

Chemical-mechanical damage caused by the brown-rot fungus *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill on *Pinus pseudostrobus* Lindl. wood

Daños químico-mecánicos causados por el hongo de pudrición café *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill en madera de *Pinus pseudostrobus* Lindl.

Eduardo Días-Rivera; Wilber Montejó-Mayo; Mauro Martínez-Pacheco; Abril Munro-Rojas; Enrique Ambríz-Parra; Crisanto Velázquez-Becerra*

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera. Gral. Francisco J. Múgica s/n, Ciudad Universitaria. C. P. 58030. Morelia, Michoacán, México.

*Corresponding author: cvelazquez@umich.mx; tel.: +52 443 322 3500 ext. 3099.

Abstract

Introduction: Wood is susceptible to be used as a carbon source by fungal species damaging the wood. Its durability has been categorized according to its weight loss, without taking into account the decrease in the inherent physicochemical and mechanical properties.

Objective: To evaluate how weight loss affects the physicochemical and mechanical properties of *Pinus pseudostrobus* Lindl. wood exposed to brown-rot fungi *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill.

Materials and methods: Sawn timber pieces of *P. pseudostrobus* were inoculated with 50 mL of *G. trabeum* (10^6 UFC·mL⁻¹). Periodically (zero, three, six and nine months) and with the help of a universal testing machine, parallel compression (PC), static bending (SB) and perpendicular compression to the grain (CPG) were evaluated, and holocellulose, cellulose and lignin were quantified.

Results and discussion: After nine months of interaction with *G. trabeum*, the pieces of wood were resistant to degradation, taking into account only weight loss. However, the chemical-mechanical properties evaluated showed that the fungus produced thinning and rupture of the tissue cells causing significant decrease in SB (100 to 56 N·mm⁻²) and CPG (42.2 to 20.2 N·mm⁻²), which reduced its resistance to mechanical stress.

Conclusions: Wood exposed to fungal degradation is significantly affected in its mechanical properties, disqualifying it for construction. The damage is not reflected in the aesthetics of the material, which is surprising, since the common user of pine wood would not be able to notice the problem.

Resumen

Introducción: La madera es propensa a ser utilizada como fuente de carbono por especies de hongos que la dañan. La durabilidad de la madera ha sido categorizada de acuerdo con la pérdida de peso sin considerar la disminución de las propiedades fisicoquímicas y mecánicas inherentes.

Objetivo: Evaluar cómo afecta la pérdida de peso a las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de la madera de *Pinus pseudostrobus* Lindl. expuesta al hongo de pudrición café *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill.

Materiales y métodos: Piezas de madera aserrada de *P. pseudostrobus* se inocularon con 50 mL de *G. trabeum* (10^6 UFC·mL⁻¹). Periódicamente (cero, tres, seis y nueve meses), y con la ayuda de una máquina universal de ensayo, se analizó la compresión paralela, la flexión estática (FE) y la compresión perpendicular a la fibra (CPF); además, se cuantificó la holocelulosa, celulosa y lignina.

Resultados y discusión: Después de nueve meses de interacción con *G. trabeum*, las piezas de madera fueron resistentes a la degradación, considerando únicamente la pérdida de peso. No obstante, las propiedades químico-mecánicas mostraron que el hongo produjo adelgazamiento y ruptura de las células del tejido ocasionando disminución significativa de FE (100 a 56 N·mm⁻²) y CPF (42.2 a 20.2 N·mm⁻²), lo cual redujo su resistencia a los esfuerzos mecánicos.

Conclusiones: La madera expuesta a la degradación por hongos está afectada significativamente en sus propiedades mecánicas, inhabilitándola para la construcción. Los daños no se reflejan en la estética del material, lo cual es alarmante, ya que el usuario común de la madera de pino no podría notar el problema.

Keywords: mechanical properties; sawn wood; degradation; xylophagous fungi; holocellulose.

Palabras clave: propiedades mecánicas; madera aserrada; degradación; hongos xilófagos; holocelulosa.

Introduction

Fungi are eukaryotic organisms with unicellular and multicellular aggregation; they are heterotrophs with diverse structure and functionality. Their more than 1.5 million species impact natural and artificial ecosystems in many ways. Within the wide fungal variety, xylophages use the major structural components of wood and metabolize them (Hiscox, O'Leary, & Boddy, 2018; Hunt et al., 2018). Two main groups of xylophagous fungi have been recognized. Those included in the Basidiomycota division and those belonging to the Ascomycota group. The organisms that can cause deterioration are white-rot fungi, soft-rot fungi, and brown-rot fungi (Krah et al., 2018). The latter being the most aggressive, caused by basidiomycete organisms e.g., *G. trabeum*, *Laetiporus portentosus* (Berk.), and *Fomitopsis lilacinogilva* (Berk.), which degrade cellulose and hemicellulose, without producing severe lignin changes (Aguiar, Gavioli, & Ferraz, 2013).

Wood is susceptible to fungal biodegradation, especially, when used in a high ambient humidity environment (Ramage et al., 2017), resulting in decay (Johnston, Boddy, & Weightman, 2016). Wood rot is a common problem in urban environments, causing human hazards by a progressive deterioration of the cell walls that reduces the durability of the material (Daniel, 2016; Terho, Hantula, & Hallaksela, 2007). Damage is caused by enzymes and low molecular weight metabolites that act as precursors and coagents of enzymatic degradation, decreasing mechanical properties (Daniel, 2016). Enzymes that degrade cellulose and hemicellulose in the cell wall belong predominantly to hydrolases. Cellulose is hydrolyzed by cellulases, cellulose 1,4- β -cellobiosidase and β -glucosidase. The xylan and mannan of hemicellulose are degraded by endo-1,4- β -xylanase and endo-1,4- β -monosidase, respectively, followed by xylan 1,4- β -xylosidase and β -monosidase and other enzymes acting on the side chains. Lignin is degraded by oxidoreductases, lignin peroxidase and manganese peroxidase (Álvarez, Reyes-Sosa, & Díez, 2016; Dashtban, Schraft, Syed, & Qin, 2010; Witomski, Olek, & Bonarski, 2016).

The global use of wood as a construction material is estimated based on the world production of sawn wood, which was 468 million m³ in 2016 (Mantau et al., 2019; Proskurina, Junginger, Heinimö, Tekinel, & Vakkilainen, 2019). During the last decades, softwood species, such as pine, have been the most widely used in the industrial sector, it has been used in interiors, moldings, coatings, architectural carpentry and other applications (Ramage et al., 2017). For estimating the durability and resistance of wood, the tests used are based on weight loss of the material (Arantes & Goodell,

Introducción

Los hongos son organismos eucariotas con agregación unicelular y multicelular; son heterótrofos con estructura y funcionalidad diversas. Sus más de 1.5 millones de especies impactan en muchas formas a los ecosistemas naturales y artificiales. Dentro de la amplia variedad fúngica, los xilófagos utilizan los principales componentes estructurales de la madera y los metabolizan (Hiscox, O'Leary, & Boddy, 2018; Hunt et al., 2018). Se han reconocido dos grupos principales de hongos xilófagos: los incluidos en la división Basidiomycota y los pertenecientes al grupo Ascomycota. Los organismos que pueden causar deterioro son los hongos de pudrición blanca, pudrición blanda y pudrición café (Krah et al., 2018). Estos últimos son los más agresivos y son causados por organismos basidiomicetos; por ejemplo, *G. trabeum*, *Laetiporus portentosus* (Berk.) y *Fomitopsis lilacinogilva* (Berk.) que degradan la celulosa y la hemicelulosa sin producir cambios graves en la lignina (Aguiar, Gavioli, & Ferraz, 2013).

La madera es susceptible a la biodegradación por hongos, especialmente, cuando se utiliza en un entorno de humedad ambiental alta (Ramage et al., 2017), dando lugar a la descomposición (Johnston, Boddy, & Weightman, 2016). La pudrición de la madera es un problema común en entornos urbanos, causando riesgos humanos por un deterioro progresivo de las paredes celulares que reduce la durabilidad del material (Daniel, 2016; Terho, Hantula, & Hallaksela, 2007). El daño es causado por enzimas y metabolitos de bajo peso molecular que actúan como precursores y coagentes de degradación enzimática, disminuyendo las propiedades mecánicas (Daniel, 2016). Las enzimas que degradan la celulosa y la hemicelulosa de la pared celular pertenecen predominantemente a las hidrolasas. La celulosa es hidrolizada por las celulasas, la celulosa 1,4- β -cellobiosidasa y la β -glucosidasa. El xilano y el manano de la hemicelulosa son degradados por la endo-1,4- β -xilanasa y la endo-1,4- β -manosidasa, respectivamente, le siguen la xilano 1,4- β -xilosidasa y la β -manosidasa y otras enzimas que actúan sobre las cadenas laterales. La lignina es degradada por las oxidorreductasas, la lignina peroxidasa y la manganeso peroxidasa (Álvarez, Reyes-Sosa, & Díez, 2016; Dashtban, Schraft, Syed, & Qin, 2010; Witomski, Olek, & Bonarski, 2016).

El uso global de la madera como material de construcción se estima con base en la producción mundial de madera aserrada, que fue de 468 millones de m³ en 2016 (Mantau et al., 2019; Proskurina, Junginger, Heinimö, Tekinel, & Vakkilainen, 2019). Durante las últimas décadas, las especies de madera blanda, como la de pino, han sido las más utilizadas en el sector industrial,

2014); however, the interaction between wood and xylophage organisms has not been assessed in relation to mechanical damage or chemical degradation occurring in the lignocellulosic material. The damage caused to the structural components of wood could be detrimental and be significantly reflected in mechanical properties, compromising its integrity (Ortiz, Jamet, Herrera, Vindigni, & Pereira, 2011).

For this reason, the purpose of this study was to determine how weight loss affects chemical and mechanical properties of *Pinus pseudostrabus* Lindl. wood exposed to brown-rot fungi *G. trabeum*.

Materials and methods

Material preparation

Sawn timber from *P. pseudostrabus* was collected from a natural forest with forest management in San Miguel del Monte, Morelia, Michoacán, Mexico (longitude: -101.134 167, latitude: 19.620 278, altitude: 2 140 m).

According to the International Standardization Organization (ISO, 1975), samples for wood-fungus interaction tests were 135 wood pieces (*P. pseudostrabus*) with the following dimensions: 45 pieces 20 mm × 20 mm × 60 mm (parallel compression [PC]; ISO 3345), 45 pieces 20 mm × 20 mm × 50 mm (compression perpendicular to the grain [CPG]; ISO 3132) and 45 pieces 20 mm × 20 mm × 300 mm (static bending [SB]; ISO 3133).

Inoculum preparation

The fungi *G. trabeum* (donated by the Department of Wood, Cellulose and Paper of the University of Guadalajara) was grown on Potato Dextrose Agar (PDA) medium in Petri dishes and incubated in the dark at 32 °C for seven days (QUINCY LAB, Mod QL-12-140E). At the end of the incubation period, the total mycelium biomass was recovered by adding 10 mL of sterile distilled water and subsequently adjusted to a final volume of 1 L with 10⁶ CFU·mL⁻¹ (read at 530 nm in a spectrophotometer, Thermo Scientific, model Multiskan GO).

Wood-fungus interaction test

The durability test of wood pieces (wood probes) with *G. trabeum* was carried out with a variation of the system known as the soil-block test (Green, Jones, Nicholas, Schimleck, & Shmulsky, 2011). For this, 20 L containers were used, which contained a substrate (50 % pine-oak forest soil and 50 % horticultural grade vermiculite ACCIMIN™), previously sterilized in autoclaved (AESA Mod CV-300) at 15 lb pressure and 120 °C for 30 min.

ya sea en interiores, molduras, revestimientos, carpintería arquitectónica y otras aplicaciones (Ramage et al., 2017). Para estimar la durabilidad y resistencia de la madera, las pruebas utilizadas se basan en la pérdida de peso del material (Arantes & Goodell, 2014); sin embargo, no se ha evaluado la interacción entre la madera y los organismos xilófagos en relación con los daños mecánicos o la degradación química que se producen en el material lignocelulósico. El daño causado a los componentes estructurales de la madera podría ser perjudicial y reflejarse significativamente en las propiedades mecánicas, comprometiendo su integridad (Ortiz, Jamet, Herrera, Vindigni, & Pereira, 2011).

Por esta razón, el objetivo de este estudio fue determinar cómo afecta la pérdida de peso a las propiedades químicas y mecánicas de la madera de *Pinus pseudostrabus* Lindl. expuesta al hongo de pudrición café *G. trabeum*.

Materiales y métodos

Preparación del material

La madera aserrada de *P. pseudostrabus* se recolectó en un bosque natural con manejo forestal en San Miguel del Monte, Morelia, Michoacán, México (longitud: -101.134 167, latitud: 19.620 278, altitud: 2 140 m).

De acuerdo con la Organización Internacional de Normalización (ISO, 1975), las muestras para las pruebas de interacción madera-hongo fueron 135 piezas de madera (*P. pseudostrabus*) con las dimensiones siguientes: 45 piezas de 20 mm × 20 mm × 60 mm (compresión paralela [CP]; ISO 3345), 45 piezas de 20 mm × 20 mm × 50 mm (compresión perpendicular a la fibra [CPF]; ISO 3132) y 45 piezas de 20 mm × 20 mm × 300 mm (flexión estática [FE]; ISO 3133).

Preparación del inóculo

El hongo *G. trabeum* (donado por el Departamento de Madera, Celulosa y Papel de la Universidad de Guadalajara) se cultivó en medio agar papa dextrosa (PDA por sus siglas en inglés) en placas de Petri y se incubó en la oscuridad a 32 °C durante siete días (QUINCY LAB, Mod QL-12-140E). Al final del periodo de incubación se recuperó la biomasa total del micelio añadiendo 10 mL de agua destilada estéril y posteriormente se ajustó a un volumen final de 1 L con 10⁶ UFC·mL⁻¹ (leído a 530 nm en un espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo Multiskan GO).

Análisis de interacción madera-hongo

La prueba de durabilidad de las piezas de madera (probetas de madera) con *G. trabeum* se hizo con una variación del sistema conocido como prueba suelo-bloque (Green, Jones, Nicholas, Schimleck, & Shmulsky,

The sterilized wood probes were separated according to the measurements required for the PC and Fe tests, and covered with the substrate. Previously, a 50 mL aliquot of *G. trabeum* (10^6 CFU·mL⁻¹ [530 nm]) was inoculated into each of the wood probes (emptying the content onto the pieces). The control treatment was free of *G. trabeum*. The bioassay was maintained for up to nine months in a dark room, at a temperature of 20 ± 2 °C (average) and 70 ± 5 % substrate humidity.

Wood probes were studied at zero, three, six and nine months. The material was reconditioned for mechanical, chemical, and microscopic tests. The pieces were carefully cleaned and placed at room temperature (18 ± 2 °C) until constant weight was achieved (HONGZUAN^{MT} equipment, model HZ-2003), with measurements taken every 24 h. The data were reported as percentage loss in the sample. The data were reported as percentage of weight loss, according to the standard of American Society for Testing and Materials (ASTM, 2005).

Mechanical test

Mechanical tests were performed at each of the established periods (zero, three, six and nine months). The PC and the CPG were evaluated using a 10-t capacity SHIMADZU SEISAKUSHO (Japan, model 70133) universal mechanical testing machine, where a constant force was applied at a compression rate of $3 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ until failure of the specimen was achieved. The PC was calculated through the ratio between the maximum applied load and the cross-sectional area of the part with the formula of ISO 3345 (ISO, 1975):

$$\sigma = \frac{P_{max}}{bh}$$

where,

σ = parallel compression

P_{max} = maximum load capacity (N)

b and h = breadth and height, respectively (mm).

The CPG was performed according to ISO 3132 (ISO, 1975), where the proportionality limit (R) in perpendicular compression was calculated as the quotient between the maximum applied load and the longitudinal area of the wood piece.

$$R = \frac{P_{max}}{bl}$$

where,

R = proportionality limit

P_{max} = maximum load capacity (N)

b and l = breadth and length, respectively (mm).

2011). Para ello, se utilizaron contenedores de 20 L que contenían un sustrato (50 % de tierra forestal de pino-roble y 50 % de vermiculita de grado hortícola ACCIMINTM) previamente esterilizado en autoclave (AES A Mod CV-300) con 15 lb de presión y 120 °C durante 30 min.

Las probetas de madera esterilizada se separaron según las medidas requeridas para las pruebas de CP y FE, y se cubrieron con el sustrato. Previamente se inoculó una alícuota de 50 mL de *G. trabeum* (10^6 UFC·mL⁻¹ [530 nm]) en cada una de las probetas de madera (vaciando el contenido sobre las piezas). El tratamiento testigo estaba libre de *G. trabeum*. El bioensayo se mantuvo hasta nueve meses en un cuarto oscuro, a una temperatura de 20 ± 2 °C (promedio) y 70 ± 5 % de humedad del sustrato.

Las probetas de madera se estudiaron a los cero, tres, seis y nueve meses. El material se volvió a acondicionar nuevamente para realizar las pruebas mecánicas, químicas y microscópicas. Las piezas se limpiaron cuidadosamente y se colocaron a temperatura ambiente (18 ± 2 °C) hasta conseguir peso constante (equipo HONGZUAN^{MT}, modelo HZ-2003), realizando mediciones cada 24 h. Los datos se reportaron como porcentaje de pérdida de peso, según la norma del American Society for Testing and Materials (ASTM, 2005).

Ensayo mecánico

Los ensayos mecánicos se realizaron en cada uno de los periodos establecidos (cero, tres, seis y nueve meses). La CP y la CPF se evaluaron utilizando una máquina universal de ensayos mecánicos SHIMADZU SEISAKUSHO (Japón, modelo 70133) de 10 t de capacidad, donde se aplicó una fuerza constante a una velocidad de compresión de $3 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ hasta lograr el fallo de la pieza. La CP se calculó a través de la relación entre la carga máxima aplicada y el área de la sección transversal de la pieza con la fórmula de la norma ISO 3345 (ISO, 1975):

$$\sigma = \frac{P_{max}}{bh}$$

donde,

σ = compresión paralela

P_{max} = capacidad de carga máxima (N)

b y h = anchura y altura, respectivamente (mm).

La CPF se realizó según la norma ISO 3132 (ISO, 1975), donde el límite de proporcionalidad (R) en compresión perpendicular se calculó como el cociente entre la carga máxima aplicada y el área longitudinal de la pieza de madera:

The static bending (SB) test was performed according to ISO 3133 (ISO, 1975), where a constant load was applied in the center by placing the wood probe on two supports, leaving a space of 25 cm between them. The calculation was made using the following formula:

$$\text{MOR} = \frac{3 * P_{\text{max}} * L}{2 * b * h^2}$$

where,

MOR = modulus of rupture

Pmax = maximum load capacity (N)

L = length between the centers of the support (mm)

b and h = breadth and height, respectively (mm)

$$\text{MOE} = \frac{\Delta F * L_s^3}{4 * a * e^3 * \Delta d}$$

where,

MOE = modulus of elasticity

ΔF = force difference in elastic field

Δd = deformation in the interval F .

Chemical analysis of wood exposed to *Gloeophyllum trabeum*

The probes used in the mechanical tests (CP, SB and CPG) were also used to calculate the percentage of the main structural components. At each of the established periods, 15 g of anhydrous grinded wood were analyzed for successive reflux extraction using Soxhlet equipment (KIMAXR, model 24027 45/50) with 150 mL of the following solvents: cyclohexane, acetone, methanol and hot water. The extraction lasted six hours for each solvent. The solvents were recovered in a rotary evaporator (BÜCHI, R-200) under vacuum. The extract obtained was placed in a desiccator (PHARMA GLASS, Mod 3120-250) until constant weight was achieved. The extract yield was calculated according to Mejía-Díaz and Rutiaga-Quiñones (2007). Samples free of extractable compounds were used for holocellulose, cellulose and lignin derivatives.

Holocellulose determination

According to Bernabé-Santiago, Ávila-Calderón, and Rutiaga-Quiñones (2013), and Cárdenas-Gutiérrez et al. (2018), 32 mL of distilled water was mixed with 1.0 g of extractable grinded wood, 0.3 g of sodium chlorite and two drops of glacial acetic acid in a beaker. The sample was subjected to heat bath in water at 75 °C. The addition of sodium chlorite and acetic acid was repeated every hour for four hours. After chlorination, the solution was filtered and washed with distilled water at room temperature; subsequently, 10 mL of acetone was added and the residue was placed in

$$R = \frac{P_{\text{max}}}{bl}$$

donde,

R = límite de proporcionalidad

Pmax = capacidad de carga máxima (N)

b y l = anchura y longitud, respectivamente (mm).

El ensayo de flexión estática (FE) se hizo según la norma ISO 3133 (ISO, 1975), donde se aplicó una carga constante en el centro colocando el sensor de la madera sobre dos soportes, dejando un espacio de 25 cm entre ellos. El cálculo se realizó mediante la fórmula siguiente:

$$\text{MOR} = \frac{3 * P_{\text{max}} * L}{2 * b * h^2}$$

donde,

MOR = módulo de rotura

Pmax = capacidad de carga máxima (N)

L = longitud entre los centros del soporte (mm)

b y h = anchura y longitud, respectivamente (mm)

$$\text{MOE} = \frac{\Delta F * L_s^3}{4 * a * e^3 * \Delta d}$$

donde,

MOE = módulo de elasticidad

ΔF = diferencia de fuerzas en campo elástico

Δd = deformación en intervalo F .

Análisis químico de la madera expuesta a *Gloeophyllum trabeum*

Las probetas utilizadas en los ensayos mecánicos (CP, FE y CPF) también se utilizaron para calcular el porcentaje de los principales componentes estructurales. En cada uno de los periodos establecidos, se analizaron 15 g de madera molida anhidra para una extracción sucesiva a reflujo en equipo Soxhlet (KIMAX^R, modelo 24027 45/50) con 150 mL de los disolventes siguientes: ciclohexano, acetona, metanol y agua caliente. La extracción duró seis horas para cada disolvente. Los disolventes se recuperaron en un evaporador rotatorio (BÜCHI, R-200) aplicando vacío. El extracto obtenido se colocó en un desecador (PHARMA GLASS, Mod 3120-250) hasta lograr peso constante. El rendimiento del extracto se calculó según Mejía-Díaz y Rutiaga-Quiñones (2007). Las muestras libres de compuestos extraíbles se utilizaron para las determinaciones derivadas de holocelulosa, celulosa y lignina.

Identificación de la holocelulosa

De acuerdo con Bernabé-Santiago, Ávila-Calderón, y Rutiaga-Quiñones (2013), y Cárdenas-Gutiérrez et al.

a drying oven (ECOSHEL, Mod HV-20) at 40 °C until constant weight, with measurements every 24 h. The holocellulose content was calculated by dividing the weight of the anhydrous residue by the weight of the anhydrous wood free of extractables.

Cellulose determination

One gram of anhydrous wood free of extractives was mixed with 10 mL of 17.5 % NaOH at room temperature. The mixture was incubated for five minutes and then 5 mL of 17.5 % NaOH was added to let it stand for five minutes. This last procedure was repeated to let it stand for 30 minutes, then 33 mL of distilled water was added to the generated product, letting it stand for one hour. The solution was then filtered and washed with 35 mL of 8.3 % NaOH, distilled water and 10 % acetic acid and allowed to stand for three minutes. The reaction was then neutralized with distilled water (approximately 250 mL) and finally allowed to stand in an oven for 12 h at 103 °C for subsequent weighing (ASTM, 1977).

Lignin determination

One gram of free anhydrous extractable wood was mixed, by stirring, with 50 mL of 72 % sulfuric acid and 5 mL of 40 % hydrobromic acid and allowed to stand for two hours. Then, 200 mL of distilled water was added, and the mixture was boiled for 5 min. Finally, the mixture was filtered through a Büchner funnel to wash the samples to remove the acid residues. The product was dried in an oven at 103 °C to constant weight. The lignin content was calculated by dividing the weight of the anhydrous sample by the weight of the anhydrous ground wood free of extractives, according to Cárdenas-Gutiérrez et al. (2018).

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analysis of the wood

From the wood probes used in the mechanical tests, samples were selected from both the control treatment and the fungal inoculation treatment at nine months. The samples were conditioned to a particle size of 425 µm (wood powder) in a pulverizing mill (MICRON™, model K20F, Mexico) (Chen et al., 2010; Traoré, Kaal, & Cortizas, 2016). FTIR analysis was performed on a Thermo Scientific spectrometer equipment (model Nicolet iS10-Waltham, MA, USA). Using the ATR (Attenuated Total Reflection) technique, the data were expressed in wavenumbers (cm⁻¹) for the main absorption maxima, the wood dust came into contact with the ATR crystal and the evanescent wave could be absorbed by the dust (Durmaz, Özgenç, Boyacı, Yıldız, & Erişir, 2016). The resulting attenuated radiation produced an ATR spectrum that is similar to a

(2018), 32 mL de agua destilada se mezclaron con 1.0 g de madera triturada extraíble, 0.3 g de clorito sódico y dos gotas de ácido acético glacial en un vaso de precipitados. La muestra se sometió a baño térmico en agua a 75 °C. La adición de clorito sódico y ácido acético se repitió cada hora durante cuatro horas. Después de la cloración, la solución se filtró y se lavó con agua destilada a temperatura ambiente; posteriormente, se añadieron 10 mL de acetona y el residuo se colocó en una estufa de secado (ECOSHEL, Mod HV-20) a 40 °C hasta obtener peso constante, haciendo mediciones cada 24 h. El contenido de holocelulosa se calculó dividiendo el peso del residuo anhidro por el peso de la madera anhidra libre de extraíbles.

Identificación de la celulosa

Un gramo de madera anhidra libre de extracciones se mezcló con 10 mL de NaOH al 17.5 % a temperatura ambiente. La mezcla se incubó durante cinco minutos y luego se añadieron 5 mL de NaOH al 17.5 % para dejarla reposar durante cinco minutos. Este último procedimiento se repitió para dejarlo reposar 30 minutos, luego se añadieron 33 mL de agua destilada al producto generado, dejándolo reposar durante una hora. A continuación, la solución se filtró y se lavó con 35 mL de NaOH al 8.3 %, agua destilada y ácido acético al 10 % dejándolo reposar durante tres minutos. Posteriormente, la reacción se neutralizó con agua destilada (aproximadamente 250 mL) y, finalmente, se dejó reposar en una estufa durante 12 h a 103 °C para su pesaje posterior (ASTM, 1977).

Identificación de la lignina

Un gramo de madera anhidra libre extraíble se mezcló, mediante agitación, con 50 mL de ácido sulfúrico al 72 % y 5 mL de ácido bromhídrico al 40 %, para dejarlo reposar durante dos horas. A continuación, se añadieron 200 mL de agua destilada y la mezcla se hirvió durante 5 min. Finalmente, la mezcla se filtró en un embudo Büchner para lavar las muestras hasta eliminar los residuos de ácido. El producto se secó en una estufa a 103 °C hasta peso constante. El contenido de lignina se calculó dividiendo el peso de la muestra anhidra por el peso de la madera molida anhidra libre de extractos, de acuerdo con Cárdenas-Gutiérrez et al. (2018).

Análisis de madera por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

De las probetas de madera utilizadas en los ensayos mecánicos, se seleccionaron muestras tanto del tratamiento testigo como del tratamiento de inoculación de hongos a los nueve meses. Las muestras se acondicionaron hasta un tamaño de partícula de 425 µm (polvo de madera) en un molino de pulverización

conventional absorption spectrum. The spectrum was obtained using 50 scans in the range of 4 000 cm^{-1} to 400 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} , the magnitude of the spectrum was normalized to 600 cm^{-1} to 1 800 cm^{-1} .

Microscopic analysis

Samples from control treatments (free of *G. trabeum*) and from nine months of exposure to the fungus were used. The wood probe had dimensions of 2 cm^2 , and with a sliding microtome (Leitz WETZLAR 440473, Germany) 20 μm thick cross-sections were made. The sections were prepared according to Bari et al. (2015) using safranin stain for 12 hours. Finally, the samples were placed on a slide for observation under a Zeigen ZEINF139A optical microscope (10x and 40x).

Statistical analysis

The data was analyzed over time for each mechanical test, using the STATISTICA 7.0 software (StatSoft Inc., 2004) with an ANOVA test and Duncan's means separation test for multiple comparisons ($P < 0.05$).

Results and discussion

Damage of *Gloeophyllum trabeum* in wood

The fungus *G. trabeum* degraded pine wood at a different rate depending on substrate size (PC and SB wood). At three months of fungal exposure, wood weight loss was 5 % (SB and CPG) and 4.8 % (PC), while at nine months, it was 8.5 % (SB) and 4.5 % (PC) (Table 1). The wood specimen showed no surface damage at zero, three and six months (Figure 1).

The physiological versatility of *G. trabeum* to nourish hemicelluloses is interesting. In the early stages of fungal growth, hemicelluloses depolymerize more rapidly than cellulose. When pine wood is used as substrate, cellulose depolymerization is high in microfibrils, due to the removal of hemicellulose, increasing cellulosic enzymatic hydrolysis (Monrroy, Ortega, Ramírez, Baeza, & Freer, 2011).

Although, the data showed unremarkable weight loss in the samples, in SB, after three months a significant decrease of 14 % in modulus of rupture (MOR) strength occurred, reaching 44 % after nine months, which corresponds to a reduction from 100 $\text{N}\cdot\text{mm}^{-2}$ to 56 $\text{N}\cdot\text{mm}^{-2}$ (Table 1). This indicates that, despite the low weight loss in the pine wood probe (8.5 %), the decrease in strength was significant when subjected to stress. The MOE, which represents the elastic behavior of pine wood, was affected by fungal degradation, decreasing 54.7 % with respect to the wood used in the control treatment.

(MICRONTM, modelo K20F, México) (Chen et al., 2010; Traoré, Kaal, & Cortizas, 2016). El análisis FTIR se realizó en un equipo espectrómetro Thermo Scientific (modelo Nicolet iS10-Waltham, MA, EE.UU.). Mediante la técnica ATR (Attenuated Total Reflection), los datos se expresaron en números de onda (cm^{-1}) para los principales máximos de absorción, el polvo de la madera entró en contacto con el cristal ATR y la onda evanescente pudo ser absorbida por el polvo (Durmaz, Özgenç, Boyacı, Yıldız, & Erişir, 2016). La radiación atenuada resultante produjo un espectro ATR que es similar a un espectro de absorción convencional. El espectro se obtuvo utilizando 50 escaneos en el rango de 4 000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} ; la magnitud del espectro se normalizó en 600 cm^{-1} a 1 800 cm^{-1} .

Análisis microscópico

Se utilizaron muestras de los tratamientos testigo (libres de *G. trabeum*) y de nueve meses de exposición al hongo. La probeta de madera tuvo dimensiones de 2 cm^2 y con un microtomo deslizante (Leitz WETZLAR 440473, Alemania) se realizaron cortes transversales de 20 μm de grosor. Las secciones se prepararon de acuerdo con Bari et al. (2015) utilizando tinte de safranina durante 12 horas. Finalmente, las muestras se colocaron en un portaobjetos para ser observadas en un microscopio óptico Zeigen ZEINF139A (10x y 40x).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron a lo largo del tiempo para cada prueba mecánica, utilizando el *software* STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., 2004) con una prueba ANOVA y la prueba de separación de medias de Duncan para comparaciones múltiples ($P < 0.05$).

Resultados y discusión

Daños de *Gloeophyllum trabeum* en madera

El hongo *G. trabeum* degradó la madera de pino a un ritmo diferente, dependiendo del tamaño del sustrato (madera CP y FE). A los tres meses de exposición fúngica, la pérdida de peso de la madera fue de 5 % (FE y CPF) y de 4.8 % (CP), mientras que a los nueve meses, fue de 8.5 % (FE) y de 4.5 % (CP) (Cuadro 1). La probeta de madera no presentó daños superficiales en los tiempos cero, tres y seis meses (Figura 1).

La versatilidad fisiológica de *G. trabeum* para nutrir las hemicelulosas es interesante. En las primeras etapas de crecimiento del hongo, las hemicelulosas se despolimerizan más rápidamente que la celulosa. Cuando se utiliza madera de pino como sustrato, la despolimerización de celulosa es alta en las microfibrillas,

Table 1. Weight loss, Static bending, Parallel compression and compression perpendicular to the grain in *Pinus pseudostrobus* wood, after zero, three, six, nine months of exposure to fungi *Gloeophyllum trabeum*.

Cuadro 1. Pérdida de peso, flexión estática, compresión paralela y compresión perpendicular a la fibra en madera de *Pinus pseudostrobus*, después de cero, tres, seis y nueve meses de exposición a hongos *Gloeophyllum trabeum*.

Time (months)/ Tiempo (meses)	Weight loss (%)/ Pérdida de peso (%)	MOR (N·mm ⁻²)	MOE (N·mm ⁻²)
Static Bending/Flexión estática			
0	0	100.0 ± 14.0 a	9 412
3	5.0 ± 0.3 a	86.1 ± 16.0 b	9 361
6	6.5 ± 1.0 b	81.7 ± 8.5 b	7 871
9	8.5 ± 8.4 b	56.2 ± 26.3 b	5 156
Parallel Compression/Compresión paralela			
0	0	60.0 ± 5.0 a	
3	4.8 ± 1.2 a	50.0 ± 4.5 b	
6	7.3 ± 2.7 b	47.0 ± 2.2 b	
9	4.5 ± 1.1 a	39.8 ± 2.0 b	
Compression perpendicular to the grain/Compresión perpendicular a la fibra			
0	0	42.2 ± 8.0 a	
3	5.0 ± 0.3 a	24.3 ± 6.0 b	
6	6.5 ± 1.0 b	21.5 ± 4.6 b	
9	8.5 ± 8.4 b	20.2 ± 4.0 b	

± Standard deviation. MOR: Modulus of Rupture, MOE: Modulus of Elasticity. Zero corresponds to Control treatment (Undecayed wood). Values with different letters show significant difference according to the Duncan's means separation test for multiple comparisons ($P < 0.05$).

± Desviación estándar. MOR: módulo de ruptura, MOE: módulo de elasticidad. Cero corresponde al tratamiento testigo (madera no deteriorada). Los valores con letras diferentes muestran diferencias significativas de acuerdo con la prueba de separación de medias de Duncan ($P < 0.05$).

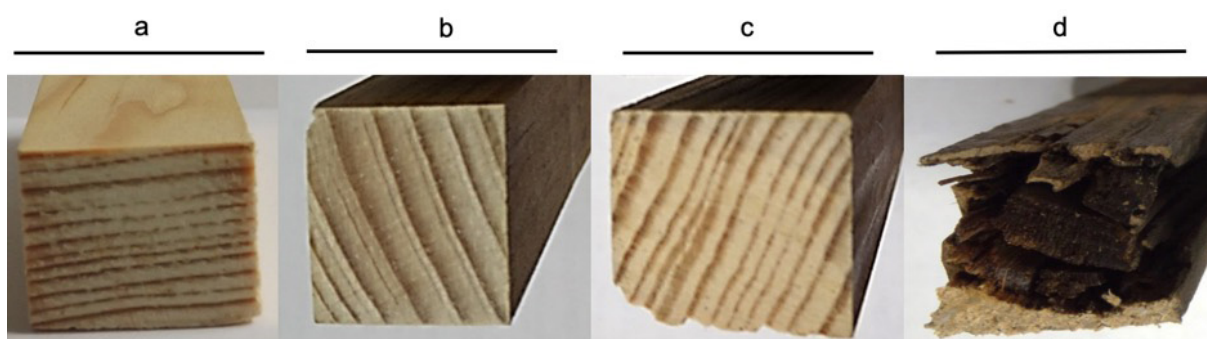


Figure 1. Durability test of *Pinus pseudostrobus* wood exposed to *Gloeophyllum trabeum* fungi: a) control treatment (Undecayed wood), b) three months, c) six months and d) nine months.

Figura 1. Prueba de durabilidad de la madera de *Pinus pseudostrobus* expuesta a los hongos *Gloeophyllum trabeum*: a) tratamiento testigo (madera sin deterioro), b) tres meses, c) seis meses y d) nueve meses.

It is interesting to note that although weight loss in PC was low (4.5 %), this was sufficient for the fungus to weaken the resistance of pine wood (Table 1b). MOR losses in pine wood were 16.7 %, 21.7 %, and 35 % at three, six, and nine months of fungal exposure, respectively, which showed decreases from 60 N·mm⁻² to 39 N·mm⁻². Low weight loss and decrease in MOR are associated with delignification suffered by pine wood due to fungal degradation. The proportional limit (R) in perpendicular compression was the most affected with a decrease of 42.5 %, 49.1 % and 52.2 % for three, six and nine months, respectively, where the resistance value of the pine wood control is the reference (Table 1).

Another interesting contribution of this study is found in the first phase of fungal growth, since no mechanical or aesthetic damage was observed in the pine wood probes, although there was a slight loss of weight compared to the control treatment. On the other hand, low cellulose degradation was detected in the three- and six-month stages of exposure to fungi. The fungi use an extracellular and superior enzymatic system (Hosseinpourpia & Mai, 2016; Krueger, Hofmann, Moeder, & Schlosser, 2015) that explains the efficient depolymerization of pine wood polysaccharides and polyphenols. For this reason, it can be assumed that pine wood probes lose strength when subjected to SB and CPG, despite little weight loss and visual evaluation without damage (three and six months). This information is transcendental in the construction industry, because visual evaluations are performed on pine wood structures, ignoring exposure to *G. trabeum* and other fungal organisms with similar characteristics, putting safety at risk as the mechanical performance of the material is compromised.

Chemical analysis of pinewood biodegraded by *Gloeophyllum trabeum*

Table 2 shows the results of the chemical composition of *P. pseudostrobus* wood. After three months of fungal exposure, hemicellulose was the structural component that decreased the most: 59.3 % for the pieces evaluated in PC and 63.1 % for SB. It is important to note that, after six months of fungal exposure, wood pieces continued to decrease to 91.6 % (SB) and 63.1 % (PC), considering pine wood as 100 % of the control value. This result agrees with previous publications, where it is shown that brown rot fungi feed mainly on hemicellulose, as mentioned by Hastrup et al. (2012). Hemicellulose is incorporated into cellulose microfibrils and in the cellulose degradation process, hemicellulose is the first component to be removed. Considering the chemical characteristics, cellulose decreased in smaller proportion after six months: 4.4 % in SB and 9.7 % in PC. When analyzing the pine wood specimens after nine months of exposure

debido a la eliminación de la hemicelulosa, aumentando la hidrólisis enzimática celulósica (Monrroy, Ortega, Ramírez, Baeza, & Freer, 2011).

Si bien, los datos mostraron pérdida de peso poco llamativa en las muestras, en FE, al cabo de tres meses hubo disminución significativa de 14 % de resistencia en módulo de rotura (MOR), llegando a 44 % al cabo de nueve meses, lo que corresponde a la reducción de 100 N·mm⁻² hasta 56 N·mm⁻² (Cuadro 1). Esto indica que, a pesar de la baja pérdida de peso en la probeta de madera de pino (8.5 %), la disminución de la resistencia fue significativa al ser sometida a un esfuerzo. El MOE, que representa el comportamiento elástico de la madera de pino, se vio afectado por la degradación fúngica, disminuyendo 54.7 % respecto a la madera utilizada en el tratamiento testigo.

Es interesante observar que aunque la pérdida de peso en la CP fue escasa (4.5 %), esta fue suficiente para que el hongo debilitara la resistencia de la madera de pino (Cuadro 1b). Las pérdidas de MOR en la madera de pino fueron 16.7 %, 21.7 % y 35 % a los tres, seis y nueve meses de exposición fúngica, respectivamente, las cuales mostraron disminución de 60 N·mm⁻² a 39 N·mm⁻². La baja pérdida de peso y la disminución de MOR se asocian a la deslignificación que la madera de pino sufre debido a la degradación fúngica. El límite proporcional (R) en compresión perpendicular fue el más afectado con una disminución de 42.5 %, 49.1 % y 52.2 % para tres, seis y nueve meses, respectivamente, donde el valor de resistencia del testigo de madera de pino es la referencia (Cuadro 1).

Otra aportación de interés de este estudio se encuentra en la primera fase del crecimiento fúngico, ya que no se visualizaron daños mecánicos y estéticos en las probetas de madera de pino, aunque presentaron ligera pérdida de peso en comparación con el tratamiento testigo. Por otra parte, se detectó baja degradación en la celulosa en las etapas de tres y seis meses de exposición a los hongos. Estos utilizan un sistema enzimático extracelular y superior (Hosseinpourpia & Mai, 2016; Krueger, Hofmann, Moeder, & Schlosser, 2015) que explica la despolimerización eficiente de los polisacáridos y polifenoles de la madera de pino. Por esta razón, se puede suponer que las probetas de madera de pino pierden resistencia al ser sometidas a FE y CPF, a pesar de la poca pérdida de peso y de la evaluación visual sin daños (tres y seis meses). Esta información es transcendental en la industria de la construcción, ya que las evaluaciones visuales se realizan en las estructuras de madera de pino, ignorando la exposición a *G. trabeum* y a otros organismos fúngicos de características similares, poniendo en riesgo la seguridad al verse comprometido el rendimiento mecánico del material.

Table 2. Chemical analysis of *Pinus pseudostrobus* wood exposed to *Gloeophyllum trabeum* fungi.
Cuadro 2. Análisis químico de madera de *Pinus pseudostrobus* expuesta a hongos *Gloeophyllum trabeum*.

Component/ Componente	Control (%, 0 months)/ Testigo (%, 0 meses)	3 months/3 meses		6 months/6 meses		9 months/9 meses	
		SB (%)/ FE (%)	PC (%)/ CP (%)	SB (%)/ FE (%)	PC (%)/ CP (%)	SB (%)/ FE (%)	PC (%)/ CP (%)
Inorganic/ Inorgánico	0.2 ± 0.0 a	0.3 ± 0.1 b	0.4 ± 0.2 b	0.3 ± 0.1 b	0.5 ± 0.0 b	0.4 ± 0.0 b	0.5 ± 0.2 b
Total removable/ Total extraíble	2.7 ± 0.0 a	1.9 ± 0.3 a	2.6 ± 0.5 a	2.3 ± 0.5 a	2.4 ± 0.6 a	3.1 ± 0.0 a	3.7 ± 0.0 b
Lignin/Lignina	29.5 ± 3.0 a	25.9 ± 0.8 a	28.0 ± 0.3 a	28.3 ± 0.8 a	29.5 ± 1.0 a	16.7 ± 0.2 b	20.7 ± 2.0 b
Holocellulose/ Holocelulosa	80.0 ± 0.0 a	72.1 ± 0.0 b	69.2 ± 0.0 b	65.4 ± 0.0 b	65.5 ± 0.0 b	78.0 ± 0.0 a	79.0 ± 0.0 a
α -cellulose/ α -celulosa	67.2 ± 0.0 a	67.0 ± 0.7 a	63.3 ± 0.6 b	64.3 ± 1.2 a	60.7 ± 0.8 b	65.0 ± 0.0 a	67.0 ± 0.0 a
Hemicellulose/ Hemicelulosa	13	4.8	5.3	1.1	4.8	13	12

± Standard deviation. Static bending (SB) and Parallel compression (PC) after zero, three, six, nine months of exposure to wood decay fungi *G. trabeum*. Values with different letters show significant difference according to the Duncan's means separation test for multiple comparisons ($P < 0.05$).

± Desviación estándar. Flexión estática (FE) y compresión paralela (CP) después de cero, tres, seis y nueve meses de exposición a los hongos de madera *G. trabeum*. Los valores con letras diferentes muestran diferencias significativas según la prueba de separación de medias de Duncan para comparaciones múltiples ($P < 0.05$).

to fungi, the decrease in hemicellulose and cellulose was not detected in the chemical analysis, since the degradation was concentrated at the lower end of the pine wood specimens (Figure 1). Therefore, to complement this information, results derived from the Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) showed significant reduction of hemicellulose and cellulose. Initially, lignin had no significant losses in its percentage value, but after nine months, it decreased 43.4 % in the case of SB and 29.8 % in the case of PC in relation to the value of the control.

Analysis of structural components using Fourier Transform Infrared Spectroscopy

Figure 2 shows the FTIR spectrum of the pine wood fungus degraded for nine months. The spectrum showed interesting changes, especially in the absorbance peaks corresponding to the vibrations of the cell wall groups at 1 800-800 cm^{-1} . Signals corresponding to C-H deformation in cellulose and hemicellulose, phenolic group of cellulose and C-O-C in carbohydrates were found in these bands of the spectrum (Chow & Ting, 2019; Pandey & Pitman, 2003; Poletto, Zattera, & Santana, 2012).

On the other hand, according to the degradation profile produced by *G. trabeum*, differences in wood components were observed. The absorbance peaks assigned to bands 1 732 and 894 cm^{-1} corresponded to hemicelluloses and showed differences in intensity,

Análisis químico de madera de pino biodegradada por *Gloeophyllum trabeum*

Los resultados de la composición química de la madera de *P. pseudostrobus* se muestran en el Cuadro 2. A tres meses de exposición fúngica, la hemicelulosa fue el componente estructural que disminuyó en mayor medida: 59.3 % para las piezas evaluadas en CP y 63.1 % para FE. Es importante destacar que, tras seis meses de exposición fúngica, las piezas de madera continuaron disminuyendo hasta 91.6 % (FE) y 63.1 % (CP), tomando como 100 % la madera de pino del valor testigo. Este resultado coincide con publicaciones anteriores, donde se demuestra que los hongos de pudrición café se alimentan principalmente de hemicelulosa, tal y como mencionan Hastrup et al. (2012). La hemicelulosa se incorpora a las microfibrillas de celulosa y en el proceso de degradación de esta, la hemicelulosa es el primer componente que se elimina. Teniendo en cuenta las características químicas, la celulosa disminuyó en menor proporción al cabo de seis meses: 4.4 % en FE y 9.7 % en CP. Al analizar las probetas de madera de pino después de nueve meses de exposición a los hongos, la disminución de hemicelulosa y celulosa no se detectó en el análisis químico, ya que la degradación se concentró en el extremo inferior de las probetas de madera de pino (Figura 1). Por lo tanto, para complementar esta información, los resultados derivados de la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) mostraron reducción significativa de la hemicelulosa y la celulosa. Inicialmente, la lignina no

being lower in pine wood exposed to the fungus (Figure 2); pine wood probes subjected to SB affected the percentage of MOR reduction. Bands at 1 508, 1 423 and 1 266 cm^{-1} , corresponding to lignin molecules, increased in degraded pine wood, due to the effect of *G. trabeum* leaving lignin residues. For cellulose, bands were assigned in the regions of 1 316 and 1 369 cm^{-1} , where loss of material is shown, since the intensity of cellulose in degraded pine wood is below the control treatment (Table 3).

The data corresponding to lignin complement the previous argument, since concentration in wood pieces showed no considerable changes, until after nine months of exposure to the fungus it significantly decreased 43.4 % (SB) and 29.8 % (PC) (Table 2). The analysis of the structural components of wood by FTIR allowed integrating the information seen previously, since the wood suffered significant loss of lignin and chemical modification by the fungus. Cellulose and hemicellulose were removed in the degraded wood, but a residue of modified lignin was found (Durmaz et al., 2016), which also translates into decreased mechanical properties of the material after nine months of exposure to the fungus.

tuvo pérdidas significativas en su valor porcentual, pero al cabo de nueve meses, disminuyó 43.4 % en el caso de la FE y 29.8 % en el caso de la CP en relación con el valor del testigo.

Análisis de los componentes estructurales mediante espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier

En la Figura 2 se muestra el espectro FTIR del hongo de la madera de pino degradada durante nueve meses. El espectro mostró cambios interesantes, especialmente en los picos de absorbancia correspondientes a las vibraciones de los grupos de la pared celular a 1 800-800 cm^{-1} . En estas bandas del espectro se encontraron señales correspondientes a la deformación C-H en la celulosa y hemicelulosa, grupo fenólico de la celulosa y C-O-C en los carbohidratos (Chow & Ting, 2019; Pandey & Pitman, 2003; Poletto, Zattera, & Santana, 2012).

Por otra parte, según el perfil de degradación que *G. trabeum* produjo, hubo cambios en los componentes de la madera. Los picos de absorbancia asignados a las bandas 1 732 y 894 cm^{-1} correspondieron a hemicelulosas y mostraron diferencias de intensidad,

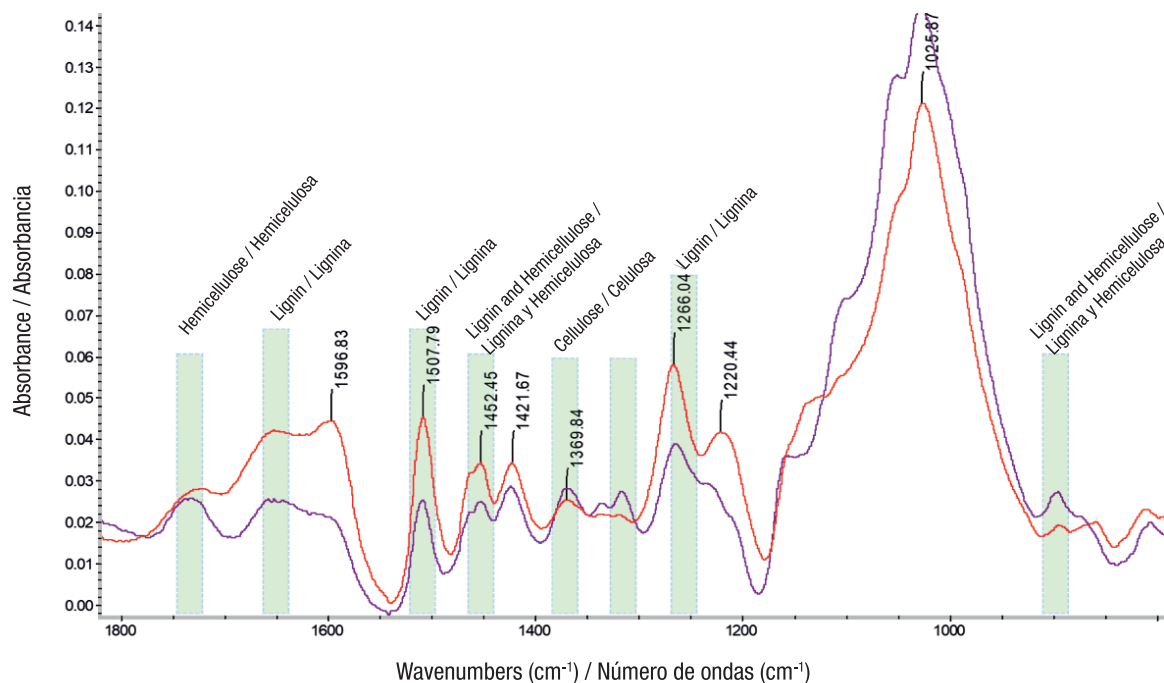


Figure 2. Fourier transform infrared spectroscopy analysis, showing the bands of the spectrum of the control treatment (undeteriorated wood, purple line) and of the decayed wood after nine months (red line) of exposure to *Gloeophyllum trabeum* fungi.

Figura 2. Análisis de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier, donde se observan las bandas del espectro del tratamiento testigo (madera no deteriorada, línea púrpura) y de la madera descompuesta después de nueve meses (línea roja) de exposición a hongos *Gloeophyllum trabeum*.

Table 3. Fourier transform infrared spectroscopy analysis shows the position and intensity of the peaks recorded between the regions (wave number) 1851-649 cm⁻¹. Results for control wood (undecayed wood) and decayed wood, after nine months of exposure to *Gloeophyllum trabeum* fungi.

Cuadro 3. El análisis de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier muestra la posición e intensidad de los picos registrados entre las regiones (número de ondas) 1851-649 cm⁻¹. Resultados de la madera testigo (madera no deteriorada) y madera descompuesta, tras nueve meses de exposición a hongos *Gloeophyllum trabeum*.

Control wood / Madera testigo		Decayed wood / Madera descompuesta		Attribution / Atribución	References / Referencias
Position (cm ⁻¹) / Posición (cm ⁻¹)	Intensity / Intensidad	Position (cm ⁻¹) / Posición (cm ⁻¹)	Intensity / Intensidad		
894.73	0.0260	--	--	Cellulose and Hemicellulose / Celulosa y hemicelulosa	
1 264.49	0.0379	1 266.04	0.0578	Lignin / Lignina	Pandey and Pitman (2003)
1 316.38	0.0275	--	--	Cellulose and Hemicellulose / Celulosa y hemicelulosa	Durmaz, Özgenç, Boyacı, Yıldız, and Erişir (2016)
1 367.96	0.0285	1 369.84	0.0252	Cellulose and Hemicellulose / Celulosa y hemicelulosa	Chow and Ting (2019)
1 423.10	0.0285	1 421.66	0.0341	Lignin and hemicellulose / Lignina y hemicelulosa	Bari et al. (2015); Poletto, Zattera, and Santana (2012)
1 508.35	0.0253	1 507.78	0.0451	Lignin / Lignina	Curling, Clausen, and Winandy (2002)
1 732.11	0.0250	--	--	Xylan in hemicellulose	Curling, Clausen, and Winandy (2001); Chow and Ting (2019)

Internalization of *Gloeophyllum trabeum* mycelium in pinewood

Figure 3 shows the microscopic evaluation of the damage produced by the fungus *G. trabeum* on pine wood after six and nine months of exposure. Pine wood exposed to the fungus for six months only suffered thinning of the cell walls without breaking them (Figure 3b), which is due to the loss of hemicelluloses, reduction of lignin and cellulose masses, coinciding with the data obtained in the chemical analysis (Table 2). The decrease in the main polymers of the cell wall of the degraded wood (nine months) could be observed in the rupture and deformation caused by the fungus (presence of hyphae in cutting wood) (Figure 3c). This has a direct impact on the reduction of resistance to mechanical stress, especially in pine wood subjected to SB.

siendo menores en la madera de pino expuesta al hongo (Figura 2); las probetas de madera de pino sometidas a FE afectaron el porcentaje de reducción de MOR. Las bandas a 1 508, 1 423 y 1 266 cm⁻¹, correspondientes a moléculas de lignina, aumentaron en la madera de pino degradada, debido al efecto de *G. trabeum* dejando residuos de lignina. Para la celulosa se asignaron las bandas en las regiones de 1 316 y 1 369 cm⁻¹, donde se muestra pérdida de material, ya que la intensidad de la celulosa en la madera de pino degradada está por debajo del tratamiento testigo (Cuadro 3).

Los datos correspondientes a la lignina complementan el argumento anterior, debido a que la concentración en las piezas de madera no sufrió cambios considerables, hasta que a los nueve meses de exposición al hongo disminuyó significativamente 43.4 % (FE) y 29.8 % (CP) (Cuadro 2). El análisis de los componentes estructurales

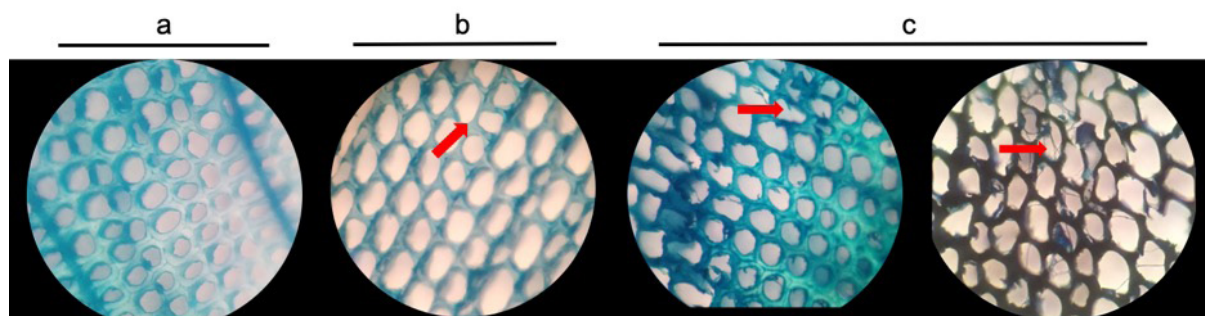


Figure 3. Microscopic analysis of *Pinus pseudostrobus* wood exposed to *Gloeophyllum trabeum* fungi. Transversal cuts: a) control treatment (undeteriorated wood), b) six months of exposure and c) nine months of exposure. Images (40x) show colonization and thinning (red arrows) of tracheid cell walls.

Figura 3. Análisis microscópico en madera de *Pinus pseudostrobus* expuesta a hongos *Gloeophyllum trabeum*. Cortes transversales: a) tratamiento testigo (madera no deteriorada), b) seis meses de exposición y c) nueve meses de exposición. Las imágenes (40x) muestran la colonización y el adelgazamiento (flechas rojas) de las paredes en las células traqueidas.

The mechanisms of development and degradation of *G. trabeum* are reflected in the thinning and rupture of plant tissue cells (tracheids) (Donaldson, Radotić, Kalauzi, Djikanović, & Jeremić, 2010). This has a direct impact on the mechanical properties of the material. Another interesting contribution of this study is that lignocellulosic material subjected to mechanical stress reduces its mechanical properties, because SB and CPF suffered the highest losses due to the fungus. After nine months of exposure, there is significant fungal attack on pine wood structures; previous reports indicate that, under optimal growth conditions, brown rot fungi cause similar early-stage strength reduction (a ratio of 50 % strength reduction per 7 % mass loss [Witowski et al., 2016]). This shows that damage caused by *G. trabeum* on pine wood (e.g., *P. pseudostrobus*), which is widely distributed throughout the world, has no significant impact on durability, and such damage is not reflected in the aesthetics of the material, which is alarming, as the common user of pine wood would not be able to notice the problem.

Finally, it is important to mention that the behavior of the fungus depends on the size of the exposed wood, since those with larger dimensions suffered greater weight loss. This reduction allowed classifying the wood as highly resistant to degradation by *G. trabeum* after nine months of interaction with the fungus, but with repercussions on the integrity of the material for use in wood structures.

Conclusions

After nine months, degradation of *Pinus pseudostrobus* wood in contact with the fungus *Gloeophyllum trabeum* was minimal if only weight is considered. However, chemical and mechanical properties showed that the fungus causes low resistance to mechanical stresses by

de la madera mediante FTIR permitió integrar la información vista anteriormente, ya que la madera sufrió pérdida importante de lignina y modificación química por parte del hongo. En la madera degradada se eliminó la celulosa y la hemicelulosa, pero se encontró un residuo de lignina modificada (Durmaz et al., 2016), lo que también se traduce en la disminución de las propiedades mecánicas del material tras nueve meses de exposición al hongo.

Internalización del micelio de *Gloeophyllum trabeum* en madera de pino

La Figura 3 muestra la evaluación microscópica de los daños producidos por el hongo *G. trabeum* en la madera de pino tras seis y nueve meses de exposición. La madera de pino expuesta al hongo durante seis meses solo sufrió adelgazamiento de las paredes celulares sin romperlas (Figura 3b), lo cual se debe a la pérdida de hemicelulosas, reducción de lignina y masas de celulosa, coincidiendo con los datos obtenidos en el análisis químico (Cuadro 2). La disminución de los principales polímeros de la pared celular de la madera degradada (nueve meses) se pudo observar en la rotura y deformación causada por el hongo (presencia de hifas en el corte de la madera) (Figura 3c). Esto repercute directamente en la reducción de la resistencia a los esfuerzos mecánicos, especialmente en la madera de pino sometida a FE.

Los mecanismos de desarrollo y degradación de *G. trabeum* se reflejan en el adelgazamiento y rotura de las células del tejido vegetal (traqueidas) (Donaldson, Radotić, Kalauzi, Djikanović, & Jeremić, 2010). Esto repercute directamente en las propiedades mecánicas del material. Otra aportación interesante de este trabajo es que el material lignocelulósico sometido a un esfuerzo mecánico reduce sus propiedades

decreasing static bending (100 to 56 N·mm² [modulus of rupture]) and compression perpendicular to the grain (42.2 to 20.2 N·mm² [limit of proportionality]). Therefore, these parameters should be considered when evaluating wood in contact with any xylophagous fungus. *P. pseudostrobis* wood that has been exposed to fungal degradation is significantly compromised in its mechanical properties, making it unfit for construction.

Acknowledgments

To the National Council of Science and Technology (CONACyT) and the Coordination of Scientific Research of our university (UMSNH), RVR†.

End of English version

References / Referencias

- Aguiar, A., Gavioli, D., & Ferraz, A. (2013). Extracellular activities and wood component losses during *Pinus taeda* biodegradation by the brown-rot fungus *Gloeophyllum trabeum*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 82, 187–191. doi: 10.1016/j.ibiod.2013.03.013
- Álvarez, C., Reyes-Sosa, F. M., & Díez, B. (2016). Enzymatic hydrolysis of biomass from wood. *Microbial Biotechnology*, 9(2), 149–156. doi: 10.1111/1751-7915.12346
- American Society for Testing Materials (1977). Standard method for determining alpha-cellulose in wood. ASTM D1103-60. Retrieved from <https://www.astm.org/DATABASE.CART/WITHDRAWN/D1103.htm>
- American Society for Testing Materials (2005). Standard test method of accelerated laboratory test of natural decay resistance of woods. Standard Method. Retrieved from <https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/D2017-81R94E1.htm>
- Aranes, V., & Goodell, B. (2014). Current understanding of brown-rot fungal biodegradation mechanisms: a review. In T. P. Schultz, B. Goodell, & D. D. Nicholas (Eds.), *Deterioration and protection of sustainable biomaterials* (vol. 1158, pp. 3–21). USA: American Chemical Society. doi: 10.1021/bk-2014-1158.ch001
- Bari, E., Nazarnezhad, N., Kazemi, S. M., Ghanbary, M. A. T., Mohebbi, B., Schmidt, O., & Clausen, C. A. (2015). Comparison between degradation capabilities of the white rot fungi *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* in beech wood. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 104, 231–237. doi: 10.1016/j.ibiod.2015.03.033
- Bernabé-Santiago, R., Ávila-Calderón, L. E. A., & Rutiaga-Quiñones, J. G. (2013). Componentes químicos de la madera de cinco especies de pino del municipio de Morelia, Michoacán. *Madera y Bosques*, 19(2), 21–35.

mecánicas, ya que la FE y la CPF sufrieron las mayores pérdidas debido al hongo. Después de nueve meses de exposición existe un ataque fúngico considerable en las estructuras de madera de pino; informes anteriores indican que, en condiciones óptimas de crecimiento, los hongos de pudrición café causan reducción similar de la resistencia en etapas tempranas (una relación de 50 % de reducción de resistencia por 7 % de pérdida de masa [Witomski et al., 2016]). Esto demuestra que los daños causados por *G. trabeum* en madera de pino (por ejemplo, *P. pseudostrobis*), que está ampliamente distribuida por todo el mundo, no tienen impacto significativo en su durabilidad, y dichos daños no se reflejan en la estética del material, lo cual es alarmante, ya que el usuario común de la madera de pino no podría notar el problema.

Finalmente, es importante mencionar que el comportamiento del hongo depende del tamaño de la madera expuesta, ya que aquellas con dimensiones mayores sufrieron mayor pérdida de peso. Esta reducción permitió clasificar la madera como altamente resistente a la degradación por *G. trabeum* a los nueve meses de interacción con el hongo, pero con repercusiones en la integridad del material para su uso en estructuras de madera.

Conclusiones

Después de nueve meses, la degradación de la madera de *Pinus pseudostrobis* en contacto con el hongo *Gloeophyllum trabeum* fue mínima si solo se considera el peso. No obstante, las propiedades químicas y mecánicas mostraron que el hongo provoca baja resistencia a los esfuerzos mecánicos disminuyendo la flexión estática (100 a 56 N·mm² [módulo de rotura]) y la compresión perpendicular a la fibra (42.2 a 20.2 N·mm² [límite de proporcionalidad]). Por lo tanto, estos parámetros deben considerarse al evaluar la madera en contacto con algún hongo xilófago. La madera de *P. pseudostrobis* que ha sido expuesta a la degradación por hongos se ve significativamente comprometida con sus propiedades mecánicas, inhabilitándola para la construcción.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y a la Coordinación de Investigación Científica de nuestra universidad (UMSNH), RVR†.

Fin de la versión en español

- Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/mb/v19n2/v19n2a2.pdf>
- Cárdenas-Gutiérrez, M. Á., Pedraza-Bucio, F. E., López-Albarrán, P., Rutiaga-Quiñones, J. G., Correa-Méndez, F., Carrillo-Parra, A., & Herrera-Bucio, R. (2018). Chemical components of the branches of six hardwood species. *Wood Research*, 63(5), 795–807. Retrieved from <http://www.woodresearch.sk/wr/201805/06.pdf>
- Chen, H., Ferrari, C., Angiuli, M., Yao, J., Raspi, C., & Bramanti, E. (2010). Qualitative and quantitative analysis of wood samples by Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 772–778. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.05.052
- Chow, Y. Y., & Ting, A. S. Y. (2019). Influence of fungal infection on plant tissues: FTIR detects compositional changes to plant cell walls. *Fungal Ecology*, 37, 38–47. doi: 10.1016/j.funeco.2018.10.004
- Curling, S. F., Clausen, C. A., & Winandy, J. E. (2002). Relationships between mechanical properties, weight loss, and chemical composition of wood during incipient brown rot decay. *Forest Products Journal*, 52(7/8), 34–39. Retrieved from <https://pubag.nal.usda.gov/download/29430/PDF>
- Daniel, G. (2016). Fungal degradation of wood cell walls. In Y. Kim, R. Funada, & A. P. Singh (Eds.), *Secondary xylem biology. Origins, functions, and applications* (pp. 131–167). Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-802185-9.00008-5
- Dashtban, M., Schraft, H., Syed, T. A., & Qin, W. (2010). Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 1(1), 36–50. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3180040/pdf/ijbmb00010036.pdf>
- Donaldson, L., Radotić, K., Kalauzi, A., Djikanović, D., & Jeremić, M. (2010). Quantification of compression wood severity in tracheids of *Pinus radiata* D. Don using confocal fluorescence imaging and spectral deconvolution. *Journal of Structural Biology*, 169(1), 106–115. doi: 10.1016/j.jsb.2009.09.006
- Durmaz, S., Özgenc, Ö., Boyacı, İ. H., Yıldız, Ü. C., & Erişir, E. (2016). Examination of the chemical changes in spruce wood degraded by brown-rot fungi using FT-IR and FT-Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 85, 202–207. doi: 10.1016/j.vibspec.2016.04.020
- Green, B., Jones, P. D., Nicholas, D. D., Schimleck, L. R., & Shmulsky, R. (2011). Non-destructive assessment of *Pinus* spp. wafers subjected to *Gloeophyllum trabeum* in soil block decay tests by diffuse reflectance near infrared spectroscopy. *Wood Science and Technology*, 45(3), 583–595. doi: 10.1007/s00226-010-0368-9
- Hastrup, A. C. S., Howell, C., Larsen, F. H., Sathitsuksanoh, N., Goodell, B., & Jellison, J. (2012). Differences in crystalline cellulose modification due to degradation by brown and white rot fungi. *Fungal Biology*, 116(10), 1052–1063. doi: 10.1016/j.funbio.2012.07.009
- Hiscox, J., O'Leary, J., & Boddy, L. (2018). Fungus wars: basidiomycete battles in wood decay. *Studies in Mycology*, 89, 117–124. doi: 10.1016/j.simyco.2018.02.003
- Hosseinpourpia, R., & Mai, C. (2016). Mode of action of brown rot decay resistance of thermally modified wood: resistance to Fenton's reagent. *Holzforschung*, 70(7), 691–697. doi: 10.1515/hf-2015-0141
- Hunt, C. G., Zelinka, S. L., Frihart, C. R., Lorenz, L., Yelle, D., Gleber, S. C., ... Jakes, J. E. (2018). Acetylation increases relative humidity threshold for ion transport in wood cell walls—A means to understanding decay resistance. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 133, 230–237. doi: 10.1016/j.ibiod.2018.06.014
- International Organization for Standardization (ISO). (1975). Wood testing in compression perpendicular to grain, ISO 3132. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/8290.html>
- International Organization for Standardization (ISO). (1975). Wood determination of ultimate strength in static bending. ISO 3133. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/8291.html>
- International Organization for Standardization (ISO). (1975). Determination of ultimate tensile stress parallel to grain. ISO 3345. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/8629.html>
- Johnston, S. R., Boddy, L., & Weightman, A. J. (2016). Bacteria in decomposing wood and their interactions with wood-decay fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(11), 1–11. doi: 10.1093/femsec/fiw179
- Krah, F. S., Bässler, C., Heibl, C., Soghigian, J., Schaefer, H., & Hibbett, D. S. (2018). Evolutionary dynamics of host specialization in wood-decay fungi. *BMC Evolutionary Biology*, 18(1), 1–13. doi: 10.1186/s12862-018-1229-7
- Krueger, M. C., Hofmann, U., Moeder, M., & Schlosser, D. (2015). Potential of wood-rotting fungi to attack polystyrene sulfonate and its depolymerisation by *Gloeophyllum trabeum* via hydroquinone-driven Fenton chemistry. *PLoS ONE*, 10(7), e0131773. doi: 10.1371/journal.pone.0131773
- Mantau, U., Mayr, M., Döring, P., Saal, U., Glasenapp, S., & Blanke, C. (2019). World markets for wood: Status and prospects. In R. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of sustainability science and technology*. New York, USA: Springer. doi: 10.1007/978-1-4939-2493-6_990-1
- Mejía-Díaz, L. A., & Rutiaga-Quiñones, J. G. (2008). Chemical composition of *Schinus molle* L. wood and kraft pulping process. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 7(2), 145–149. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/620/62011423006.pdf>
- Monrroy, M., Ortega, I., Ramírez, M., Baeza, J., & Freer, J. (2011). Structural change in wood by brown rot fungi and effect on enzymatic hydrolysis. *Enzyme and Microbial Technology*, 49(5), 472–477. doi: 10.1016/j.enzmictec.2011.08.004
- Ortiz, R., Jamet, A., Herrera, P., Vindigni, G., & Pereira, A. (2011). Influencia del deterioro incipiente producido por el hongo de pudrición parda *Serpula lacrymans*, sobre las propiedades mecánicas de compresión normal y paralela a la fibra en madera de *Pinus radiata* D. Don. *Informes de la Construcción*, 63(521), 69–74. doi: 10.3989/jc.09.072

- Pandey, K. K., & Pitman, A. J. (2003). FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52(3), 151–160. doi: 10.1016/S0964-8305(03)00052-0
- Poletto, M., Zattera, A. J., & Santana, R. M. (2012). Structural differences between wood species: evidence from chemical composition, FTIR spectroscopy, and thermogravimetric analysis. *Journal of Applied Polymer Science*, 126(S1), E337–E344. doi: 10.1002/app.36991
- Proskurina, S., Junginger, M., Heinimö, J., Tekinel, B., & Vakkilainen, E. (2019). Global biomass trade for energy—Part 2: Production and trade streams of wood pellets, liquid biofuels, charcoal, industrial roundwood and emerging energy biomass. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 13(2), 371–387. doi: 10.1002/bbb.1858
- Ramage, M. H., Burrige, H., Busse-Wicher, M., Fereday, G., Reynolds, T., Shah, D., ...Scherman, O. (2017). The wood from the trees: The use of timber in construction. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 68(1), 333–359. doi: 10.1016/j.rser.2016.09.107
- StatSoft Inc. (2004). STATISTICA software, kernel release version 7.0. Tulsa, Oklahoma, USA: Author.
- Terho, M., Hantula, J., & Hallaksela, A. M. (2007). Occurrence and decay patterns of common wood-decay fungi in hazardous trees felled in the Helsinki City. *Forest Pathology*, 37(6), 420–432. doi: 10.1111/j.1439-0329.2007.00518.x
- Traoré, M., Kaal, J., & Cortizas, A. M. (2016). Application of FTIR spectroscopy to the characterization of archeological wood. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153, 63–70. doi: 10.1016/j.saa.2015.07.108
- Witomski, P., Olek, W., & Bonarski, J. T. (2016). Changes in strength of Scots pine wood (*Pinus silvestris* L.) decayed by brown rot (*Coniophora puteana*) and white rot (*Trametes versicolor*). *Construction and Building Materials*, 102, 162–166. doi: 10.1016/j.conbuildmat.2015.10.109