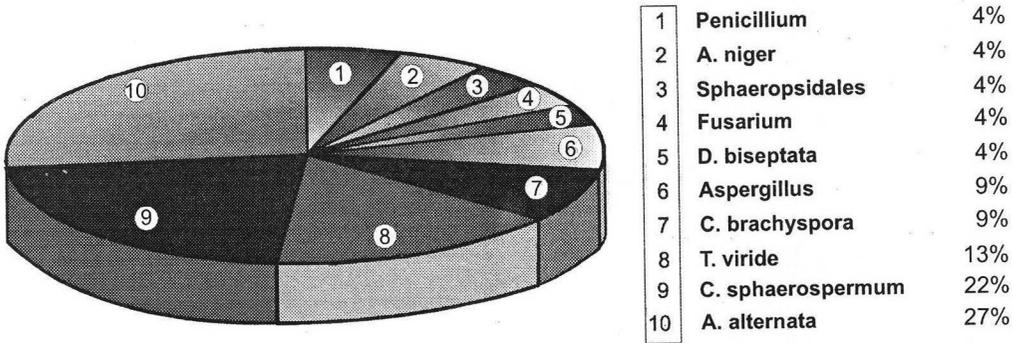


Fig. III.- 1-3, *Trichoderma viride* Pers. ex S.F. Gray; 4-6, *Fusarium* spp. Link ex Fr.; 7, *Drechslera bisepitata* (Sacc. & Roum.) Richardson & Fraser; 8,9 *Curvularia brachyspora* Boedijn; 10, *Cladosporium sphaerospermum* Penz.

Fig. IV.- Frecuencia relativa de los hongos presentes en el aire.



Cuadro 1.- Pruebas de efectividad de los biocidas.

	METATIN				PREVENTOL			
	(AG)		(APG)		(AG)		(APG)	
	(s)	(c)	(s)	(c)	(s)	(c)	(s)	(c)
1	-	-	+	-	±	-	±	-
2	-	-	+	±	-	-	+	-
3	-	-	+	±	-	-	+	±
4	-	-	+	+	-	-	+	±
5	-	-	±	+	-	-	+	-
6	-	-	±	±	-	-	±	-
7	-	-	+	±	-	-	-	-
8	-	-	±	±	-	-	±	-

MEDIOS DE CULTIVO:

(AG) Agar-Agua

(APG) Agar-Agua-Papa Glucosado

HONGOS

1- *Acremonium roseolum*

2- *Rhizoctonia* sp.

3- *Aspergillus niger*

4- *Mucor* spp.

5- *Alternaria alternata*

6- *Nigrospora sphaerica*

7- *Chrysonilia sitophila*

8- *Gilmaniella humicola*

APLICACIÓN DEL BIOCIDA:

(s) en la superficie del medio

(c) como componente del medio

CARACTERÍSTICAS DEL CRECIMIENTO FÚNGICO:

(=) abundante

(±) escaso e irregular.

(-) no se evidencia crecimiento fúngico.