

Aislamiento de hongos celulolíticos causantes del biodeterioro de la Biblioteca Central de la Universidad del Valle (Cali-Colombia)

Marinés Giraldo-Castrillón¹

Celina Torres-González¹

Jaime E. Díaz-Ortiz^{1}*

¹Universidad del Valle, Cali, Colombia. *Carrera 62A Numero 2A-22 Barrio Pampa Linda, Cali – Colombia

Isolation of cellulolytic fungi causing biodeterioration of the Central Library of the Universidad del Valle (Cali-Colombia)

Abstract. The fungi use the various substrates such as carbon and energy source, are one of the major causative agents biodeterioration of bibliographic materials in archives and libraries. In the Universidad del Valle, a study of fungal populations with the aim of isolating the fungi on the surface of the books and in the environment of the library. We performed a sampling of books with signs of bio-deterioration of four sections (General Books Store, Antiques Books Collection, Periodical Library Collection and Periodical Library Store). A total of 409 colony-forming units (UFC) on potato dextrose agar and cellulose agar were isolated, locating (89.7%) in the environment and in the books (10.3%). The 37.16% of UFC were detected in the General Books Store, 9.78% at Periodical Library and a 34.97% at Antiques Books Collection. There were 17 genera of fungi as the most abundant, *Cladosporium* (59.72%), *Fusarium* (9.31%), *Curvularia* (6.62%), *Aspergillus* (6.37%) and *Chaetomium* (5.64%). All genera showed ability to grow in agar cellulose. The Kruskal-Wallis test ($p=0.552$) determined that there were no significant differences in the number of colonies in UFC/m²/min isolated environment for the four sections of the Library.

Key words: Paper biodegradation, bibliographic archives, environmental fungi.

Resumen. En la Universidad del Valle, se realizó un estudio de la población fúngica para aislar los hongos presentes en los libros y el ambiente de la biblioteca. El muestreo se efectuó en libros con signos de bio-deterioro depositados en cuatro secciones de la Biblioteca (Depósito General, Colección de Libros Antiguos, Colección de la Hemeroteca y Depósito de la Hemeroteca). Se aislaron un total de 409 unidades formadoras de colonias (UFC) en agar con dextrosa y papa y agar celulosa, localizadas en el ambiente (89.7%) y en los libros (10.3%). El 37.16% de las UFC se detectaron en el Depósito General, el 9.78% en el Depósito de la Hemeroteca y un 34.97% en la Colección de Libros Antiguos. Se encontraron 17 géneros, predominando *Cladosporium* (59.72%), *Fusarium* (9,31%), *Curvularia* (6,62%), *Aspergillus* (6,37%) y *Chaetomium* (5,64%). Todos mostraron capacidad para crecer en agar celulosa. La prueba de Kruskal-Wallis ($p=0.552$) no encontró diferencias significativas en el número de UFC/m²/min en las colonias aisladas del ambiente, para las cuatro secciones de la Biblioteca.

Palabras clave: Archivos bibliográficos, biodegradación de papel, hongos ambientales.

Received 24 April 2008; accepted 13 April 2009.

Recibido 24 de abril 2008; aceptado 13 de abril 2009.

*Autor para correspondencia: Jaime Ernesto Díaz-Ortiz
jaidiaz@univalle.edu.co*

Introducción

Los hongos se caracterizan por su ubicuidad y abundancia, jugando un papel importante en los procesos de descomposición de la materia orgánica, de la cual consiguen energía. Las hifas a través de sus paredes secretan enzimas que descomponen proteínas, carbohidratos y ácidos grasos, causando la desintegración de la materia que utilizan (Pelczar y Capella, 1990). Muchos de ellos pueden colonizar y aprovechar materiales de construcción de edificios, monumentos, obras de arte y objetos elaborados con distintos tipos de componentes (papel, madera, vidrio, cerámica, etc.), ocasionando un cambio indeseable en las propiedades del material ((Fugikawa *et al.*, 1997; Bigourdan *et al.*, 1999; Gómez, 2000). Este proceso se conoce como biodeterioro (Villalba *et al.*, 2004), que en centros de documentación puede conducir a la pérdida parcial o total de información. La degradación del papel involucra la descomposición de tintas orgánicas y aditivos (encolantes, abrillantadores ópticos), apresto (almidón o proteína) y revestimientos, además de las fibras de celulosa. El desarrollo fúngico en el papel está regulado por las condiciones de temperatura y humedad del sitio de almacenamiento. Según Valentin (1999) los hongos prosperan en condiciones de temperatura de 14 °C a 35 °C y sobreviven por debajo de 0 °C. Valores de pH 6, generan medios propicios para el crecimiento de los hongos, lo mismo que una humedad relativa superior a 65%.

Los hongos de los géneros *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus* y *Fusarium* son los de mayor frecuencia en la colonización y aprovechamiento de los soportes de papel y están estrechamente relacionados con las condiciones ambientales, por lo que las medidas preventivas y de control contra el biodeterioro se deben hacer verificando, principalmente, esas poblaciones. Soluciones de cloruro de dimetil-benzil-amonio se han empleado con éxito para la limpieza de la atmósfera contaminada por los hongos (Calvo,

1997). Los resultados de estudios indican que una solución de [tiabendazol (tiazolil-4)-2 benzimidazol] aplicado en un 10% por nebulización térmica, a una tasa de 5 mL/m³, permite obtener el efectivo saneamiento de la atmósfera al mismo tiempo que actúan sobre las esporas depositadas sobre las superficies (Rakotonirainy *et al.*, 1999). El empleo de técnicas microbiológicas que permitan aislar los hongos presentes en diferentes bibliotecas es fundamental para desarrollar programas de control y prevención, en el biodeterioro del material bibliográfico (Cunha, 1995).

Materiales y métodos

Esta investigación se realizó en la biblioteca de la Universidad del Valle (Cali – Colombia). Durante seis meses se registraron las condiciones climáticas al interior de la Biblioteca. Se muestrearon las secciones correspondientes a la Sala de la Hemeroteca, el Depósito de la Hemeroteca, la Colección Especial de Libros Antiguos y el Depósito General. Tomando como referente algunos libros con signos evidentes de bio-deterioro como manchas oscuras, decoloración de la tinta y enmascaramiento del color (Valentin, 1999). De cada una de las secciones de estudio se recogieron muestras ambientales y se llevaron al laboratorio para realizar un raspado de las áreas afectadas empleando bisturí estéril dentro de una cámara de flujo laminar. Para la recolección de las muestras ambientales se empleó el método de placas fijas expuestas durante una hora, ubicadas al azar sobre los estantes a una altura de 1 m. Las muestras recolectadas fueron cultivadas por duplicado en dos medios de cultivo, agar con dextrasa y papa ADP (Merck) y agar celulosa (39 g/L de agua desmineralizada). La solución se calentó al baño maría y se esterilizó en una autoclave por 15 minutos a de 121 °C, ajustando a pH 5.8. Durante el periodo de muestreo se registraron datos de humedad y temperatura en cada sala

mediante un higrómetro digital (Modelo 485-1, Dwyer Instruments INC). En el interior de la Biblioteca la temperatura osciló entre 16 a 29°C y la humedad relativa entre 39.9 y 67.8 %. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente entre 5 y 10 días y posteriormente se realizaron varias resiembras para obtener cultivos puros. Para la observación microscópica se emplearon montajes con cinta adhesiva y azul de lactofenol de los microcultivos. Se identificaron los géneros de los hongos aislados mediante las claves morfológicas de Domsch *et al.* (1980) y Barnett y Barry (1998) y el manual de Hifomicetos de Ellis (1971). Todos los géneros de hongos se cultivaron en agar celulosa con el objetivo de determinar su capacidad celulolítica, la cual se evaluó con base al diámetro y disposición de las colonias a los 7 días de siembra, asignando a cada género la calificación siguiente:

1. Colonia única con diámetros menores a 2 cm., micelio escaso o poco desarrollado.
2. Colonia única con diámetros entre 2 y 5 cm., micelio escaso.
3. Múltiples colonias definidas y dispersas sobre el medio de cultivo.

4. Colonia única con micelio denso, claramente visible y dispersión amplia o sobre toda la superficie del medio de cultivo.

Las colonias de hongos se caracterizaron de acuerdo a Ellis (1971). Los datos, se analizaron mediante estadísticas descriptivas, utilizando promedios, tablas de frecuencias y porcentajes. Se calculó el número de unidades formadoras de colonias (UFC)/m²/minuto y se realizaron comparaciones mediante una prueba de Kruskal Wallis y LSD en el programa BioDiversity Pro (McAleece, 1997).

Resultados y discusión

En total se aislaron 409 UFC, de las cuáles el 89.7% (367 UFC) provenían principalmente del ambiente y solo el 10.3% (42 UFC) de libros con signos de biodeterioro (en su mayoría manchas circulares de color rojo oxidado). El 64.3% (263 UFC) de las colonias presentó la capacidad de crecer en agar celulosa y el 35.7% (146 UFC) en ADP (Tabla 1). En la Tabla 2 se muestran las condiciones de temperatura y humedad relativa de los sitios de muestreo.

La prueba de Kruskal-Wallis determinó que no

Tabla 1. Distribución del número de unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas en el muestreo del ambiente y en los libros

Sección	Tipo de agar	Ambiente	Libros	Total	UFC por secciones	UFC (%)
Sala de Hemeroteca	Celulosa	26	9	35	74	18.09
Depósito de Hemeroteca	ADP	33	6	39		
Colección Libros Antiguos	Celulosa	16	3	19	40	9.78
Depósito General	ADP	18	3	21		
Total	Celulosa	94	3	97	143	34.97
	ADP	30	16	46		
	Celulosa	111	1	112	152	37.16
	ADP	39	1	40		
	Celulosa	247	16	263	409	100
	ADP	120	26	146		

Tabla 2. Promedio e intervalo de temperatura y humedad relativa registrada en cada sitio de muestreo

Sitio de muestreo	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)
Sala de la Hemeroteca	23.4 (18.3 – 28.5)	41.7 (39.9 – 45.1)
Depósito de Hemeroteca	22.0 (16.1 – 27.9)	48.1 (45.6 – 51.7)
Colección Libros Antiguos	23.3 (17.6 – 29.0)	65.1 (62.5 – 67.8)
Depósito General	23.6 (18.3 – 28.8)	60.7 (59.3 – 62.2)

existen diferencias significativas en el número de UFC/m²/minuto en las colonias aisladas del ambiente para las cuatro secciones de la Biblioteca ($p=0.552$). Como el ADP es un medio de cultivo que permite el crecimiento de hongos, en general se define que la carga fúngica ambiental es homogénea en los diversos sitios evaluados.

Se encontró que el número de colonias celulolíticas ambientales fue equivalente en la Sala de la Hemeroteca y el Depósito de la Hemeroteca (LSD=0.39) y en la Colección de Libros antiguos y Depósito General (LSD=0.61). Este hallazgo parece estar relacionado con la similitud de los valores de temperatura y humedad relativa entre las dos secciones de la Hemeroteca (Sala y Depósito) y entre la sección de Libros Antiguos y el Depósito General. También se puede relacionar con las condiciones de aseo y la antigüedad de los libros almacenados en cada uno de estos sitios.

La Colección de Libros Antiguos presentó una alta carga fúngica en el ambiente (34.97%) y en la superficie de los libros, que puede atribuirse a la falta de control en la temperatura y humedad relativa. También incide la poca ventilación de las estanterías, lo cual ha ocasionado daños generalizados a todos los volúmenes de la colección y a casi la totalidad de páginas de cada libro.

En la sección de Depósito General los factores con mayor relevancia en el biodeterioro corresponden a la escasa ventilación, la falta de limpieza y la ausencia de un sistema de control de humedad, ocasionando incrementos en la temperatura hasta los 28.8 °C y humedad relativa hasta el

62.2%. Todos estos factores favorecen la acumulación de esporas ambientales y la colonización de hongos en algunos de los materiales de lectura. Sin embargo, las diferencias se dieron puntualmente en el número de UFC de hongos celulolíticos presentes en el ambiente.

En cuanto a los aislamientos en el material, no se reportaron diferencias en el número de colonias obtenidas por libro en ADP ($p=0.16$) ni en agar celulosa ($p=0.11$). Esto confirma los resultados del muestreo ambiental con PDA acerca de la homogeneidad de la carga fúngica entre estos cuatro sitios de muestreo. Aunque efectivamente hay una diferencia en la carga ambiental de hongos celulolíticos, no existen diferencias entre el número de hongos que están colonizando los libros en las secciones evaluadas. Esto significa que a pesar de que existen algunos controles ambientales en determinadas secciones de la biblioteca no se está protegiendo los libros contra el biodeterioro causado por hongos celulolíticos.

Las 409 colonias aisladas se ubicaron dentro de 17 géneros; siendo el género *Cladosporium* el más frecuente de la Biblioteca (59.72% de las 409 UFC totales). En la Tabla 3, se muestra la frecuencia de los géneros identificados. En general en ambos muestreos también predominaron los géneros *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Curvularia* y *Fusarium*. En el muestreo de los libros además de los anteriores se presenta *Penicillium* como uno de los más frecuentes. Estos resultados son congruentes con los reportes de taxa aislados del papel en el trópico como lo mencionan

Tabla 3. Presencia y capacidad celulolítica registrada en agar celulosa de los géneros de hongos encontrados en la biblioteca de la Universidad del Valle

Género	Presencia (%)	Capacidad celulolítica
<i>Cladosporium</i>	59.72	1, 2, 3
<i>Fusarium</i>	9.31	4
<i>Curvularia</i>	6.62	1, 4
<i>Aspergillus</i>	6.37	4
<i>Chaetomium</i>	5.64	1, 3, 4
<i>Penicillium</i>	3.43	2, 3
<i>Micelia sterilia</i>	2.21	4
<i>Neurospora</i>	1.72	3
<i>Ulocladium</i>	1.23	4
<i>Epicoccum</i>	0.98	2
<i>Sepedonium</i>	0.98	4
<i>Trichocladium</i>	0.74	3
<i>Aureobasidium</i>	0.25	4
<i>Gilmaniella</i>	0-25	2
<i>Humicola</i>	0.25	2
<i>Phialophora</i>	0.25	4
<i>Scopulariopsis</i>	0.25	4

Valentín *et al.* (1990), Vaillant *et al.* (1989) y Vaillant y Echeverría (1995). La diversidad de hongos en el ambiente fue equivalente en ambos medios de cultivo, indicando que la celulosa y los aditivos del papel son aprovechados como sustrato por una amplia gama de hongos.

Todos los géneros de hongos aislados presentaron la capacidad para crecer en menor o mayor medida en el agar celulosa, de los 17 géneros identificados, 8 géneros tuvieron calificación de 4 (Tabla 3).

Conclusiones

Los principales géneros causantes de biodeterioro en la biblioteca fueron: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Chaetomium*. La abundancia de UFC pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Fusarium* coloca en riesgo la salud de los funcionarios de la biblioteca. Las condiciones ambientales de la biblioteca de la Universidad del Valle necesitan controlarse en todas las salas ajustándolas a las siguientes condiciones ambientales: temperatura entre 19 y 20 °C; humedad relativa

entre 45 y 55 %. Se debe implementar un programa de mantenimiento y conservación con periodicidad anual por parte de la Universidad. Además de limpiar periódicamente estanterías, paredes y aspirar el exterior de los libros, desinfectando los pisos con productos químicos inocuos para el papel. También es necesario establecer un programa de monitoreo continuo de las colecciones para detectar focos de contaminación y realizar labores puntuales de prevención y control. Se recomienda realizar un trabajo de investigación sobre los diferentes tipos de control empleando técnicas de combinaciones cruzadas de termonebulización y luz ultravioleta, debido a la importancia de proteger las colecciones de la biblioteca central de la Universidad.

Literatura citada

- Barnett, H.L., B. H. Barry, 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Ed. APS Press. 4 Edition. Pennsylvania.
- Bigourdan, J.L., J.M. Reilly, 1999. Preservation strategy for acetate film collections based on environmental assessment and condition survey. In: Clark, S. (ed.), Care of Photographic Moving Image & Sound Collections. Leigh, pp. 28-37.
- Calvo, A. 1997. Conservación y restauración. Materiales, técnicas y procedimientos. Ediciones Serbal. Barcelona.
- Cunha, G.M., 1995. Métodos de evaluación para determinar las necesidades de conservación en bibliotecas y archivos: un estudio del RAMP. París, UNESCO.
- Domsch, K.H., W. Gams., T. Anderson, 1980. Compendium of Soil Fungi.

Volume I, II.

- Ellis, M.B., 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Surrey. Londres.
- Fugikawa, H., T. Wauke., K. Kusunoki., Y. Noguchi., Y. Takahashi., K. Ohta., T. Itoh, 1997. Contamination of microbiological foreign bodies in bottled mineral water in Tokyo, Japan. *Journal of Applied Microbiology* 82: 287-291.
- Gómez, A., 2000. Informe sobre contaminación microbiana en películas cinematográficas del Instituto Cubano de Arte e Industria Cinematográfica. *Ciencias de la Información* 32: 49-54.
- Mcaleece, N., 1997. Biodiversity Professional [programa de ordenador]. Versión 2. Mcaleece: The Natural History Museum and The Scottish Association for Marine Science. <http://www.nrmc.demon.co.uk/bdpro>
- Pelczar, M.J., B.A. Capella, 1990. *Microbiología*. Editorial McGraw Hill. México.
- Rakotonirainy, M.S., F. Fohrer., F. Flieder, 1999. Research on fungicides for aerial disinfection by thermal fogging in libraries and archives. *International Biodeterioration and Biodegradation* 44: 133-139.
- Vaillant, C.M., R.L. Chi., M. Sánchez, 1989. Sobre la contaminación microbiológica existente en depósitos del Archivo Nacional. Ministerio de la Cultura. Centro Internacional de Conservación, Restauración y Museología. Documentos 2.
- Vaillant, C.M., M. Echevarría, 1995. Los enemigos de los archivos. ALA, Revista de la Asociación Latinoamericana de Archivos.
- Valentin, N., M. Listrom., F. Preusser, 1990. Microbial control by low oxygen and low relative humidity environment. *Studies in Conservation* 35: 222-230.
- Valentin, N., 1999. La conservación y preservación de las colecciones históricas en el museo. In: *Los conocimientos técnicos. Museos, Arquitectura, Arte*". Editorial. Silex Ediciones.
- Villalba, L.S., J.F. Milkán., J. Sánchez, 2004. Actividades hidrolíticas y caracterización isoenzimática de poblaciones microbianas aisladas del patrimonio documental del archivo general de Colombia. *Nova* 2: 50-58.