

Caracterización de hongos aislados de mapas conservados en el Archivo Nacional de la República de Cuba

Alian Molina Veloso y Sofía Borrego Alonso

Resumen: Los microorganismos, principalmente los hongos filamentosos (mohos), generan problemas en archivos, bibliotecas y museos provocando el biodeterioro de las colecciones. Estos efectos son más acusados en países de clima tropical debido a la influencia de las altas temperaturas y humedad relativa. Los objetivos de este estudio fueron caracterizar la concentración fúngica en cinco mapas conservados en la Mapoteca del Archivo Nacional de Cuba y determinar el potencial biodeteriorante de los hongos aislados. La toma de muestra se realizó mediante la técnica del hisopado en forma aséptica. Se determinó cualitativamente la actividad celulolítica, amilolítica, proteolítica así como la excreción de pigmentos y de ácidos orgánicos. Se detectó una concentración fúngica media de 622 ufc. cm⁻², además de especies que constituyeron nuevos hallazgos en soportes documentales para el Archivo Nacional de Cuba. Los hongos degradaron la celulosa, el almidón y la gelatina además de excretar ácidos orgánicos y pigmentos.

Palabras clave: hongos filamentosos, biodeterioro, actividad celulolítica, mapas, soportes documentales

Characterization of fungi isolated from maps preserved in the National Archives of the Republic of Cuba

Abstract: Microorganisms, mainly filamentous fungi (molds), create problems in archives, libraries and museums causing biodeterioration. These deterioration effects increase in tropical climates countries due to the influence of high temperatures and relative humidity. The aims of this study were to characterize the fungal concentration in five maps stored in the map library of the National Archives of Cuba and to determine the biodeterioration potential of the isolated fungi. The maps sampling was performed using the swabbing technique. The cellulolytic, amylolytic and proteolytic activities, as well as the excretion of pigments and organic acids, were qualitatively determined. The mean value of fungal concentration detected was 622 cfu.cm⁻² and, in addition, new fungal species were found on the documentary supports of the National Archives of Cuba. Cellulose, starch and gelatin were degraded by the isolated fungi and pigments and organic acids showed to be excreted.

Key words: filamentous fungi, biodeterioration, cellulolytic activity, maps, documentary supports.

Caracterização de fungos isolados em mapas conservados no Arquivo Nacional da República de Cuba

Resumo: Os microorganismos, principalmente os fungos filamentosos (bolores) originam problemas em arquivos, bibliotecas e museus, provocando a bio deterioração das colecções. Estes efeitos são mais visíveis nos países de clima tropical devido à influência das altas temperaturas e humidade relativa. Os objectivos deste estudo foram a caracterização da concentração fúngica de cinco mapas conservados na Mapoteca do Arquivo Nacional da República de Cuba e a determinação do potencial de bio deterioração dos fungos isolados. A recolha de amostras realizou-se segundo a técnica de cotonete em forma asséptica. Determinou-se, qualitativamente, as atividades celulolítica, amilolítica, proteolítica, assim como a excreção de pigmentos e ácidos orgânicos. Detectou-se uma concentração fúngica média de 622 ufc.cm⁻², para além de novas espécies encontradas em suportes documentais no Arquivo Nacional de Cuba. Os fungos degradaram a celulose, o amido e a gelatina, para além de excretar pigmentos e ácidos orgânicos.

Palavras-chave: fungos filamentosos, bio deterioração, atividade celulolítica, mapas, suportes documentais.

Introducción

Los microorganismos, principalmente los hongos filamentosos (mohos), generan grandes problemas en los archivos, bibliotecas y museos provocando un serio daño a las colecciones. Estos efectos son mayores en países de clima tropical debido a la influencia de las altas temperaturas y humedad relativa en las poblaciones microbianas (Borrego 2009:67-124). Como es bien sabido, el biodeterioro se define como todo aquel cambio indeseable en las propiedades de un material originado por la actividad vital de los organismos (Hueck 1965). A la forma específica de biodeterioro causada por el desarrollo de microorganismos se le denomina microbiobiodeterioro (Borrego 2009:67-124; Villalba y Malagón 2011). El microbiobiodeterioro afecta a materiales que pueden formar parte de los diferentes soportes tales como: madera, papel, textiles, cuero, material fotográfico, pinturas, y adhesivos empleados para las encuadernaciones, entre otros (Vaillant *et al.* 2004:145-149). Los soportes utilizados para la elaboración de mapas y planos no están exentos de dicho fenómeno.

Parte de la riqueza documental que atesora el Archivo Nacional de la República de Cuba la integran colecciones de mapas, planos y croquis cuyo número asciende a 40000, siendo los originales más antiguos de los siglos XVII y XVIII. Estas colecciones poseen un valor arquitectónico, científico e histórico que se considera de valor patrimonial.

Los hongos filamentosos tienen significación especial dentro de los agentes causantes del biodeterioro por ser capaces de vivir en una amplia variedad de ambientes. La mayoría lo hacen, preferentemente, en lugares húmedos aunque algunas especies son resistentes a las condiciones de sequedad (Valentín 2004 y 2010; Rojas 2012). Por otro lado, su gran versatilidad metabólica, sumado al hecho de que excretan al medio las enzimas o complejos enzimáticos que hidrolizan los sustratos de los que se nutren, les permite degradar una gran variedad de los mismos incluso sin entrar en contacto físico con ellos (Magalhães y Milages 2008; Cappitelli y Sorlini 2010:45-59). Las principales alteraciones que los hongos provocan a los soportes documentales son: la degradación enzimática de la celulosa y de las proteínas, la excreción de ácidos y pigmentos, así como la acción mecánica sobre el material (Martínez 2003; Valentín 2010; Borrego y García 2011). Las investigaciones micológicas realizadas en ambientes interiores en Cuba, hasta la fecha, se han centrado en los géneros y especies más comunes y, de éstos, se conocen un limitado número de características. Por tanto, una caracterización más completa es un paso primordial para la adecuada conservación de los objetos (Rojas 2010).

Otras propiedades importantes de los hongos están relacionadas con su potencial patogénico, es decir, la capacidad que tienen algunas especies para provocar enfermedades al hombre que está en contacto con ellos (Nevalainen y Morawska 2009:89-123; Haleem y Mohan 2012). En varias investigaciones realizadas en archivos y bibliotecas, se ha



Figura 1. Planeros horizontales de gavetas donde se conservan los mapas en la Mapoteca.

demostrado que estos agentes son la causa de muchas enfermedades profesionales y patologías situacionales (Vaillant 1996; Florian 2003).

Teniendo en cuenta estos aspectos, los objetivos propuestos en este trabajo han sido caracterizar la contaminación fúngica en cinco mapas conservados en la Mapoteca del Archivo Nacional de Cuba y determinar el potencial biodeteriorante de los hongos aislados.

Materiales y métodos

Características del depósito estudiado

La Mapoteca del Archivo Nacional de la República de Cuba es un depósito que se caracteriza por su gran tamaño, siendo sus dimensiones las siguientes (largo x ancho x altura, m): 15.2 x 6.2 x 2.5m. El local cuenta con un total de 195 metros lineales de mapas, planos y privilegios de invención, que en su mayoría están elaborados sobre papel de distintos tipos, aunque hay algunos en tejido de algodón y seda. Los mapas se conservan en planeros horizontales de gavetas [figura 1]. Durante los días en los que se realizó este estudio (época de lluvia, julio del 2010), el sistema de climatización llevaba dos semanas averiado y el local se ventilaba de forma natural.

Medición de temperatura (T) y humedad relativa (HR) en el momento del muestreo microbiológico

Aunque desde hace varios años, es habitual la medición y registro de la temperatura (T) y humedad relativa (HR) dos veces al día en todos los depósitos del archivo (10:00 a.m. y 3:00 p.m.), durante la colecta de las muestras microbiológicas, se realizó una medición suplementaria empleando un termohigrómetro digital (TH PEN 8709, China).



Figura 2. Mapa en soporte papel con crecimiento fúngico.

Muestreo microbiológico de mapas

Se seleccionaron cinco mapas al azar que presentaban signos de crecimiento fúngico no activo en su superficie [figura 2]. Se midieron los mapas analizados y las zonas muestreadas. La toma de muestra se realizó mediante la técnica del hisopado en forma aséptica (Pinzari *et al.* 2010). Posteriormente el hisopo se sumergió en un tubo que contenía 1ml de agua destilada estéril, se agitó bien la muestra a intervalos durante 45 minutos. Luego se hicieron diluciones seriadas y se sembró a profundidad en placas de 110mm empleando el medio de cultivo Agar Malta (AM) (BIOCEN, Cuba) suplementado con NaCl (7.5%) (Rojas *et al.* 2002). Las placas se incubaron invertidas durante 5 días a 30°C debido a las condiciones climáticas en Cuba.

Determinación de la concentración de los hongos en los mapas muestreados

Concluida la incubación, se realizó el conteo de unidades formadoras de colonia para poder determinar la concentración microbiana, expresada en unidades formadoras de colonias por cm² de superficie (ufc.cm⁻²).

Identificación de las cepas aisladas

Se realizó el aislamiento y la purificación de las diferentes cepas de hongos que crecieron en las placas utilizadas para los diferentes muestreos. Para la identificación taxonómica de hongos hasta nivel de género se tomaron en cuenta las características culturales y morfológicas observadas al microscopio óptico o estereoscopio según resultó conveniente. Dichas características se determinaron a partir de colonias de cada aislado, obtenidas por inoculación en AM. La observación de las características morfológicas se llevó a cabo a través del montaje de microcultivos según la técnica de Casadesús y Rojas (1981), así como me-

dante preparaciones en fresco y semipermanentes con lactofenol; asimismo, para la observación de estructuras hialinas se utilizó lactofenol-azul algodón (Booth 1971). La ubicación en géneros de los hongos imperfectos de los aislados se realizó de acuerdo con los criterios de Kendrick y Carmichael (1973) y Barnett y Hunter (1998).

Las especies ubicadas en los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Eurotium* se identificaron siguiendo los procedimientos sugeridos por Klich y Pitt (1994) y Pitt (2000); estas metodologías están basadas primeramente en los caracteres morfológicos y también en características fisiológicas como son las relaciones agua-temperatura, la pigmentación y el grado de desarrollo de las colonias en ciertos medios.

Determinación de la frecuencia relativa (FR) de los hongos aislados en los mapas

Este análisis se realizó de acuerdo a Esquivel *et al.* 2003) y Saleh (2007) donde:

$$FR = 100 \frac{\text{n}^\circ \text{ de materiales en que se detecta un género o especie}}{\text{n}^\circ \text{ total de materiales analizados}}$$

Determinación de la producción de ácido por los hongos aislados

Se realizaron suspensiones de esporas de las cepas de hongos aisladas y se sembraron en un caldo de cultivo cuya composición salina para 1 litro es: nitrato de sodio 2 g; fosfato de potasio 1 g; sulfato de magnesio 0.5 g; sulfato ferroso 0.01g y cloruro de potasio 0.5g. Como fuente de carbono se utilizó glucosa al 1%, el pH se ajustó a 7 y se adicionó 0.3g de rojo fenol como indicador de acidificación del medio (reactivos, casa comercial MERCK). Los cultivos se incubaron a 30°C por 3 días y posteriormente se midió el pH del medio de cultivo con la ayuda de un potenciómetro (PACITRONIC MV 870, USA) (Borrego *et al.* 2010 a).

Determinación cualitativa de la capacidad celulolítica y la producción de pigmentos por los hongos

Con el objetivo de determinar el poder degradativo de la celulosa y la producción de pigmentos por parte de las cepas fúngicas aisladas, se cultivaron en tubos con cuña que contenían un medio de cultivo de composición salina similar al empleado anteriormente, además de agar 20g; el pH del medio se ajustó a 5.5. Como fuente de carbono se empleó en un caso una tira de papel de filtro (Whatman No. 1, Inglaterra) de 4,8 cm de largo por 1cm de ancho (donde además se observó la producción de pigmentos), y en el otro celulosa cristalina (1%). Como control se empleó glucosa 1%. Los cultivos se incubaron a 30°C durante 21

días (Borrego *et al.* 2010 a).

Determinación de la actividad proteolítica de los hongos

La actividad proteolítica cualitativa fue determinada a través de la hidrólisis de la gelatina en tubos de cultivo implementando una modificación al método de Abrusci (2005), que fue referido por Borrego *et al.* (2010 a). Cada aislado fue inoculado por punción en el medio cuya composición salina para 1litro es: nitrato de sodio 2g; fosfato de potasio 1g; sulfato de magnesio 0.5g y sulfato ferroso 0.01g. Se adicionó gelatina a razón de 120g.l⁻¹ y se ajustó el pH a 7.2. Los tubos inoculados fueron incubados por 7 días a 30°C. Posteriormente fueron incubados a 4°C por 1 hora. Una reacción positiva muestra un medio líquido, en cambio la reacción negativa muestra el medio sólido aún después de agitar. Se evidencia la reacción de hidrólisis por la liquefacción del medio al agitar los tubos.

Determinación de la actividad amilolítica de los hongos aislados

La actividad amilolítica cualitativa fue determinada a través de la hidrólisis del almidón en placas (Borrego *et al.* 2010 a). Cada aislado fue inoculado por punción invertida en placas de 110mm con un medio de composición salina por litro similar al empleado anteriormente, agar 20g y utilizando como fuente de carbono almidón soluble (5g.l⁻¹). Después de incubar durante 7 días a 30°C se vertieron sobre cada placa de cultivo 5ml de solución del reactivo Lugol. La presencia de una zona incolora alrededor de las colonias fue tomada como indicador de hidrólisis positiva

Resultados y discusión

Caracterización microbiana de los hongos aislados de los mapas

Se detectaron diferentes concentraciones de contaminación fúngica en los cinco mapas estudiados [tabla 1] obteniéndose concentraciones que oscilaron entre 200 y 1766 ufc.cm⁻² para una media de 622 ufc.cm⁻². La alta T y HR detectadas en este local (29.5°C y 67.5%, respectivamente) ha favorecido el mantenimiento de hongos viables sobre los soportes, lo cual puede resultar devastador si aumentaran aun más la T y la HR del entorno. Se conoce que a una HR de 65% y a una T mayor de 20°C el contenido de humedad del papel puede aumentar de un 8-10% y por tanto favorecer el desarrollo fúngico (Pinzari *et al.* 2006). Por otra parte, también se sabe que los propágulos de hongos sobre cualquier tipo de sustrato almacenado constituyen un peligro potencial para la correcta conservación de materiales (Portnoy *et al.* 2004; Molina 2012). Una forma de bajar la carga microbiana e impedir un futuro brote fúngico que biodeterioraría a los mapas, sería realizar una limpieza profunda de los materiales por aspiración, además de man-

tener las condiciones de temperatura y humedad relativa adecuadas para la conservación de estos soportes documentales, que se refieren en la Resolución No. 41 (2009) del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA). Esto último se logra mediante el reestablecimiento de la climatización del local que cumple con las características técnicas establecidas en dicha resolución.

De la superficie de los mapas muestreados se aislaron 11 colonias de hongos filamentosos diferentes, el 100% de ellas fueron clasificadas como hongos mitosporicos pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, orden Moniliales, familia *Moniliaceae*. El género *Aspergillus*, donde se ubicaron el 73% de las colonias detectadas, predominó sobre *Penicillium* (27%). Al comparar estos resultados con los obtenidos por otros autores coinciden en que los géneros con mayor predominio encontrados en soportes documentales son *Aspergillus* y *Penicillium*, si bien aparecen uno más que otro indistintamente en diferentes estudios (Rojas 2010; Michaelsen *et al.* 2010; Borrego *et al.* 2010 a; Borrego y García 2011; Guiamet *et al.* 2011; Rojas *et al.* 2012; Manente *et al.* 2012; Molina 2012). En estudios anteriores realizados en este mismo depósito y período del año, los resultados coinciden solo de forma parcial, al ser los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* en ese orden los que mostraron mayores prevalencias (Guiamet *et al.* 2011). Sin embargo, se detectaron en aquel momento además de los géneros mencionados, *Talaromyces helicus* (teleomorfo de *Penicillium*). *Aspergillus* y *Penicillium* son géneros que comúnmente se encuentran en ambientes interiores de regiones con clima cálido y templado (Borrego y Perdomo 2012). Su prevalencia sobre los soportes pudiera deberse a que son colonizadores primarios de los sustratos ya que pueden desarrollarse a bajos valores de actividad de agua (aw) (aw < 0.8) a diferencia de otros géneros fúngicos, como por ejemplo *Alternaria* y *Cladosporium*, que requieren valores de aw entre 0.8 y 0.9 (Nielsen 2003).

Se realizó la identificación taxonómica hasta nivel de especie de todos los aislados y se calculó la frecuencia relativa (FR) de cada una de ellos [tabla 2]. De todas las especies identificadas, destacaron algunas por diversas razones, tales como: ser referenciadas por varios autores como frecuentes en ambientes de archivos y bibliotecas, por su importancia como agentes biodeteriorantes y por ser causantes de afecciones a la salud humana.

Del género *Aspergillus* se identificaron 6 especies, de las cuales *A. niger* resultó la especie de mayor FR en los mapas analizados (80%), seguido de *A. flavus* y *A. caespitosus*, ambas con un 60% de FR. Los dos primeros son citados por varios autores como hongos frecuentemente aislados en múltiples sustratos como papel, tela, cartón y lana; además de ser las especies dentro del género con mayor predominio en ambientes interiores de forma general (Lugauskas *et al.* 2003; Lignell 2008; Rojas 2010 y Rojas *et al.* 2012). La especie *A. niger* se ha planteado como un gran productor de celulasas y hemicelulasas además de estar considerado, al igual que *A. flavus*, como un patógeno oportunista cau-

sante de aspergillosis e infecciones pulmonares en personas inmunocomprometidas (De Hoog *et al.* 2000:470; Ville-
 na y Gutiérrez – Correa 2003; Gautam *et al.* 2011; Haleem
 y Mohan 2012).

Las tres especies del género *Penicillium*: *P. citrinum*, *P. fellu-
 tanum* y *P. waksmanii* mostraron frecuencias de aparición
 de un 40% las dos primeras y un 20% la tercera. Es impor-
 tante destacar que *P. citrinum* está citado en la literatura
 científica como una especie predominante en soportes de
 papel y textil (Borrego *et al.* 2008; Rojas 2010). Es un hon-
 go de gran importancia para la salud al ser referido como
 el causante de infecciones en tracto urinario, pulmones y
 en casos de keratitis (De Hoog *et al.* 2000:823). En estudios
 realizados anteriormente, en este mismo local por García
 (1997) *P. citrinum* y *P. fellutanum* ya fueron detectados en el
 aire, sin embargo, en el caso de *P. waksmanii* constituye el
 primer registro para Cuba en archivos.

*Capacidad biodeteriorante de las cepas fúngicas aisladas en
 la Mapoteca*

La capacidad biodeteriorante de las cepas aisladas en la
 Mapoteca se determinó con las pruebas fisiológicas reali-
 zadas a cada una de ellas, detectándose de forma general
 gran actividad hidrolítica de la celulosa y el almidón, ade-
 más de acidificar el medio y producir diversos pigmentos.

La caracterización fisiológica [tabla 3] mostró que el 100%
 de las cepas de hongos fueron capaces de crecer, en mayor
 o menor medida, a expensas del papel de filtro como única
 fuente de carbono (celulosa amorfa de más fácil asimila-
 ción), mientras que un 91% de ellas utilizaron la celulosa
 cristalina (de más difícil asimilación). Asimismo, el 40% de
 estos hongos excretaron diferentes pigmentos sobre el
 papel, abarcando colores desde el amarillo hasta el pardo
 intenso, pasando por tonos rojizos. También se evidenció
 que todas las cepas produjeron ácidos pues propiciaron
 una disminución significativa del pH del medio de cultivo.
 La degradación del almidón y la licuefacción de la gelatina
 se constataron en todas las cepas. Dentro de los hongos

aislados, *Aspergillus caespitosus* 1 y *A. ornatus* resultaron
 ser potentes degradadores de la celulosa, el almidón y la
 gelatina.

Si se analiza el poder degradativo de todas las cepas ais-
 ladas, se evidencia no sólo que las especies de *Aspergillus*
 fueron las que predominaron sino que también son las de
 mayor poder degradativo de los componentes del papel y
 los textiles, tales como la celulosa, el almidón y la gelatina.
 Resultados similares han sido publicados por otros autores
 (Borrego *et al.* 2010 a; Guiamet *et al.* 2011; Rojas *et al.* 2012).
 La evaluación de las cepas aisladas permitió confirmar que
Aspergillus y *Penicillium* son géneros con un potencial enzi-
 mático muy amplio, resultado que está en corresponden-
 cia con los obtenidos por otros autores (Villalba *et al.* 2004;
 Villalba y Malagón 2011; Rojas 2010).

Además de las actividades enzimáticas que se evidencian
 en este estudio, hay que señalar que varios represen-
 tantes de estos géneros son productores de otras enzimas
 como catalasas, lipasas, quitinasas y pectinasas, capaces
 de degradar o modificar materiales que forman parte de
 los documentos (Mycota, 2013). Cuando crecen sobre el
 papel degradan todos sus componentes y principalmente
 su fuente carbonada, la celulosa (Sterflinger 2010). En la
 mayoría de las especies evaluadas se evidenció de forma
 cualitativa, la actividad celulosa en papel de filtro concreta-
 mente, la que se define como actividad global del comple-
 jo enzimático que incluye endoglucanasas, exoglucanasas
 y β -glucosidasa (Magalhães y Milages 2008; Cappitelli y
 Sorlini 2010:47). Rojas (2010) ha resaltado la elevada acti-
 vidad de endoglucanasas de *A. flavus* y *A. niger* respecto a
 diferentes tipos de papel. Diversas especies obtenidas en
 este estudio demostraron gran actividad celulolítica en-
 tre ellas *A. flavus*, *A. niger* y *A. oryzae*; a este respecto, en
 la literatura especializada, se ha reconocido ampliamente
 este potencial (Lugauskas *et al.* 2003; Borrego *et al.* 2008;
 Borrego *et al.* 2010 a; Rojas 2010; Sterflinger 2010). Asimis-
 mo, se han detectado otras con similar poder degradativo
 tales como *A. caespitosus*. De los tres aislados del género
Penicillium destacó por su actividad celulolítica *P. citrinum*.

No.	Título	Soporte	ufc.cm ⁻²
1	Reparto la prosperidad, San Francisco de Paula	Papel sobre textil	418
2	Parque residencial Alturas del Vedado	Papel sobre textil	500
3	Plano de silos para maíz	Papel	226
4	Parcelación de la finca de San José	Papel	200
5	Plano del ferrocarril de Júcaro	Papel	1766

Tabla 1. Concentración fúngica en los 5 mapas analizados

De forma general todos los aislados produjeron ácidos orgánicos, lo que se evidenció con la acidificación del medio de cultivo. Varios autores han citado que *Aspergillus niger* y *A. flavus* producen ácido oleico, linoléico, palmítico, esteárico y cítrico (Dai *et al.* 2004); *A. niger* por su parte, también produce ácido oxálico (Santhiya y Ting 2005). En este ensayo las cepas de *A. flavus* y *A. niger* mostraron los valores de pH más bajos de todos los aislados (pH < 4.5). La acidificación provocada por estos colonizadores primarios del papel y los textiles que conforman los mapas y planos, es un factor importante en el envejecimiento de dichos soportes y, por otra parte, puede contribuir a crear las condiciones idóneas para el desarrollo de otros hongos filamentosos y levaduras, que en su inmensa mayoría son microorganismos acidófilos (Borrego 2009:67-124). Valentín (2010) aisló de materiales orgánicos e inorgánicos diferentes especies de *Aspergillus*, además, la autora refirió que las especies de este género pueden excretar amilasas, celulasas, glucosa oxidasa, ácido cítrico, láctico, fumárico y málico, que provocan manchas de diferentes colores, degradación y acidificación de una gran variedad de soportes. Todo lo antes expuesto permite considerar a este género fúngico de importancia para el biodeterioro de soportes documentales.

En lo que respecta a la producción de pigmentos, las cepas de ambos géneros (*Aspergillus* y *Penicillium*) destacaron por mostrar una gama de pigmentos difusivos en el medio, además de evidenciarse sobre la tira de papel de filtro utilizada para probar la actividad celulolítica. De los dos aislados de *A. flavus* evaluados en este trabajo, uno produjo pigmentos, resultado que coincide con los obtenidos por otros autores (Borrego *et al.* 2010 b), en tanto que la otra cepa no lo hizo. Esto demuestra la diversidad metabólica que puede existir entre diferentes cepas de una misma

especie, aún cuando se han aislado de un mismo ecosistema, y enfatiza la necesidad de realizar los aislamientos aparejados a un análisis fisiológico, que sea representativo de la cantidad de colonias de un mismo tipo morfológico. Según lo planteado por Rehnstrom y Free (1997) y Rosas y Casadevall (1997), *A. niger* produce melanina y otros tipos de pigmentos, esto coincide con los resultados obtenidos para la cepa evaluada en este trabajo que produjo pigmentos de color pardo.

Del género *Penicillium* resultó significativa la producción de pigmento de color amarillo por parte del aislado de *P. citrinum*; este resultado coincide con lo planteado por Pitt (2000). De forma general, se evidenció que los hongos pueden provocar alteraciones cromáticas debido a manchas de diferentes colores, tonalidades y texturas, producto de la excreción de pigmentos y el crecimiento micelial, dañando de esta forma la estética de los documentos sobre los que se desarrolla. Los hongos, a diferencia de las bacterias, están considerados los organismos de mayor importancia como agentes biodeteriorantes de la materia orgánica, pues además de producir enzimas extracelulares, las hifas ejercen presión mecánica sobre el soporte produciéndole debilitamiento (Magalhães y Milages 2008; Cappitelli y Sorlini 2010:45-59).

La actividad amilolítica se evidenció en todas las cepas aisladas puesto que el almidón es un polímero que es asimilado de forma relativamente fácil por la mayoría de los microorganismos. Aunque el ensayo realizado fue cualitativo, los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* se encuentran citados en la literatura científica como buenos degradadores del almidón (Rojas *et al.* 2009).

Especies	Mapas en los que fue hallado	FR (%)
<i>Aspergillus flavus</i>	1, 2, 5	60
<i>Aspergillus alliaceus</i>	3	20
<i>Aspergillus caespitosus</i>	2, 4, 5	60
<i>Aspergillus niger</i>	2, 3, 4, 5	80
<i>Aspergillus ornatus</i>	3, 4	40
<i>Aspergillus oryzae</i>	1, 5	40
<i>Penicillium citrinum</i>	1, 4	40
<i>Penicillium fellutanum</i>	1, 3	40
<i>Penicillium waksmanii</i>	4	20

Tabla 2. Hongos aislados en los planos muestreados.

Cepa	Degradación de celulosa		Producción de ácidos	Producción de pigmento	Actividad amilolítica	Actividad proteolítica
	Crecimiento en papel de filtro	Crecimiento en celulosa cristalina	pH		Degradación de almidón	Licuefacción de la gelatina
<i>Aspergillus alliaceus</i>	+/-	-	5.70	-	+	+
<i>Aspergillus caespitosus</i> 1	+++	+++	6.05	-	+	+
<i>Aspergillus caespitosus</i> 2	+/-	+	5.99	-	+	+
<i>Aspergillus flavus</i> 1	+++	+/-	4.35	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i> 2	++	++	5.23	-	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	++	+	3.85	+	+	+
<i>Aspergillus ornatus</i>	+++	+++	6.40	+	+	+
<i>Aspergillus oryzae</i>	+	+/-	6.27	-	+	+
<i>Penicillium citrinum</i>	++	++	4.62	+	+	+
<i>Penicillium fellutanum</i>	+/-	+/-	4.75	+	+	+
<i>Penicillium waksmanii</i>	+	+	4.42	-	+	+

Tabla 3. Pruebas fisiológicas cualitativas realizadas a los aislados de los 5 mapas.

+++ : Indica crecimiento abundante, ++ : indica crecimiento moderado, + : indica crecimiento pobre, también es indicativo de la presencia de pigmento, degradación de almidón y degradación de gelatina. +/- : indica crecimiento muy pobre, - : indica NO crecimiento, NO producción de pigmento y NO degradación de almidón y NO degradación de gelatina.

De igual forma, la actividad proteolítica se manifestó en el 100% de los hongos analizados. En este sentido, el género *Aspergillus*, es destacado en la literatura especializada; así Rojas *et al.* (2009) y Rojas (2010) mencionan su alta actividad proteolítica, aunque es menor que la amilolítica. Obviamente, los hongos que muestran actividad amilolítica y/o proteolítica resultan de suma importancia para el biodeterioro, sobre todo cuando se trata de material documental, puesto que muchos pegamentos y aditivos utilizados en las encuadernaciones tienen almidón y proteínas entre sus componentes principales (Valentín 2004; Rojas *et al.* 2009). Además, existen materiales documentales antiguos realizados en pergamino, de naturaleza proteolítica, que pudieran verse afectados seriamente.

Conclusiones

La concentración de propágulos fúngicos viables detectada en la superficie de cinco mapas presentó un valor medio de 622 ufc.cm⁻², lo que constituye un peligro potencial para el biodeterioro de los mismos. Todos los hongos aislados mostraron actividad degradativa de diferentes sustratos. Las especies *Aspergillus caespitosus*, *A. flavus*, *A. niger*,

A. oryzae y *P. citrinum* presentaron las mayores actividades enzimáticas cualitativas para degradar celulosa, almidón y gelatina, además de excretar pigmentos y ácidos. El conjunto de estos resultados pone de manifiesto su amplio potencial biodeteriorante que puede afectar severamente los mapas. Constituyeron nuevos registros para el Archivo Nacional de Cuba las especies *A. ornatus*, *Aspergillus alliaceus* y *P. waksmanii*.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero concedido por el Programa de Ayuda para los Archivos de Iberoamérica (ADAI), proyecto 146/2008.

Bibliografía

- BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, Fourth. 4th. Ed. APS. Press. The American Phytopathological Society. USA, 218 p.
- BOOTH, C. (1971). *Introduction to General Methods*. p84. En Meth-

- ods in Microbiology. Vol 4. Edited by C. Booth. Academia Press, London and New Cork. 795 p.
- BORREGO, S. (2009). *Factores externos que influyen en el deterioro del patrimonio documental*. En: Conservación preventiva en archivos y bibliotecas. Bergaglio C., Pené M. (eds). 1ra. Ed. La Plata: Instituto Cultural de la Provincia de Buenos Aires, pp. 67-124.
- BORREGO, S., GARCIA, M. (2011). "Comportamiento de la concentración microbiana aérea en la Fototeca del Archivo Nacional de Cuba". *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 42: 61-67.
- BORREGO, S., GUIAMET, P., GOMEZ DE SARAVIA, S., BATTISTONI, P., GARCIA, M., LAVIN, P., PERDOMO, I. (2010 a). "The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs". *International Biodeterioration and Biodegradation*, 64: 139-145.
- BORREGO, S., PERDOMO, I. (2012). "Aerobiological investigations inside repositories of the National Archive of the Republic of Cuba". *Aerobiología*, 28:303-316
- BORREGO, S., PERDOMO, I., GUIAMET, P., GOMEZ, S. (2010 b). "Study of the microbial concentration in the air in repositories of the National Archive of Cuba". *AUGMDOMUS*, 1:114-133.
- BORREGO, S., PONS, V., PERDOMO, I. (2008). "La contaminación microbiana del aire en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba". *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 39: 63-69.
- CAPPITELLI, F., SORLINI, C. (2010). *Papers and Manuscripts*. En: Cultural heritage microbiology: Fundamental studies in conservation science. Eds. Ralph Mitchell & Christopher J. McNamara. ASM Press, Washington, DC.
- CASADESÚS, L., ROJAS, T. (1981). *Micología Manual Práctico*. Ed. MES.99 p
- DAI, Z., MAO, X., MAGNUGSON, J., LASURE, L. (2004). "Identification of genes associated with morphology in *Aspergillus niger* by using suppression subtractive hybridization". *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 2474-2485.
- DE HOOG, G.S., GUARRO, G., GENE, J., FIGUERAS, M.J. (2000). *Atlas of clinical fungi*. 2nd ed. (Eds): Deiana, P., Faticenti, F., Farris, G.A., Mocquot, G., Lodi, R., Todesco, R. and Cecchi. Universidad Rovira I Virgili Reus, España.
- ESQUIVEL, PP., MANGIATERRA, M., GIUSIANO, G., SOSA, M.A. (2003). "Microhongos anemofilos en ambientes abiertos de dos ciudades del nordeste argentino". *Boletín Micológico*, 18: 21 – 28
- FLORIAN, M.L.E. (2003). "The four components of biodeterioration and of preservation of our collective memory". In: *International Symposium: a choice and strategies for preservation of a collective memory*. Dobbiaco, Toblach, Italy. Disponible en: <<http://www.uin-muenster.de/Forum-Bestandserhaltung/kons-restaurierung/sch-florian.shtml>>
- GARCIA, T. (1997). "Consideraciones sobre la microbiota de la Ma-
poteca del Archivo Nacional". Trabajo de diploma. Facultad de Biología. Universidad de la Habana.
- GAUTAM, A.K., SHARMA, S., AVASTHI, S., BHACLAURIA, R. (2011). "Diversity, pathogenicity and toxicology of *Aspergillus niger*: An important spoilage fungi". *Research Journal of Microbiology*, 6: 270-280.
- GUIAMET, P., BORREGO, S., LAVIN, P., PERDOMO, I., GOMEZ, S. (2011). "Biofouling and biodeterioration in materials stored at the Historical Archive of the Museum of La Plata, Argentine and at the National Archive of the Republic of Cuba". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85: 229-234.
- HALEEM, A., MOHAN, S. (2012). "Fungal pollution of indoor environment and its management". *Saudi Journal of Biological Science*, 19, 405-426.
- HUECK, H.J. (1965). "The biodeterioration of materials as part of hydrobiology". *Materials and organism*, vol. 1, pp. 5-34.
- KENDRICK, B. W., CARMICHAEL, J. W. (1973). *Hyphomycetes*. Chapter 10. The Fungi. An advanced Treatise. Volume IVA. (Ed). G.C. Ainsworth. Institute Kew, Surrey, England.
- KLICH, M.A.; PITT, J.I. (1994). *A laboratory guide to the common Aspergillus species and their teleomorphs*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. 116 p
- LIGNELL, U. (2008). "Characterization of microorganisms in indoor environments", Publications of the National Public Health Institute, ISBN 978-951-740-770-0; 978-951-740-771-7 (pdf-version) ISSN 0359-3584; 1458-6290 (pdf-version) <<http://www.ktl.fi/portal/4043>>
- LUGAUSKAS, A., LEVINSKAITE, L., PECIULYTE, D. (2003). "Micromycetes as deterioration agents of polymeric material". *International Biodeterioration and Biodegradation*, 52: 233-242.
- MAGALHÃES, P.O., MILAGRES, A.M.F. (2008). "Importância das celulases produzidas por basidiomicetos causadores de podridão branca na biodegradação de lignocelulosicos". *Microbiologia in foco*, 2: 4-12.
- MANENTE, S., MICHELUZ, A., GANZERLA, R., RAVAGNAN, G., GAMBARO, A. (2012). "Chemical and biological characterization of paper: A case study using a proposed methodological approach". *International Biodeterioration and Biodegradation*, 74: 99-108.
- MARTINEZ, P. (2003). "Determinación de la acidez producida por hongos contaminantes en bienes culturales". *Boletín Patrimonio y Desarrollo*, 9: 3-4.
- MICHAELSEN, A., PIÑAR, G., PINZARI, F. (2010). "Molecular and microscopical investigation of the microflora inhabiting a deteriorated Italian manuscript dated from the thirteenth century". *Microbial Ecology*, 60:69– 80.
- MOLINA, A. (2012). "Estudio de la calidad microbiológica del am-

- biente interior de la Mapoteca del Archivo Nacional de la República de Cuba y del biodeterioro de mapas." Trabajo de diploma, Facultad de Biología, Universidad de la Habana.
- MYCOTA (2013). "Fungal Contaminants of Cultural Heritage". Access by species. <<http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/genre.php?lang=eng>>. [consulta: 5/11/2013].
- NEVALAINEN, A., MORAWSKA, L. (eds). (2009). "Biological Agents in Indoor Environments". *Assessment of Health Risks*. Work conducted by a WHO Expert Group between 2000-2003. <http://www.ilaqh.qut.edu.au/Misc/BIOLOGICAL_AGENTS_2009.pdf>
- NIELSEN, K.F., (2003). "Mycotoxin production by indoor molds". *Fungal Genetics and Biology* 39: 103 - 117.
- PINZARI, F., MONTANARI, M., MICHAELSEN, A., PIÑAR, G. (2010). "Analytical protocols for the assessment of biological damage in historical documents". *COALITION*, No.19:6-13.
- PINZARI, F., PASQUARIELLO, G., DE MICO, A. (2006). "Biodeterioration of paper. A SEM study of fungal spoilage reproduced under controlled conditions". *Macromol. Symp.* 238: 57-66.
- PITT, J.I. (2000). *A laboratory guide to common Penicillium species*. Food Science Australia. 3rd ed. 196 p.
- PORTNOY, J. M., BARNES, C. S., KENNEDY, K. (2004). "Sampling for indoor fungi". *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113: 189-198.
- REHNSTROM, A.L., FREE, S. J. (1997). "The isolation and characterization of melanin deficient mutants of *Monilia fructicola*". *Physiology and Molecular Pathology*, 49: 321-330.
- Resolución No. 41 (2009). "Lineamientos para la conservación de las fuentes documentales. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA)", Gaceta oficial 9 de mayo 2009. <<http://www.gacetaoficial.cu/pp.193>>
- ROJAS, J. A., CRUZ, C., MIKAN, J.F., VILLALBA, L.S., CEPERO DE GARCIA, M.C., RESTREPO, S. (2009). "Isoenzyme characterization of proteases and amylases and partial purification of proteases from filamentous fungi causing biodeterioration of industrial paper". *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63:169-175.
- ROJAS, T. I. (2010). "Diversidad fúngica en ambientes exteriores de áreas urbanas de ciudad de La Habana y sus potencialidades en el biodeterioro". Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de la Habana. Facultad de Biología.
- ROJAS, T. I., AIRA, M. J., BATISTA, A., CRUZ, I.L. y GONZALEZ, S. (2012). "Fungal biodeterioration in historic buildings of Havana Cuba". *Grana*, 51:1, 44-51.
- ROJAS, T.I., MARTINEZ, E., GOMEZ, Y., ALVARADO, Y. (2002). "Airborne spores of *Aspergillus* species in cultural institutions at Havana University". *Grana*, 41: 190e-193e.
- ROSAS, A. L., CASADEVALL, A. (1997). "Melanization effects susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to heat and cold. FEMS". *Microbiology Letters*, 153: 265-272.
- SALEH, A. (2007). "Studies on Fungal Communities Associated whit Litter of Plant Cover at Al-Taif Province, Saudi Arabia". *Met. Env. & Arid Land Agric. Sci*, 18: 2, pp: 87-98.
- SANTHIYA, D., TING, Y. P. (2005). "Bioleaching of spent refinery processing catalyst using *Aspergillus niger* with high-yield oxalic acid". *Journal of Biotechnology*. 116: 171-184.
- STERFLINGER, K., 2010. Review. Fungi. "Their role in deterioration of cultural heritage". *Fungal Biology Reviews*, 24: 47-55.
- VAILLANT, M. (1996). "A work aimed to Project the health of the documental heritage conservators". *International Conference on Conservation and Restoration of Archive and Library Materials*. Preprints. Erice. 22- 29 April, p. 137-142.
- VAILLANT, M., DOMENECH, M.T., VALENTIN, N. (2004). *Una mirada hacia la conservación preventiva del patrimonio cultural*. 1era Ed. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia. pp.322.
- VALENTIN, N. (2004). "El biodeterioro de materiales orgánicos". *Jornadas Monográficas Prevención del biodeterioro en archivos y bibliotecas*. Instituto del Patrimonio Histórico Español. 14-15 junio. pp.84-89.
- VALENTIN, N. (2010). "Microorganisms in museum collections". *COALITION*, 19:2-5.
- VILLALBA, L.S., MALAGON, A. (2011). "Biodeterioro de la fuente de Lavapatas, parque arqueológico de San Agustín-Huila. Colombia". *Revista Ge-conservación*, 2: 65-80.
- VILLALBA, L.S., MIKAN, J.F., SANCHEZ, J. (2004). "Actividades hidrolíticas y caracterización isoenzimáticas de poblaciones microbianas aisladas del patrimonio documental en el Archivo General de Colombia". *Nova Publicación Científica*, 2: 50-57.
- VILLENA, G.K., GUTIÉRREZ-CORREA, M. (2003). "Biopelículas de *Aspergillus niger* para la producción de celulasas: algunos aspectos estructurales y fisiológicos". *Revista Peruana de Biología*, 10: 78-87.



Alian Molina Veloso

Archivo Nacional de la República de Cuba
alian@arnac.cu, alian_molina@mail.com

Licenciado en Microbiología de la Universidad de La Habana, Cuba. Especialista del Laboratorio de Conservación Preventiva del Archivo Nacional de La República de Cuba. Realiza investigaciones en el campo de la Microbiología, la Aerobiología de interiores y el Biodeterioro documental. Todos estos temas vinculados con la conservación de patrimonio documental y la calidad de ambiente interior en archivos y otras instituciones patrimoniales.



Sofía Flavia Borrego Alonso

Archivo Nacional de la República de Cuba
sofia@arnac.cu, sofy.borrego@gmail.com, sofia.borrego@rediffmail.com

Jefa del Laboratorio de Conservación Preventiva del Archivo Nacional de la República de Cuba es licenciada en Microbiología, Doctora en Ciencias Biológicas, Investigadora Auxiliar y Profesora Titular. Investiga en las líneas de: Conservación preventiva del patrimonio documental, biodeterioro de soportes documentales y aerobiología de interiores. Dirige varios proyectos de investigaciones nacionales e internacionales y ha dirigido proyectos de colaboración con instituciones científicas y de conservación en Argentina, España, Colombia y Venezuela. Ha impartido cursos y conferencias sobre conservación preventiva del patrimonio cultural en Cuba y en el extranjero (Argentina, Colombia, México, República Dominicana y Venezuela). Ha presentado más de 70 trabajos en eventos nacionales e internacionales y posee más de 40 publicaciones científicas en revistas nacionales e internacionales.

Artículo enviado el 06/05/2013

Artículo aceptado el 29/05/2014