



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Forestales

**Determinación de la eficacia en laboratorio de una pintura  
en mezcla con preservante antimancha, para madera  
aserrada de *Pinus radiata***

Profesor Patrocinante: Sr. Hernán Peredo L.

Trabajo de Titulación presentado como  
parte de los requisitos para  
optar al Título de **Ingeniero Forestal**.

**César Alejandro Andrade Gallardo**

Valdivia Chile 2002

## CALIFICACION DEL COMITE DE TITULACION

		Nota
Patrocinante:	Sr. Hernán Peredo López	<u>6.5</u>
Informante:	Sr. Miguel Peredo López	<u>6.8</u>
Informante:	Sr. Eduardo Valenzuela Flores	<u>6.6</u>

El Patrocinante acredita que el presente Trabajo de Titulación cumple con los requisitos de contenido y de forma contemplados en el reglamento de Titulación de la Escuela. Del mismo modo, acredita que en el presente documento han sido consideradas las sugerencias y modificaciones propuestas por los demás integrantes del Comité de Titulación.

---

Sr. Hernán Peredo L.

## Agradecimientos

De acuerdo a la experiencia que he tenido en la revisión de otras Tesis y Trabajos de Titulación, los agradecimientos se toman como un mero trámite que se debe cumplir, sin darle el valor real que tiene. Nunca se debe olvidar que lo que nos hace grandes y permite conseguir los objetivos, depende, directa e indirectamente, del apoyo de otras personas.

En primer término como pilar emocional fundamental del desarrollo de este trabajo se encuentra mi familia. Mi amada y adorada familia, compuesta por mi padre al que cariñosamente llamo Huguito, el cual siempre entendió y apoyó mis tropiezos, como también celebró mis logros. El Pato, mi hermano y amigo, al cual quiero y admiro mucho por su increíble inteligencia y sapiencia y, finalmente, pero no menos importante, mi hermana Fabiola, que siempre me brindo apoyo y cobijo en su casa cuando me sentía triste y solo.

Las siguientes líneas están dedicadas a las personas que no teniendo ninguna relación afectiva conmigo, me brindaron paciencia, esfuerzo y el preciado tiempo que en estos días se ha vuelto tan importante.

A Cristian Barría, que actualmente se desempeña en Bioforest, lo conocí jugando fútbol en la Universidad sin tener conocimiento de la importancia que iba a tener en la culminación de este trabajo. Sin embargo, él se convirtió en el nexo entre las empresas que integraban el estudio y mi persona, intervención sin la cual no hubiese podido terminar la tesis dentro del año 2002. Muchas gracias y suerte en todas las actividades que emprendas en el futuro, ya que te lo mereces.

Al enfrentarse a una actividad que nunca antes se ha realizado surge irremediablemente el temor al fracaso, por esta razón son mis agradecimientos a la profesora Isabel Vives, que tuvo la paciencia y dedicación para enseñarme las técnicas de laboratorio que utilicé en el ensayo.

Carolina y Alejandra, mi eterno aprecio que se traduce en un regocijo por haberlas conocido. Gracias por tenderme siempre la mano en los momentos en que quería mandar todo a la mierda (perdonen la expresión).

No puedo obviar que el apoyo de los amigos es fundamental en los momentos de tristeza y amargura. Entre nosotros nos llamamos de múltiples maneras pero creo que llamarlos paquetones no ofende a nadie. Entonces, he aquí a las estrellas del espectáculo: La Carla, La Rene, Edgardo, La Pela, Jaime y Víctor.

Finalmente, como parte importantísima de mi vida se encuentra La Bebé (mi polola). Quizás muchos pensarán que no es adecuado agradecer a alguien que normalmente es pasajero en tu vida, pero en este caso no es así. Esta mujer transformó mi vida de una manera hermosa, me devolvió la capacidad de sentir y estremecerme y, más importante aún, me hizo creer en el amor. Gracias por el cariño de mujer entrañable.

Madre, mujer grandiosa  
Vivo feliz gracias a ti

## ÍNDICE DE MATERIAS

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Agentes de origen biológico deterioradores de la madera	3
2.1.1 Hongos cromógenos	3
2.1.2 Mohos de la humedad	4
2.2 Importancia económica del manchado de la madera	4
2.3 Normativas al Comercio Internacional	5
2.4 Prevención del manchado de la madera	6
2.5 Productos antimancha	7
2.6 Métodos para evaluar la eficacia de productos antimancha	8
2.7 Principios estadísticos para análisis de experimentos	8
2.7.1 Normalidad de los datos	8
2.7.2 Análisis de varianza	9
3. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	11
3.1 Selección de instrumentos	11
3.1.1 Probetas de ensayo	11
3.1.2 Suspensión de prueba	11
3.1.3 Medio de cultivo	11
3.1.4 Productos químicos	12
3.2 Procedimiento del ensayo	12
3.2.1 Productos y Dosis a ensayar	12
3.2.2 Preparación de las muestras	12
3.2.3 Aplicación de la protección superficial	13
3.2.4 Baño e Inmersión	13
3.2.5 Inoculación e incubación del complejo de prueba	13
3.2.6 Medición de la superficie manchada	14
3.2.7 Mediciones complementarias	14
3.2.8 Determinación de prueba estadística	14
4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	15
4.1 Verificación del complejo de prueba inoculado	15
4.2 Pintura y producto antimancha utilizado	18
4.3 Superficie con presencia de micelio	19

4.3.1	Pintura y formulación de pintura	20
4.3.2	Productos patrón y testigo	22
4.4	Diseño estadístico	24
4.5	Medición de la superficie manchada	26
4.6	Técnica aplicada	26
4.6.1	Reconocimiento del sustrato	27
4.6.2	Ambiente de cultivo	28
4.7	Absorción y otras mediciones	29
5.	CONCLUSIONES	31
6.	BIBLIOGRAFÍA	32

## ANEXOS

1	Abstract
2	Superficie aproximada con presencia de micelio para los hongos manchadores, después de cuatro semanas
3	Superficie promedio con presencia de micelio para los distintos tratamientos, luego de la cuarta semana
4	Información específica sobre la pintura
5	Descripción y esquema de aplicación de la pintura
6	Fórmulas utilizadas para el cálculo de absorción y densidad
7	Ensayo de absorción para pintura y formulación de pintura
8	Mohos en muestras de madera de Centroamérica
9	Test de Comparaciones Múltiples para el factor tratamiento y ANOVA de la pintura
10	Aspecto de las probetas, para tratamientos testigos y patrones, después de la cuarta semana
11	Aspecto de las probetas, para pintura y formulación de pintura, después de la cuarta semana

## RESUMEN

Uno de los mayores problemas presentes en la exportación de madera aserrada de *Pinus radiata* (pino insigne), es su susceptibilidad al biodeterioro. Esta especie presenta gran desarrollo de hongos y mohos, puesto que contiene alta humedad y disponibilidad de hidrocarburos libres que los organismos utilizan como alimento. Suma a esto en los lugares de almacenaje, transporte y destino se presentan las condiciones ideales para su proliferación.

Estas consideraciones de biodeterioro de la madera hacen que exista una fundada preocupación por parte de las empresas exportadores, entre las cuales se encuentra Aserraderos Arauco S.A. (AASA), de generar una mayor resistencia de la madera al ataque de organismos biodegradadores; destacándose el hecho que el manchado desvaloriza y descalifica la madera para ciertos usos, donde su aspecto estético juega un papel determinante.

Los esfuerzos realizados hasta el momento se han centrado en encontrar productos alternativos al pentaclorofenato de sodio (PCP-Na), el cual fue prohibido en Chile en el año 1999. Esta búsqueda ha permitido desarrollar numerosos productos que han probado buena eficacia en laboratorio, pero que carecen de la misma efectividad en terreno. La principal razón se debe a que los baños antimancha son realizados con soluciones, que al ser expuestos a intensas precipitaciones trae como consecuencia la lixiviación del producto, con la consecuente merma en su efectividad.

Sin embargo, el avance tecnológico ha permitido la ampliación de los habituales baños antimancha a un nuevo género de protecciones superficiales como medio de prevenir el manchado de la madera, los cuales incorporan como ingrediente activo un preservante con características de antimancha, alternativo al PCP-Na.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar en laboratorio, bajo la norma ASTM 4445-91, una pintura en mezcla con un preservante antimancha a tres diferentes concentraciones y la pintura sin preservante, para prevenir el ataque de un complejo de manchadores superficiales (mohos) en madera aserrada de *Pinus radiata*. Además, se pretende determinar la formulación mínima efectiva de la pintura en mezcla que impide el manchado de la madera.

La metodología utilizada se basa en lo expuesto por la norma citada anteriormente, la cual sufrió algunas modificaciones. Por una parte fue necesario secar las probetas a las cuales se les aplicó la protección superficial, manteniendo todas las demás por sobre un 40% de humedad. Además, se consideró un segundo patrón, alternativo al PCP-Na, dado que por haber sido retirado del mercado no es posible su aplicación. Por otro lado, como consecuencia del nulo desarrollo micelial en un primer ensayo, se hizo necesario el establecimiento de un segundo ensayo con un testigo tratado con caldo malta al 2%, que asegurara la proliferación de los mohos. Para esto fue necesario modificar el tamaño de las probetas, las cuales fueron divididas a la mitad y autoclavadas.

Los resultados obtenidos en los tratamientos testigo permiten afirmar que los mohos utilizados en el ensayo estaban viables con casi un 100% de superficie afectada. Sin embargo, el testigo tratado demostró una leve superioridad, ya que dada sus características es un excelente sustrato para el desarrollo de los hongos. Además, si se piensa que el primer ensayo falló por el nulo crecimiento de los organismos sobre los testigos, crea una interrogante sobre porqué sí se desarrollaron en el segundo ensayo si se ocuparon las mismas probetas. La respuesta es que al haber sido autoclavadas, las moléculas de lignina y celulosa se hidrolizaron, quedando disponibles sus subunidades como alimento para los mohos.

Respecto al PCP-Na se confirma su excelente efecto inhibitor del desarrollo micelial de mohos al 2% de concentración, pero ya que ha sido prohibida su utilización en Chile, no debiese ser ocupado en futuros ensayos. Por otra parte, el segundo patrón utilizado (PQ-8), demostró excelentes propiedades funguicidas al 2,5% de concentración, lo que lo convierte en un buen sustituto del pentaclorofenato para el establecimiento de futuros ensayos.

Finalmente, la pintura (sin preservante), reflejó un nulo efecto inhibitor del micelio fúngico sobre las probetas, demostrando claramente que este tipo de protección no puede ser usado en exteriores. Con relación a la formulación de pintura, se observa notoriamente que ninguna de las tres concentraciones ensayadas fue capaz de inhibir el desarrollo micelial sobre las probetas de ensayo, existiendo sólo una disminución del porcentaje afectado, a medida que aumentaba la concentración. Esta situación hace impensable una recomendación de establecer ensayos de terreno, ya que primero es necesario el establecimiento de un nuevo experimento para probar dosis más altas o una reformulación de la pintura base.

Palabras clave: pintura, preservante antimancha, mohos, norma ASTM.

## 1. INTRODUCCION

La gran dificultad para obtener un eficiente producto de exportación es la alta susceptibilidad de la madera aserrada de *Pinus radiata* (pino insigne) al biodeterioro. La madera aserrada de esta especie presenta gran desarrollo de hongos y mohos, dado que contiene alta humedad, alta disponibilidad de hidrocarburos libres que los organismos utilizan como alimento y, porque en los lugares de almacenaje, transporte y destino, se presentan las condiciones ambientales óptimas para su desarrollo y proliferación.

Estas consideraciones de biodeterioro de la madera, hacen que exista una marcada preocupación por parte de los exportadores de generar una mayor resistencia de la madera, tanto al paso del tiempo como a las condiciones ambientales y al ataque de organismos biodegradadores; destacándose el hecho que el manchado desvaloriza y descalifica la madera para ciertos usos, donde el aspecto estético de ésta tiene un papel determinante.

Sin embargo, durante años se han estado realizando investigaciones para evitar el manchado de la madera. Estas investigaciones han logrado definir los requerimientos fundamentales que deben cumplir los productos químicos antimancha, abarcando factores como amplio espectro de actividad, buen grado de efectividad funguicida, buena estabilidad en solución y buena adherencia a la madera, compatibilidad con la madera y los métodos de aplicación, presentar bajo riesgo operacional y ser biodegradable, con un costo razonable del producto final. Se aprecia claramente que el producto que cumple con todas estas características es el pentaclorofenato de sodio (PCP-Na), pero porque compromete la seguridad operacional y posee condiciones de lenta biodegradación, se han firmado tratados que prohíben su utilización como producto antimancha.

Así, en Chile en el año 1999, el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) prohibió definitivamente el uso de fenoles clorados, abriéndose un nuevo nicho en los mercados de productos químicos, con la posibilidad real de encontrar sustitutos a los antimanchas tradicionales. Esta afirmación, surge a través del reconocimiento por parte de los exportadores, que las nuevas redes de distribución y el mejor manejo de la madera aserrada, implicaría requerimientos de protección de seis meses a un año como máximo, posibilitando la competitividad de preservantes de corta vida.

Dentro de este contexto y con la finalidad de desarrollar los nuevos productos antimancha se presentan diversas etapas que permitirán, finalmente, ofrecer al mercado un producto de probada eficacia y que cumpla con los estándares de seguridad operacional y biodegradabilidad. Una primera etapa de laboratorio es el ensayo de los ingredientes activos que poseen las características de antimancha, sometidos a diferentes condiciones, de tal forma de determinar la mínima concentración de producto que inhibe el desarrollo y proliferación del hongo manchador. Posteriormente, se repite el ensayo de eficacia en terreno, dado que las condiciones ambientales reales son radicalmente distintas a las encontradas en laboratorio.

De esta forma, se reconoce que las principales limitaciones que surgen de estas evaluaciones, consideran la imposibilidad de masificar un producto antimancha sólo con el análisis de laboratorio, debido a que las condiciones de laboratorio son totalmente controladas, logrando de esta manera, que los hongos y mohos ensayados encuentren las condiciones ideales para desarrollarse. Lo contrario ocurre en terreno, donde las condiciones nunca son iguales, con fluctuaciones de temperatura y humedad, que pueden acrecentar o inhibir el desarrollo de los organismos biodegradadores. Además, se suma la dificultad que se trabaje con una formulación de pintura y no con una solución, por lo que algunos procedimientos han sido modificados para satisfacer las exigencias de la pintura.

Considerando todos los aspectos citados anteriormente, Aserraderos Arauco S. A. (AASA) en conjunto con Bioforest S. A., esta última a través de su División Propiedades de la Madera, identificaron que madera exportada al mercado centroamericano se manchaba o presentaba proliferaciones algodonosas de micelio de mohos, debido posiblemente a la lixiviación del producto antimancha durante el trayecto marítimo de la madera o a que las condiciones ambientales de embarque eran las óptimas para el desarrollo de los organismos. Es por esta razón, que se pretende establecer la primera etapa de ensayo, realizando una primera aproximación a la solución del problema presentado en los mercados citados anteriormente.

El presente trabajo tiene como objetivo general evaluar en laboratorio una pintura en mezcla con preservante antimancha, para prevenir el ataque de un complejo de manchadores superficiales (mohos) en madera aserrada de *Pinus radiata*, y como objetivos específicos: determinar la eficacia de la pintura en mezcla con preservante antimancha a tres concentraciones diferentes y la eficacia de la pintura sin preservante, y determinar la formulación mínima efectiva de la pintura en mezcla que impide el manchado de la madera.

## 2. MARCO TEORICO

Los principales problemas que deben sortear los nuevos productos antimancha radican en una combinación de factores, entre los que destacan eficacia reducida a largo plazo, mayor costo y la toxicidad propia de ellos. Sumado a esto, se aprecia que los organismos deterioradores de la madera cada vez son más agresivos, desarrollándose y proliferando ante las condiciones ambientales óptimas. Por otro lado, pero en directa relación con lo expresado anteriormente, las empresas deben resguardar su patrimonio mediante el ensayo de productos antimanchas, que les aseguren su permanencia en los mercados a los cuales exportan sus productos, comenzando en primera instancia por los ensayos de laboratorio.

### 2.1 Agentes de origen biológico deterioradores de la madera

Se incluyen en estos grupos a todos aquellos hongos y mohos capaces de producir cambios de coloración en los tejidos de la madera o manchas biológicas, reconociéndose que diferentes especies pueden presentarse en una misma pieza de madera y, que aunque algunas especies predominan en diferentes áreas geográficas y se limitan a ciertas maderas, la mayoría son generales.

#### 2.1.1 Hongos cromógenos

El almacenamiento de la madera en el bosque y en el Aserradero durante periodos prolongados, posibilita el desarrollo de hongos manchadores que afectan su apariencia (Butin y Peredo, 1986), siendo el manchado evidente únicamente cuando la madera es expuesta a condiciones favorables para el crecimiento del hongo (Seifert, 1993). Actualmente, la lista de hongos capaces de producir variaciones en el color de la madera incluye más de 100 especies, pero los cuales no alteran en gran medida sus características físicas.

La mayoría de los hongos que afectan la madera consisten de una fina red de tubos (hifas), las cuales se ramifican extensivamente dentro del sustrato con un crecimiento continuo, lo que forma un micelio (Ridout, 2000). El micelio de estos hongos produce una decoloración azul-negra o azulada de la albura causada por la penetración profunda de hifas de hongos pigmentadas a lo largo de los rayos medulares, y que no causa deterioro (Gibbs, 1993; Seifert, 1993), existiendo una serie de estudios que sugieren que todos los hongos manchadores son similares en su crecimiento a través de las células del huésped (Gibbs, 1993). Dentro de los géneros de hongos manchadores más representativos se pueden nombrar a: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Ceratocystis*, *Ophiostoma*, entre otros (Seifert, 1993).

Los principales elementos que influyen en el desarrollo de los organismos manchadores de la madera son: contenido de humedad y oxígeno, nutrientes, como también la temperatura ambiente (Seifert, 1993), necesitándose para casi la totalidad de los hongos cromógenos una apreciable pérdida de humedad antes que ocurra la invasión (Gibbs, 1993). Se establece 20% de humedad como mínimo para permitir el

crecimiento y, hasta 100 a 120%, necesario para prevenir el manchado en pino, siendo el óptimo para el desarrollo de 60 a 80%; la temperatura óptima para el desarrollo del hongo manchador está entre 22 y 30°C, conociéndose igualmente que las fluctuaciones de temperatura reducen la tasa de crecimiento (Seifert, 1993).

Estos hongos están especializados para vivir dentro de células huéspedes vivas y que previamente no han sido colonizadas por otros organismos, siendo la mancha típicamente triangular o prismática triangular, involucrando un crecimiento a lo largo de los rayos medulares (Gibbs, 1993). De esta forma, la madera que ha sufrido algún grado de deterioro biológico, presenta en alguna medida alteraciones de su peso específico (Seifert, 1993), lo que en la mayoría de los casos se presenta acompañado por variaciones de su composición química.

### 2.1.2 Mohos de la humedad

Los conocidos como mohos de la humedad, se destacan porque producen coloraciones vistosas; sin embargo, generalmente no son considerados organismos manchadores debido a que su crecimiento es superficial y generalmente no decoloran el tejido de la madera (Seifert, 1993).

Entre los géneros más comunes se encuentran: *Penicillium*, *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Aspergillus*, *Mucor* y *Rhizopus* (Aguilar, 1985). Éstos dan la apariencia algodonosa sobre la superficie de la madera, con coloraciones que van desde el blanco hasta el negro, no influyendo sobre las propiedades de la madera (Juacida, 1992). También presentan variaciones del azul verdoso a amarillento o rojizo. Estas tonalidades se deben al hecho que las esporas y micelio de estos organismos se colorean cuando están expuestos libremente al aire y a la luz; ocasionando manchas que se pueden eliminar a través de un cepillado de la madera (Aguilar, 1985). Además, su presencia y propagación en condiciones favorables de humedad y temperatura, pueden servir de base para el ataque de hongos de pudrición (Juacida, 1992).

Dentro del complejo patogénico de organismos causantes de biodeterioro de la madera aserrada de pino insigne, sobresale la importancia del moho verde, causado por *Trichoderma*, organismo muy preservante, destacándose también su rapidez en el desarrollo y su resistencia a numerosos funguicidas (Williams, 1991a).

## 2.2 Importancia económica del manchado de la madera

La madera aserrada representa uno de los productos primarios de exportación con mayor riesgo al manchado, reconociéndose dentro del mercado internacional a empresas que comercializan este tipo de producto. Como parte de ellas, Aserraderos Arauco S. A., es vista como la mayor empresa de aserrío a nivel latinoamericano y del hemisferio sur, con una capacidad de producción total que asciende a dos millones de metros cúbicos de madera aserrada verde, incluyendo sus Aserraderos en Chile y Argentina. Éstos durante el año 2000 produjeron un millón 597 mil metros

cúbicos de madera aserrada verde, transformándose en madera seca 918 mil metros cúbicos (AASA, 2000).

Sin duda, dado los grandes volúmenes que exporta la empresa año a año, es necesario reconocer que el envío de madera aserrada de pino insigne es afectada fácilmente por hongos causantes del manchado de la madera, debido a que corresponde a un producto que no es sometido a procesos acabados de elaboración, la que se manifiesta por una marcada decoloración en tonos azul, gris y café, o por un oscurecimiento de su color natural (Peredo, 1980; Parra *et al.*, 1999; Morrell *et al.*, 2002). Sin duda, lo expresado anteriormente, conlleva una desclasificación de la madera por su aspecto estético, especialmente cuando los mercados exigen que los productos ofrezcan una buena presentación final, reduciendo el precio de éstos hasta en un 30% (Aguilar, 1985; Peredo, 1992; Morrell *et al.*, 2002).

Así, para la comercialización de madera aserrada se solicita que no esté manchada y que se le haya aplicado un baño con preservantes. Sin embargo, si la madera no se comercializa rápidamente, o debe someterse a prolongados periodos de embarque, el producto antimancha puede lixiviarse por efecto de la intemperie y en consecuencia ser atacada por organismos manchadores que ya estaban presentes (Aguilar, 1985; Parra *et al.*, 1999).

Los mercados a los cuales se dirigen nuestras exportaciones exigen cada día más que las maderas vayan tratadas con productos antimanchas, cuyos ingredientes activos no provoquen problemas toxicológicos a las personas que están en contacto directo con ellos; y que tampoco produzcan contaminación ambiental (Ruddell y Stevens, 1998).

### **2.3 Normativas al Comercio Internacional**

Desde el momento que AASA se ubica como una de las empresas exportadoras de madera aserrada más importante en el ámbito nacional, comienza su preocupación por la posición que ocupa dentro de la economía nacional y aquella estrategia económica que seguirá. Esto implica encarar dentro de la globalización la estabilidad macroeconómica de largo plazo, las políticas de integración y acceso a los mercados, la capacidad de gestión del recurso humano y la sustentabilidad ambiental dentro de la cual se hace parte (Medina, 1998). Dentro de este mismo contexto, también se debe reconocer la importancia a que el sector se prepare para enfrentar de mejor forma las restricciones sanitarias que impondrán los bloques económicos a los productos forestales (Medina, 1998; Ruddell y Stevens, 1998).

Las tendencias de consumo en los mercados de países desarrollados indican que la dificultad para exportar será creciente para aquellas naciones que no cuenten con productos de calidad certificada (Parra *et al.*, 1999). Desde la década pasada, el ambiente competitivo de productos de madera ha cambiado significativamente. Los consumidores están demandando productos de alta calidad a bajo costo. Estos estándares están siendo reconocidos internacionalmente como un lenguaje común a

través del cual puede establecerse un comercio ambiental transparente (Ruddell y Stevens, 1998).

Por lo tanto, es posible darse cuenta de la importancia de contar con normativas adecuadas a los estándares internacionales, de tal forma de cumplir con las exigencias impuestas por los mercados de destino, lo cual estimula a las empresas a desarrollar nuevos esquemas operativos en todas las etapas del proceso productivo, permitiendo de esta manera no sólo mantener la competitividad comercial en el exterior, sino aumentarla (Parra *et al.*, 1999; Montes *et al.*, 2001).

## **2.4 Prevención del manchado de la madera**

Las decoloraciones generalmente se previenen por el secado de la madera en horno a menos de 20% de contenido de humedad (C. H.) o por la aplicación a la superficie de químicos que inhiben la actividad biológica y química. Esto hace admitir que el control de los hongos que producen el manchado de la madera, es sólo de tipo preventivo, puesto que una vez que la infección se manifiesta no es posible detenerla, debido a que la acción de los productos antimancha es sólo superficial, debiendo ser aplicados antes que la infestación ocurra (Pacheco, 1992).

Se establecen dos fases principales en la prevención del manchado; la protección de las trozas directamente en el bosque y la protección de la madera aserrada (Peña, 1988). Dentro de la primera fase, se puede reconocer que el período de almacenamiento de las trozas en el bosque hace variar el tipo y cantidad de agentes manchadores, debido principalmente a que éstos contienen altos niveles de desarrollo fungoso, que si no causan daño directo al trozo, son una importante fuente de inóculo (Williams, 1991b; Peredo, 1994). En la segunda fase, Morrell *et al.* (2002), indica que la madera recientemente aserrada es susceptible al ataque microbiano hasta que ésta o algún producto final es secado a menos del 20% de C. H.

El avance del ataque depende de la forma en que se encuentren las condiciones para el desarrollo del hongo, presentándose en aserradero las óptimas, por lo cual se hace necesario recurrir a algún tratamiento preservante por inmersión momentánea con el objeto de impedir la proliferación de hongos (Peredo, 1980). Sin embargo, con los avances en las investigaciones y la tecnología, la situación está cambiando, impulsándose programas de impregnación y de protección superficial como pinturas, lacas y barnices (Chiang, 1994).

Finalmente, la prevención del manchado de la madera debiese ser un proceso integrado que envuelva cuidados en la cosecha y almacenaje de la madera, tratamiento químico acorde a las nuevas políticas ambientales y una entrega eficiente al cliente (Seifert, 1993).

## 2.5 Productos antimancha

A comienzos de los años 30 del siglo XX, la elección química para prevenir la decoloración biológica fue el pentaclorofenato de sodio (penta), el cual es utilizado ampliamente para insectos y la mayoría de los hongos. Pasados los años 70, el incremento de la sensibilidad ambiental llevó a la revisión del pentaclorofenato de sodio y a ser enlistado como un pesticida de uso restringido. Esta lista ha fortalecido mucha de la manufactura de la madera al reevaluar el uso del pentaclorofenato y guiar al desarrollo de un número de sustitutos (Morrell *et al.*, 2002). Además, a nivel internacional, una de las tareas prioritarias de numerosas compañías químicas es identificar las posibles alternativas para los productos derivados de fenoles clorados, por cuanto su prohibición definitiva puede ocurrir antes de lo previsto (Montes *et al.*, 2001).

Las investigaciones realizadas en Chile desde los años ochenta, han estado centradas en encontrar productos que cumplan con las condiciones básicas de un producto antimancha, como son: toxicidad, solubilidad, manejo, manipulación y que el costo asociado a su preparación no sea demasiado elevado (Peña, 1988), considerando que los nuevos productos ensayados encuentran una serie de inconvenientes como eficacia reducida a largo plazo, altas concentraciones efectivas, decoloración de la madera, mayores costos y la toxicidad propia de ellos. Es por esta razón que aún no se tienen resultados que aseguren una equivalencia por parte de los alternativos en cuanto a efectividad y principalmente costo (Montes *et al.*, 2001).

Sin embargo, el desarrollo de la tecnología está impulsando programas de protección superficial, los cuales se suman a las aplicaciones que se realizan por inmersión. Estos nuevos programas deben considerar para su desarrollo, que la estructura de la madera expuesta al aire libre necesita protección en contra de la influencia de la luz, el sol, la lluvia y organismos degradadores. Esta protección puede realizarse con una eficiente combinación de diseños y aplicación de baños o capas; estableciéndose como requerimiento básico para un rendimiento adecuado y un pintado duradero, la buena adhesión de las capas del producto en la superficie de la madera. La habilidad de la superficie de la madera a aceptar y retener las capas de pintura es determinado por las características naturales de la madera, de las especies y del proceso de manufactura usado. Además, se sabe que los factores naturales (propiedades anatómicas, físicas y químicas) varían considerablemente, no solo entre diferentes especies, sino dentro de la misma especie e individuos (Richster *et al.*, 1995).

Por esta razón, no debe desconocerse que para el desarrollo de nuevos productos que ingresan al mercado, se hacen necesarios estudios toxicológicos, toxigénicos, ambientales y de vida silvestre para finalmente proceder con los difíciles requisitos de registro de pesticida que imponen los diversos países (Williams, 1991b). El organismo oficial con potestad para intervenir en la aprobación de los distintos preservantes es el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), por medio de la dirección de agroquímicos y registros. Las empresas fabricantes deben encuadrarse en las disposiciones de este organismo, lo que

asegura al usuario la posibilidad de emplear productos aptos para la preservación de madera y sin riesgo para el aplicador (Mundo pintura, 2000).

En concordancia, las empresas deberán modificar algunos productos que ofrezcan, para satisfacer las exigencias de mercados y clientes extranjeros, resguardando que la madera llegue a los puertos de destino en las mejores condiciones sanitarias (Peredo y Torres, 1981; Cabaña, 1994).

## **2.6 Métodos para evaluar la eficacia de productos antimancha**

Los ingredientes activos con características de antimancha que se consideran alternativos, se evalúan en una primera etapa mediante ensayos de laboratorio en sus diferentes formulaciones experimentales, examinándose el comportamiento de los diferentes patógenos en medios de cultivo especialmente preparados y que contienen él o los ingredientes activos que se investigan. Asimismo, se determina la mínima concentración del producto que inhibe el desarrollo del hongo manchador (Williams, 1991b; Peredo, 1993).

Entre los métodos desarrollados para determinar la eficacia del producto antimancha, se reconoce el denominado Método de los Discos y la Norma ASTM D 4445 - 91 (Reaprobada en 1996), utilizada esta última en gran medida por la alta correlación existente entre las mediciones basadas en ella y las replicaciones de los ensayos hechos en terreno (Peredo, 1993). Además, el primero se diferencia de la norma por que ésta utiliza probetas de madera verde de albura de 7 cm x 2 cm x 0,7 cm, almacenadas en bolsas de polietileno, como una forma de evitar la deshidratación. No hay aplicación de sustancia nutritiva y se aplica menor cantidad de inóculo (Peredo y Lanfranco, 1999).

La Norma es usada para determinar la mínima concentración de funguicida, o formulación de funguicidas, que es efectivo en prevenir el biodeterioro por el manchado de hongos y mohos, en especies seleccionadas de madera, bajo condiciones óptimas de laboratorio (ASTM, 1996).

## **2.7 Principios estadísticos para análisis de experimentos**

### *2.7.1 Normalidad de los datos*

Dentro de la investigación científica un término muy utilizado es el de experimento, el cual debe regirse bajo un protocolo específico para observar y evaluar las implicancias de las observaciones resultantes (Kuehl, 2001).

Esta definición crea un problema frecuente en el campo biológico, el cual es saber si el comportamiento de un individuo es normal o se aparta de la normalidad, debiendo establecer los límites entre lo habitual y lo raro, lo que implica conocer la distribución de la variable en estudio (Taucher, 1997). Generalmente esto se determina por la

distribución de frecuencias llamada distribución normal, considerada como modelo adecuado para la distribución de un gran número de variables en el campo biológico, porque si se aumenta el número de observaciones y se disminuye el tamaño de los intervalos de clasificación, la gráfica resultante se asemeja al de la distribución normal (Taucher, 1997; Triola, 2000).

La teoría normal considera la docimasia de hipótesis como la comparación de resultados obtenidos en dos o más grupos sometidos a tratamientos diferentes, donde si se conoce la distribución muestral de las diferencias de promedios o de porcentajes de pares de muestras provenientes de un mismo universo y que ambas están centradas en cero, se aplica el conocimiento sobre distribución normal, pudiendo predecir que en estas distribuciones será raro encontrar diferencias muy alejadas de cero (Taucher, 1997; Triola, 2000). Este conocimiento ha permitido establecer las pruebas de significación estadística.

Estas pruebas parten con la definición de dos hipótesis: la hipótesis de nulidad y la hipótesis alternativa. La hipótesis de nulidad es una declaración acerca del valor de un parámetro de población y debe contener la condición de igualdad, conociendo por tanto la distribución de la estadística bajo este supuesto. La hipótesis alternativa declara que debe ser verdad si la hipótesis nula es falsa. Cuando la diferencia observada es tan grande que bajo el supuesto de la hipótesis de nulidad este hecho es poco probable, se rechaza la hipótesis de nulidad y, en cambio, se acepta la hipótesis alternativa (Triola, 2000).

### *2.7.2 Análisis de varianza*

Una de las pruebas de significación estadística más utilizada es el análisis de varianza (ANOVA), la cual está muy ligada al diseño de experimentos. Éste, compara dos o más medias en diversas situaciones (Lindman, 1991; Martínez, 2000; Triola, 2000). El ANOVA es una prueba que nos permite medir la variación de las respuestas numéricas como valores de evaluación de diferentes variables nominales, reflejándose primero la variación entre grupos y segundo la variación dentro de los grupos (De Los Santos, 2001).

La prueba a realizar es de si existe diferencia en los promedios para los diferentes valores de las variables nominales. Se realiza para variables donde una tiene valores nominales y la otra tiene valores numéricos, partiendo del supuesto inicial de que no existe diferencia entre los promedios y que los resultados de la muestra son producto exclusivamente del azar. Para el análisis de diferencia en los promedios, se procede a realizar una prueba  $F$  (Fisher), la cual se usa para realizar el contraste de la hipótesis nula, en la cual dos poblaciones diferentes tienen la misma varianza (Lindman, 1991; De Los Santos, 2001).

El análisis de varianza se puede realizar con tamaños muestrales iguales o distintos, sin embargo es recomendable iguales tamaños por dos motivos. Primero, la  $F$  es insensible a pequeñas variaciones en la asunción de igual varianza, si el tamaño es

igual. Segundo, igual tamaño minimiza la probabilidad de error (De Los Santos, 2001).

En resumen, con el análisis de varianza se puede llegar a la conclusión de que hay suficientes indicios para rechazar (o no rechazar) la afirmación de que las medias de población son iguales- siempre y cuando el resultado del ANOVA sea significativo - pero no podemos concluir que alguna media en particular es diferente de las otras. Para tal propósito existen los procedimientos de comparación múltiple, entre los que se haya el método Tukey (UNAM, 2000; Triola, 2000).

Existen dos formas básicas de poder efectuar estas comparaciones. Una de ellas es a priori, donde las comparaciones resultan de aquellas planificadas previamente durante la etapa del diseño experimental y, la otra a posteriori, donde las comparaciones no son planificadas de antemano surgiendo a partir de los datos experimentales, cuando el investigador descubre diferencias y quiere testearlas (UNAM, 2000).

Finalmente, se destaca el hecho que la prueba de comparaciones múltiples está diseñada para posibilitar la comparación entre pares de medias al nivel alfa original usado en el ANOVA, asumiendo igual tamaño de muestra para todos los niveles de tratamiento, pero puede usarse con una ligera modificación (Weinberg y Goldberg, 1990).

### 3. DISEÑO DE INVESTIGACION

De acuerdo a lo solicitado por Bioforest S. A., se ensayó la pintura mezclada con preservante antimancha y la pintura sin el preservante, para madera aserrada, referenciado al pentaclorofenato de sodio y PQ-8, basándose en el procedimiento señalado por la norma ASTM D 4445 - 91 (Reaprobada en 1996).

No obstante el método sufrió algunas modificaciones. Por una parte, por consideraciones del producto y, por otra, debido al nulo crecimiento de los mohos en las probetas testigo en un primer ensayo, lo que determinó la reutilización y modificación del tamaño de las probetas.

#### 3.1 Selección de instrumentos

##### 3.1.1 Probetas de ensayo

Las probetas utilizadas en el ensayo se confeccionaron de madera fresca de albura de pino insigne. El contenido de humedad se exigió sobre el 40%, sin manchas ni defectos que aseguren la exactitud del estudio. Las probetas se dimensionaron en corte tangencial en el Instituto de Tecnología de Productos Forestales de 7 x 20 mm de sección transversal, y 70 mm de largo. Excepcionalmente, al fallar el primer ensayo, las probetas testigo fueron divididas por la mitad (largo), para cumplir con la cantidad de 20 probetas para cada tratamiento.

##### 3.1.2 Suspensión de prueba

Las probetas de ensayo se probaron usando una suspensión de mezcla de esporas y micelio de hongos manchadores superficiales\*: *Cladosporium cladosporioides*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium frequentans*, *Trichoderma viride* y *Ulocladium atrum*. *P. frequentans* y *T. viride* fueron aislados de muestras de madera entregadas por Bioforest y los restantes mohos fueron obtenidos de cultivos puros del cepario del Instituto de Silvicultura de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Austral de Chile. Al momento del ensayo fueron repicados en el laboratorio del citado Instituto.

##### 3.1.3 Medio de cultivo

Los hongos se cultivaron en agar malta al 2%. El medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C y 1 kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 20 minutos y luego se dispersó en placas Petri estériles.

---

\* Valenzuela, E. 2002, Instituto de Microbiología, Universidad Austral de Chile, Comunicación personal

### 3.1.4 Productos químicos

El producto químico, mezclado con la pintura, es un diseño comercial realizado por Härting S. A. Éste corresponde a un ingrediente activo conocido como Cobre 8-hidroxiquinolato, Oxina de Cobre o Cobre 8. En concordancia se evaluó la pintura fabricada por Sherwin Williams (Anexo 4), con el preservante antimancha a tres concentraciones (1,4 ; 2,3 y 4,6%) y una evaluación de la pintura sin preservante.

Para comparar la eficacia del producto, se utilizó como patrón pentaclorofenato de sodio (PCP-Na), producto perteneciente al grupo químico de fenoles clorados, al 2% de concentración, d.m.e. determinada por Peredo (1980). También se utilizó como patrón un compuesto cúprico en su formulación PQ-8, al 2,5% de concentración, utilizada actualmente por AASA.

## 3.2 Procedimiento del ensayo

### 3.2.1 Productos y Dosis a ensayar

El ensayo se estableció considerando un diseño al azar, con 20 muestras para cada tratamiento. Se ensayó la formulación de pintura a tres concentraciones, y se analizó la pintura sin el preservante antimancha. Se consideró igual número de repeticiones tanto para los patrones (PCP-Na y PQ-8) y las testigo (tratadas y no tratadas), analizando en total 160 probetas. El resumen de los tratamientos y dosis a ensayar se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Identificación de las condiciones del ensayo

Tratamiento	Solvente utilizado	Nº de concentraciones	Concentraciones ensayadas (%)	Nº de repeticiones
Pintura Primer Blue	agua	-	-	20
Formulación Pintura	agua	3	1,4 - 2,3 - 4,6	20
PCP-Na	agua	1	2,0	20
PQ-8	agua	1	2,5	20
Testigo	agua	-	-	20
Testigo tratada (caldo malta)	agua	1	1,0	20

### 3.2.2 Preparación de las muestras

Luego de la obtención de las muestras, acorde al procedimiento descrito en el punto 3.1.1, se procedió a dividir las probetas en dos sets. El primer juego estuvo compuesto por aquellas a las cuales se les aplicó la pintura. Éstas fueron secadas en estufa a una temperatura que fluctuó entre 50 a 80°C, por un período de tiempo que varió de cuatro a seis horas. Posteriormente, fueron ubicadas dentro de bolsas herméticas (Ziploc), de tal forma de impedir el intercambio de humedad con el ambiente. Luego de la aplicación, se volvieron a colocar dentro de las bolsas herméticas para facilitar su transporte. El otro juego (patrones y testigos) se

almacenaron hasta el momento del ensayo en bolsas de polietileno a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , con la finalidad de mantener el contenido de humedad de las probetas por sobre el 40%. Antes de realizar el ensayo se descongelaron dentro de las bolsas de polietileno.

Sin embargo, como las probetas testigo no se mancharon en el primer ensayo, fue necesario reutilizar aquellas que habían sido ocupadas en el establecimiento del estudio.

### *3.2.3 Aplicación de la protección superficial*

La aplicación de la pintura se llevó a cabo en el laboratorio de Sherwin Williams (Santiago), donde se procedió a realizar la protección superficial. La cantidad de la pintura se controló minuciosamente por los técnicos de la empresa para asegurar la exactitud del estudio.

### *3.2.4 Baño e inmersión*

Se dispuso de un vaso precipitado de 250 ml, donde cada muestra de pintura se diluyó al 20% en agua, cuidando de homogenizar bien, para luego sumergir en la dilución cada probeta (seca) por 15 segundos reales. Una vez impregnada en la dilución de pintura, cada probeta fue colgada y dejada secar por un período de dos a tres horas a temperatura  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  (seco), para finalmente dejar 24 horas a temperatura ambiente (duro). Las probetas de los productos patrón se dispusieron en un vaso precipitado de 600 ml, con el propósito de realizar la inmersión durante 15 segundos. Posterior a la inmersión, se dispusieron en vasos precipitados de 400 ml durante 12 horas, de tal forma de permitir la fijación de la solución. Las probetas testigo tratadas se bañaron en una solución de caldo malta al 2%, aplicándoles presión durante cinco minutos, para asegurar un sustrato alimenticio para los hongos.

A continuación, las muestras con la pintura, productos patrón y testigo (tratadas y no tratadas), se introdujeron en placas Petri (dos por placa), las cuales contenían cuatro láminas de papel filtro en el fondo y una placa de vidrio entre el papel filtro y las probetas, teniendo como objetivo evitar que las probetas se saturen y permitan el desarrollo adecuado del complejo de prueba.

### *3.2.5 Inoculación e incubación del complejo de prueba*

Aunque la norma no obliga a la esterilización cuando se trabaja con una mezcla de hongos, se consideró necesario hacerlo en el caso de los testigos.

Posteriormente, se diluyeron 5 ml de agua estéril en cada tubo con el inóculo seleccionado, previo a su mezcla. Éstos provenían de cultivos activos, a temperatura de  $24^{\circ}\text{C}$ . Luego de extraerse la suspensión de prueba mediante arrastre de agua destilada estéril, se mezclaron y mantuvieron bajo agitación, para ir aplicándolas sucesivamente en las probetas, predispuestas en las placas petri. De la mezcla de inóculos agitada permanentemente, se extrajeron con pipeta graduada la cantidad de

suspensión establecida por la norma (0,25 ml por probeta). De igual forma, se agregó agua destilada hasta cubrir los papeles filtro y así mantener una humedad adecuada para el desarrollo del complejo de prueba.

Por último, se envolvieron cinco placas Petri en bolsas de polietileno y se dejaron dentro de una estufa climatizada a 25°C, por un periodo de 4 semanas, donde se les continuo aplicando agua destilada de acuerdo a la necesidad de cada placa.

### *3.2.6 Medición de la superficie manchada*

Después de las cuatro semanas de evaluación, se estimó el crecimiento del complejo de prueba visualmente y se evaluó la superficie con presencia de mancha. La medición se realizó con una malla cuadrículada, dividiendo la superficie de las probetas en partes iguales, obteniendo el grado de ataque en forma porcentual, respecto a la superficie de cada probeta. Aunque la norma no lo considera, también se consideraron mediciones parciales cada semana, con la finalidad de observar la proliferación de los manchadores más agresivos.

### *3.2.7 Mediciones complementarias*

Como información referencial y por indicación de los técnicos de Sherwin Williams, se chequeo la absorción de pintura y formulación de pintura. Para ello se determinó el peso de cada probeta, antes y después de ser impregnada. La finalidad de esta evaluación radica en la posibilidad de establecer alguna relación de dependencia entre la absorción de pintura y el porcentaje de superficie manchada. La metodología utilizada y los valores obtenidos se encuentran en los Anexos 6 y 7.

### *3.2.8 Determinación de prueba estadística*

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), para establecer si existen diferencias significativas en los promedios de superficie manchada para los diferentes tratamientos, considerando un primer análisis entre un mismo producto a diferentes concentraciones, así como también entre todos los productos. Se utilizó un valor de significancia “p” de 0.05, determinando que existen diferencias significativas cuando la probabilidad p del análisis es menor al valor de significancia utilizado. Para esto fue necesario transformar los valores porcentuales de manchado en variables que se aproximen a una distribución normal (normalización de los datos). Además, para determinar qué tratamiento(s) se diferenciaba(n) del resto y con cuáles se obtenían los mejores resultados o qué grupos formaban, se realizó un test de comparaciones múltiples, utilizando el método Tukey. Todos los cálculos estadísticos fueron realizados con el software SYSTAT 8.0 para Windows.

#### 4. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

Durante años se han estado realizando esfuerzos conjuntos en nuestro país para tratar de eliminar un gran problema, el manchado de la madera. Este inconveniente es de suma importancia para los exportadores, los cuales ven disminuido el valor de sus productos a raíz de las proliferaciones miceliales que sufren los embarques de madera.

Como se aprecia, la lucha con estos organismos degradadores es muy compleja, ya que son capaces de proliferar en un sin fin de ambientes. Esta lucha se ha basado principalmente en encontrar productos químicos alternativos al pentaclorofenato de sodio, el cual fue prohibido en Chile en el año 1999. Sin embargo, esta búsqueda no ha sido exitosa, ya que generalmente estos alternativos tienen un costo muy elevado en comparación al PCP, generándose en concordancia nuevos productos como es el caso del analizado en el presente ensayo.

##### 4.1 Verificación del complejo de prueba inoculado

El análisis de los hongos manchadores debe partir de la premisa que las esporas son las responsables de su propagación. Éstas necesitan para su germinación un sustrato (madera) y condiciones adecuadas de temperatura, humedad y oxígeno. Una vez germinada la espora, crece una hifa que dará lugar a un micelio; esta formación es la responsable de la coloración que se observa a simple vista en madera atacada por hongos o mohos.

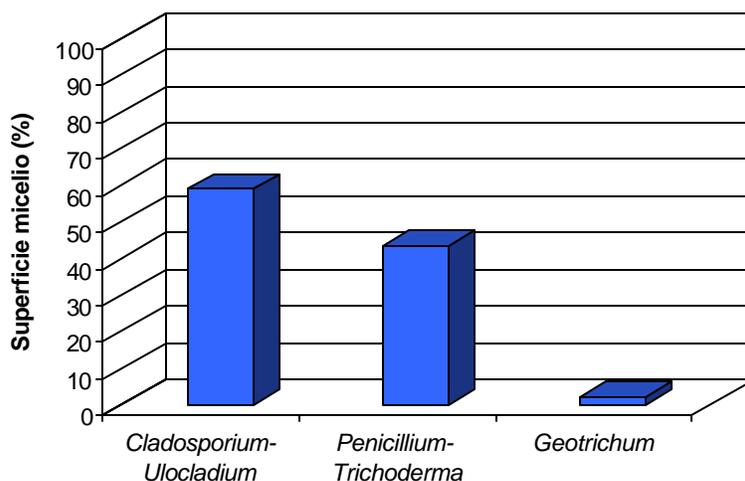


Figura 1. Superficie aproximada con presencia de micelio para hongos manchadores, correspondiente al tratamiento testigo, después de cuatro semanas.

El presente ensayo tuvo por finalidad establecer la relación entre los productos utilizados y el desarrollo miceliar sobre la superficie de las probetas. Para ello se utilizó un grupo de manchadores superficiales que se presentaron en la madera

afectada en los mercados centroamericanos, considerándose también la utilización de algunos organismos que normalmente se encuentran atacando la madera. Esta consideración se hizo con el propósito de acercarse en lo posible a las condiciones reales a la cual puede ser sometida la pintura.

En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos luego de las cuatro semanas de incubación, expresados en porcentaje promedio de superficie manchada. Estos valores se obtuvieron luego de un análisis con microscopio óptico, lo que permitió verificar que los hongos desarrollados sobre las probetas fueron aquellos inoculados. Sin embargo, se debe dejar en claro que los porcentajes obtenidos no son de ninguna forma absolutos, siendo sólo una aproximación (apreciación realizada con lupa) de las diferentes coloraciones de hifas.

Se aprecia que el mayor desarrollo correspondió a la mezcla de *Cladosporium cladosporioides* y *Ulocladium atrum* con 58,75% de las probetas manchadas. No se diferenció entre el crecimiento de estos organismos, ya que visualmente tienen el mismo color y apariencia. Además, durante el ensayo se observó que aunque las colonias de *Cladosporium* poseen la mayor superficie manchada, las colonias son más bien de lento crecimiento. Esta situación se ve corroborada por Coperfil (2001), quien además define que la mayoría del conjunto de hifas son café olivácea a café oscura pero también algunas veces grises, ante o café, con una apariencia velluda, a menudo llegando a ser polvoriento debido a la producción de abundantes conidios. En el caso de *Ulocladium* también presenta hifas oscuras con un matiz grisáceo o aparecen manchas distintivas sobre la fibra como formación visible del moho (Young, y Loughman, 2001).

Posteriormente, se encuentra la combinación de *Penicillium frequentans* y *Trichoderma viride* con 43,5% de la superficie afectada, no siendo posible su separación visual por poseer una coloración miceliar muy parecida. Estas dos especies de mohos poseen hifas hialinas al comienzo de su desarrollo, caracterizándose posteriormente por una producción de esporas con una coloración verdosa, situación ratificada por Mold-Help (2000) en el caso de *Trichoderma* y de Malloclab (2000) en el caso de *Penicillium*. No obstante, dada la cualidad de hifas hialinas al principio de su desarrollo, es posible que estos organismos posean un mayor porcentaje de superficie afectada que la estimada visualmente. Para comprobar esta situación se sugiere realizar en ensayos posteriores un análisis microscópico más detallado de los organismos inoculados.

Por otra parte, este conjunto de organismos se destacó por su agresividad, mostrando un rápido desarrollo transcurrida la primera semana. Esto permite reconocer que estos organismos son capaces de colonizar una amplia variedad de sustratos, extendidos desde el suelo, pasando por comestibles y hasta los materiales de construcción como la madera. Según Mold-Help (2000) esto se debe a que estos sustratos son ricos en carbohidratos y/o proteínas. Asimismo, Williams (1991a) reconoce a *Trichoderma* (moho verde), como un organismo muy preservante y rápido en su desarrollo, además de ser muy resistente a numerosos funguicidas. Esto queda de manifiesto si se analiza la Figura 2, donde todas las muestras de pintura

se mancharon, principalmente por la acción conjunta de este organismo y *Penicillium frequentans*.

En último término, se presenta en menor proporción *Geotrichum candidum* con 2,3% de probetas manchadas. Es el único de los mohos que no presenta un micelio colorido, por lo que su identificación fue un poco más difícil. Además es mucho más lento en su desarrollo y menos agresivo. A través de los análisis hechos por García-Guinea *et al.* (2001), es posible también reconocer que éstos se hayan comúnmente en las proximidades de la vida humana, por lo que su utilización como hongo de prueba es justificable.

A través de la revisión de las probetas testigo fue posible determinar que los mohos utilizados estaban viables, puesto que casi el 100% de las repeticiones estaban manchadas (Anexo 2). No obstante, la presencia de los organismos fue mucho más notoria en la pintura sin el preservante, la cual estaba 100% manchada a los cinco días de establecido el ensayo.

Finalmente, en el Anexo 8 se detallan los resultados de las muestras de madera que Bioforest envió al laboratorio del Instituto de microbiología de la Universidad austral de Chile, para determinar los organismos presentes en ellas. Se aprecia claramente que existe una gran cantidad de mohos muy agresivos como son *Penicillium* y *Trichoderma* y también algunos mucorales de más lento desarrollo. Sin embargo, resalta el hecho que en estas muestras se presentan organismos pudridores como *Schizophyllum commune*, el cual necesita un tiempo muy largo (superior a seis meses) para desarrollarse y manifestar su cuerpo fructífero. Probablemente la troza, desde la que se obtuvieron las piezas de madera, ya exhibía el inóculo. Posteriormente, al proporcionarle las condiciones ambientales óptimas fue capaz de progresar hasta manifestar su fase sexual o cuerpo fructífero, conocido vulgarmente como callampa. Según Smith *et al.* (1992), la colonización por este tipo de organismos está asociada a pérdidas sustanciales en las propiedades mecánicas del material. Así, estos organismos de pudrición rompen las uniones entre las moléculas de glucosa, debilitando la estructura de la madera.

Por lo tanto, es posible que una de las principales razones del manchado de la madera en los mercados centroamericanos no sea la ineficiencia del baño antimancha, sino el excesivo tiempo de permanencia de la madera en el puerto de embarque o la excesiva vida útil que le otorgan a los Pallets utilizados en el transporte de las cajas bananeras.

Además, en este momento se han instalado secadores en los mercados afectados, con la finalidad de reducir el contenido de humedad y evitar las proliferaciones de los mohos, la cual sólo puede ser considerada una solución parche, en vista del costo económico que esta medida tiene a largo plazo. Quizás una solución mucho más eficiente sería la utilización de cámaras herméticas, que aunque tienen un costo elevado, es muchísimo menor al que experimenta actualmente AASA.

## 4.2 Pintura y producto antimancha utilizado

Referente al producto en sí, se hace referencia a la pintura con y sin preservante antimancha. Se identifica a la pintura sin el preservante como M1 y a la pintura con el preservante como M2, M3 y M4, aclarando que el número menor corresponde a la concentración más baja y el mayor a la más alta. Además, en el Anexo 5 se presenta la descripción y el esquema de aplicación de la pintura, la cual se realizó utilizando como solvente agua en una relación peso-volumen.

Como dije anteriormente los productos alternativos desarrollados hasta ahora no han logrado igualar la eficiencia y el costo del PCP, el cual, en la mayoría de los casos es sólo un tercio del costo del tratamiento por m<sup>3</sup> de producto alternativo. Por esto, los exportadores están empeñados en aplicar todos los avances de la tecnología para obtener un producto de probada eficacia y que no sea dañino para el ambiente.

Estos avances en las técnicas de control han llevado a generar productos que se basan en protecciones superficiales como la pintura que se ensayó. Aunque son muy pocos los estudios al respecto, no se debe desconocer que los baños antimancha aplicados hoy en día no aseguran que la madera no vaya a mancharse en el trayecto marítimo o en el puerto de embarque, por lo cual se postula esta nueva fase de ensayos que aumente el nivel de protección al producto.

La idea principal del presente ensayo fue probar en laboratorio la eficacia de la pintura sin el preservante antimancha y aquella mezclada con éste. La posibilidad de utilizar sólo la pintura se basó en el hecho que ésta podía servir como aislante, de tal forma de influir sobre uno de los elementos que permiten el desarrollo de los mohos, es decir, el alimento. No obstante, la mayoría de las pinturas se fabrican con componentes orgánicos, los cuales favorecen directamente el desarrollo de estos organismos sobre la superficie de la madera.

Como medición paralela se determinó la absorción de pintura sobre las probetas, con la finalidad de relacionarla con el porcentaje de manchado que sufrieron las muestras. Esta medición no había sido considerada en una primera instancia, ya que todos los estudios anteriores se habían realizado sobre la base de soluciones, pudiendo relacionarlas directamente con el pH de la madera. En cambio, la pintura por ser más viscosa, sumado a la mezcla con el preservante, es más difícil determinar cuál proporción de esa absorción es responsabilidad de la reacción del producto antimancha con la madera.

Referente al producto antimancha, la idea fue probar una pintura, en mezcla con el preservante. Para ello se utilizaron tres concentraciones dadas por el fabricante del producto (Härting), observándose la muestra menor (M2) con un 1,4% sobre pintura seca. La siguiente muestra (M3) presenta un 2,3% y finalmente M4 con un 4,6%. Aunque las concentraciones son altas, debe recordarse que no se aplica en solución, sino mezclada con la pintura, por lo que su efectividad puede verse reducida.

Asimismo, en el estudio realizado por Meier (1998), se utilizaron productos derivados de Cobre, pero en una menor concentración. Los resultados encontrados indican que la mayoría de las probetas se vieron afectadas por micelio, igual a lo ocurrido con la formulación de pintura, considerándose entonces la posibilidad de aumentar la dosis del preservante antimancha en futuros ensayos.

### 4.3 Superficie con presencia de micelio

El Cuadro 2 y Figura 2 presentan los resultados de los promedios de superficie con presencia de micelio, obtenidos al aplicar cada uno de los productos en sus diferentes concentraciones, después de la cuarta semana.

Cuadro 2. Porcentaje promedio de superficie de probetas con presencia de micelio, para todos los tratamientos

Tratamiento	Porcentaje de Micelio
Pintura Primer Blue (M1)	100.00
Formulación pintura 1,4% (M2)	60.60
Formulación pintura 2,3% (M3)	43.35
Formulación pintura 4,6% (M4)	20.25
PCP-Na 2%	00.00
PQ-8 2,5%	00.00
Testigo tratado (caldo malta al 2%)	99.60
Testigo	95.80

Los resultados obtenidos para el tratamiento testigo tratado con caldo malta muestran la viabilidad de los manchadores superficiales, con un 99,6% de micelio al finalizar el ensayo. En el caso del testigo se aprecia un menor desarrollo de los organismos (95,8%), por lo cual se puede pensar que la madera presentaba un porcentaje mayor de sustancias que los mohos no podían degradar. Cabe recordar que una de las condiciones primordiales para el crecimiento miceliar es la presencia de nutrientes en la madera, los cuales le sirven de alimento.

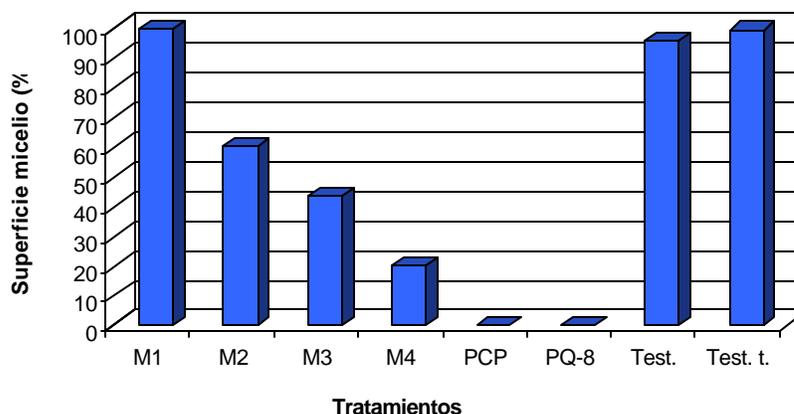


Figura 2. Superficie con presencia de micelio para todos los tratamientos, pasadas cuatro semanas.

En el primer ensayo que se estableció, las probetas testigo no se mancharon a diferencia de la pintura que sí lo hizo. Para subsanar esta problemática se estableció una comisión evaluadora entre el profesor patrocinante y uno de los informantes del presente trabajo, sumado a la colaboración prestada por un docente del Instituto de Tecnología de Productos Forestales de la Universidad Austral de Chile. A través de ésta, se recomendó realizar un segundo ensayo con un tratamiento testigo sin tratamiento y uno con caldo malta, reutilizando las muestras ocupadas en primera instancia.

Aunque la norma utilizada no contempla el uso de un control tratado, fue necesario establecer un segundo ensayo con éste para asegurar el desarrollo de los mohos, situación que no ocurrió en una primera instancia. La norma ASTM indica claramente que si no se observa crecimiento sobre los controles no tratados, se deben descartar todos los resultados de la prueba y repetir el ensayo. De esta forma, al establecer el segundo ensayo, las probetas del tratamiento testigo fueron reutilizadas y divididas a la mitad, para cumplir con igual tamaño muestral. Esta situación no influyó en la medición de la superficie manchada, ya que éstas fueron hechas en porcentaje del área afectada en cada probeta.

En el caso de los productos patrón utilizados se aprecia un nulo desarrollo del micelio fúngico. Ambos productos (PCP-Na y PQ-8) ratifican sus excelentes propiedades en la inhibición de patógenos manchadores superficiales.

Finalmente, se observan los resultados de la pintura, con un nulo efecto inhibitor de los manchadores y una tendencia a mancharse rápidamente. Se observa que a mayor concentración menor es el porcentaje de superficie afectada, pero sin demostrar capacidad de obtener la mínima formulación que es efectiva para inhibir el desarrollo de los mohos.

#### 4.3.1 Pintura y Formulación de pintura

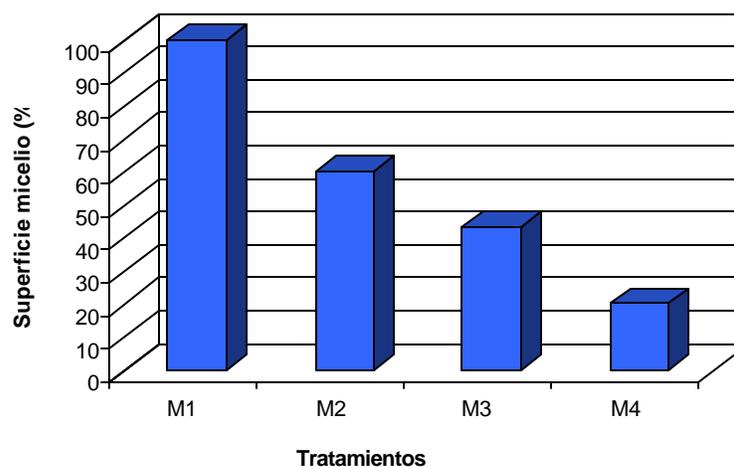


Figura 3. Superficie con presencia de micelio en probetas tratadas con pintura y formulación de pintura, después de 30 días.

En la Figura 3 se aprecia el efecto de la formulación de pintura y sólo la pintura en prevenir la proliferación del complejo de prueba inoculado. En el caso de M1 (pintura solamente) ésta se manchó a los cinco días de haberse inoculado el complejo de prueba y al pasar las cuatro semanas el desarrollo miceliar fue del 100%. Probablemente, dentro de los ingredientes de ésta se encuentra almidón, representando un sustrato ideal para los mohos, sumado a la presencia de temperatura y humedad ideales.

La finalidad era en primera instancia determinar si la pintura solamente era capaz de inhibir el desarrollo de los mohos, ya que la protección superficial aplicada normalmente pretende impedir el deterioro que promueven los ataques de organismos vivos (hongos, insectos) y los agentes atmosféricos (humedad y luz solar). Esto aumenta la durabilidad, ayuda a conservar la calidad y hace más rentable y atractivo el uso y comercialización de la madera. Sobretodo es importante en mercados extranjeros, donde la apariencia del producto es muy importante. Además, de acuerdo a lo expresado por The Paint Research Association (P. R. A.) (2001), una de las más notables realizaciones ha sido el desarrollo del alto desempeño de pinturas basadas en agua y que son ambientalmente amistosas. Sin embargo, si estos esfuerzos no se acompañan de cuidados en las resinas e ingredientes que puedan poseer estos revestimientos, los esfuerzos serán en vano, ya que no se cumple con el objetivo de proveer a la madera de una buena apariencia estética.

En relación a las muestras que se encontraban mezcladas con el preservante antimancha, la situación es parecida, donde ninguna de las tres concentraciones probadas permitieron inhibir el desarrollo fungoso. La concentración más baja (M2) es la que presenta el mayor porcentaje de manchado superficial con 60,60%, seguido de M3 con 43,25% y por último M4 con 20,25%. Las proliferaciones algodonosas se manifestaron cercano a la segunda semana y se hicieron más intensas al término de las cuatro semanas, siendo afectadas en mayor medida por los géneros *Penicillium* y *Trichoderma*. En concordancia, Meier (1998), observó que los dos productos derivados de cobre utilizados en el ensayo no fueron capaces de combatir a *Ceratocystis pilifera* en el manchado de las probetas, en ninguna de sus concentraciones. Aunque el agente manchador es diferente al de este ensayo, la comparación es válida ya que este organismo es el más agresivo reportado en Chile.

Los resultados obtenidos con la formulación de pintura permiten establecer que no se cumplen las recomendaciones dadas por el fabricante, ya que se asegura que el producto posee excelente protección contra hongos y bacterias. Esto es de suma importancia, debido a que el producto sólo ha sido probado en laboratorio donde las condiciones ambientales son totalmente controladas, a diferencia de lo que ocurre en el ambiente natural donde las fuentes de inóculo son mucho mayores y los cambios de temperatura y humedad son muchísimo más agresivos. Además, se debe considerar que para el desarrollo de un producto antimancha es necesaria la realización de etapas de terreno, las cuales no pueden ser llevadas a cabo porque el producto demostró ineficacia en todos las concentraciones ensayadas.

Por otra parte, es importante mencionar que con excepción de la concentración más alta (4,6%), la totalidad de los tratamientos de la formulación de pintura incluían varias probetas con más del 50% de micelio (Anexo 3). Ante esto, Morrel *et al.* (2002) explica que idealmente un efectivo antimancha químico debiese proveer protección uniforme, dejando sólo unas pocas tablas con decoloración sustancial, lo cual en este caso no ocurre, existiendo en la concentración menor (1,4%) al menos 10 repeticiones con sobre el 50% de manchado superficial.

En resumen, es posible explicar que los resultados obtenidos con la formulación de pintura no fueron satisfactorios (Anexo 11), debido a que las concentraciones del ingrediente activo ensayado posiblemente fueron muy bajas o que la mezcla con la pintura, asumiendo que contenía un ingrediente orgánico, favoreció el crecimiento de los mohos. Esto permitiría desarrollar un nuevo ensayo donde se considere la utilización de concentraciones más altas o una reformulación de la pintura utilizada, dado que no es posible seguir con los ensayos de terreno por el nulo efecto inhibitor mostrador por el producto.

#### 4.3.2 Productos patrón y testigo

Ninguna de las probetas tratadas con Pentaclorofenato de sodio al 2% registraron crecimiento de micelio una vez finalizado el ensayo (Figura 4). Esto demuestra una vez más sus excelentes propiedades como funguicida, situación claramente expresada por los ensayos anteriores realizados sobre la misma base.

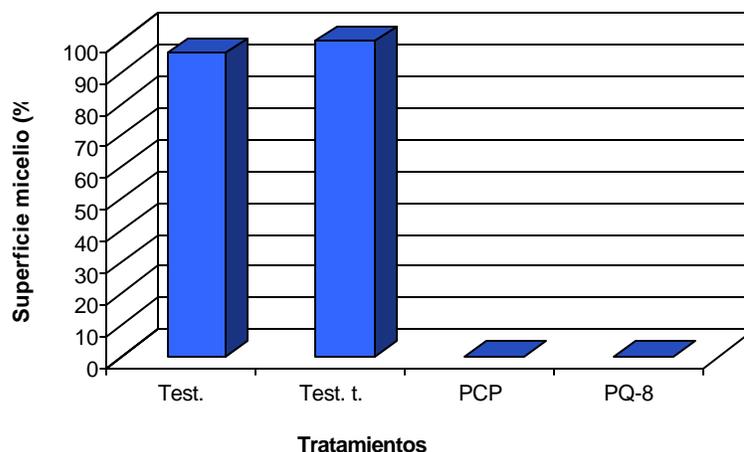


Figura 4. Superficie con presencia de micelio en probetas testigos y patrones, después de 30 días.

Sin embargo, resalta el hecho que se utilizó un producto antimancha alternativo al PCP-Na como patrón. Esta decisión fue tomada en una segunda instancia, por recomendaciones de los profesores de la comisión evaluadora, en vista que el Pentaclorofenato es un producto que ha sido prohibido en Chile desde el año 1999. Por esta razón surgió la posibilidad de ocupar un segundo producto de referencia,

que fuera alternativo y que estuviera siendo usado en este momento en algún Aserradero.

Como primera opción surge Tribromofenol (TBP), pero éste no puede ser considerado como alternativo al PCP, ya que en su estructura sólo se alteran las 5 moléculas de cloro por tres de bromo siendo, por lo tanto, similar a él.

Por lo tanto, se concibió como apropiado el empleo de PQ-8 al 2,5% de concentración, ya que su ingrediente activo es, de igual forma que la formulación de pintura, Oxina de Cobre. Este activo como dice Montes *et al.* (2001), ha resultado efectivo frente a hongos manchadores, mohos y pudridores, siendo además relativamente bajo en toxicidad para el ser humano y presenta bajo riesgo ambiental.

Los resultados expresados en la Figura 4 demuestran que este producto usado al 2,5% de concentración, provee una efectiva inhibición de los manchadores superficiales (Anexo 10). AASA lo utiliza actualmente en dos de sus Aserraderos, sirviendo de referente para la elección del patrón alternativo. Sumado a lo anterior Montes *et al.* (2001) señala que este producto ha demostrado ser efectivo en todas las pruebas realizadas por Aserraderos Mininco, aunque se constatan acumulaciones puntuales del producto sobre la madera que se manifiestan en coloraciones verdosas. Esta situación se observó en algunas probetas bañadas con PQ-8, pero su aparición solo fue marginal en las probetas bañadas con este producto.

En el caso de las probetas testigo, éstas presentaron un máximo desarrollo del micelio de los mohos inoculados (95,8%). Todos aquellos que fueron probados surgieron al término de las cuatro semanas de estudio, en mayor o menor proporción, demostrando la viabilidad de estos organismos y logrando finalmente validar el ensayo. Las cepas utilizadas fueron aisladas de material leñoso o del suelo, lo cual aumentó la supervivencia de los manchadores superficiales al ser inoculadas en las muestras.

Sin embargo, era de esperar que luego de haberse presentado un nulo desarrollo micelial (controles) en el primer experimento, ocurriera una situación similar en el segundo, lo cual no fue así. Esta aparente contradicción puede ser explicada porque en la primera oportunidad las probetas no fueron esterilizadas, debiendo los organismos inoculados competir por los recursos limitados con aquellos hongos que ya estaban presentes en la madera, demostrando finalmente estos últimos una mayor agresividad. En cambio, al haberse autoclavado las probetas en el segundo ensayo, las moléculas de lignina y celulosa fueron hidrolizadas, dejando libres compuestos que los mohos pueden utilizar fácilmente como alimento. En primera instancia no se consideró necesario esterilizar las probetas, ya que aquellas usadas para la pintura no tuvieron este proceso. No obstante, dada la excesiva manipulación del material en la segunda oportunidad, se insistió en esta posibilidad, trayendo como resultado lo expuesto anteriormente.

Por otra parte, en la Figura 4 también se aprecia que existe un testigo tratado, el cual la norma utilizada no lo considera. Sin embargo, fue necesario asegurar el desarrollo

miceliar aplicando extracto de caldo malta al 2%. Por esta razón, las proliferaciones algodonosas en este caso son mayores (99,6%), ya que se les suministra a los organismos un sustrato ideal para su óptimo crecimiento.

En suma, la totalidad de los tratamientos testigo y testigo tratado incluían probetas con superficie afectada por micelio sobre el 80% (Anexo 2), con una desviación estándar de 6.2% muy inferior a lo obtenido para la formulación de pintura. Esta situación se debe al hecho de contar con un sustrato adecuado, humedad alrededor del 70% (ideal para el desarrollo) y temperatura de 24°C como promedio, sumado a la viabilidad del complejo de prueba.

Finalmente, se puede afirmar que el PCP-Na al 2% de concentración, es el producto químico antimancha más efectivo en la prevención del manchado de la madera, pero por haber sido prohibida su venta en Chile, no debiese ser utilizado en futuros ensayos de laboratorio. PQ-8 presentó una excelente efectividad al 2,5% de concentración, considerando que es alternativo, sirviendo como referente para futuros ensayos. No obstante, por el elevado costo que significa su adquisición, no es recomendable su uso masivamente. En el caso de los testigos se aprecia que ambos presentaron un excelente desarrollo del micelio fúngico demostrando alta actividad de los mohos, con un mayor desarrollo en el testigo tratado, consecuencia de la aplicación de caldo malta que representa un sustrato ideal para los organismos.

#### **4.4 Diseño estadístico**

El objetivo que se persigue normalmente en el establecimiento de un experimento es encontrar un tratamiento que proporcione la respuesta deseada con la hipótesis de investigación, de tal forma de poder evaluar los resultados encontrados.

En este caso, para que el presente estudio tenga validez estadística debió cumplir un diseño que permitiera medir las observaciones de superficie con presencia de micelio para los diferentes tratamientos; en este caso la pintura, formulación de pintura (tres concentraciones), patrones y testigos.

Partiendo de la base del diseño estadístico, es decir, que la elección de las unidades muestrales sea hecha en forma aleatoria, se procedió a seleccionar las probetas de acuerdo a esta premisa. Esto condujo a la medición de ocho características para un solo factor, que en este caso son los tratamientos, con 20 repeticiones cada una, sumando en total 160 probetas evaluadas.

Para realizar el análisis estadístico, fue necesario transformar los valores porcentuales de manchado, obtenidos en cada tratamiento, en una variable que se ajustara con alguna aproximación a una distribución normal con varianzas homogéneas. Una vez obtenida la transformación, se procedió a realizar el análisis de varianza para las concentraciones ensayadas, como también para todos los tratamientos, independiente del producto.

En primera instancia se buscó validar estadísticamente los resultados de superficie manchada encontrados para la pintura y formulación de pintura. Esto se obtuvo con el análisis de varianza, el cual demuestra claramente que se presentan diferencias significativas en cuanto al porcentaje de ataque sufrido por las probetas (Figura 5).

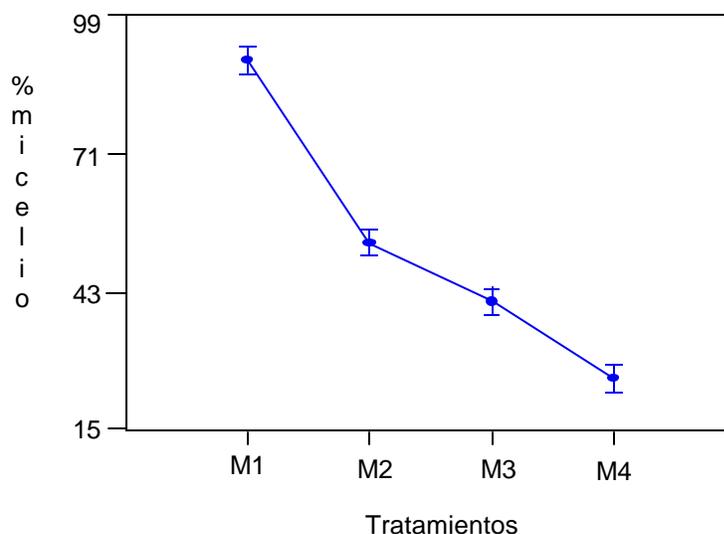


Figura 5. Análisis de varianza para el porcentaje de superficie manchada dentro de la pintura y formulación de pintura.

De acuerdo a Kuehl (2001), la hipótesis de nulidad que normalmente se plantea es que los tratamientos no difieren entre sí para el factor analizado. En el caso del presente trabajo, es que no existe diferencia entre los cuatro tratamientos de pintura en cuanto al desarrollo de los mohos sobre la superficie de las probetas. Claramente se aprecia lo contrario (Anexo 9), donde es posible rechazar la hipótesis de nulidad y aceptar la hipótesis alternativa de que los tratamientos difieren respecto al porcentaje de manchado.

Cuadro 3. ANOVA realizado para todos los tratamientos, sin diferenciar productos, con un valor de significancia  $p$  menor a 0,05

Fuente Variación	Suma Cuadrados	Grados Libertad	Cuadrados Medios	Razón $F - P$
Entre Grupos	150033.611	7	21433.373	252.72 - *
Dentro de grupos	12897.325	152	84.811	

(\*) Existen diferencias significativas

Al confrontar todos los tratamientos, sin diferenciación de producto, se comprobó que existían entre ellos diferencias significativas (Cuadro 3). Esto indica que hay suficientes razones para pensar que las medias de los distintos tratamientos son diferentes entre sí y que, por lo tanto, difieren respecto a la superficie afectada por el micelio de los hongos. Sin embargo, no se puede establecer cuales grupos son superiores en forma individual, que es justamente lo que más interesa.

Para solucionar este dilema existen diferentes procedimientos, entre los cuales se encuentra el método Tukey. Según Kuehl (2001), éste proporciona una tasa con respecto al experimento en el sentido fuerte, para comparaciones en pares de todas las medias de tratamiento. Así, al confrontar todos los tratamientos, sin diferenciar producto de origen, se comprobó la formación de cinco grupos homogéneos, destacándose los tratamientos patrón por una parte, indicado que éstos son similares en cuanto a la eficacia en prevenir el porcentaje de superficie afectada. El segundo, tercer y cuarto grupo están formados por las tres muestras de la formulación de pintura, lo que permite estimar que existen diferencias entre los tres tratamientos en prevenir el manchado de la madera, siendo el tratamiento más efectivo el que posee la concentración más alta de la Oxina de Cobre (4,6%). Finalmente, se observa un quinto grupo con los tratamientos testigo.

Sin embargo, se ha podido establecer las diferencias existentes entre las medias muestrales, pero no es posible hacer inferencias sobre la magnitud de la desigualdad.

#### **4.5 Medición de la superficie manchada**

La norma utilizada indica solo subjetivamente la forma de medir el porcentaje de manchado. Parte de la base de una estimación del crecimiento del hongo visualmente, con un conteo usando una escala de 0 a 5, siendo 5 la máxima intensidad. Por esta razón, surge la idea de usar métodos ya comprobados, los cuales son de gran ayuda, además que simplifican enormemente el procesamiento y manipulación de los datos.

La principal ventaja del método de medición utilizado radica en la capacidad de obtener porcentualmente y en forma objetiva el porcentaje de ataque. La malla cuadrículada posibilita la medición de una gran cantidad de probetas en un corto período de tiempo y con gran exactitud.

Otra ventaja importante del método es la confiabilidad que presentaría al relacionar el porcentaje de mancha con la absorción de la pintura en las probetas. Por tratarse de valores más exactos, el error de muestreo es mucho menor.

Además, demostró su utilidad al evaluar las probetas de los tratamientos testigo. Éstas tuvieron que dividirse, por lo que fue necesario ajustar el número de divisiones hechas a la malla, de tal forma de considerar 100 partes iguales. Entonces queda demostrado que el tamaño de las probetas no influye en la utilidad práctica de la malla, recomendándose su utilización para futuros ensayos.

#### **4.6 Técnica aplicada**

De la misma forma que Contreras (1998), al implementar el ensayo se debieron realizar algunas modificaciones a lo establecido por la Norma ASTM 4445-91, la cual

especifica una metodología estandarizada para este tipo de experimentos de laboratorio.

#### 4.6.1 Reconocimiento del Sustrato

Una de las primeras consideraciones de la Norma utilizada, plantea la obligatoriedad de usar la albura de especies seleccionadas, verde (contenido de humedad superior a 40%), libre de nudos, sin daño visible, no manchado y libre de hongos.

En el presente ensayo la primera modificación a la Norma, fue la utilización del secado de las probetas a las cuales se le aplicó la pintura. De acuerdo al Centro Regional de Ayuda Técnica (RTAC) (1985) el secado de la madera es un proceso complejo y difícil, que requiere de un estudio acabado de las especies. En este caso, se trata de madera de albura la que por lo general es muy permeable y posee un movimiento de agua generalmente más rápido que la madera del corazón de las mismas especies. Esta diferencia se produce principalmente por el hecho que las aberturas en la estructura de la madera del corazón están parcialmente tapadas.

Asimismo, la RTAC (1985) reconoce que las temperaturas altas y la baja humedad relativa estimulan el movimiento de la humedad y aceleran el secado. Sin embargo, estas condiciones no se pueden aprovechar en demasía, so pena de que se presenten grietas en las orillas y un exceso de contracción. No obstante, en el caso del presente ensayo las probetas son de pequeña dimensión, por lo que la influencia del proceso de secado no es influyente en las propiedades de resistencia ni de sustrato para los hongos que fueron inoculados\*.

Otra de las modificaciones realizadas se basó en utilizar un testigo tratado con caldo malta al 2%. Esta posibilidad fue considerada luego que el primer ensayo establecido fracasó, ya que el tratamiento testigo no se manchó dentro de las cuatro semanas de incubación, contrario a lo ocurrido con las probetas a las cuales se les aplicó la pintura. El ensayo se invalidó por la imposibilidad de verificar que los hongos estaban viables.

Los resultados demostraron que la elección de la madera quizás no fue la adecuada, presentando una gran proporción de moléculas de difícil descomposición para los mohos. Por esta razón se utiliza madera de albura, la cual es rica en compuestos orgánicos que los hongos pueden utilizar inmediatamente, debido a que no poseen las enzimas necesarias para disolver las paredes celulares de las células duraminizadas. Según RTCA (1985), a medida que las células de la albura se convierten en duramen, se infiltran en ellas materiales que reducen su permeabilidad. Las probetas de madera fresca de albura de *Pinus radiata* que se almacenaron en bolsas de polietileno a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante dos semanas, no mostraron evidencia de haber perdido sus cualidades como sustrato, de acuerdo al crecimiento del hongo de prueba observado en las probetas testigo. Estos resultados concuerdan con los

---

\* Inzunza, L. 2002, Instituto de Tecnología de Productos Forestales, Universidad Austral de Chile, Comunicación personal

hallados por Saelzer (1993), Meier (1998) y Contreras (1998). Sin embargo, este crecimiento está fuertemente influenciado por el proceso de esterilización aplicado a las probetas en el segundo ensayo, lo que permitió la liberación de compuestos que sirven de alimento a los mohos.

El presente ensayo reportó un manchado mayor con la inclusión de los testigos tratados con caldo malta en comparación a las probetas no tratadas. Esto comprueba que los manchadores superficiales utilizados se desarrollan más rápidamente y mejor con una fuente de alimento fácilmente disponible.

#### *4.6.2 Ambiente de cultivo*

Dentro de este contexto se deben considerar tanto la temperatura como la humedad que experimentó el ensayo, durante sus cuatro semanas de duración. La referencia se hizo directamente de la norma utilizada, con las variaciones correspondientes al tipo de ensayo realizado.

La temperatura de incubación según la bibliografía se encuentra entre  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  (Peña, 1988; Peredo, 1980, Saelzer, 1993). Sin embargo, para el presente trabajo se contó con una temperatura promedio de  $24^{\circ}\text{C}$ , la cual fue suficiente para el desarrollo del complejo de manchadores superficiales. En un primer término se puso en tela de juicio el rango de temperatura que se iba a utilizar, dado que algunos de los hongos fueron aislados de muestras entregadas por Bioforest, las cuales provenían de los mercados centroamericanos. No obstante, esta situación quedó zanjada con la intervención del docente de la Universidad Austral de Chile, Eduardo Valenzuela\*, el cual observó un crecimiento normal de los hongos en su laboratorio.

En cuanto a la humedad, la norma ASTM (1996) recomienda 10 ml por cada probeta. Pero ensayos anteriores (Meier, 1998; Saelzer, 1993) declaran que esta cantidad es excesiva, por lo que a cada una de las probetas se le aplicó una cantidad de 8 ml. Posteriormente a cada probeta se le fue verificando el contenido de humedad, colocando más agua cuando fuera necesario. Al finalizar el ensayo aún se observaba acumulaciones de agua en algunas placas, por lo que quizás debiese reducirse aún más el contenido de humedad de ellas, de tal forma de impedir la saturación de las placas y favorecer el desarrollo correcto de los organismos.

Es destacable el hecho del recubrimiento con las bolsas de polietileno, que ayudan a mantener la humedad relativa más alta, evitando la rápida deshidratación de las probetas y manteniendo más estables las condiciones ambientales para el desarrollo óptimo de los mohos.

---

\* Valenzuela, E. 2002, Instituto de Microbiología, Universidad Austral de Chile, Comunicación personal

#### 4.7 Absorción y otras mediciones

La determinación de la absorción de pintura y formulación de pintura, radicaba exclusivamente en la petición de los técnicos de Sherwin Williams. Sin embargo, luego de analizar detenidamente la situación se apoyó tal decisión basado en los antecedentes bibliográficos recopilados. No debe olvidarse la importancia de conocer este aspecto, ya que una mayor absorción de pintura, debiese indicar una mejor protección.

Tanto la pintura y las formulaciones de pintura fueron aplicadas por inmersión. La principal consideración al momento de elegir el sistema de aplicación fue el tamaño de las probetas, el cual hacía imposible utilizar rociadores, puesto que no es viable entregar la misma cantidad de pintura a cada una de las muestras. Según Morrel *et al.* (2002), los sistemas de rociadores aplican cantidades muy pequeñas de químicos antimancha, siendo difícil establecer un test de manchado, debido al problema de remover todos los residuos químicos del sistema por las formulaciones previas. Sin embargo, las inmersiones utilizadas normalmente aseguran que el químico toque a nivel de toda la superficie de la madera, minimizando el riesgo de contaminación entre las diferentes formulaciones aplicadas. Así, los resultados corresponden al efecto del ingrediente activo sobre la especie de madera elegida y no a la capacidad de un sistema particular de rociado de entregar químicos a una concentración y patrón deseado.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de absorción promedio de la pintura y formulación de pintura en sus tres concentraciones. En primer término, se aprecia que la mayor absorción la presenta la formulación M3 (37,01%), seguida de M2 (32,79%) y luego la pintura M1(31,48%). La menor absorción se encuentra en M4 (27,38%), contrariamente la muestra que posee el porcentaje más alto de Cobre-8.

Cuadro 4. Valores promedio de absorción ( $l/m^3$ ) de las probetas tratadas con la pintura y formulación de pintura

Producto	Absorción ( $l/m^3$ )
Pintura Primer Blue (M1)	31.48
Formulación pintura 1,4% (M2)	32.79
Formulación pintura 2,3% (M3)	37.01
Formulación pintura 4,6% (M4)	27.38

En una primera revisión se tendería a pensar que la formulación con la más alta concentración debiese tener el mayor porcentaje de absorción, dado que es la muestra que provee la mayor protección contra el manchado superficial (Figura 3). Sin embargo, ésta es la que presenta el menor porcentaje de absorción comparado a las demás probetas. Esta situación podría deberse a una reacción química de la madera con el producto, que restringió la normal absorción de la pintura, considerando que las diluciones fueron para todas las muestras iguales (Anexo 5). Esta situación no sería atribuible a la madera utilizada, ya que se puede asegurar que las probetas utilizadas provienen del mismo trozo de madera, por lo que

variaciones de granulometría y densidad pueden considerarse despreciables y, por lo tanto, no explicarían las diferencias encontradas.

Además, todas las repeticiones presentaron una baja absorción, no habiendo enmascaramiento en el promedio, por la existencia de una gran desviación estándar entre las muestras (Anexo 7).

Cuadro 5. Determinación de la densidad de la pintura y formulación de pintura

Muestra	Volumen picnómetro (ml)	Peso picnómetro <sup>1</sup> (g)	Peso picnómetro <sup>2</sup> (g)	Diferencia (g)	Densidad (Kg/l)
M1 (0,0%)	53.79	63.3532	117.7601	54.4069	1.0115
M2 (1,4%)	53.54	62.8643	120.3480	57.4837	1.0737
M3 (2,3%)	53.63	63.4376	119.6283	56.1907	1.0477
M4 (4,6%)	53.70	62.8379	118.6757	55.8378	1.0398

<sup>1</sup> : sin incluir la pintura, <sup>2</sup> : incluye la pintura

Los antecedentes de la determinación de densidad de la pintura se encuentran en el Cuadro 5. Se observa que para obtener estos valores se utilizó una serie de picnómetros, los cuales son capaces de medir, por diferencia de peso y volumen, la densidad. Además se destaca el hecho que la determinación se hizo sobre la base de la pintura ya diluida, es decir, aquella que había sido aplicada a las probetas. Esta dilución se hizo considerando los antecedentes entregados por el fabricante, las cuales especificaban que es posible diluir la pintura hasta 10% como sea necesario.

Los valores expresan que la muestra M2 es la que posee mayor densidad (1,0737 Kg/l), consistente con la muestra que presenta mayor absorción. La menor densidad la tiene la muestra M1 (1,0115 Kg/l), pero a su vez posee una buena absorción. Esto se debe a que por ser menos densa es capaz de inundar los poros más fácilmente en comparación a M4. Esta formulación también posee una baja densidad, pero una mala absorción, porque la mayor concentración de la Oxina de Cobre puede haber reaccionado con la madera, impidiendo una normal absorción.

## 5. CONCLUSIONES

- Dentro del complejo de mohos utilizados destacaron por su agresividad *Trichoderma viride* y *Penicillium frequentans*, aunque la mayor superficie de las probetas fue afectada por *Ulocladium atrum* y *Cladosporium cladosporioides*.
- Sólo se realizó una aproximación de la superficie afectada por los organismos, recomendándose para futuros ensayos un análisis más detallado, de tal forma de determinar a que agentes es más susceptible la madera de pino insigne.
- La pintura sin el preservante antimancha demostró ser ineficiente para prevenir el manchado de la madera.
- No se determinó la formulación mínima efectiva de la pintura, estableciéndose una base de prueba para nuevos ensayos in vitro, de tal manera de probar mayores concentraciones de material activo o verificar una reformulación de la pintura.
- Se confirma las excelentes propiedades funguicidas de pentaclorofenato de sodio, pero por su prohibición en Chile como antimancha, debe reconsiderarse su utilización como patrón en futuros ensayos.
- PQ-8 demostró ser efectivo al 2,5% de concentración en prevenir el manchado de la madera, pudiendo ser utilizado en futuros ensayos in vitro.
- El tratamiento testigo tratado con caldo malta al 2% demostró un aumento de las cualidades de sustrato de la madera.
- Se recomienda siempre autoclavar las probetas cuando se trabaje con un complejo de mohos, ya que se aumenta la calidad de sustrato de la madera.
- El uso de una malla cuadrículada aumenta la objetividad y disminuye el error de las mediciones, además que hace despreciable el tamaño de las probetas utilizadas.
- Aunque la norma ASTM 4445-91 es de fácil aplicación, debe realizarse un preensayo para familiarizarse con ella.
- Según los antecedentes aportados por Bioforest S.A., se recomienda que los Pallets no sean utilizados por períodos tan prolongados como los actuales, ya que ningún antimancha será efectivo bajo tales condiciones.
- Se recomienda analizar económicamente el transporte de la madera en contenedores herméticos que impidan el desarrollo miceliar.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Aguilar, A. 1985. Descripción e identificación de organismos asociados al azulado de la madera aserrada de Pino Insigne (*Pinus radiata* D. Don). Tesis Ing. For. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. de Cs. Forestales. 89 p.
- Aserraderos Arauco S. A. (AASA). 2000. Resumen. INTERNET: <http://www.arauco.cl> (Abril 12, 2002).
- Butin, H.; H. Peredo. 1986. Hongos parásitos en coníferas de América del Sur. Berlin-Stuttgart, Kramer. 84 p.
- Cabaña, C. 1994. Elementos para potenciar la gestión exportadora. Chile Forestal (214): 38 - 41
- Centro Regional de Ayuda Técnica. 1985. Secado de madera: manual de operaciones para el programa de cooperación. México, AID. 142 p.
- Chiang, G. 1994. Universidad-Empresa: Sociedad con futuro. Chile Forestal (217): 12 - 13
- Contreras, S. 1998. Control químico bajo condiciones óptimas de laboratorio de *Ceratocystis pilifera*, hongo manchador en madera de *Pinus radiata*. Tesis Ing. For. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. de Cs. Forestales. 50 p.
- Coperfil. 2001. Clinical significance of *Cladosporium cladosporioides*. Summary. INTERNET: <http://www.coperfil.com/esp/dossier/acabados.htm> (Octubre 1, 2002)
- De Los Santos, S. 2001. Análisis de varianza. Resumen. INTERNET: <http://www.elosiodelossantos.com/sergiman/archivos/andeva.doc> (Octubre 5, 2002)
- García-Guinea, J.; V. Cárdenas; A. Martínez; M. Martínez. 2001. Fungal bioturbation paths in a compact disk. Summary. INTERNET: <http://tierra.rediris.es/pro/CD-fungi/info.html> (Octubre 5, 2002)
- Gibbs, J. 1993. The biology of Ophiostomatoid Fungi causing sapstain in trees and freshly cut logs. In: Wingfield, M.; K. Seifert; J. Webber (eds.) *Ceratocystis* and *Ophiostoma*; Taxonomy, Ecology and Pathogenicity. United States of America, APS Press. pp: 153-160
- Juacida, R. 1992. Protección de la madera: Agentes causales de degradación. Valdivia, Universidad Austral de Chile. 30 p. (Publicación docente, 37)
- Kuehl, R. 2001. Diseño de experimentos: Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación. México, Thomson Learning. 575 p.

- Lindman, H. 1991. Analysis of Variance in Experimental Design. New York, Springer-Verlag. 514 p.
- Malloclab. 2000. Moulds Research (*Penicillium*). Summary. INTERNET: <http://www.botany.utoronoto.ca/ResearchLabs/MallockLab/Malloch/Moulds/Penicillium.html> (Octubre 1, 2002)
- Martínez, O. 2000. Análisis de varianza. Monografías. INTERNET: <http://www.monografías.com/trabajos7/anva/anva.shtml> (Octubre 5, 2002)
- Medina, R. 1998. Llamado a aumentar la competitividad: Dichos de Carlos Mladinic. Chile Forestal (264): 34 - 35
- Meier, M. 1998. Evaluación en laboratorio de productos antimancha alternativos a los basados en fenoles clorados. Tesis Ing. For. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. de Cs. Forestales. 50 p.
- Mold-Help. 2000. Records research from *Trichoderma viride*. Summary. INTERNET: <http://www.mold-help.org/trichoderma.htm> (Octubre 5, 2002)
- Montes, P.; H. Peredo; D. Lanfranco; S. Ide; H. Dölz. 2001. Una revisión de los productos alternativos al pentaclorofenato de sodio y bromuro de metilo utilizados en el sector forestal. Bosque (Chile) 22(1): 85 - 93
- Morrel, J.; C. Love; C. Freitag. 2002. Preventing discoloration of unseasoned Hem-fir and Douglas-fir lumber with selected fungicide formulations. Forest Products Journal 52(2): 53 - 61
- Mundo pintura. 2000. Informe de Preservación de madera: Resumen. INTERNET: <http://www.mundopintura.com/servicios/preservación.htm> (Abril 12, 2002)
- Pacheco, F. 1992. Comparación de dos técnicas de laboratorio para determinar eficacia de preservantes antimanchas. Tesis Ing. For. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. de Cs. Forestales. 43 p.
- Parra, P.; J. Faúndez; C. Muñoz. 1999. Restricciones fitosanitarias a las exportaciones forestales: Un tupido colador. Chile Forestal (276): 52 - 55
- Peña, R. 1988. Determinación de la eficacia de productos antimanchas sin fenoles clorados en su formulación. Tesis Ing. For. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. de Cs. Forestales. 35 p.
- Peredo, M. 1980. Determinación de la eficacia de algunos preservantes antimanchas. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. de Cs. Forestales. 14 p. (Publicación Técnica, 5)

- Peredo, M.; C. Torres. 1981. Análisis cualitativos para determinar presencia de preservantes antimancha de la madera. Valdivia, Chile. 12 p. (Chile Forestal, Documento Técnico, 10)
- Peredo, M. 1992. Nuevos preservantes antimancha para madera aserrada. *In:* Olivares, B.; M. Meneses; G. Paredes (eds). *Pinus radiata: Investigación en Chile*. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. de Cs. Forestales. pp. 251 - 264
- Peredo, M. 1993. Preservantes antimanchas alternativos al pentaclorofenato de sodio. Santiago, CONAF. 8p. (Chile Forestal, Documento Técnico, 68)
- Peredo, M. 1994. Eficacia in vitro e in situ de productos antimanchas sin fenoles clorados. *Ciencia e Investigación Forestal* 8(1): 121 - 137
- Peredo, H; D. Lanfranco; S. Ide. 1999. Alternativos al pentaclorofenato de sodio y bromuro de metilo. Valdivia, INFOR-UACH. 21 p.
- Richster, K; W. Feist; M. Knaebe. 1995. The effect of surface roughness on the performance of finishes. Part 1: Roughness characterization and stain performance. *Forest Products Journal* 45(7/8): 22 - 29
- Ridout, B. 2000. Timber decay in buildings; The conservation approach to treatment. London and New York, E & FN Spon. 209 p.
- Ruddell, S.; J. Stevens. 1998. The adoption of ISO 9000, ISO 14001, and the demand for certified wood products in the business and institutional furniture industry. *Forest Products Journal* 48(3): 19 - 26
- Saelzer, D. 1993. Evaluación in vitro e in situ de preservantes antimancha alternativos al pentaclorofenato de sodio. Tesis Ing. For. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. de Cs. Forestales. 42 p.
- Seifert, K. 1993. Sapstain of commercial lumber by species of *Ophiostoma* and *Ceratocystis*. *In:* Wingfield, M.; K. Seifert; J. Webber (eds.) *Ceratocystis and Ophiostoma; Taxonomy, Ecology and Pathogenicity*. United States of America, APS Press. pp: 141-150
- Smith, S; J. Morrel; C. Sexton. 1992. Residual Strength of Douglas-fir sapwood and heartwood as affected by fungus colony size and number of colony forming units. *Forest Products Journal* 42(4): 19 - 24
- Standard method for testing fungicides for controlling sapstain and mold on unseasoned lumber (ASTM) (laboratory method). 1996. Annual Book of ASTM Standards. Section 4 Construction vol 0409 Wood: 1 - 4
- Taucher, E. 1997. Bioestadística. Santiago, Universitaria. 185 p.

- The Paint Research Association. 2001. Environmentally Friendly Paints. Summary. INTERNET: <http://www.pra.org.uk/technical/ecolabel.htm> (Octubre 1, 2002)
- Triola, M. 2000. Estadística elemental. Trad. por Roberto Escalona. 7ª ed. México, Addison Wesley Longman. 709 p.
- UNAM. 2000. Comparaciones múltiples. Resumen. INTERNET: <http://www.fceqyn.unam.edu.ar/bio/tema18.pdf> (Octubre 18, 2002)
- Weinberg, S; K. Goldberg. 1990. Statistics for the behavioral sciences. New York, Cambridge University Press. 573 p.
- Williams, G. 1991a. La biodegradación de la madera aserrada por la acción de microorganismos. *In*: Hickson Quimetal. Conceptualización de los eventuales productos antimancha en madera aserrada. 1<sup>er</sup> Seminario Internacional Expocorma. Santiago, CORMA. pp. 8-9
- Williams, G. 1991b. El desarrollo de compuestos antimancha alternativos y factores que afectan su grado de efectividad. *In*: Hickson Quimetal. Conceptualización de los eventuales productos antimancha en madera aserrada. 1<sup>er</sup> Seminario Internacional Expocorma. Santiago, CORMA. pp. 10 - 11
- Young K.; R. Loughman. 2001. Fungal associations with weather stained barley in Western Australia. Summary. INTERNET: <http://www.regional.ase/index.htm> (Octubre 1, 2002)

## **ANEXOS**

**Anexo 1**  
**Abstract**

## Abstract

### **Determination of the efficacy in laboratory of a painting, in mixture with preservative anti-stain, for wood seen of *Pinus radiata*.**

Technological advances has permitted the enlarge of the habitual bath anti-stain, to a new gener of superficial protection as a method of preventing the stained of the wood. This new product icorporate as active ingredient a preservative anti-stain, who is different to PCP-Na.

The present work evaluates in laboratory, a painting formula with preservative anti-stain, in three different concentrations, and a painting without preservative in order to prevent the attack of a complex of superficial molds in the wood. Also, it pretended to determine the minimal effective formulation of the painting in mixture that impedes the stained of the wood. All this work was done under the ASTM 4445-91 Norm.

It stand, the fact of the utilisation of a control sample, alternative that the Norm doesn't consider, but is utilized upon failing the first testing. This demostrated a slight supenority to the treatment control not tried, since give their characteristics it is excellent surface for the development of the mildews. On the other hand, it was necessary occupy a second patern (PQ- 8). This one demostrated excellent properties fungal toxicity at 2.5% of concentration. This habilitie became this formula in a good sustitute of the sodium pentachlorophenate for the establishment of futures experiments.

The results indicate, for the case of the painting without preservative, a null effect on inhibit the fungic formation over the specimens, demonstrating clearly that this type of protection could not be used as outdoor product. In relation to the formulation of painting with preservative, it is observed flagrantly that any of the three tested concentrations (1.4%; 2.3%; and 4.6%) was capable of inhibit the mycelium development in the specimens. Only exist lowes mould attact if the concentration of the product gets higher. This situation makes unthinkable the recomondation to stablish of experimet in the land. First it is necessary the establishment of a new experiment in order to prove a new formulation of the project.

Key words: painting, preservative anti-stain, moulds, ASTM Norm.

**Anexo 2**  
**Superficie aproximada con presencia de micelio para los hongos manchadores, después de cuatro semanas**

Superficie aproximada con presencia de micelio para los hongos manchadores, correspondiente al tratamiento testigo, después de cuatro semanas.

<b>N° de probeta</b>	<b><i>Ulocladium-Cladosporium</i></b>	<b><i>Penicillium-Trichoderma</i></b>	<b><i>Geotrichum</i></b>
1	30	50	15
2	40	80	0
3	80	60	0
4	60	30	0
5	30	50	15
6	60	80	0
7	45	30	0
8	40	70	0
9	50	30	0
10	70	50	0
11	70	15	6
12	80	30	0
13	80	20	10
14	20	80	0
15	70	40	0
16	80	20	0
17	50	70	0
18	70	30	0
19	90	20	0
20	60	15	0

**Anexo 3**  
**Superficie promedio con presencia de micelio para los distintos**  
**tratamientos, luego de la cuarta semana**

Superficie promedio con presencia de micelio, luego de la cuarta semana, para pintura y formulación de pintura

N° probeta	M1	M2 (1,4%)	M3 (2,3 %)	M4 (4,6 %)
1	100	96	54	16
2	100	45	48	35
3	100	39	41	15
4	100	41	25	2
5	100	30	26	13
6	100	27	36	19
7	100	22	48	9
8	100	43	54	22
9	100	97	57	35
10	100	50	65	44
11	100	80	14	4
12	100	91	31	7
13	100	97	46	18
14	100	24	42	9
15	100	40	47	21
16	100	75	23	10
17	100	94	34	18
18	100	46	28	15
19	100	92	86	71
20	100	82	62	22

Superficie promedio con presencia de micelio, luego de la cuarta semana, para probetas testigo y patrones

N° probeta	Testigo	Testigo T (1%)	PCP-Na (2%)	PQ-8 (2,5%)
1	99	100	0	0
2	98	100	0	0
3	96	97	0	0
4	90	100	0	0
5	100	100	0	0
6	84	100	0	0
7	100	99	0	0
8	98	98	0	0
9	83	100	0	0
10	97	100	0	0
11	100	100	0	0
12	100	100	0	0
13	99	100	0	0
14	98	100	0	0
15	100	100	0	0
16	97	100	0	0
17	100	98	0	0
18	80	100	0	0
19	100	100	0	0
20	97	100	0	0

T: tratado (caldo malta al 2%)

**Anexo 4**  
**Información específica sobre la pintura**

## Información sobre la pintura

<b>DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO</b>	
<p>Es un revestimiento, en base a resinas reducibles en agua. Especialmente formulado para maderas de uso industrial. Este Primer puede ser aplicado sobre maderas secas o con algo de humedad, rollizos, árboles, libres de tratamientos con sales preservantes, como sales de cobre y arsénico, lográndose así una excelente dureza y durabilidad.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducible en agua</li> <li>- Secado rápido</li> <li>- Versátil opción de aplicación</li> <li>- Buen rendimiento</li> <li>- Excelente protección contra hongos y bacterias</li> <li>- Amplia gama de colores</li> <li>- Buena resistencia a agentes atmosféricos como lluvia, radiación U.V. y Smog</li> <li>- Alta resistencia a la humedad</li> <li>- Producto ecológico, el cual no presenta riesgos para la Salud y el Ambiente</li> <li>- Producto ecológico libre de Plomo, Cromo, Mercurio y Metales pesados</li> </ul>	
<b>USOS RECOMENDADOS</b>	
<p>Sobre maderas elaboradas, demarcación de árboles, rollizos, etc. Puede ser usado tanto en ambientes interiores como exteriores. Está dirigido principalmente para proteger, demarcar y decorar superficies.</p>	
<b>CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO</b>	
<p>Tipo Acabado Color Viscosidad de entrega Sólido en Peso Sólido en Volumen Peso Específico Rendimiento Aplicación Diluyente Dilución Tiempo de secado Tacto Duro Repintado Envase de suministro Estabilidad de almacenaje</p>	<p>Acrílico modificado Mate Amplia gama de colores a pedido 65 ± 3 KU (25°C) 40 ± 2% 24 ± 2% 1.18 ± 0.02 gr/c. 30-35 m<sup>2</sup>/gl según porosidad del sustrato Brocha, rodillo y pistola Agua Hasta un 10% según sea necesario (20°C, 60% HR) 2-3 horas 24 horas 12 horas Latas y granel según pedidos 12 meses, envases sin abrir (20°C, 60% HR)</p>
<b>PREPARACIÓN DE SUPERFICIES</b>	
<p>En general la superficie deberá encontrarse exenta de polvo, grasa, aceite y seca.</p>	

**Anexo 5**  
**Descripción y esquema de aplicación de la pintura**

Descripción de muestras de pintura Pallets Primer Blue

Muestra	% OXINATO DE COBRE en pintura líquida (como solución al 50%)	% OXINATO DE COBRE sobre pintura seca
1	0	0.00 ± 0.2
2	1	1.40 ± 0.2
3	1.5	2.30 ± 0.2
4	3	4.60 ± 0.2

Esquema de Aplicación de pintura

Pintura	:	200 ml (234 gr)
Agua	:	40 ml ( 40 gr)
		<hr/>
		240 ml (274 gr)

**Anexo 6**  
**Fórmulas utilizadas para el cálculo de absorción y densidad**

## Fórmulas utilizadas para el cálculo de absorción y densidad

### Cálculo de Absorción (L/m<sup>3</sup>)

$$Abs = \frac{P_1 - P_2}{\frac{D_s}{V_p}}$$

**Donde:** Abs = Absorción (L/m<sup>3</sup>)

P<sub>1</sub> = Peso de la probeta después del baño (Kg)

P<sub>2</sub> = Peso de la probeta antes del baño (Kg/L)

D<sub>s</sub> = Densidad de la solución (Kg/L)

V<sub>p</sub> = Volumen de la probeta (m<sup>3</sup>)

### Cálculo de Densidad (Kg/L)

$$D = \frac{P_{vu}}{VP}$$

**Donde:** D = Densidad (gr/mL)

P<sub>vu</sub> = Peso del volumen usado (gr)

VP = Volumen Picnómetro (mL)

**Anexo 7**  
**Ensayo de absorción para pintura y formulación de pintura**

Ensayo de Absorción para pintura y formulación de pintura

Muestra	Probeta N°	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferencia (Kg)	Densidad (Kg/l)	Vol. probeta (m <sup>3</sup> )	Absorc. (l/m <sup>3</sup> )
M1	1	4.22	4.54	0.00032	1.0115	0.0000098	32.28
	2	4.05	4.35	0.00030	1.0115	0.0000098	30.27
	3	3.63	3.97	0.00034	1.0115	0.0000098	34.30
	4	4.12	4.38	0.00026	1.0115	0.0000098	26.23
	5	3.97	4.33	0.00036	1.0115	0.0000098	36.32
	6	4.19	4.44	0.00025	1.0115	0.0000098	25.22
	7	4.26	4.60	0.00034	1.0115	0.0000098	34.30
	8	4.10	4.43	0.00033	1.0115	0.0000098	33.29
	9	4.33	4.64	0.00031	1.0115	0.0000098	31.27
	10	4.10	4.41	0.00031	1.0115	0.0000098	31.27
M2	1	4.45	4.89	0.00044	1.0737	0.0000098	41.82
	2	4.00	4.32	0.00032	1.0737	0.0000098	30.41
	3	4.50	4.88	0.00038	1.0737	0.0000098	36.12
	4	4.18	4.57	0.00039	1.0737	0.0000098	37.07
	5	4.16	4.55	0.00039	1.0737	0.0000098	37.07
	6	3.62	3.9	0.00028	1.0737	0.0000098	26.61
	7	5.16	5.36	0.00020	1.0737	0.0000098	19.01
	8	4.65	5.01	0.00036	1.0737	0.0000098	34.21
	9	4.77	5.06	0.00029	1.0737	0.0000098	27.56
	10	3.95	4.35	0.00040	1.0737	0.0000098	38.02
M3	1	4.38	4.80	0.00042	1.0477	0.0000098	40.90
	2	4.36	4.74	0.00038	1.0477	0.0000098	37.01
	3	3.83	4.22	0.00039	1.0477	0.0000098	37.98
	4	4.12	4.51	0.00039	1.0477	0.0000098	37.98
	5	4.25	4.64	0.00039	1.0477	0.0000098	37.98
	6	4.34	4.62	0.00028	1.0477	0.0000098	27.27
	7	4.51	4.93	0.00042	1.0477	0.0000098	40.90
	8	4.54	4.97	0.00043	1.0477	0.0000098	41.88
	9	4.25	4.62	0.00037	1.0477	0.0000098	36.03
	10	4.34	4.67	0.00033	1.0477	0.0000098	32.14
M4	1	4.16	4.38	0.00022	1.0398	0.0000098	21.59
	2	4.47	4.70	0.00023	1.0398	0.0000098	22.57
	3	4.17	4.42	0.00025	1.0398	0.0000098	24.53
	4	4.41	4.70	0.00029	1.0398	0.0000098	28.46
	5	4.42	4.76	0.00034	1.0398	0.0000098	33.37
	6	4.42	4.68	0.00026	1.0398	0.0000098	25.51
	7	4.16	4.45	0.00029	1.0398	0.0000098	28.46
	8	4.35	4.68	0.00033	1.0398	0.0000098	32.38
	9	4.64	4.95	0.00031	1.0398	0.0000098	30.42
	10	4.92	5.19	0.00027	1.0398	0.0000098	26.50

Donde:

$P_i$  : Peso inicial (gr)

$P_f$  : Peso final (gr)

$Dif$  : Diferencia entre peso final y peso inicial (gr)

a) El peso inicial o  $P_i$  = Madera + gancho de sujeción + etiqueta

b) El peso final o  $P_f$  = Madera + gancho de sujeción + etiqueta + pintura

**Anexo 8**  
**Mohos en muestras de madera de Centroamérica**

Mohos en muestras de madera provenientes de Centroamérica

Especie	Tipo de Madera	Lugar	Observaciones
<i>Aspergillus niger</i>	Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tacos para armar Tacos y tablas para armar	Ecopallets Sto. Tomás Choloma	> 25% Humedad
<i>Acremonium strictum</i>	Tacos para armar	Choroteca	
<i>Epicoccum purpurascens</i>	Tacos para armar Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tarimas pintadas (rechazadas) Tacos chicos	Choroteca Ecopallets Finca Pto. Barrios Choloma	> 25% Humedad
<i>Eurothium rubrum</i>	Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tacos para armar Tacos para armar Tarimas pintadas (rechazadas)	Ecopallets Ecopallets Sto. Tomás Finca Pto. Bardos	Recién llegados Recién llegados
<i>Fusarium moliniforme</i>	Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tarimas pintadas (rechazadas) Tablas para armar Tarimas rechazadas	Choroteca Finca Pto. Barrios Choloma Choloma	± 5 meses almac.
<i>Fusarium solani</i>	Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tarimas pintadas (rechazadas)	Ecopallets Finca Pto. Barrios	
<i>Mucor hiemalis</i>	Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tacos para armar Tacos y tablas para armar Tarimas rechazadas	Choroteca Sto. Tomás Choloma Choloma	± 5 meses almac. Recién llegados > 25% Humedad
<i>Paecilomyces variotii</i>	Tacos para armar Tacos para armar	Ecopallets Sto. Tomás	Recién llegados Recién llegados
<i>Penicillium citrinum</i>	Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas)	Ecopallets Choroteca	± 5 meses almac.
<i>Penicillium frequentans</i>	Tacos para armar Tablas para armar Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tacos para armar Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tacos para armar Tarimas pintadas (rechazadas) Tacos y tablas para armar	Choroteca Alcaribe Ecopallets Ecopallets Choroteca Sto. Tomás Finca Pto. Barrios Choloma	Recién llegados ± 5 meses almac. Recién llegados > 25% Humedad
<i>Penicillium simplicissimum</i>	Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tacos para armar Tarimas pintadas (rechazadas)	Ecopallets Ecopallets Finca Pto. Barrios	Recién llegados
<i>Schizophyllum commune</i>	Tarimas rechazadas	Choloma	Destructor madera
<i>Scytalidium lignicola</i>	Tacos chicos Tarimas rechazadas	Choloma Choloma	> 25% Humedad
<i>Trichoderma koningii</i>	Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tacos chicos	Choroteca Choloma	± 5 meses almac. > 25% Humedad
<i>Trichodenna viride</i>	Tacos para armar Tablas para armar Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tarimas armadas y pintadas (tacos y tablas) Tacos para armar Tarimas pintadas (rechazadas) Tacos y tablas para armar Tarimas rechazadas	Choroteca Alcaribe Ecopallets Choroteca Sto. Tomás Finca Pto. Bardos Choloma Choloma	± 5 meses almac. Recién llegados > 25% Humedad
<i>Truncatella truncata</i>	Tacos para armar	Sto. Tomás	Recién llegados
<i>Wallemia sebi</i>	Tacos para armar Tacos y tablas para armar	Sto. Tomás Choloma	Recién llegados > 25% Humedad

**Anexo 9**  
**Test de Comparaciones Múltiples para el factor tratamiento y**  
**ANOVA de la pintura**

Test de Comparaciones Múltiples para el factor tratamiento

Tratamiento	N° Repetición	Grupo Homogéneo
PCP-Na (2%)	20	x
PQ-8 (2,5%)	20	x
Formulación de Pintura 1,4% (M2)	20	x
Formulación de Pintura 2,3% (M3)	20	x
Formulación de Pintura 4,6% (M4)	20	x
Pintura Primer Blue (M1)	20	x
Testigo Agar (1%)	20	x
Testigo	20	x

Análisis de Varianza realizado para pintura y formulación de pintura,  
con un valor de significancia p menor a 0,05

Fuente Variación	Suma Cuadrados	Grados Libertad	Cuadrados Medios	Razón <i>F - P</i>
Entre Grupos	45369.64	3	15123.21	102.26 - *
Dentro de grupos	11239.55	76	147.89	

(\*) Existen diferencias significativas

**Anexo 10**  
**Aspecto de las probetas, para tratamientos testigos y patrones,**  
**después de la cuarta semana**

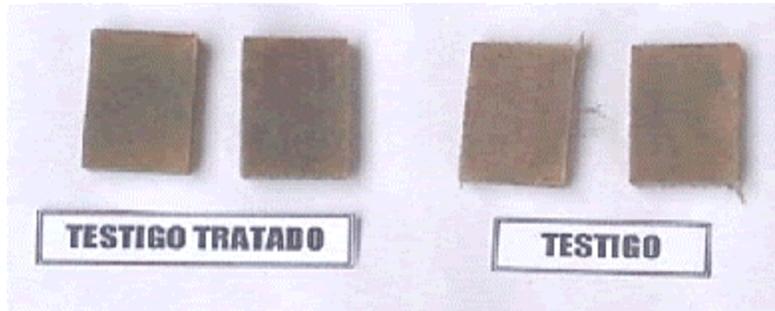


Figura a. Aspecto que presentan las probetas **testigos**, una vez concluido el ensayo (4<sup>a</sup> semana). Izquierda probeta testigo tratada con caldo malta al 2% e inoculado con una mezcla de *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Ulocladium*. Derecha probeta testigo no tratada e inoculada con la misma mezcla de hongos.

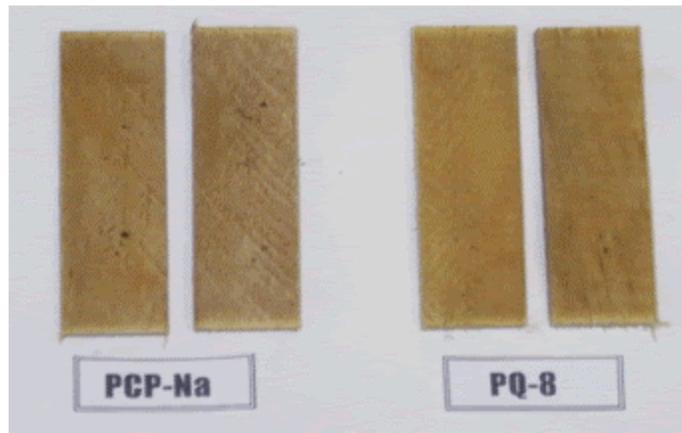


Figura b. Aspecto que presentan las probetas **patrón**, una vez concluido el ensayo (4<sup>a</sup> semana). Izquierda probeta tratada con PCP-Na al 2%. Derecha probeta tratada con PQ-8 al 2,5%. Ambos inoculados con la misma mezcla de hongos citados.

**Anexo 11**  
**Aspecto de las probetas, para pintura y formulación de pintura,**  
**después de la cuarta semana**



Figura c. Aspecto que presentan las probetas con la **pintura y formulación de pintura**, una vez concluido el ensayo (4<sup>a</sup> semana). Izquierda probeta tratada con la pintura (Muestra 1). Derecha probeta tratada con la formulación de pintura al 1,4% (Muestra 2). Ambas muestras fueron inoculadas con los hongos citados anteriormente.

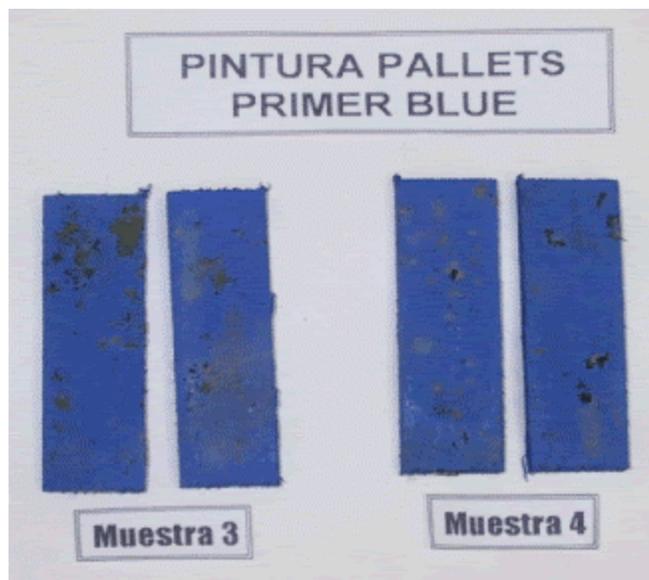


Figura c. Aspecto que presentan las probetas con la **formulación de pintura**, una vez concluido el ensayo (4<sup>a</sup> semana). Izquierda probeta tratada con la formulación de pintura al 2,3% (Muestra 3). Derecha probeta tratada con la formulación de pintura al 4,6% (Muestra 4). Ambas muestras fueron inoculadas con los hongos citados anteriormente.