

TESIS DE

DIPLOMA

Diagnóstico del biodeterioro por insectos y hongos filamentosos en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial del Archivo “Coronado”

Autora: Dayana González Alvarez

2012

Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Departamento de Biología



“TESIS DE DIPLOMA”

Diagnóstico de biodeterioro por insectos y hongos filamentosos en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial del Archivo “Coronado”

Autora: Dayana González Álvarez

Tutora: Dr.C. Daymí I. Carrazana García. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, UCLV. daymic@uclv.edu.cu)

Pensamiento

*Queda prohibido no sonreír a los problemas, no luchar por lo que quieres,
abandonarlo todo por miedo, no convertir en realidad tus sueños.*

Pablo Neruda.

Dedicatoria

A mi mamá, a mi papá y a mi tía.

Agradecimientos

A mi mamá, mi papá y mi tía Ivón por comprenderme, apoyarme siempre en todo, impulsarme a seguir hacia delante. Por todo su esfuerzo para que yo pudiera llegar a donde estoy.

Agradezco a tía Mery, a tío, Alina, Jeny, Maribel, Heidy y mi Dayo querido, por ayudarme tanto todos estos años.

A mis abuelos Estela y Kiko por preocuparse por mí en todo momento, Estrella y Roly, a mis tíos Jesús y Rolandito, a mis tías Nuria, Migadlia y Marianelis. A Samantha por ser la niña más linda de este mundo.

A Jeannet y Heidy María, a Niurka y toda su familia, especialmente a Yaneisy.

A Dayessi y Eliza por ser mis amigas hace tanto tiempo.

Agradezco a Odleny, Rosario, Ana María y Rosely por soportarme en mis momentos de mal humor y reírme mis payasadas. Ana Laura y Dailly. A todas por ser como mi familia.

A Julio Lestayo por ayudarme siempre. A Jorge Félix por una presentación tan linda.

A José Mario por la colaboración técnica.

A todos mis compañeros de aula, en especial a Rocmi y Alejandro.

Agradezco a Cupull por toda su ayuda, a Julita, a Elizabeth, Alexander Banguela, Grillo, Edgardo y Lidacay todos los profesores del Departamento de Biología.

A la Doctora Leyanis Mesa y todas las personas del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química, en especial a Delvis por salvarme tantas veces de cometer un desastre.

Muchas gracias a Dariel por ayudarme con la tesis y hacerme reír siempre.

Luc y Stephen Jones, muchas gracias por ayudarme con el Inglés, Addiel y Stephen por los buenos momentos.

Por último, y no por eso menos especial, quiero agradecerle a mi tutora por ser una persona maravillosa, que sabe educar con paciencia y amor. También gracias a su familia por permitirme robar parte de su tiempo.

A todos muchas gracias.

Resumen

RESUMEN

Con el objetivo de diagnosticar el estado de biodeterioro por insectos y hongos filamentosos de la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial del Archivo "Coronado", se procedió a inspeccionar visualmente todos los ejemplares para detectar las alteraciones, identificar las especies y determinar la actividad deteriorante de los hongos. El 94,1% de los documentos presentan alteraciones. En orden descendiente de frecuencia de aparición son, para insectos: galerías, restos de insectos, erosión, excretas e insectos vivos. Para hongos, manchas y enmohecido. De 66 documentos con alteraciones por insectos el 13,6% presenta baja intensidad de daños, el 60,6% media y el 25,8% alta. De 70 ejemplares con alteraciones posiblemente causadas por hongos, el 2,9% presenta enmohecido de baja intensidad, el 7,1% foxing de baja intensidad, el 85,7% media y 7,1% alta, y el 1,4% manchas distintas al foxing de baja intensidad. Los insectos vivos pertenecen al orden Blattodea y Psocoptera. Están presentes especímenes y/o restos de *Lasioderma serricorne* e insectos del orden Coleoptera, la familia Tenebrionidae y el orden Dermaptera. Presumiblemente insectos de los órdenes Isoptera y Coleoptera causaron galerías. Se aislaron dos especies de *Penicillium* y una cepa de *Aspergillus sclerotiorum*, que poseen actividad celulolítica, producen ácidos y pigmentos. *A. sclerotiorum*, única especie que permanece viable en el papel, además presenta actividad proteolítica y amilolítica. Las actividades celulolítica (FPasa) y β -Endoglucanasa de este aislado son bajas y se expresan tardíamente. Se recomienda tomar en cuenta este diagnóstico para trazar la estrategia de control de biodeterioro de los documentos y su restauración.

Abstract

ABSTRACT

In order to diagnose the biodeterioration by insects and filamentous fungi of the collection of rare books with Patrimonial Value of the Archive "Coronado", visual inspection of all the documents to detect the alterations was performed, to identify the species and to determine the deteriorating activity of the fungi. These alterations are observed in 94,1% of the documents. The incidence in decrease order of frequency of appearance for insects are: mines, rests of insects, erosion, excrets and live insects; for fungi, spots and molds. Of 66 documents with damage by insects, 13,6 % showed low damage intensity, 60,6% medium and 25,8% high. Of 70 exemplars with possible alterations caused by fungi, 2,9% showed mold of low intensity, in the case of foxing 7,1% are of low, 85,7% medium and 7,1% high intensity, while 1,4% have spots different from foxing of low intensity. The live insects belong to the order Blattodea and Psocoptera. Specimens and/or remains of *Lasioderma serricorne* and insects of the order Coleoptera, family Tenebrionidae and order Dermaptera are present. Presumably insects of orders Isoptera and Coleoptera caused mines. Two species of the genus *Penicillium* and a isolate of *Aspergillus sclerotiorum*, that possess cellulolytic activity, produce acids and pigments. *A. sclerotiorum* the only specie that remains viable in the paper, in addition presents proteolytic and amyolytic activity. The cellulolytic activities (FPasa) and β -Endoglucanasa of these isolates are low and are expressed later. It is recommended to take into account this diagnosis in order to planning a strategy to control the biodeterioration of these documents and their restautartion.

Índice

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	Colección “Coronado”. Sus Valores	4
2.1.1	Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial	5
2.2	Alteraciones causadas por insectos y hongos filamentosos en documentos	5
2.3	Insectos y hongos filamentosos causantes de biodeterioro en documentos	8
2.3.1	Deterioro del papel por insectos	8
2.3.2	Deterioro del papel por hongos	11
2.3.3	Enzimas producidas por los hongos para degradar el papel	12
2.4	Alteraciones causadas por agentes químicos y físicos en documentos	14
2.4.1	Causas intrínsecas	14
2.4.2	Causas extrínsecas	14
2.5	Factores ambientales que favorecen el crecimiento de los hongos en archivos	15
3	MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1	Cuantificación y determinación de la intensidad de las alteraciones causadas por insectos y hongos filamentosos presentes en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial	17
3.2	Identificación de insectos causantes de biodeterioro	18

3.3	Identificación de hongos filamentosos presumiblemente causantes de biodeterioro	18
3.4	Evaluación de la actividad deteriorante de los hongos filamentosos aislados	20
3.4.1	Determinación cualitativa de la actividad celulolítica, producción de pigmentos, actividades proteolítica y amilolítica y producción de ácidos	20
3.5	Determinación cuantitativa de las actividades enzimáticas en papel de filtro y β -Endoglucanasa	21
4	RESULTADOS	25
4.1	Cuantificación y determinación de la intensidad de las alteraciones causadas por insectos y hongos filamentosos presentes en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial	25
4.2	Identificación de insectos causantes de biodeterioro	27
4.3	Identificación de hongos filamentosos presumiblemente causantes de biodeterioro	28
4.4	Evaluación de la actividad deteriorante de los hongos filamentosos aislados	29
4.4.1	Determinación cualitativa celulolítica, producción de pigmentos, actividades proteolítica y amilolítica y producción de ácidos	29
4.5	Determinación cuantitativa de las actividades enzimáticas en papel de filtro y β -Endoglucanasa	32
5	DISCUSIÓN	33
5.1	Cuantificación y determinación de la intensidad de las alteraciones causadas por insectos y hongos filamentosos presentes en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial	33

5.2	Identificación de insectos causantes de biodeterioro	36
5.3	Identificación de hongos filamentosos presumiblemente causantes de biodeterioro	40
5.4	Evaluación de la actividad deteriorante de los hongos filamentosos aislados	45
5.4.1	Determinación cualitativa celulolítica, producción de pigmentos, actividades proteolítica y amilolítica y producción de ácidos	45
5.5	Determinación cuantitativa de las actividades enzimáticas en papel de filtro y β -Endoglucanasa	47
6	CONCLUSIONES	49
7	RECOMENDACIONES	50
8	LITERATURA CITADA	
9	ANEXOS	

Introducción

1. INTRODUCCIÓN

El Patrimonio Cultural de un pueblo comprende las obras de sus artistas, a saber: arquitectos, músicos, escritores, intelectuales, pensadores y científicos, así como las creaciones anónimas, surgidas de las tradiciones populares, y el conjunto de valores que dan sentido a la vida. Es decir, las obras materiales y no materiales que expresan la creatividad de ese pueblo; la lengua, los ritos, las creencias, los lugares y monumentos históricos, la literatura, las obras de arte y los archivos y bibliotecas. Todos estos valores se transmiten como herencia social a cada generación (Guamet *et al.*, 2008).

Las bibliotecas son centros dinámicos de la cultura y su papel no es únicamente salvaguardar una parte del patrimonio, exhibirlo y difundirlo, sino ofrecer un conjunto coherente y actualizado de documentos para que pueda ser activamente consultado (Dereau y Clements, 1988). El objetivo principal de las bibliotecas es facilitar el acceso a la información y para ello tienen que coleccionar y preservar los materiales en distintos soportes, tales como libros, manuscritos, películas, fotografías, grabados, mapas, registros sonoros, y audiovisuales. Todos estos documentos, con sus diferencias de fecha, civilización y soporte, son expresión de la vida cultural e intelectual en un lugar y momento determinado (Dereau y Clements, 1988).

Gran parte de las colecciones que se exhiben en los archivos y bibliotecas son de naturaleza orgánica, caracterizándose por su alta higroscopicidad. Esto implica un significativo incremento del contenido de humedad del soporte, especialmente, cuando los objetos son expuestos a una insuficiente ventilación y a una humedad relativa superior al 65 % (Valentin, 2003). Las elevadas temperaturas tienen un efecto deteriorante en el papel, ya que aceleran la oxidación de la celulosa y favorecen la aparición de microorganismos y de su actividad enzimática, entre esta la producción de ácidos orgánicos. Esto se traduce en la descomposición de la celulosa y el debilitamiento del soporte. Además resecan a los materiales higroscópicos y reblandecen los adhesivos y las colas (Bello y Borrell, 2002).

La iluminación es otro de los factores que afecta los archivos. La luz infrarroja aporta mucho calor, por lo que en espacios cerrados (sobre todo vitrinas o armarios) la temperatura aumentará; esto provocará también una variación de

la humedad y, por lo tanto, desestabilizará el posible equilibrio existente, respecto a la conservación, en estos dos parámetros. Este aumento de temperatura se puede traducir en un deterioro de los materiales constitutivos de los documentos: colas, tintas, papel, pergamino, cuero, etc., y al variar la humedad, puede favorecer el aumento de la actividad biológica. Los rayos ultravioletas también provocan alteraciones, afectan a las tintas (las decoloran), al cuero y al pergamino (volviéndolos rígidos y quebradizos). La celulosa es un material que absorbe la radiación ultravioleta en gran cantidad, iniciándose a continuación un proceso fotoquímico de oxidación (Bello y Borrell, 2002).

El biodeterioro se puede definir como un cambio indeseable en las propiedades de un material y es causado por la actividad vital de los organismos; referido a las propiedades culturales, es el daño físico, químico y estético causado biológicamente por agentes tales como insectos, algas, líquenes, hongos, bacterias y vertebrados, y depende de las condiciones microclimáticas (Vaillant y Valentín, 1996).

La Colección Coronado se encuentra situada en Centro de Documentación Científico-Técnica (CDICT) de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba. Consta de libros, revistas, publicaciones periódicas, folletos, manuscritos, grabados, fotografías, mapas, planos, y láminas correspondientes al período comprendido entre el siglo XV y primera mitad del siglo XX. También existen dos incunables (obras impresas antes del año 1500). Esta colección posee un conjunto de 85 ejemplares que forman parte de la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial. En resumen esta colección atesora documentos muy valiosos, por lo que se hace necesaria su preservación.

En el año 2005 la jefa del laboratorio de conservación de la Oficina del Historiador de la Ciudad de La Habana, realizó una visita al Archivo "Coronado", y refiere la presencia daños biológicos. Posteriormente, en los años 2010 y 2011 el Grupo científico multidisciplinario de biodeterioro de bienes de valor cultural de la UCLV realizó un análisis preliminar del nivel de deterioro fúngico en parte de la colección y de las condiciones del local que lo propiciaron.

Esta investigación mostró que la intensidad y amplitud de los daños por hongos en los documentos inspeccionados eran bajas, según los criterios utilizados. El local del archivo se clasificó como contaminado, atendiendo al muestreo de

propágulos fúngicos provenientes del aire. Se comprobó la capacidad de degradación de la celulosa y el papel y de producción de ácido de la mayoría de los aislados fúngicos obtenidos, lo que demostró el riesgo que presentan los documentos a la biodegradación por hongos. Además existieron deficiencias constructivas en el local que favorecieron la entrada y establecimiento de propágulos fúngicos. La humedad relativa se mantuvo cercana a los parámetros establecidos, mientras que la temperatura excedió el nivel aceptable, encontrándose fluctuaciones por encima de lo recomendado en ambas variables.

En la presente investigación se pretende diagnosticar el estado de biodeterioro de la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial del Archivo “Coronado”, ya que se desconoce la magnitud del daño y la entidad de insectos y hongos filamentosos deteriorantes del material de archivo. Para ello se trazaron los siguientes objetivos:

1. Cuantificar y determinar de la intensidad de las alteraciones causadas por insectos y hongos filamentosos.
2. Identificar insectos causantes de biodeterioro.
3. Identificar hongos filamentosos presumiblemente causantes de biodeterioro.
4. Evaluar cualitativa y cuantitativamente la actividad deteriorante de los hongos filamentosos aislados.

Revisión Bibliográfica

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Colección “Coronado”. Sus valores¹

Francisco de Paula Coronado nació el 8 de enero de 1870 en La Habana. Fue uno de los intelectuales más brillantes de la época republicana. Periodista, crítico literario, con amplia cultura y una memoria formidable. Estudió Pedagogía, Derecho, Filosofía y Letras.

Recopiló revistas, periódicos, ediciones príncipes cubanas, así como ediciones raras y valiosas de libros y folletos. Se debe destacar la bibliografía que Coronado hizo sobre Colón, ésta recogía obras de gran singularidad, difíciles de encontrar en las bibliotecas o archivos públicos de la época. Llegó a reunir los más importantes libros cubanos y valiosas obras extranjeras, así como folletos, periódicos, revistas, documentos y manuscritos cubanos representativos del siglo XIX.

En 1920 Francisco de Paula Coronado pasó a dirigir la Biblioteca Nacional José Martí, cargo que ocupó durante 26 años, hasta su muerte el 30 de noviembre de 1946.

Tras su muerte dejó su biblioteca a la cual había dedicado más de sesenta años y de la que nunca quiso deshacerse, a pesar de que alguna vez le llegó de los Estados Unidos muy suculento ofrecimiento. Se pensó que su destino debió de haber sido la Biblioteca Nacional, que él dirigió, o la biblioteca de la Sociedad Económica de Amigos del País, de tanto prestigio histórico, o la Universidad de La Habana. Se realizaron gestiones pero resultaron inútiles. Mientras, los libros habían sido hacinados inadecuadamente.

En esta situación aparece un seguro comprador, la Universidad de Miami. Frente a este hecho, un bibliógrafo cubano, el doctor Mariano Sánchez Roig, quiso salvar la colección de Coronado. Con la angustia de no tener el dinero necesario y con conciencia de lo que iba a salir de la isla habló con Paúl Mendoza. Éste que no coleccionaba libros, era un hombre de negocios, quiso ir a ver la colección y se vio frente a montañas de libros. Se le afirmaba que aquello era una riqueza bibliográfica, que era un crimen que aquellos papeles se perdieran para Cuba y allí mismo quedó cerrada la operación.

¹ El acápite 2.1 se desarrolló a partir de Castillo y Vega, 2005.

Años más tarde, la colección es puesta en venta y el 20 de febrero de 1960 ésta fue adquirida por la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas y actualmente conforma la colección Coronado de la biblioteca “Chiqui Gómez Lubián” de esta institución.

En este repositorio documental se pueden encontrar libros, revistas, publicaciones periódicas, folletos, manuscritos, grabados, fotografías, mapas, planos, y láminas correspondientes al período comprendido entre el siglo XV y primera mitad del siglo XX.

2.1.1 Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial

Los documentos que forman parte de la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial han sido seleccionados tomando en cuenta criterios tales como: forma en que están escritos, el tipo de letra, encuadernación, fecha en que fueron escritos, información que contienen e ilustraciones.

2.2 Alteraciones causadas por insectos y hongos filamentosos en documentos

Según Bello y Borrell (2002) las causadas por organismos son las siguientes:

Infección: invasión o ataque biológico que sufre un documento (Fig. 1). Puede extenderse y contaminar otros documentos que estén en contacto. Modifica las características físico-químicas del documento y lo deteriora, lo descompone y puede llegar a destruirlo.



Figura 1. Infección

Reblandecido: estado de debilitamiento en que se puede encontrar un documento cuando pierde su consistencia original y se vuelve delicado, cediendo a la presión; adquiere una apariencia floja y flácida que puede ser

causada por una humedad excesiva (hidrólisis) o por el ataque de microorganismos (Fig. 2).



Figura 2. Reblandecido.

Galería: pasillos formados por la suma de agujeros continuos que presentan diferentes trayectos y ocasionan la pérdida de parte del material del soporte (Fig. 3). Los principales órdenes que provocan daños son: Coleoptera, Isoptera, Tysanura, Blattodea, Psocoptera y Lepidoptera.

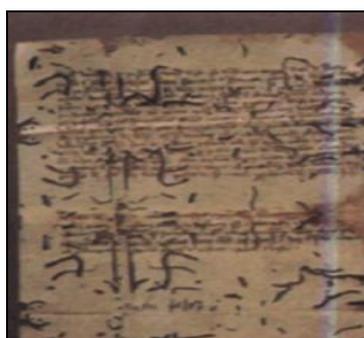


Figura 3. Galerías.

Erosión: desgaste provocado en el documento por causas mecánicas y físico-biológicas que dañan la superficie y que pueden llegar a ocasionar perforaciones y pérdidas de parte del documento (Fig. 4).



Figura 4. Rozadura o erosión.

Enmohecido: moho provocado por microorganismos, desarrollado a expensas de diversas sustancias orgánicas que provocan la descomposición del material, la aparición de manchas o una capa de terciopelo, y que hace posible la destrucción de la obra si no se detiene el cultivo. Su aspecto es el de una capa de algodón o terciopelo de diversas coloraciones, según el nutriente y las especies desarrolladas (Fig. 5).



Figura 5. Enmohecido.

Foxing: multitud de pequeñas manchas de color marrón (Fig. 6) producidas por microorganismos que reaccionan con las impurezas de origen metálico del papel cuando se combinan con un exceso de humedad. Las causas que originan esta alteración aún no están bien determinadas.

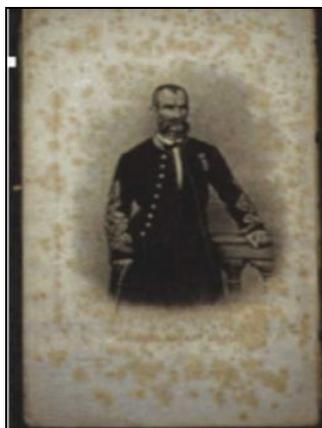


Figura 6. Foxing.

Excrementos: excreciones de los insectos en los documentos (principalmente de moscas) que dejan manchas minúsculas de color oscuro sobre la superficie de la obra (Fig.7).



Figura 7: Excrementos.

De la literatura con que se cuenta esta es la que describe mejor las alteraciones que pueden presentar los libros, sin embargo se usan algunos términos poco científicos. Se sugiere el término de infección para definir el ataque biológico a los documentos. En este caso es empleado de una manera incorrecta porque la infección es la colonización o invasión de un organismo por otro, donde las especies colonizadoras resultan perjudiciales para el funcionamiento normal del organismo huésped. Los libros no constituyen organismos aunque si son atacados por agentes biológicos, por lo tanto se sugiere evitar el uso del término infección para describir esta alteración.

En el caso de la alteración enmohecido se define como "moho provocado por el crecimiento de microorganismos", en este caso se sugiere eliminar el término moho, ya que este se refiere a la presencia de un hongo, entonces se considera más adecuado el uso de otra expresión que refiera la alteración como el desarrollo o crecimiento de hongos sobre el soporte.

2.3 Insectos y hongos filamentosos causantes de biodeterioro en documentos

2.3.1 Deterioro del papel por insectos

El material de archivo frecuentemente es atacado por insectos. Estos causan alteraciones en el soporte ya que algunos se alimentan de la celulosa u otros componentes del papel. En ocasiones llegan a anidar en los libros, siendo la fase larval la que más daño ocasiona.

Orden Thysanoptera

Insectos ápteros más primitivos que existen, cuya falta de alas no ha sido el resultado de su evolución sino que es original. Son identificados comúnmente como pececillos de plata. Una de sus características distintivas es la forma de su abdomen, que está terminado en varios apéndices. En el caso de *Lepisma* spp. su abdomen finaliza en tres cerdillas articuladas. Su cuerpo es de forma cilíndrica y brillante debido a que está cubierto de escamas (razón por la cual reciben el nombre de *Lepisma*) cuyo color varía de acuerdo al estadio en que se encuentre el insecto. En su cabeza poseen dos antenas alargadas y sus pies son cortos, con dos artejos y una uña en cada tarso. Presenta fobia a la luz, por lo que suele habitar en espacios oscuros y, teniendo en cuenta su dependencia hacia la humedad, lo más seguro es encontrarlo en casas o edificios viejos, sótanos frescos, depósitos poco iluminados y con poca ventilación, detrás de los zócalos y de los muebles, en las grietas o fisuras de las paredes, sobre todo si éstas contienen manchas de humedad, o lugares donde haya pérdidas de agua, incluso en los baños y cocinas. (Scala, 2010). Se alimenta de colas y de celulosa. Este insecto deja la superficie del papel llena de erosiones, llegando, a veces, a perforarlo. En ocasiones puede estropear totalmente un documento, un grabado o dibujo, pues las erosiones afectan, a menudo la parte dibujada, escrita o impresa (Bello y Borrell, 2002). Los ejemplares más conocidos como causantes de biodeterioro son *Lepisma saccharina* y *Thermobia domestica*.

Orden Dictyoptera

Las más conocidas son *Blattella germanica*, *Blatta orientalis* y *Periplaneta americana*, conocidas comúnmente como cucarachas. Prefieren la humedad y la nocturnidad, son omnívoras, viven ocultas en zócalos, fisuras de las paredes, etc., y es muy frecuente encontrarlas en depósitos, almacenes y zonas de desagüe. En el material de archivo deja erosiones superficiales y manchas producidas por sus excrementos, que suelen ser muy oscuros (Bello y Borrell, 2002).

Orden Psocoptera

Son insectos muy pequeños, casi imperceptibles, conocidos como piojos de los libros. Se alimentan de material vegetal y animal, concretamente de otros insectos u hongos; también se encuentran en las encuadernaciones y dentro del bloque de libros. Produce pequeños agujeros en la superficie del papel y ligeras erosiones (*op. cit.*).

Orden Isoptera

Forman parte de los grupos de insectos más peligrosos y difíciles de erradicar, especialmente, porque algunas especies, (termitas subterráneas), forman sus nidos primarios fuera de las edificaciones al que posteriormente acceden a través de tuberías, o conducciones eléctricas, para instalar sus nidos secundarios y acceder a los materiales celulósicos localizados en el interior del inmueble.

Las termitas, son insectos sociales. El número de individuos en una colonia varía de una especie a otra, oscilando entre 1000 y un millón. Dentro de las colonias, el rey y reina corresponden a las castas reproductivas y las obreras y soldados a las castas estériles.

Las termitas más comunes incluyen un escaso número de familias. La familia Rhinotermitidae (termitas subterráneas) son las más peligrosas y difíciles de erradicar. Construyen sus nidos principales en la tierra, en la madera húmeda en contacto con la tierra o en las raíces de los árboles. *Reticulitermes lucífugus* es la especie más frecuente en países del área mediterránea. Una humedad baja afecta sensiblemente a las colonias de termitas. Asimismo, la luz les perjudica mucho debido a su falta de pigmentación. Por todo ello, se ocultan en el interior de túneles que construyen, por los que se trasladan fácilmente y donde conservan su humedad manteniéndose ocultas de la luz. Solo el rey y la reina poseen alas para desplazarse durante el vuelo nupcial. Están pigmentados para protegerse de la luz. Las obreras y soldados no tienen alas, ni están pigmentados a excepción de la cabeza de los soldados que necesitan salir de los nidos para defender las colonias. Destruyen todo tipo de material orgánico, especialmente si está húmedo y contaminado por microorganismos (Valentín, 2003).

Orden Coleoptera

Llamados comúnmente carcomas. El mayor peligro lo representan las larvas, que se alimentan de la celulosa formando largas galerías desde la periferia de la obra hasta el centro y depositando dentro de estas sus excretas con forma de arenilla (Bello y Borrell, 2002). Las principales especies son *Lasioderma serricorne* y *Stegobium paniceum*.

2.3.2 Deterioro del papel por hongos

El desarrollo inicial de los microorganismos en un documento depende de las características de la superficie y de la higroscopicidad del material. Las superficies lisas son menos susceptibles al crecimiento microbiano que las superficies rugosas, las cuales pueden retener agua mas fácilmente y utilizarla para el inicio del desarrollo microbiológico (Bach, 1998).

La acción de los hongos en el papel se manifiesta cuando aparecen manchas de diversos colores y formas. Las enzimas producidas como resultado del metabolismo de diferentes especies de hongos aceleran el proceso de deterioro de la celulosa y de los adhesivos, pues promueven la hidrólisis. En consecuencia ocurre la transformación de las características físicas y químicas del soporte, que queda con un aspecto poroso y fragmentado (Beck, 1992).

Los hongos que alteran la documentación poseen una capacidad única de soportar ambientes desfavorables, ya que presentan esporas, estructuras resistentes al calor, desecamiento y otras condiciones adversas. Estas estructuras le permiten mantenerse en estado de reposo hasta que encuentren un medio favorable al desarrollo o germinación, allí empiezan su crecimiento, formando micelio el cual es fundamental; ya que por medio de éste captan todos los nutrientes (Peña y Zambrano, 2003).

El biodeterioro puede verificarse a través de dos mecanismos principalmente: por acción física (mecánica) debido a la penetración mecánica del micelio en el sustrato y por acción química. El mecanismo químico a su vez se subdivide en asimilador (consiste en la utilización de los materiales de las obras como fuente de carbono o de energía) y desasimilador (ocurre por excreción o secreción de productos metabólicos intermediarios o finales (ácidos y pigmentos). Los procesos químicos que producen biodeterioro son: descomposición de elementos por sustancias ácidas (acidólisis), descomposición de elementos por

sustancias básicas (alcalinólisis), degradación por enzimas y emisión de pigmentos por las colonias (Ciferri, 1999).

Dentro de los hongos más conocidos como agentes causales de deterioro en el material de archivo se encuentran las clases Ascomycetes (Ascomicetos) y Deuteromycetes (Deuteromicetos), en la familia Eurotiaceae. Además de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, dos de los hongos más comunes y extensamente esparcidos.

2.3.3 Enzimas producidas por los hongos para degradar el papel

Los componentes orgánicos fundamentales provenientes de la madera de papel son: celulosa, hemicelulosa y lignina. Durante su fabricación se adicionan a la pulpa, con la finalidad de dar una mayor estabilidad y resistencia al papel frente al agua, las colas. Estas pueden ser de origen animal, vegetal o sintético. Las primeras en el pasado se preparaban de forma casera hirviendo los desperdicios de pieles, huesos y cartílagos, procedentes de las curtidurías y carnicerías, con el objetivo de obtener una materia gelatinosa, mientras que en la actualidad se recomienda usar las colas provenientes de cabras, corderos o carneros, pues es más blanca, aunque lo ideal es usar las colas provenientes del pescado. Las colas de origen vegetal pueden ser de almidón de harina de trigo, arroz y otros (Asunción, 2001).

En el papel, el principal nutriente de los hongos es la glucosa, que es obtenida por la alteración de la molécula de celulosa (Beck, 1992). Su descomposición comienza con la hidrólisis enzimática del polímero, por medio del sistema de celulasas, que convierten la celulosa a mono o disacáridos sencillos solubles en agua que logran penetrar con facilidad la membrana celular; los pasos que siguen a la hidrólisis inicial varía con los organismos, siendo metabolizados los azúcares simples a CO₂, por los aerobios y los ácidos orgánicos por los anaerobios, con el fin de proveer la energía necesaria para las reacciones biosintéticas (Olivero, 2004).

Las celulasas son un complejo enzimático formado por tres enzimas que combinando su acción realizan una degradación eficiente de la celulosa. Las celulasas se distinguen de otras glicosil hidrolasas por su habilidad de degradar los enlaces β -1,4-glucosídicos de los residuos de glucosa. Este complejo esta formado por un sistema dentro de las que se encuentran: las β -endoglucanasas

(también conocidas como carboximetilcelulasas), las β -glucosidasas (conocidas como celobiasas) y la β -exoglucanasa. Las del prefijo endo- degradan la celulosa en la porción interna de la cadena, y las exo- en la parte externa. Estas enzimas no actúan independientemente sino de forma conjunta, fenómeno se conoce como sinergismo. Las endoglucanasas actúan de forma azarosa sobre las regiones de celulosa amorfa en el interior del polisacárido, generando oligosacáridos de diferentes tamaños y, por lo tanto, nuevas cadenas terminales. Las exoglucanasas se encargan de degradar la celobiosa a monómeros de glucosa. Las glucosidasas degradan los residuos de celulosa solubles y la celobiosa a glucosa (Capitelli y Sorlini, 2010).

La hemicelulosa esta compuesta por hexosas y pentosas. El esqueleto carbonado ramificado esta formado por uno o dos azúcares, mientras que los azúcares individuales pueden estar acetilados o metilados. La D-xilosa y L-arabinosa son los principales componentes de las pentosas (xilanos), mientras que la D-galactosa y D-manosa son los constituyentes de los hexosanos (Kuhad *et al.*, 1997).

Las hemicelulasas son un grupo de enzimas que hidrolizan a la hemicelulosa. Las enzimas que despolimerizan la hemicelulosa son endo-1,4- β -D-xilasa y endo-1,4- β -D-manasa. Tanto las celulasas como hemicelulasas son parte de un grupo de llamado glicosil hidrolasas que hidrolizan los oligosacáridos y polisacáridos. (Capitelli y Sorlini, 2010)

A un conjunto de sustancias constituidas por subunidades de fenilpropano, se le llama lignina, por tanto no es un carbohidrato. La lignina es una molécula muy compleja y amorfa, no cristalina, por lo que es muy difícil para los microorganismos poder penetrarla, pero los hongos producen un complejo grupo de enzimas que la degradan (*op. cit.*).

El almidón es una mezcla de dos polisacáridos (amilosa y amilopectina). La amilosa es una cadena lineal no ramificada de α -1-D-glucosa, además de los enlaces α -1,4 la amilopectina contiene enlaces ramificados α -1,6. El almidón es degradado por enzimas llamadas amilasas. La α -amilasa actúa sobre el almidón de forma azarosa produciendo grupos reducidos mientras que las β -amilasas producen maltosa. Las glucoamilasas hidrolizan enlaces α -1,6-glicosídicos cuando en la secuencia el próximo enlace es β -1,4, algunas preparaciones de estas enzimas hidrolizan enlaces α -1,4 y α -1,3 (*op. cit.*).

La gelatina puede ser extraída de la piel y tejidos óseos luego de tratamientos alcalinos. Tradicionalmente las fuentes de gelatina han sido mamíferos tales como: cerdos y ovejas. La licuefacción se lleva a cabo por proteasas (*op. cit.*).

2.4 Alteraciones causadas por agentes químicos y físicos en documentos

El material documental con soporte en papel es altamente sensible a factores químicos, como la humedad y contaminantes ambientales; factores físicos tales como temperatura y luz; factores climáticos y los factores físico-mecánicos, manipulación y métodos para su resguardo; además de los deterioros que sufre por razones intrínsecas directamente relacionadas con su composición y estructura (Morales, 2008).

2.4.1 Causas intrínsecas

En el caso del papel es muy importante el agua empleada para su fabricación, pues si está contaminada puede transmitir a la pasta de papel infecciones por hongos o bacterias. Si el agua es ácida, el papel saldrá de fábrica con un pH ácido; si el agua es alcalina, se obtendrá un buen papel con un pH neutro o alcalino que lo hará resistente a la acidez. Si el agua es ferruginosa, quedarán en el papel pequeñas partículas metálicas incorporadas que con el tiempo se oxidarán, produciendo manchas (Bello y Borrell, 2002).

2.4.2 Causas extrínsecas

Dentro de los agentes físicos extrínsecos se encuentran la humedad relativa y las radiaciones.

La humedad relativa se define como la cantidad de vapor de agua que contiene un determinado volumen de aire a cierta temperatura, la cantidad máxima de agua que éste volumen podría contener si se realizara el proceso de condensación. La acción secundaria de la humedad relativa está dada por el hecho de que esta puede propiciar el crecimiento microbiano (Beck, 1992). Se considera que ambientes con humedad relativa menor de 40% se consideran ambientes secos, mientras que ambientes con humedad relativa superior a 60% se consideran húmedos y favorables para el biodeterioro microbiano del papel (Guerrero, 1997). Tacón (2002) considera adecuados valores de humedad relativa por debajo del 50%.

Aunque de todas las radiaciones, la ultravioleta es la que posee mayor potencial degradativo, todas las formas de luz poseen energía e inducen cambios en el papel y las tintas. Los efectos perjudiciales de la luz se basan en la activación de reacciones de oxidación que conducen al desvanecimiento de las tintas, oscurecimiento de papeles con lignina y oxidación en general de los sustratos orgánicos. Estos efectos son de carácter acumulativo e irreversible (Nicholson, 1993; Novotny, 2000).

Entre los factores químicos que provocan deterioro en el papel se encuentran los gases, el polvo y las partículas contaminantes que catalizan reacciones nocivas, además de la producción de ácidos, decoloración y debilitamiento del papel. Estos elementos provienen de fuentes como productos de limpieza, adhesivos y la emisión de gases ácidos de algunas maderas (Palma, 2005).

El polvo (mezcla formada por partículas de naturaleza orgánica e inorgánica) tiene efecto perjudicial sobre el papel por la abrasión, puede contener sustancias químicamente activas y es un medio excelente para el desarrollo de hongos e insectos. Otro factor importante causante del deterioro del papel es la contaminación atmosférica. El dióxido de azufre, el sulfato de hidrógeno, los óxidos de nitrógeno y el ozono poseen una comprobada acción destructiva (Someillán *et al.*, 2006). El oxígeno, el nitrógeno, el dióxido de carbono y el hidrógeno permiten procesos de combustión, fermentación u oxidación y la hidrólisis de los materiales (Beck, 1992)

2.5 Factores ambientales que favorecen el crecimiento de los hongos en archivos

Los hongos para su crecimiento necesitan una temperatura entre 22 a 30 °C, aunque existen especies que crecen de forma óptima fuera de este rango. Lo anterior convierte a los hongos en una causa de daño de considerable importancia a tener en cuenta, sobre todo en las instituciones ubicadas en zonas de clima cálido y húmedo.

El factor más importante para la germinación y crecimiento del micelio del hongo es la humedad. En humedad relativa alta el transporte de nutrientes por las hifas se ve favorecido, lo cual propicia la síntesis de enzimas hidrolíticas, con lo que se acelera el biodeterioro del papel. Para que ocurra la descomposición fúngica del papel, el contenido de humedad del sustrato debe ser del 20% o

mayor. Las medidas preventivas más importantes para evitar el crecimiento de hongos son mantener niveles bajos de temperatura y humedad relativa, una buena circulación de aire y depósitos limpios y ordenados (CONSERVAPLAN, 1998).

El pH óptimo para el crecimiento de los hongos es ligeramente ácido (cerca a 6,0) para la mayoría de las especies, se ha investigado que el pH afecta significativamente la intensidad de mancha y su color; además el pH puede ser alterado por productos metabólicos del propio hongo (*op. cit.*).

La luz en muchas especies es un elemento necesario para la formación de los conidióforos y las esporas, por otra parte, los conidióforos de muchas especies son fototrópicos positivos, por lo que esta toma un papel activo muy importante en la dispersión de las esporas (*op. cit.*).

Materiales y Métodos

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La colección “Coronado” se encuentra en un local en el 5to y último piso de la torre del Centro de Documentación Científico-Técnica (CDICT) de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Forma parte de esta, la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial, que se ubica dentro de un estante de metal con dos puertas de vidrio, que consta de cuatro pisos (Fig. 8). Está constituida por 85 documentos, de ellos tres ejemplares pertenecen al siglo XVI, 11 al siglo XVII, 62 al siglo XVIII, ocho al siglo XIX y sólo un ejemplar pertenece al siglo XX.



Figura 8: Estante de Libros de Valor Patrimonial.

3.1 Cuantificación y determinación de la intensidad de las alteraciones causadas por insectos y hongos filamentosos presentes en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial

Con el objetivo de cuantificar los documentos con alteraciones de origen biológico, causadas por insectos y hongos filamentosos presentes en la

colección, se realizó una inspección visual de cada ejemplar. Se describieron las alteraciones observadas empleando criterios de Bello y Borrell (2002), quienes consideran: insectos vivos o muertos, excretas, galerías y erosión para el primer grupo de organismos y enmohecido, manchas y reblandecido para el segundo.

En caso de presentar alteraciones por insectos, teniendo en cuenta la presencia de al menos un daño, se estimó su intensidad. Para las excretas o restos de insectos se consideró su número, siendo alta en los casos en los que estos superaran el 5% de la extensión total del documento inspeccionado, en caso contrario fue baja. La intensidad de daños por galerías fue baja de presentarse de una a cinco galerías o áreas erosionadas de pequeñas dimensiones, media, de seis a diez y alta cuando se cuantificaron más de diez. La intensidad de los daños por hongos se consideró alta en los casos en los que estos superaran el 5% de la extensión total del documento inspeccionado, en caso contrario fue baja.

3.2 Identificación de insectos causantes de biodeterioro

Los insectos vivos fueron recolectados y conservados en etanol al 70% y los especímenes, restos de estos o excretas fueron guardados en sobres de papel, y observados posteriormente en estereomicroscopio por un especialista² para su identificación siguiendo criterios morfológicos.

Según las características de las galerías se estimó el orden de insectos que pudo haberlas originado.

3.3 Identificación de hongos filamentosos presumiblemente causantes de biodeterioro

El aislamiento de hongos filamentosos a partir de las alteraciones causadas presumiblemente por estos microorganismos se realizó en dos oportunidades. En el mes de junio de 2010, durante la Práctica Laboral I y con el objetivo de adquirir habilidades en la toma de muestras, aislamiento, identificación y evaluación de la actividad biodeteriorante de los microorganismos, se realizó el aislamiento fúngico en cinco ejemplares seleccionados al azar. En el mismo mes del año siguiente se realizó esta labor en todos los documentos de la colección.

Para lo anterior se tomaron muestras por hisopado de un área de 1 cm², empleando aplicadores de madera con hisopos humedecidos (Fig. 9), que fueron colocados en tubos de ensayo con 1 mL de agua destilada estéril. Posteriormente se realizó el aislamiento por extensión con espátula de Drigalski en placas de Petri conteniendo Agar extracto de malta, suplementado con cloranfenicol (0,0001 g·mL⁻¹). Las placas fueron incubadas a 30±1 °C hasta siete días, inspeccionándose visualmente a partir del tercero para el aislamiento de hongos filamentosos. Estos se aislaron en cuñas de Agar Czapeck.

A las cepas se les realizaron preparaciones con lactofenol para la observación de la morfología microscópica y de ser posible, se identificaron hasta nivel de género mediante el empleo de claves, según Ellis (1971), Hawksworth (1995) y Barrett y colaboradores (1998).



Figura 9. Toma de muestras.

La cepa aislada durante el segundo muestreo fue identificada mediante la secuenciación del amplicón que se obtuvo a partir de la región ITS1-5.8S-ITS2, de la subunidad 18 S de ARNr, utilizando los cebadores ITS1-ITS4 (White, 1990). Para la secuenciación se utilizó el primer ITS4. Posteriormente se comparó la secuencia obtenida con las referenciadas en un banco de genes (GenBank, 2012).

Los aislados fúngicos fueron conservados en cuñas de Agar Extracto de malta a 8 °C para la evaluación de su actividad deteriorante.

3.4 Evaluación de la actividad deteriorante de los hongos filamentosos aislados

La evaluación de la actividad deteriorante de los hongos filamentosos aislados durante el primer muestreo de los documentos, se realizó mediante la determinación de la capacidad celulolítica, producción de pigmentos y determinación de la producción de ácidos. Para los aislados obtenidos luego del segundo muestreo se adicionó la evaluación de la actividad amilolítica y proteolítica, así como la determinación cuantitativa de las actividades celulasa y β -Endoglucanasa.

3.4.1 Determinación cualitativa de la actividad celulolítica, producción de pigmentos, actividades proteolítica y amilolítica y producción de ácidos

Para la determinación de la capacidad celulolítica y la producción de pigmentos se utilizó el procedimiento descrito por Rautela y Cowling (1986), para lo cual se procedió a inocular los aislados en un medio de cultivo (MCbase) cuya composición salina para 1 L fue: nitrato de sodio (2,0 g); fosfato de dipotasio (1,0 g); sulfato de magnesio (0,5 g); cloruro de potasio (0,5 g); sulfato ferroso (0,01) g; agar 20 g; agua destilada c.s.p. 1 L; pH = 5,5. Como fuente de carbono se empleó en un caso, una tira de papel de filtro de 4,8 cm de largo por 1 cm de ancho (equivalente a 0,05 g de papel de filtro) y en otro, celulosa cristalina (1 %). Como control se empleó glucosa (1 %). Para cada prueba se realizaron cinco réplicas Los cultivos se incubaron a 28 ± 2 °C durante 21 días. La evaluación de los resultados se realizó mediante inspección visual y se indicó siguiendo criterio dado por Hidalgo y Borrego (2006):

Crecimiento abundante (75% del área): +++

Crecimiento moderado (50% del área): ++

Crecimiento pobre (25% del área): +

La producción de pigmentos se evaluó en los tubos que contenían el papel de filtro y se señaló como positivo, en cuyo caso se determinó el color, o negativo. La actividad proteolítica se determinó usando dos ensayos de hidrólisis de gelatina, uno sobre una placa Petri y otro en un tubo de ensayo. Para el primero, las cepas de los hongos filamentosos fueron inoculados en MCbase, pero se le añadió como fuente de carbono gelatina a $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Después de siete

días de incubación a 28 °C, 5mL de reactivo de Frazier fueron vertidos sobre cada placa para determinar la presencia de un halo transparente, en cuyo caso la prueba se consideró positiva a la hidrólisis de la gelatina (Galiotou-Panayotou *et al.*, 1997). El ensayo en los tubos fue realizado para confirmar los ensayos positivos en las placas de Petri. En este caso, cada cepa se inoculó por punción en el medio de cultivo distribuido en un tubo de ensayo. La composición del medio era idéntica al del ensayo en placa de Petri, pero sin agar. Los tubos inoculados se incubaron durante 7 días a 28 C. Se almacenaron a 4 ° C por 30 minutos, y la reacción de hidrólisis de la gelatina se puso de manifiesto por la licuefacción del medio cuando los tubos fueron agitados (Iwatzu, 1984).

Para la determinación de la actividad amilolítica, las cepas se sembraron en una placa Petri en MCbase que contenía almidón ($5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) como única fuente de carbono. Después de 7 días de incubación a 28° C, 5 mL de reactivo de Lugol fueron vertidos sobre cada placa de cultivo y la presencia de una zona de color azul alrededor del crecimiento micelial fue tomada como indicador de hidrólisis positiva (Galiotou-Panayotou *et al.*, 1997).

Los aislados fúngicos fueron inoculados en MCbase sin agar distribuido en tubos de ensayo, con glucosa (1%) y pH = 7,0. Estos fueron incubados a la temperatura antes referida durante tres días, pasados los cuales se determinó el pH del medio de cultivo con el empleo de un pHmetro (Borrego *et al.*, 2010a).

3.5 Determinación cuantitativa de las actividades enzimáticas en papel de filtro y β -Endoglucanasa

Para la obtención de biomasa, la cepa aislada durante el segundo muestreo fue inoculada en MCbase sin agar, usando como fuente de carbono glucosa al 1%, ajustando el pH=5,5.

Se determinó la actividad enzimática en papel de filtro según el método de Correa *et al.*, (1999).

Se inocularon 0,05g de biomasa del hongo en un Erlenmeyer que contenía 100mL de MCbase sin agar, agregando como fuente de carbono celulosa cristalina al 1%. Los frascos se colocaron en una Incubadora-Agitadora Termostatzada (Sartorius) a 28 °C a velocidad de agitación de 150 rpm durante siete días (Fig.10). El experimento fue llevado a cabo por duplicado.

Transcurrido este tiempo se tomaron muestras de 1,5 mL, las que se centrifugaron a 25 °C y 10000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se utilizó en la determinación de la actividad enzimática sobre papel de filtro y la actividad β -Endoglucanasa. El desarrollo del color se obtuvo al adicionar ácido dinitrosalisílico (DNS), que detecta la presencia de glucosa. Se determinó la densidad óptica en un espectrofotómetro a 540nm.



Figura 10. Cultivo fúngico para la determinación de las actividades enzimáticas celulasa y β -Endoglucanasa.

El procedimiento de análisis para la determinación de la actividad celulasa en papel de filtro se describe en la tabla I.

Los tubos fueron agitados y se determinó la densidad óptica contra blanco de reactivo (BR).

El cálculo de la concentración de glucosa en los tubos BPF, BM y M se realizó utilizando la curva estándar.

La concentración de glucosa estuvo dada de la siguiente manera:

$$[Glu] = [M] - ([BM] + [BPF])$$

Una unidad de enzima se definió como la cantidad de enzima que libera 1 μ mol de glucosa por minuto.

La actividad de papel de filtro se calculó mediante la siguiente expresión:

$$\text{Celulasa (U}\cdot\text{mL}^{-1}) = [Glu] \times 0,1852 \times \text{dilución};$$

Donde 0,1852 es un factor para obtener el número de μ moles de glucosa formados en un minuto.

Tabla I. Procedimiento de análisis del ensayo de actividad enzimática en papel de filtro (FPasa).

Reactivos	Blanco reactivo (BR)	Blanco papel de filtro (BPF)	Blanco muestra (BM)	Muestra (M)
Tampón acetato 50 mM, pH 4,8 (mL)	1,5	0,5	1,0	---
Dilución de enzima (mL)	---	---	0,5	0,5
Se introdujeron los tubos en baño termostatado a 50°C.				
Tira de papel de filtro Whatman N°1 0,05 g (1x6 cm)	NO	SI	NO	SI
Se incubaron los tubos por 30 minutos en baño termostatado a 50°C.				
Reactivo DNS (mL)	3,0	3,0	3,0	3,0
Se colocaron los tubos en baño de agua hirviente durante 5 minutos e inmediatamente enfriarlos en baño de agua corriente.				
Agua destilada (mL)	5,0	5,0	5,0	5,0

La determinación de la actividad β -Endoglucanasa se realizó siguiendo el procedimiento antes referido, usando carboximetilcelulosa (CMC) 1% en lugar de papel de filtro.

El cálculo de la concentración de glucosa en los tubos BCMC, BM y M se realizó utilizando la curva estándar.

La concentración de glucosa estuvo dada de la siguiente manera:

$$[Glu] = [M] - ([BM] + [BCMC])$$

Una unidad de enzima se definió como la cantidad de enzima que libera 1 μ mol de glucosa por minuto.

La actividad β -Endoglucanasa se calculó mediante la expresión:

$$\beta\text{-Endoglucanasa (U}\cdot\text{mL}^{-1}) = [Glu] \times 0,37 \times \text{dilución};$$

Donde 0,37 es un factor para obtener el número de μmoles de glucosa formados en un minuto.

Para la obtención de la curva estándar, a partir de una solución de glucosa a una concentración de $1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ se siguió el procedimiento que se refiere en la tabla II.

Tabla II Procedimiento para la obtención de la curva estándar de glucosa.

Reactivos	Blanco	1	2	3	4	5
	Reactivo					
Solución estándar de glucosa (mL)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Tampón acetato pH 4,8 (50 mM) (mL)	1,5	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0
Concentración final de glucosa, $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	---	0,0002	0,0004	0,0006	0,0008	0,001
Reactivo DNS (mL)	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Los tubos fueron colocados en baño con agua a temperatura de ebullición durante 5 min e inmediatamente enfriados baño de agua corriente						
Agua destilada (mL)	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

Los tubos fueron agitados y se determinó la densidad óptica contra blanco de reactivo (BR).

La densidad óptica se graficó contra la concentración de glucosa. Usando la regresión lineal $y = a + bx$; donde y =densidad óptica, x = concentración de glucosa.

El cálculo de la concentración de glucosa en la determinación de actividad enzimática se realizó con la ecuación de regresión obtenida.

Resultados

4. RESULTADOS

4.1 Cuantificación y determinación de la intensidad de las alteraciones causadas por insectos y hongos presentes en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial

Fueron muestreados un total de 85 ejemplares, cuyos datos bibliográficos se presentan en el Anexo I. De estos, cinco no mostraron ninguna alteración y 80 presentaron alguna(s) de las alteraciones anteriormente descritas (ver Anexo I). En la figura 11 se muestran las causadas por insectos. En la figura 12 se muestran las provocadas presumiblemente por hongos.

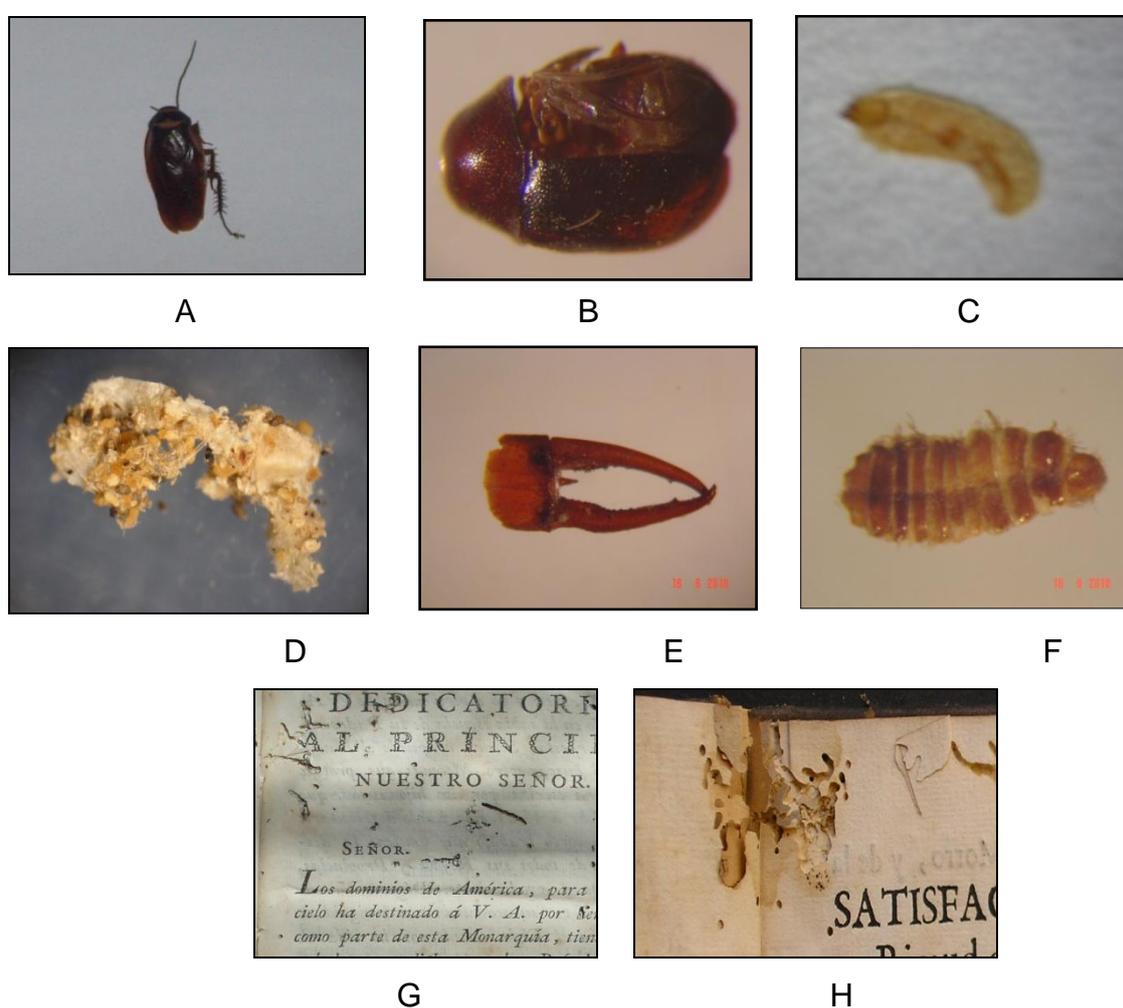


Figura 11. Alteraciones causadas por insectos en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial del Archivo Coronado.

A: Ejemplar adulto vivo.

B: Ejemplar adulto muerto.

- C: Larva muerta de un insecto.
 D: Excrementos y restos de cámaras pupales.
 E: Fragmento posterior de un insecto.
 F: Larva muerta de un insecto.
 G y H: Galerías.

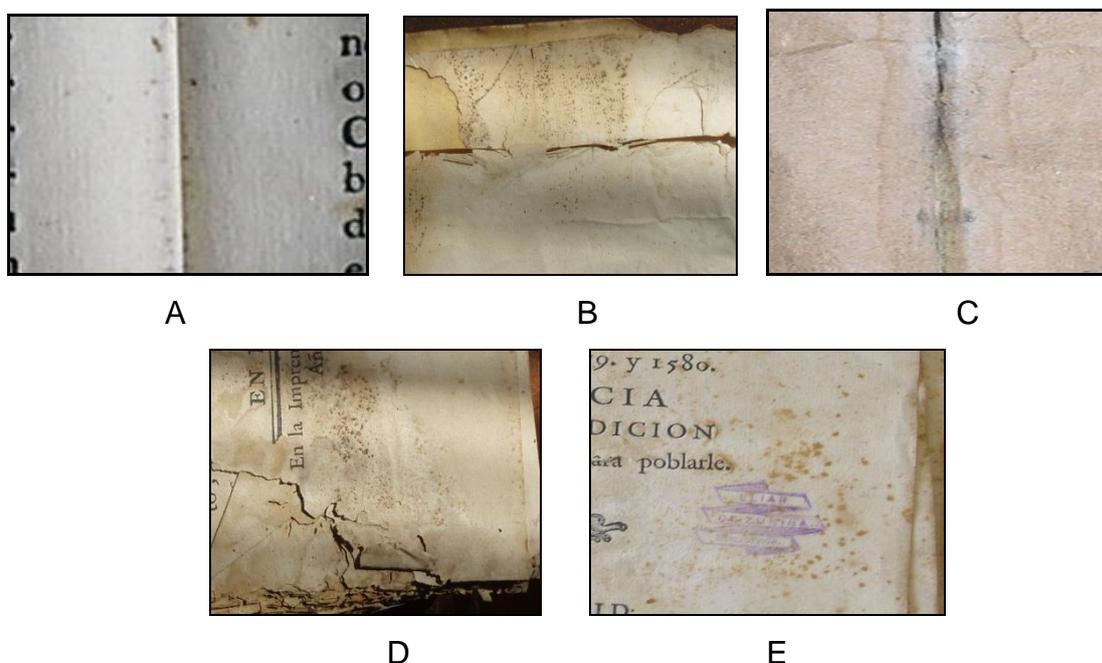


Figura 12. Alteraciones presumiblemente causadas por hongos en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial del Archivo Coronado.

- A: Manchas.
 B, C y D: Enmohecido.
 E: Manchas (foxing).

Se visualizó un insecto vivo en el túnel de un libro. Se encontraron dos especímenes adultos, cinco larvas y restos de un insecto entre los cuadernillos de otros documentos y 66 ejemplares presentaron galerías, de estos cuatro contenían excretas y restos de cámaras pupales en su interior. En los primeros cuadernillos y la en encuadernación de siete documentos se observó erosión. La intensidad del daño por insectos fue estimada de baja en nueve documentos, media en 40 y alta en 17.

Del total de ejemplares inspeccionados 70 presentaron manchas (foxing), las que se encontraban distribuidas en los cuadernillos, bisagra interior y contratapa. De ellos, dos además tenían enmohecido y uno manchas, de baja intensidad, con características diferentes al foxing. En un documento el crecimiento micelial se encontró en la bisagra interior y en la contratapa y otro en un cuadernillo. La intensidad del daño por hongos para los documentos con enmohecido fue estimada como baja. El daño por foxing fue bajo en cinco ejemplares, medio en 60 y alto en cinco. No se detectó reblandecimiento.

4.2 Identificación de insectos causantes de biodeterioro

El insecto vivo recolectado perteneció al Orden Dytioptera (Blattodea) comúnmente conocido como cucaracha.

Los dos insectos adultos muertos (Fig. 11B) fueron identificados como *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792), Orden Coleoptera, Familia Anobiidae. Cuatro de las larvas encontradas, las excretas y los restos de cámaras pupales (Fig. 11D) pertenecen a esta especie, conocida comúnmente como gorgojo del tabaco.

El resto de insecto consistió en el extremo posterior de un espécimen de tijereta (Fig. 11E) perteneciente al Orden Dermaptera (De Geer, 1773).

En el mismo ejemplar se encontró una larva de un insecto del Orden Coleoptera, Familia Tenebrionidae (Fig. 11F).

Las galerías observadas en la figura 11G presentes en 62 ejemplares fueron posiblemente causadas por insectos pertenecientes al orden Isoptera, ya que estos pueden dejar cavidades en forma circular e irregular, penetrando en su interior y llegando, en ocasiones, a destruir totalmente el libro.

Las galerías mostradas en la figura 11H se detectaron en 58 ejemplares y son características de insectos del orden Coleoptera, que forman largas galerías desde la periferia de la obra hasta el centro. En los casos donde se presentaron excretas con forma de arenilla y restos de cámaras pupales fueron causadas por *Lasioderma serricorne*.

4.3 Identificación de hongos filamentosos presumiblemente causantes de biodeterioro

En el muestreo realizado en el año 2010 se aislaron, de tres de los cinco ejemplares analizados, tres hongos filamentosos, uno de un libro y dos de otro (Ver Anexo I y Fig.13). El primero (Aislado 1, obtenido a partir de una mancha) no pudo ser identificado, al no formar estructuras reproductivas en el medio de cultivo y bajo las condiciones de incubación empleados. Los otros dos (aislados 2 y 3, obtenidos a partir de enmohecido), cuyas características culturales y morfología coinciden, pertenecían al género *Penicillium*. También se aisló una levadura de un ejemplar con foxing.

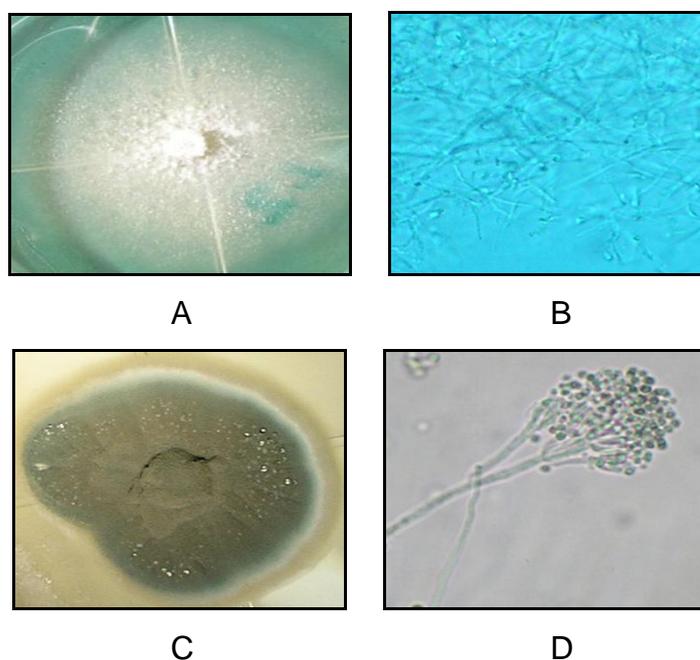


Figura 13. Aislados 1 y 2.

A y C: Colonias en Agar Czapeck.

B y D: Microfotografías.

En el segundo muestreo se aisló un hongo filamentosos (aislado 4, obtenido a partir de enmohecido), identificado como *Aspergillus sclerotiorum*. (Fig. 14).



Figura 14: Aislado 4. Colonias en MCbase con almidón como fuente de carbono.

La secuencia de ARNr 18S obtenida fue:

```

TTTTGTTTCTACTGATCGAGTCACCTGGAGAATAGTTGGTTGCTTTTCAG
CGTCGGCCAGCGCCGGCCGGGCCTACAAGAGCGGGTGACAAAGCCCCATA
CGCTCGAGGACCGGACGCGGTGCCGCCGCTGCCTTTCGGGCCCGTCCCCG
GGGGGACGACGCCAACACACAAGCCGTGCTTGAGGGCAGCAATGACGC
TCGGACAGGCATACCCCCGGAATACCAGGGGGTGCAATGTGCGTTCAA
GACTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTAATTATCGCATTTCG
CTGCGTTCTTCATCGATGCCGGAACCAAGAGATCCATTGTTGAAAGTTTT
AACTGATTGCGATAACAATCGAACTCAGACAACAAAACCTTCAGACAGTGTT
CACGTTGGTGTCTCCGGCGGGCGCTCGCCTAGGGAGGGGGGTTTGACGCC
CCCCCGGCGGCCGCTTGCGCGGGCGGGCCCGCCGAAGCAACAAGGTACGGT
ATACACGGGTGGGAGGTTGGGCCCCGAGGGACCCTCACTCAGTAATGATC
CTTCCGCAGGTTACCCTACGGAAG
  
```

Esta posee un 98% de similitud con la referida en la base de datos empleada para *Aspergillus sclerotiorum* cepa ATCC 16892.

No se aisló ningún hongo filamentoso a partir de manchas de foxing.

4.4 Evaluación de la actividad deteriorante de los hongos filamentosos aislados

4.4.1 Determinación cualitativa de la actividad celulolítica, producción de pigmentos, actividades proteolítica y amilolítica y producción de ácidos

El aislado 1 solo creció en MCbase con glucosa (1%).

La evaluación para los hongos filamentosos aislados con respecto al control se observa en la tabla III.

Tabla III. Evaluación cualitativa de la capacidad celulolítica y la producción de pigmentos de de hongo filamentosos aislados en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial del Archivo Coronado.

Aislados	Crecimiento con glucosa	Crecimiento sobre papel de filtro	Crecimiento con celulosa cristalina	Producción de pigmentos
Aislado 1	+	no	no	no
<i>Penicillium</i> sp. (2)	++++	++	++	sí
<i>Penicillium</i> sp. (3)	++++	++	++	sí
<i>A. sclerotiorum</i>	+++	+	+	sí

Crecimiento abundante (75% del área): +++, Crecimiento moderado (50% del área): ++, Crecimiento pobre (25% del área): +

En la figura 15 se observa el resultado de la prueba para *A. sclerotiorum*.

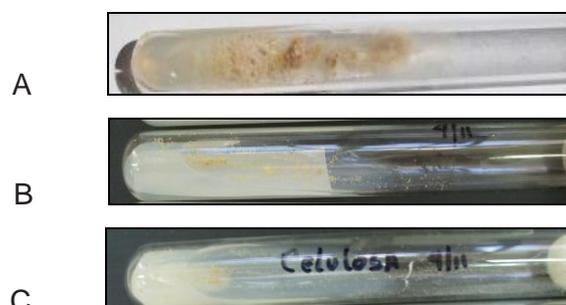


Figura 15. Evaluación de la actividad celulolítica y la producción de pigmentos de *A. sclerotiorum*.

A: En medio de cultivo con glucosa como fuente de carbono.

B: En medio de cultivo con papel de filtro como fuente carbono.

C: En medio de cultivo con celulosa cristalina como fuente de carbono.

Ambas cepas de *Penicillium* sp. produjeron pigmentos de color verde amarillo.

A. sclerotiorum produjo pigmentos de color amarillo claro.

La actividad proteolítica evaluada del aislado *A. sclerotiorum* (Fig. 16) fue positiva.

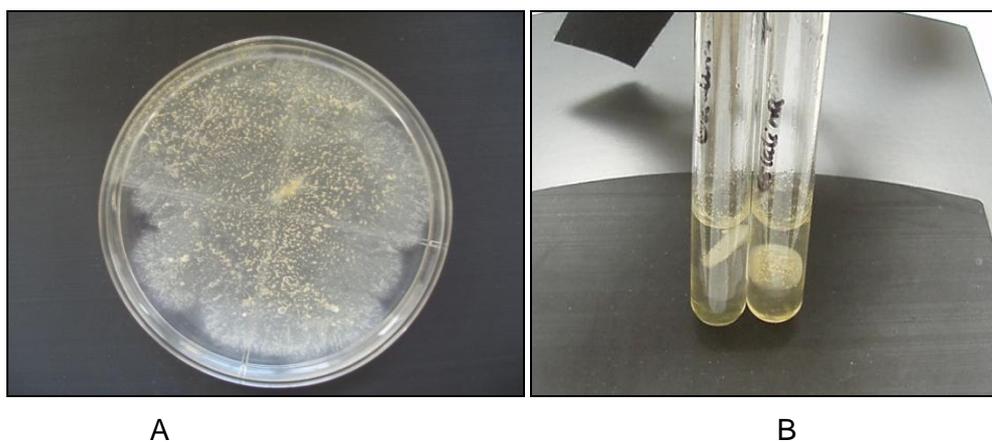


Figura 16: Evaluación de la actividad proteolítica de *A. sclerotiorum*.

A: Determinación de la actividad proteolítica en placa Petri.

B: Determinación de la actividad proteolítica en tubo de ensayo.

La actividad amilolítica resultó ser positiva para este aislado (Fig. 17).



Figura 17: Evaluación de la actividad amilolítica de *A. sclerotiorum*.

Todos los aislados produjeron ácidos en menor o mayor medida tabla IV.

Tabla IV. Evaluación de la producción de ácidos de tres géneros de hongos filamentosos aislados en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial del Archivo Coronado.

Réplica	Aislado 1	<i>Penicillium</i> sp. (2)	<i>Penicillium</i> sp. (3)	<i>A. sclerotiorum</i>
1	6,8	5,6	5,8	6,7
2	6,9	5,7	5,7	6,6
3	6,8	5,6	5,6	6,6
4	6,9	5,6	5,9	6,6
5	6,8	5,7	5,7	6,6
Valor medio	6,8	5,6	5,7	6,6

4.5 Determinación cuantitativa de las actividades enzimáticas en papel de filtro y β -Endoglucanasa

La ecuación que describe a la curva estándar de glucosa es: $y=5,687x-0,42547$ y el coeficiente de correlación es: $R^2=0,9904$.

Los ensayos realizados para determinar cuantitativamente la actividad enzimática de *A. sclerotiorum* arrojaron los resultados que se muestran en la figura 18. Todos los valores de concentración de glucosa determinados se encontraron dentro del rango de la curva estándar de glucosa.

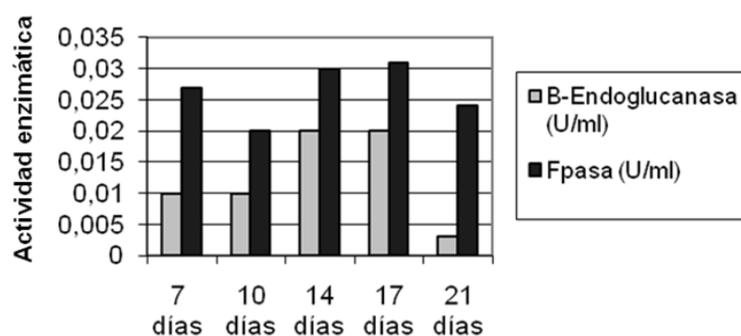


Figura 18. Actividades enzimáticas de *A. sclerotiorum* evaluadas.

Discusión

5. DISCUSIÓN

5.1 Cuantificación y determinación de la intensidad de las alteraciones causadas por insectos y hongos presentes en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial

Después de la muerte de Francisco de Paula Coronado, la colección a la que le había dedicado tantos años, fue puesta en venta y los libros hacinados inadecuadamente. Posteriormente fue trasladada al Palacio de Aldama, donde algunos ejemplares fueron restaurados, hasta que fue adquirida por la UCLV en 1960 (Castillo y Vega, 2005). Actualmente se encuentra en un local que no posee las condiciones óptimas para su almacenamiento. Hasta su impermeabilización presentaba daños constructivos, tales como grietas, fisuras y filtraciones (Fig.19 A, B y C) en el techo de la edificación. Además posee una pared de madera y ventanas de vidrio (Fig.19 D) con aberturas, que permiten el intercambio de aire con el ambiente externo.



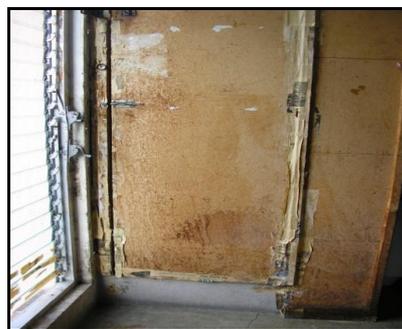
A



B



D



E

Figura 19: Daños constructivos del local donde se encuentra la Colección “Coronado”.

A: Grietas.

B: Fisuras.

C: Filtraciones.

D: Pared de madera y ventanas de vidrio con aberturas.

La disponibilidad de agua es el principal factor que determina la colonización fúngica del papel. Este es un material higroscópico y por lo tanto la actividad hídrica de un documento está relacionada con los parámetros climáticos humedad relativa y temperatura. Temperaturas por encima de 23 °C y una humedad relativa sobre el 65% conducen a incrementos sustanciales en el número de microorganismos (Cappitelli *et al.*, 2010).

En el archivo “Coronado” existe un sistema de aire acondicionado que se mantiene funcionando de lunes a viernes, en horario laboral de 8.00 AM a 4.00 PM, aunque puede haber modificaciones en este régimen, pues su encendido y apagado es ejecutado solamente por la técnico responsable del la colección. Borrego (2009) recomendó que en un archivo no deben existir fluctuaciones de temperatura que excedan los 2°C. Díaz, (2011) en un estudio anterior en el local se registró variaciones diarias de hasta 11°C, proceso este que tiene implicaciones negativas sobre las obras pues puede ocasionar ciclos perjudiciales de contracción y expansión de las fibras constituyentes del papel y propician el desarrollo microbiano. Por otro lado valores de temperatura por encima de 30°C fueron frecuentes, y se registró un valor extremo de 36°C. Las elevadas temperaturas aceleran la oxidación de la celulosa y favorecen la aparición de microorganismos y su actividad enzimática, como la producción de ácidos orgánicos. Esto se traduce en la descomposición de la celulosa y el debilitamiento del soporte. Además resecan a los materiales higroscópicos y reblandecen los adhesivos y las colas (Bello y Borrell, 2002).

Díaz (2011) se obtuvo un valor medio de 1485 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) fúngicas por unidad de volumen de aire (m³), por lo que el aire del local se clasifica como Grado B (contaminado), según la escala propuesta por Omeliansky referida por Borrego (2004). La presencia del nivel de contaminación fúngica del aire constituye una amenaza para la colección “Coronado”. Además valores de hongos viables superiores a 1000 UFC·m⁻³ comprometen la calidad de los ambientes, con riesgo para la salud humana (EIHA, 2004).

La abundancia de propágulos en esta investigación está dada por la presencia dentro de la colección de los ejemplares que estuvieron expuestos al agua antes de la impermeabilización del local, los cuales actúan como fuente de esporas y fragmentos de micelio.

La presencia de aberturas permiten la entrada ocasional de insectos desde los pisos inferiores al local, ya que solamente en este se aplica un control efectivo de insectos mediante el uso de la fosfamina, aplicado trimestralmente.

El foxing causa daños irreversibles en los documentos provocando que se dificulte su legibilidad. La causa de esta alteración aún no se ha determinado a pesar de existir numerosos estudios sobre el tema. De manera general se plantea que su aparición puede ser provocada por el desarrollo de microorganismos o la oxidación de elementos minerales presentes en el soporte durante su manufactura. El desarrollo de microorganismos puede estar asociado a la presencia de elementos minerales en el soporte que usan como nutrientes. Mediante observaciones microscópicas, algunos estudios, confirman la presencia de elementos fúngicos y esporas (Florian, 1996; Florian y Manning, 2000). Otros estudios realizados por métodos bioquímicos (IR, rayos X) han demostrado que se produce por oxidación de la celulosa, especialmente en presencia de iones metálicos (Biccheri *et al.*, 2001; Biccheri *et al.*, 2002). Missori y colaboradores (2004) también han coincidido que el foxing es provocado por alteraciones físico-químicas del papel.

Rakotonirainy y colaboradores (2007) detectaron mediante la observación de manchas de foxing al microscopio óptico la presencia de esporas y micelio. Usando el microscopio electrónico de barrido se ha confirmado la presencia de elementos fúngicos incluyendo conidióforos. Estos autores recientemente informaron, a partir de muestras de ARNr 5.8S, que fueron amplificadas, clonadas y secuenciadas, la identificación de algunos géneros como *Aspergillus* y *Penicillium* aislados de manchas de foxing. Siendo este último el más frecuente. Pero a pesar de estos resultados no están seguros que el desarrollo de hongos sea el factor que desencadena el foxing.

Otros autores recomiendan la aplicación de métodos independientes del cultivo, para identificar los elementos biológicos asociados a estas frecuentes pigmentaciones del papel envejecido (*op. cit.*).

5.2 Identificación de insectos causantes de biodeterioro

Las cucarachas pueden medir de 3-65mm, son aplanadas dorsoventralmente. Constituyen un grupo predominantemente tropical aunque se encuentran en cualquier ambiente, con hábitos nocturnos o crepusculares. Su régimen alimentario es omnívoro, aunque manifiestan preferencia por alimentos de naturaleza vegetal. Cabeza generalmente hipognata. Ojos compuestos aunque en ciertas cucarachas cavernícolas pueden estar ausentes. Presentan dos ocelos o pueden carecer de ellos; usualmente están representados por impresiones cuticulares de color claro, denominadas fenestras. Las piezas bucales están adaptadas para la masticación. Las antenas presentan una longitud variable, pudiendo superar a la del cuerpo; habitualmente son de tipo filiforme o moniliforme. El protórax se destaca por la conformación del pronoto, formado por una sola pieza, que es ancha y cubre casi toda la cabeza. Las alas anteriores son de tipo tegmina y las alas posteriores son membranosas; la venación se encuentra más desarrollada en las posteriores (Chapman, 1998).

Los tres pares de patas son caminadoras y similares, destacándose las coxas por su gran robustez. Los tarsos constan de cinco tarsómeros y dos uñas pretarsales. El abdomen consta de once segmentos, aunque el último es inconspicuo. Dorsalmente se aprecian con claridad diez tergos, mientras que ventralmente sólo son visibles nueve esternitos en los machos y siete en las hembras. En ambos sexos, el undécimo segmento está representado por un epiprocto y dos paraproctos, que llevan cercos relativamente cortos y multisegmentados. El acoplamiento está precedido de un sencillo cortejo. Durante la cópula, el macho se sitúa debajo de la hembra, y le transfiere un espermatóforo pequeño, del tamaño de una cabeza de alfiler (*op. cit.*).

El número de huevos es variable: 6-50, según la especie, son depositados en una ooteca, que consiste en una cámara dividida por un tabique longitudinal delimitando así una serie de celdas, en cada una de las cuales se deposita un huevo. De las ootecas nacen las formas juveniles o ninfas, pasando por varios estadios ninfales que pueden variar de siete a doce, según las especies (*op. cit.*).

Las cucarachas se han adaptado a vivir con mucho éxito en rincones, lugares protegidos y oscuros desde donde pueden acceder a una gran variedad de alimentos. Con sus fuertes mandíbulas, muerden las portadas de los libros, las

cuales desgastan dejando la superficie arrugada. Prefieren el papel glaseado o coloreado y dejan áreas desgastadas irregulares. Sus heces afectan desde el punto de vista estético las publicaciones y estanterías. Además, la presencia de este grupo de insectos es perjudicial para el personal que manipula los documentos por las enfermedades que pueden transmitir (López *et al.*, 2011). Sin embargo no se observaron excretas ni ootecas de este insecto, por lo que se supone que accedió al local en fecha muy reciente a su detección, lo cual corrobora el riesgo que constituyen las aberturas en el local.

Los adultos de *Lasioderma serricorne* miden entre 2-3 mm de longitud, son de color carmelita y presentan pilosidad corta. La cabeza está parcialmente cubierta por el protórax, posee de cuatro a 10 artejos en las antenas de forma aserrada y los élitros cubren todo el abdomen sin presentar estrías. La larva es blanquecina, gruesa, en forma de ce y cubierta con setas (Ashworth, 1993).

Las larvas de esta especie presentan forma libre y se alimentan del sustrato formando galerías. Pasan por cuatro instares y pupan dentro de una bolsa hecha de alimentos y materiales de desecho, cementada con secreciones estomacales (*op. cit.*).

Posee hábitos cosmopolitas y se considera una plaga de granos, frutos secos, plantas medicinales secas y es muy común en archivos, alimentándose de papel y de productos de origen animal en museos (*op. cit.*).

Los adultos emergen sexualmente maduros y las hembras pueden ovopositar al día de haber emergido. Pueden volar y viven de 2-6 semanas, sin alimentarse. El ciclo de vida toma alrededor de 26 días a 37 °C y 120 a 20 °C (*op. cit.*).

Esta especie porta una levadura simbiótica, *Symbiotaphrina kochii*, la cual se transmite a la siguiente generación en la superficie de los huevos, y se encuentra en las larvas y adultos en el micetoma, órgano especializado unido al estómago (Noda y Kodama, 1996). Esta levadura interviene en la digestión de los alimentos menos nutritivos, suple las necesidades de vitaminas del complejo B y esteroides, y provee al animal de resistencia a ciertos adultos (Nasir y Noda, 2003).

L. serricorne no tolera el frío, los adultos mueren como máximo a los seis días a 4 °C, y los huevos a los cinco días a 0–5 °C. Es susceptible a la fosfamina, producto tradicionalmente empleado para su eliminación.

Es uno de los insectos causantes de deterioro en archivos más comunes, tanto en mueblería de madera como en papel. Estos insectos pueden llegar a destruir el soporte por completo y las galerías se encuentran rellenas de restos de excrementos, (Vaillant y Valentín, 1996).

Este insecto se ha referido como causante de biodeterioro por varios autores, causando daños en el soporte (Valentín, 2003). En el Archivo Nacional de Cuba también se ha detectado su presencia como agente causal de daños en documentos (López et al., 2011).

Los ejemplares adultos y larvas de *Lasioderma serricorne* encontrados en los ejemplares pudieron llegar a la colección cuando la colección estuvo en condiciones de hacinamiento y no después de llegar a la UCLV. Estos insectos provocan la pérdida completa del soporte, por lo que se puede afirmar que no se encontraban ejemplares vivos en el archivo Coronado, ya que no existen documentos totalmente devastados. Las larvas son causantes de las galerías ya que se alimentan a partir de los nutrientes que le proporciona el papel.

Las tijeretas son insectos de cuerpo alargado, algo aplanado, de tamaño mediano a pequeño, de color pardo o rojizo, y con dos cercos posteriores en forma de tenaza. Normalmente viven bajo piedras o entre la corteza de los árboles. Las alas anteriores (en caso de existir) funcionan como elitroides, y recubren las posteriores que son semicirculares y membranosas. Los cercos posteriores están fuertemente curvados en los machos, que los usan durante la cópula. Sirven además para las operaciones de desplegar y recoger las alas. En cuanto a la alimentación, la mayoría de las especies son omnívoras o saprófagas. Los omnívoros son nocturnos, y usan los cercos en la depredación (Barrientos, 2004).

Este orden no ha sido referido como agente causante de biodeterioro y su presencia en el Archivo Coronado pudiera ser justificado como accidental, debido a sus hábitos predadores, en algún momento en que el material de archivo estuvo en un local abierto.

La mayoría de las especies de la familia Tenebrionidae son variables en forma y tamaño, los adultos son de color negro o marrón, pero no faltan las coloraciones vistosas. Las antenas tienen normalmente 11 segmentos y son relativamente cortas. Tiene cinco artejos en los tarsos anteriores y medios, y cuatro en los posteriores, las antenas se insertan bajo un saliente lateral de la

frente. El abdomen tiene 5 esternitos visibles, los tres primeros unidos e inmóviles. Los élitros presentan usualmente costillas longitudinales. Las larvas son cilíndricas y están bien esclerotizadas (Bastidas y Zavala, 1995). Se asocian comúnmente con materiales vegetales en descomposición como madera y otros desechos de plantas podridos, pocos son fitófagos y plaga de algunos cultivos, mientras que algunos son plaga de granos almacenados. Esta familia se asocia a la transmisión de *Aspergillus flavus* (Mazzani et al., 2004).

El género *Tribolium*, ha sido referido en la literatura científica como causante de biodeterioro al patrimonio histórico y cultural (en particular sus larvas, que causan daño superficial en el material) (Vaillant y Valentín, 1996; Yela, 1997) y específicamente a material de archivo (Gómez et al., 2000).

La erosión visualizada en algunos ejemplares pudo deberse a la presencia de insectos pertenecientes al Orden Psocoptera, fundamentalmente de la Familia Liposcelididae (Figura 20), los cuales fueron recolectados en el estante donde se encuentra la Colección objeto de estudio. Para esto se utilizaron trampas adecuadas para insectos de pequeño tamaño que no pueden ser observados a simple vista.



Figura 20: Insectos vivos pertenecientes al Orden Psocoptera, Familia Liposcelididae capturados en la colección.

Las especies que atacan los libros y productos a base de papel no son muy perjudiciales, ya que se alimentan principalmente de hongos que crecen en las encuadernaciones. También lo hacen de materia de origen vegetal como el papel y sienten gran atracción por el almidón, la cola de los libros y papeles

pintados. Estas atracciones así el pequeño tamaño y la relativa facilidad con que se deshidratan condicionan el hábitat de ellas a lugares húmedos y cálidos.

5.3 Identificación de hongos presumiblemente causantes de biodeterioro

El género *Penicillium* fue descrito por primera vez por Link en 1809. Su ubicación taxonómica es:

División: Eumycota

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliacea

Género: *Penicillium*

Las especies del género *Penicillium* son ubicuas, de amplia distribución por todo el mundo y consideradas saprofitas. Para su reconocimiento se tiene en cuenta si su conidióforo presenta ramificaciones o no, pues algunas especies carecen de ésta característica. Macroscópicamente, las colonias son verde-grisáceas o con los colores verde y gris entremezclados, cafés al envejecer, algodonosas, de crecimiento rápido y amplio, con margen ancho en las primeras fases de desarrollo. Su reverso es ordinariamente amarillo y el medio de cultivo es incoloro, algunas veces sobre las colonias se tiene presencia de exudados de color dorado (Koneman, 1997).

Microscópicamente, los conidióforos emergen por separado y algunos a manera de ramas cortas. Las fructificaciones conidiales presentan una o dos ramas alternas. Sus conidios son globosos, pequeños aunque también fusiformes de color azul-verdoso (*op. cit.*).

Este género es uno de los más referidos en la literatura científica como causante de biodeterioro en material de archivo y específicamente en papel (Bello y Borrel, 2002), su capacidad enzimática le permite degradar las fibras, además de provocar acidez y manchas verdes en el soporte (Calvo *et al.*, 2005). Aislándose con frecuencia a partir del aire de los locales donde estos se encuentran (Maggi *et al.*, 2000; Borrego *et al.*, 2010a). También ha sido aislado a partir de documentos a pesar de ser muy difícil su aislamiento de la superficie de objetos de arte y documentos (Florian, 2002). En estudios realizados en el patrimonio documental y en el ambiente de diferentes archivos en países

tropicales, incluyendo Cuba, ha sido uno de los géneros con mayor frecuencia de aparición (Hyvärinen *et al.*, 2001; Shelton *et al.*, 2002; Medrela-Kuder, 2003; Hedayati *et al.*, 2005).

Hongos de este género tienen la capacidad de degradar celulosa y xilano, actividades enzimáticas accesorias; arabinofuranosidasa, xilosidasa y acetil-esterasa, para la degradación completa de los polímeros (Villalba *et al.*, 2004). Lo anterior puede sugerir que estos microorganismos, además de utilizar la celulosa, pueden degradar otros compuestos como la goma arábiga utilizada como encolante, la cual al hidrolizarse produce arabinosa, galactosa, ramnosa y ácido glucurónico (Caneva *et al.*, 1991).

Durante el segundo muestreo no se aislaron hongos de las alteraciones presentes en los documentos antes referidos. Esto pudo ser propiciado por las condiciones de humedad que existían en el local durante el primer muestreo y las que existían posteriormente. Siendo en el primer caso más alto los valores de humedad relativa debido a la reciente impermeabilización del local. Esta variación de la humedad en el local pudo haber provocado la muerte de *Penicillium* spp. de los documentos, ya que este género necesita altos valores de actividad hídrica en el soporte para su desarrollo (Plaza *et al.*, 2003)

Aspergillus sclerotiorum fue descrito por Hubber en 1933. Su ubicación taxonómica es:

División: Eumycota

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Aspergillus*

Especie: *A. sclerotiorum*

Las colonias de *Aspergillus sclerotiorum* según Raper y Fennell (1965) en Agar Czapeck crecen lentamente a temperatura ambiente (24-26°C), alcanzando diámetros de hasta 4,0-4,5 cm en dos semanas. Las colonias son inicialmente compactas, formadas completamente por cabezas conidiales amontonadas, las que adquieren un color amarillo cremoso a carmelita claro y se estrechan en áreas marginales, que en algunas cepas permanecen predominantemente conidiales y en otras conservan pocas cabezas conidiales y desarrollan

grandes esclerocios por toda la colonia o en diferentes zonas concéntricas. Reverso crema. Exudado limitado, amarillo pálido. Inodoras. Las cabezas conidiales varían en la misma colonia, siendo esféricas, acampanadas o columnares y se dividen en dos o más columnas compactas divergentes. Conidióforos de hasta 1,2 mm de longitud, de 500 a 750 μm por 6 a 12 μm de diámetro, amarillo pálido, con paredes equinuladas y cerca de 1 μm de grosor. Vesículas globosas, de 25 a 35 μm y hasta 40 μm de diámetro. Esterigmas en dos series de aproximadamente la misma longitud, los promarios de 6,5 a 9,0 por 2,8 a 3,5 μm y los secundarios de 5,5 a 8,0 por 2,0 a 2,2 μm . Conidios globosos, lisos o rara y delicadamente irregulares, de 2 a 3 μm de diámetro. Esclerocios de globosos a subglobosos, blanco cremosos al principio y luego pasan a salmón ocráceo, comúnmente de 1 a 1.5 mm de diámetro (Fig. 21).

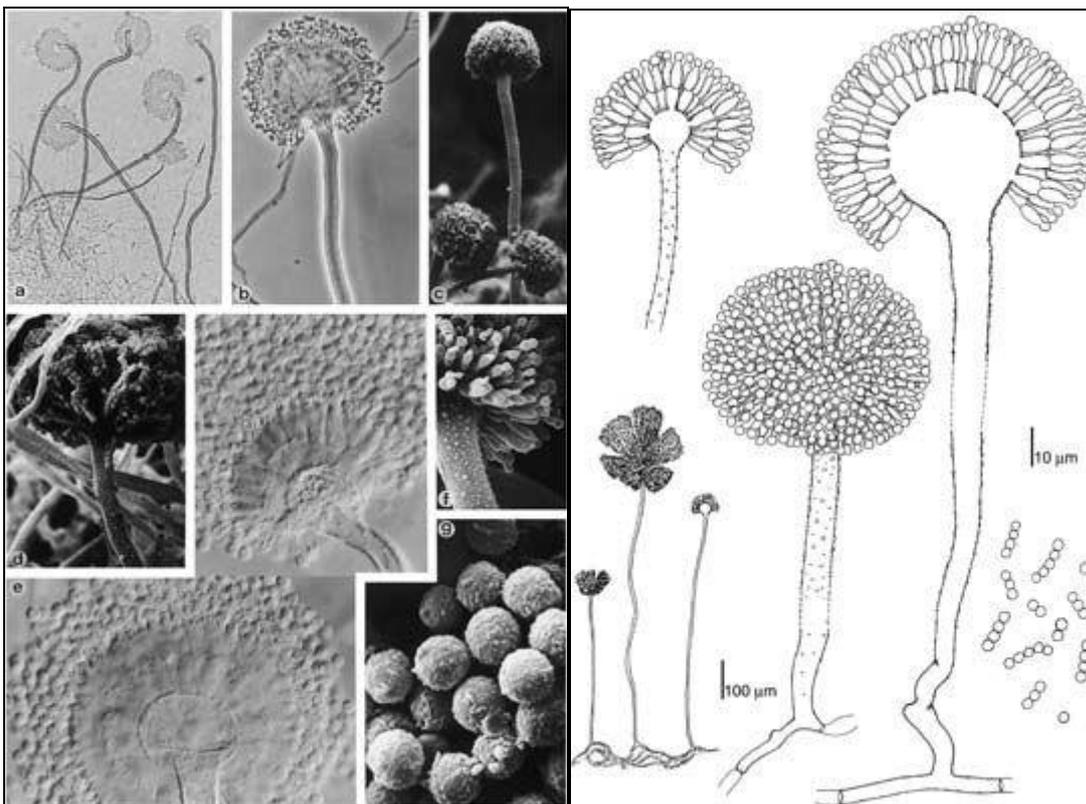


Figura 21. Estructuras y esquemas de *Aspergillus sclerotiorum* Tomado de: Database Copyright © 2012 MycoBank in English Software Copyright © 1999-2012 BioAware SA/NV.

Se ha asilado de manzanas y peras en putrefacción (Domsch *et al.*, 2007).

Los datos de distribución muestran que esta especie aparece preferentemente en zonas subtropicales y tropicales. Se ha aislado de suelos cultivados y sin cultivar en la India y sin cultivar del desierto en Israel. Además de suelos en Pakistán, Brasil, pantanos de Hawaii, Turquía, Siria, Francia, Alemania y Ucrania. Frecuentemente se refieren profundidades de suelo de 30 a 50 cm, pero también se ha encontrado en la superficie. Se encuentra en la rizósfera de bananos y maíz (*op. cit.*). También se ha demostrado que cepas de este hongo producen etileno a partir de lípidos presentes en hojas de vid muertas (Ochiai e Ishii, 2006).

Esta especie también se ha encontrado causando onicomycosis (Fig. 22) (Singh y Barde, 1983) y otomicosis (Harima *et al.*, 2004) por lo que su presencia en el documento del que fue aislado y aún permanece viable, es de riesgo para la salud de los que lo consulten.



Figura 22. Lesión característica de la onicomycosis causada por una especie de *Aspergillus*. Tomado de Brash, 2009.

Solamente se encontró una referencia al aislamiento de *Aspergillus sclerotiorum* de papel, causando biodeterioro. La alteración evaluada fue una mancha (foxing) y la técnica empleada fue espectroscopía de luz infrarroja (FTIR) (Zotti *et al.*, 2011).

El documento a partir del cual se aisló esta especie se encontraba dentro de un estuche de plástico (Fig. 23) debido a que se este ejemplar está desencuadrado. Estas condiciones pudieron proporcionar un ambiente de humedad y temperaturas adecuadas para el desarrollo de *A.sclerotiorum* en el

soporte. Este requiere altas concentraciones de humedad relativa (Rojas, 2010).

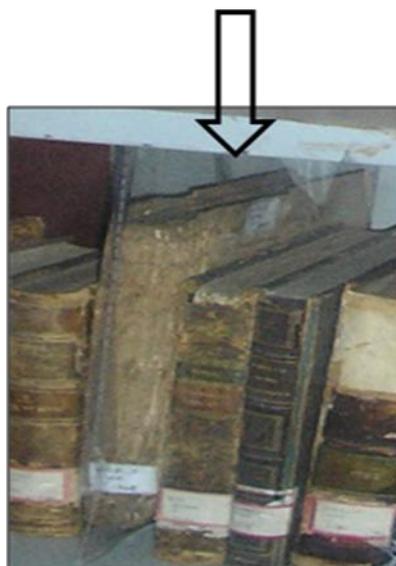


Figura 23. Ejemplar a partir del cual se aisló *A. sclerotiorum* dentro de un estuche de plástico.

El género *Aspergillus* es el más común y el responsable del 80% de la destrucción de las encuadernaciones y de los daños ocasionados en archivos y bibliotecas. Puede provocar acidez y manchas de diferentes colores en el soporte. Estos microorganismos atacan y destruyen la celulosa, descomponiendo la fibra del papel en su totalidad. Su temperatura óptima de desarrollo es de 24-30°C, la mínima -10°C y la máxima 50°C. La humedad relativa óptima es de 75-100%, y la mínima de 50% (Valentín *et al.*, 1998).

En investigaciones precedentes realizadas en Cuba se demostró la abundancia de este género en bibliotecas (Sánchez *et al.*, 1998; Díaz, 1997)

En estudios similares realizados en documentos de la Biblioteca Nacional “José Martí” se, determinó que el género predominante en los aislamientos fue *Aspergillus* (Hidalgo y Borrego, 2006). También se reporta como uno de los géneros de más frecuente aparición con un porcentaje de 47,82% en raspados de libros (Medina *et al.*, 1999).

Ha sido referenciada la presencia de *Penicillium* y *Aspergillus* en muestreos microbiológicos del aire en bibliotecas y museos, donde también fue aislado a partir de papel, con una frecuencia de aparición de 75% y 92%

respectivamente. Existiendo una correspondencia mayoritaria de la microbiota presente en sustratos, específicamente papel, con las detectadas en el aire (Rojas *et al.*, 2012).

Díaz (2011) aisló a partir del aire del archivo “Coronado” tres cepas de *Penicillium* y una de *Aspergillus* y una del primer género a partir de un documento.

De ninguna de las obras con foxing se aislaron hongos filamentosos. Si bien el papel exacto de estos microorganismos en la aparición de este tipo de pigmentación y su desarrollo es aún desconocido, varios autores refieren haber obtenido cepas fúngicas a partir de manchas, pero no han reproducido el fenómeno en papel. Otros investigadores describen la falta de éxito reiterada al intentar obtener aislados por los métodos convencionales. Por lo que se recomienda la aplicación de métodos independientes del cultivo para identificar los elementos biológicos asociados a estas frecuentes pigmentaciones del papel envejecido (Rakotonirainy *et al.*, 2007).

A pesar de que las levaduras son agentes biológicos causantes de deterioro en papel y otros sustratos (Bello y Borrell, 2002), en la literatura científica consultada no se encontró a este grupo microbiano como causante de foxing, por lo que la levadura aislada debió ser un contaminante del cultivo.

5.4 Evaluación de la actividad deteriorante de los hongos filamentosos aislados

5.4.1 Determinación cualitativa de la actividad celulolítica, producción de pigmentos, actividades proteolítica y amilolítica y producción de ácidos

El aislado 1 se obtuvo a partir de manchas muy pequeñas en el soporte (Fig. 24).

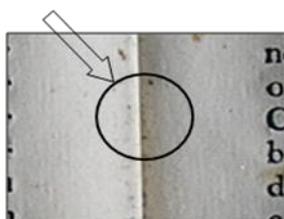


Figura 24. Alteración en el soporte a partir de la cual se obtuvo en aislado 1.

El hecho de que esta cepa solamente creciera en presencia de glucosa como fuente de carbono pudiera explicarse si esta especie fuese un colonizador secundario en el papel, que disponga de este nutriente producto del metabolismo de un colonizador primario que haya degradado los componentes del papel (Guerrero, 19997).

Los hongos *Penicillium* spp. y *A. sclerotiorum* fueron capaces de crecer a expensas del papel de filtro como única fuente de carbono (celulosa amorfa, de más fácil asimilación) y de la celulosa cristalina (de difícil asimilación), lo que indica que presentaron actividad celulolítica. También produjeron ácidos, pues provocaron una disminución del pH del medio de cultivo. Además excretaron diferentes pigmentos sobre el papel. Cepas de estos géneros aisladas por otros investigadores tuvieron esta actividad biodeteriorante Borrego *et al.* (2011).

Algunos autores determinaron la capacidad celulolítica del género *Penicillium* (Moloney *et al.*, 2004; Chacón y Waliszewski, 2005), de ahí que su presencia en un documento es muy riesgosa para la conservación del mismo (Borrego *et al.*, 2010b).

Peña y Zambrano (2003) obtuvieron como resultados la producción de lipasas, celulasas, proteasas, ácido láctico y ácido oxálico, por el género *Penicillium*.

Cantillo y colaboradores (2002) en un estudio realizado en un museo se determinó como género de hongo más abundante *Aspergillus*, además se demostró su actividad celulolítica. Las celulasas mostraron que estas degradan más eficientemente en condiciones ácidas, dando a los microorganismos un nivel de especialización en la degradación de complejos celulósicos como es el caso del papel (Villalba *et al.*, 2004).

Capitelli y Sorlini (2010) determinaron la producción de celulasas, amilasas, oxidasas, ácido cítrico, ácido láctico y ácido fumárico por el género *Aspergillus*, las cuales pueden producir alteraciones degradativas como: manchas miceliares de diferentes colores, degradación y acidificación del soporte.

La capacidad de producir ácidos), entre los que se encuentra el ácido oxálico (Santhiya y Ting, 2005), ha sido reconocida en diferentes especies del género *Aspergillus* (Dai *et al.* 2004).

Según Borrego y colaboradores (2010 a y b) los hongos excretan ácidos como el oxálico, fumárico, succínico y acético, especies químicas causantes de la disminución del pH sobre el sustrato. Estos autores encontraron resultados

similares a los presentados, donde la totalidad de los aislados de hongos obtenidos produjeron disminuciones en el pH, pero solo el 13% de estos fueron capaces de secretar ácidos fuertes.

Según Rojas y colaboradores (2012) *Penicillium* spp. y *Aspergillus* sp. poseen actividad celulasa, producen ácidos e hidrolizan la gelatina, por lo que presentan actividad biodeteriorante.

A. sclerotiorum produce un sistema enzimático completo de celulasas capaces de degradar parcial o totalmente la celulosa en celobiosa y glucosa (Chacon y Waliszewski, 2005). Esta especie crece mejor a partir de almidón, dextrina, glucógeno o fructosa que de glucosa como fuente de carbono. Puede utilizar el metafosfato. Produce ocratoxina A y B, principalmente a elevadas temperaturas, ácido penicílico a 20 °C y temperaturas inferiores y los antibióticos ácido neohidroxiaspergílico, neaspergílico y hidroxiaspergílico. También produce riboflavina (Domsch, 2007).

Cepas de estos géneros procedentes del aire y de un documento en el archivo “Coronado” tuvieron actividad celulolítica y produjeron ácidos (Díaz, 2011).

5.5 Determinación cuantitativa de las actividades enzimáticas en papel de filtro y β -Endoglucanasa

En la literatura científica consultada sobre actividad biodeteriorante de cepas fúngicas en soporte de valor patrimonial no apareció la evaluación cuantitativa de la actividad celulolítica. Estas determinaciones son frecuentes en artículos científicos donde se refiere la utilización de hongos filamentosos para la degradación de residuos lignocelulósicos con fines industriales (Rodríguez y Piñero, 2007; Colina y Gutiérrez-Correa, 2009; Manjarrés, *et al.*, 2011).

La mayor actividad FPasa que presentó el aislado de *Aspergillus sclerotiorum* fue de 0,031 U·mL⁻¹ a los 17 días de incubación.

Manjarrés y colaboradores (2011) determinaron la actividad FPasa en un cultivo superficial en una especie de *Aspergillus* obteniendo un valor máximo de actividad enzimática de 0,15 U·mL⁻¹ a los nueve días de fermentación.

Villena y Gutierrez-Correa (2003) al cuantificar la actividad FPasa de *Aspergillus niger* ATCC 10864 en un cultivo superficial, encontraron una

actividad máxima de a $1,4 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ a las 24 horas de cultivo. Sin embargo en un cultivo sumergido empleando el mismo medio de cultivo el valor máximo fue de $1,0 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$. Lo anterior pudiera explicarse por la menor disponibilidad de oxígeno y crecimiento de biomasa bajo la segunda condición, que correspondió con el sistema de fermentación empleado en la presente investigación. Por otro lado los autores referidos realizaron sus investigaciones con cepas de actividad celulolítica reconocida en la degradación de residuos celulósicos. El aislado de *A. sclerotiorum* evaluado se obtuvo a partir de un discreto crecimiento micelial sobre papel, lo cual pudiera explicar el menor valor de actividad enzimática obtenida y su expresión más tardía. Además aquellos incorporaron al medio de cultivo inductores que estimularon al complejo enzimático celulolítico. Por otro lado ya se refirió la preferencia por el almidón como fuente de carbono de esta especie (Domsch, 2007) (el cual forma parte de los encolantes usados en la fabricación del papel), por lo que pudiera ser que tome tiempo activar la síntesis y expresión del complejo enzimático celulolítico.

El incremento de la actividad metabólica está relacionado con la densidad celular. Se ha comprobado que la producción de celulasa cuando el hongo se encuentra creciendo sobre un soporte es mayor que cuando se encuentran en un cultivo libre. La adsorción de los microorganismos a superficies genera una respuesta fisiológica distinta reflejada en el aumento de la producción de celulasas (Villena *et al.*, 2001).

El hecho de que la actividad celulolítica de la cepa en estudio fuera menor a las empleadas por los investigadores referidos explicó su disminución más tardía ya que la acumulación de los productos de degradación, inhibitorios del proceso es menor y más lenta.

Se observaron valores superiores de actividad FPasa que β -Endoglucanasa, resultado lógico ya la primera actividad es el complejo de celulasas completo actuando para degradar la celulosa y la segunda actividad es solo de una enzima.

Conclusiones

6. CONCLUSIONES

1. La mayoría de los documentos de la colección (94,1%) presentan alteraciones causadas por insectos y/o hongos filamentosos.
2. Las alteraciones en orden descendiente de frecuencia de aparición son, para insectos: galerías, restos de insectos, erosión, excretas e insectos vivos. Para hongos, manchas y enmohecido.
3. De 66 documentos con alteraciones causadas por insectos el 13,6% presenta baja intensidad de daños, el 60,6% media y el 25,8% alta.
4. De 70 ejemplares con alteraciones posiblemente causadas por hongos, el 2,9% presenta enmohecido de baja intensidad, el 7,1% foxing de baja intensidad, el 85,7% media y 7,1% alta y el 1,4% manchas distintas al foxing de baja intensidad.
5. Los insectos vivos causantes de biodeterioro en la colección pertenecen al orden Blattodea y Psocoptera, además están presentes especímenes y/o restos de *Lasioderma serricorne* y otros del orden Coleoptera, familia Tenebrionidae y el orden Dermaptera. Presumiblemente insectos de los órdenes Isoptera y Coleoptera causaron galerías en el soporte.
6. Se aislaron dos especies de *Penicillium* y una cepa de *Aspergillus sclerotiorum*, causantes de biodeterioro sobre papel, ya que poseen actividad celulolítica, producen ácidos y pigmentos. *A. sclerotiorum* además presenta actividad proteolítica y amilolítica.
7. Las actividades celulolítica (FPasa) y β -Endoglucanasa son bajas y se expresan tardíamente.

Recomendaciones

7. RECOMENDACIONES

Tomar en cuenta el diagnóstico causado por insectos y hongos en la Colección de Libros Raros con Valor Patrimonial para trazar la estrategia de control de biodeterioro de los documentos y su restauración.

Literatura Citada

8. LITERATURA CITADA

- Ashworth, J.R. (1993): The biology of *Lasioderma serricorne*. **Journal of Stored Products Research**. 29 (4): 291-303.
- Asunción, J. (2001): El papel: Técnicas y métodos tradicionales de elaboración Barcelona. España, Paramón Ediciones S. A.
- Bach, C. (1998): Introducción a la Bioarchivística. S &C Ediciones. Sevilla. España. 61-69.
- Barrett. A. J. (1972): A new assay for cathepsin BI and other thiol proteinases. **Anales of Biochemistry**. 47: 280-293.
- Barrientos, J. (2004) Curso Práctico de Entomología Barcelona, Universidad Autónoma de Barcelona.
- Bastidas, R. y Y. Zavala (1995): Principios de Entomología Agrícola. Ediciones Sol de Barro.
- Beck, I. (1992): Manual de Conservación de Documentos. Archivo General de La Nación. México D.F. México 97pp.
- Bello, C. y A. Borrell (2002): El patrimonio bibliográfico y documental. Claves para su conservación preventiva. España. 65-73.
- Bicchieri, M., G. Pappalardo, F.P. Romano, F.M. Sementilli y R. De Acutis (2001): Characterization of foxing stains by chemical and spectrometric methods, **Restaurator** 22: 1-19.
- Biccheri, M., S. Ronconi, F.P. Romano, L. Pappalardo, M. Corsi, G. Cristoforetti, S. Legnaioli, V. Palleschi, A. Salvetti y E. Tognoni (2002): Study of foxing stains on paper by chemical methods, infrared spectroscopy, micro-X-ray fluorescence spectrometry and laser induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta**, 57: 1235-1249.
- Borrego, S. (2004): Método para contabilizar microorganismos del aire en ambientes de archives y bibliotecas. **Patrimonio y Desarrollo**. 11: 8-9.
- Borrego, S. (2009): Factores externos que influyen en el deterioro del patrimonio documental. En: Conservación preventiva en archivos y bibliotecas. Bergalio, C y Pené, M (eds.). 1era ed. La Plata: Instituto Cultural de la Provincia de Buenos Aires. 189pp.

- Borrego, S., P. Guiamet, S. Saravia, P. Batistini, M. Garcia, P Lavin e I. Perdomo (2010a): The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 64:139-145.
- Borrego, S., I. Perdomo, P. Guiamet y S. Saravia (2010b): Estudio de la concentración microbiana en el aire de depósitos del Archivo Nacional de Cuba. **AUGNDOMUS**, 1: 118-137.
- Borrego, S., I. Perdomo, J. de la Paz, S.G. Gómez de Saravia y P.S. Guiamet (2011): Relevamiento microbiológico del aire y de materiales almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina y en el Archivo Nacional de la República de Cuba. **Revista del Museo de La Plata**. 18(119): 1-18.
- Brasch J., J. Varga, J.-M. Jensen, F. Egberts y K. Tintelnot (2009): Nail infection by *Aspergillus ochraceopetaliformis*. **Medical Mycology**. 1-5.
- Cantillo B., L. Arango Sánchez, S. Cuello, L. Núñez, C. Echeverría, D. Fundora L. Curiel, W. Olivera, B. V. Moya y M. J. Aldazábar (2002): Estudio y control del deterioro en el museo provincial "Palacio de Junco". **Revista Avanzada Científica** 5 (3).
- Calvo, M., C. Adelantado y E. Corcuera (2005): Principales características de los hongos causantes de alteraciones en materiales celulósicos. PH Boletín del Inst. Andaluz de Patrimonio Histórico. 53: 18-23.
- Caneva, Nuggari y Salvadori. (1991): Biology in the conservation of works of art. OCCROM. Rome. 61-148.
- Capitelli, F. y C. Sorlini (2010): Degradación Microbiana de Documentos, Washington, DC.
- Capitelli, F, G. Pasquariello, G, Tarsitani y C, Sorlini (2010): Scripta manent? Assessing microbial risk to paper heritage. **Trends in Microbiology**, 18(12) 538-542.
- Castillo, B. y O. Vega (2005): Bibliotecología. La Habana, **ENPES**. 108.
- Chacón, S.L. y K.N Waliszewski (2005): Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. **Universidad y Ciencia** 21:113-122.

- Chapman, R.F. 1998. **The Insects. Structure and Function**. 4ta. Edición. Cambridge University Press.
- Ciferri, O. (1999): Microbial degradation of paintings. **Applied and Environmental Microbiology**. 879-885.
- Colina, G.K. y M. Gutiérrez-Correa (2009): Cellulase production by *Trichoderma reesei* Rut C-30 from different cellulosic substrates. **Revista Técnica de Ingeniería Universitaria**. Zulia. 32(2).
- CONSERVAPLAN. (1998): Documentos para conservar. Catálogo de Conservación del papel de American Institute Conservation. Biblioteca Nacional de Venezuela. Instituto Autónomo Biblioteca Nacional. Caracas, Venezuela. Fascículo 2. Número 14.
- Correa, M.G., L. Portal, P. Moreno y R. Tengerdy (1999): Mixed cultures solid substrates fermentation of *Trichoderma reesei* with *Aspergillus niger* on sugarcane bagasse. **Bioresources Technology**. 68: 173-178.
- Dai, Z., X. Mao, J. Magnuson y L. Lasure (2004): Identification of genes associated with morphology in *Aspergillus niger* by using suppression subtractive hybridization. **Applied and Environmental Microbiology**. 70(24): 74-85.
- Dereau J.M. y D.W.G. Clements (1988): Principios para la Preservación y Conservación de los Materiales Bibliográficos. Madrid: Centro de Coordinación Bibliotecaria. 5- 6.
- Díaz, J. (1997): Estudios microbiológicos en instituciones culturales. Memorias del III Congreso Internacional de Patrimonio Cultural. Contexto y Conservación. CNCRM, La Habana, Cuba. 8-11.
- Díaz, E. (2011): Diagnóstico y control del Biodeterioro de la Colección “Coronado” de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Biología. Santa Clara.
- Domsch, K.H., W. Gams y T-H. Anderson (2007): Compendium of soil fungi ed. 2 IHW-Verlag, Eching
- EIHA. Eagle Industrial Hygiene Associates. (2004): Microbial Sampling and Analysis: molds and bacteria. Guidelines Environmental Microbiology. 115p.

- Ellis, M. B. (1971): Dematiaceous Hyphomycetes, Kew.
- Florian, M. (1996): The role of the conidia of fungi in fox spot. **Studies in Conservation** 41: 65-75.
- Florian, M. y L. Manning (2000): SEM analysis of irregular fungal spot in an 1854 book: population dynamics and species identification. **International Biodeterioration and Biodegradation**. 46: 205-220
- Florian, M.L.E. (2002): The four components of biodeterioration and of preservation of our collective memory. International Symposium a Choice and Strategies for Preservation of a Collective Memory. Dobbiaco, Toblach, Italy.
- Galiotou-Panayotou, M., M. Kapantai y O. Kalantzi (1997): Growth conditions of *Aspergillus* sp. ATHUM-3488 for polygalacturonase production. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 47: 425-429.
- GenBank(2012):http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=Nucleotide&list_uids=34809346&dopt=GenBank.
- Gómez, A.; L. Montes de Oca y M. Dorta. (2000): Conceptos que cambian nos imponen nuevos retos: Utilización de gases inertes, una opción ventajosa para la desinsectación de documentos. **Ciencias de la Información**. La Habana, 30 (4):49-54.
- Guerrero, H. (1997): La humedad como factor de deterioro. **Revista Contacto**. Publicación del Laboratorio de Restauración del Archivo General de la Nación. (6)11-14.
- Guiamet, P., P. Battistoni y S. Gómez (2008): Biodeterioro, ¿dónde estás? **Desde la Patagonia difundiendo saberes**. 5 (7) ISSN 1668-8848: 34-38.
- Harima N, T. Inoue, T. Kubota (2004): A case of otomycosis caused by *Aspergillus sclerotiorum*. **Journal of Dermatology**. 2004; 31: 949_950.
- Hawksworth, L., D. Kirk, P. M. Sutton, B. C. Pegler, D. Ainsworth y N. Bisby (1995): Dictionary of Fungi, Wallingford, CAB INTERNATIONAL.
- Hedayati, M. T., S. Mayahi, R. Aghili y K. Goharimoghadam (2005): Airebone fungi indoor and outdoose of asthmatic patients home, living in City of Sari. **Iran Journal of Allergy, Atshma and Immunology**. 4(4): 189-191.

- Hidalgo, Y. y S. Borrego (2006): Aislamiento y caracterización de hongos en la biblioteca Nacional “José Martí”. **Revista Biblioteca.**
- Hyvärinen, A., M. Vahteristo, T. Meklin, M. Jantunen y A. Nevalainen (2001): Temporal and spatial variation of fungal concentrations in indoor air. **Aerosol Science and Technology.** 35: 688-695.
- Iwatzu, T. (1984): A new species of *Cladosporium* from Japan. **Mycotaxon XX.** 521-533.
- Koneman, E. (1997): *Micología Práctica de Laboratorio.* 3a Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 221p.
- Kuhad, R. C., A. Singh y K. Erikson (1997): Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.** 57: 45-125.
- López, A., S. Borrego, P. M. Arenas y N. Cabrera (2011): Insectos dañinos al patrimonio documental de archivos y bibliotecas: diagnóstico de dos casos en la República de Cuba y la República Argentina. **Códices.** 7(1): 49-64
- Maggi, O, A.M. Persiani, F. Gallo, P. Valenti, G. Pasquariello, M.C. Sclocchi y M. Scorrano (2000): Airborne fungal spores in dust present in archives: proposal for a detection method, new for archival materials. **Aerobiología.** 16: 429–434.
- Manjarrés, K., Y. Piñeros y E. Rodríguez-Sandoval (2011): Evaluación del complejo enzimático producido mediante el cocultivo de *Aspergillus* sp. y *Trichoderma* sp. en fase sólida sobre residuos de palma. **Bioagro.** 23(1): 19-26.
- Mazzani, C., O. Luzón y M. Chavarri (2004): *Aspergillus flavus* asociado a *Epitragus* sp (Coleoptera: Tenebrinidae) en maíz bajo riesgo en Turén, estado Portuguesa, Venezuela. **Entomotropica.** Vol.1923: 157-159. ISSN 1317-52-62.
- Medina, L., A. Tuozzo, J. Herrera, Y. Perozo y L. González (1999): Estudio de hongos en bibliotecas de la Universidad de Carabobo-Valencia. **DCH.** 3(1).

- Medrela-Kuder, E. (2003): Seasonal variations in occurrence of culturable airborne fungi in outdoor air in Craców. **International Biodeterioration and Biodegradation**. 52(4): 203-205.
- Missori, M., M. Righini, M.S. Storace, A. Congiu Castellano y S. Selci (2004): The effect of artificial aging and sizing on discoloration of paper studied by UV-NIR spectroscopy in comparison to ancient paper, in: Proceedings of the International Conference Durability of Paper and Writings, nov 16e19, 2004, Ljubljana, Slovenia. 17-19.
- Moloney, A. P., P. J. Considine y M. P. Coughlan (2004): Cellulose hydrolysis by the cellulases produced by *Talaromyces emersonii* when grown on different inducing substrates. **Biotechnology and Bioengineering** 25:1169-1173.
- Morales, A. X. (2008): Evaluación del estado de deterioro del legado documental de expresidente Jacobo Arbenz Guzman y estrategias para su conservación y restauración. Guatemala.
- Nasir, H y H. Noda (2003): Yeast-like symbiotes as a sterol source in anobiid beetles (Coleoptera, Anobiidae): possible metabolic pathways from fungal sterols to 7-dehydrocholesterol". **Arch Insect Biochem Physiol**. 52 (4): 175–82.
- Nicholson, C. (1993): What exhibits can do to your collection. **Restaurator**.13 (3): 103.
- Noda, H y K Kodama (1996): Phylogenetic position of yeastlike endosymbionts of anobiid beetles. **Applied Environmental Microbiology**. 62 (1): 162–167.
- Novotny, D. (2000): Conferencia Magistral impartida durante el Curso de Especialización en Conservación Preventiva del Patrimonio Bibliográfico y Documental, organizado por la Fundación Patrimonio Histórico en Rosario del 26 al 28 de Octubre de 2000.

- Ochiai S. y T. Ishii (2006): Identification of microorganisms related to ethylene production from lipids of dead grape leaf. **ISHS Acta Horticulturae** 768: XXVII International Horticultural Congress - IHC2006: International Symposium on The Role of Postharvest Technology in the Globalisation of Horticulture.
- Olivero, A. I. (2004): Clases magistrales de Microbiología Industrial para VIII Semestre. Pontificia Universidad Javeriana.
- Palma, M. A. (2005): Algunas ideas para extender la vida de los materiales bibliográficos de las bibliotecas. Biblioteca nacional de Chile. Santiago de Chile. Chile.
- Peña, G y S. Zambrano (2003): Evaluación de tratamientos de desinfección aplicados mediante procesos de nebulización y aspersión sobre soportes de papel afectados por hongos. Tesis de Pregrado. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias. Departamento de Microbiología. Carrera de Microbiología Industrial. Bogotá. D.C.
- Plaza P, J. Usall. N. Teixidó e I. Viñas (2003): Effect of water activity and temperature on germination and growth of *Penicillium digitatum*, *P. italicum* and *Geotrichum candidum*. **Journal Applied Microbiology**. 94(4):549-54.
- Rakotonirainy. M.S., E. Heude y B. Lavédrini (2007): Isolation and attempts of biomolecular characterization of fungal strains associates to foxing on a 19th century book. **Journal of Cultural Heritage**. 8: 126-133.
- Raper, K. B. y D. I. Fennell (1965): The Genus *Aspergillus*. En Williams & Wilkins Company Eds, Baltimore, U.S.A.
- Rautela, G.S. y E.B. Cowlings (1986): Simple culture test for relative cellulolytic activity of fungi. **Applied Microbiology**. 14: 892-898.
- Rodríguez G. I y C. Y. Piñeros (2007): Production of enzymatic complex in solid state fermentation by *Trichoderma* sp. using palm oil empty fruit bunch (EFB) as substrate. **Revista Facultad Química Farmacéutica** 14: 35-42.
- Rojas, I. 2010. Diversidad Fúngica en Ambientes de áreas urbanas de Ciudad de la Habana y sus potencialidades en el biodeterioro. Tesis en

- opción del título Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad de La Habana.
- Rojas, T.I., M. J. Aira, A. Batista, I. L. Cruz y S. González (2012): Fungal biodeterioration in historic buildings of Havana (Cuba). **Grana**. 51(1): 44-51.
 - Sánchez, A.I., P. Martínez, S. Borrego y A.L. Brizuela (1998): Estudio de contaminación fúngica en vigas de madera de la iglesia del Espíritu Santo: Monumento Nacional. **Revista Cubana de Biología**. 11(3):16-63.
 - Santhiya, D. y Y. P. Ting (2005): Bioleaching of spent refinery processing catalyst using *Aspergillus niger* with high-yield oxalic acid. **Journal of Biotechnology**. 116(2): 171-84.
 - Scala, M.X. (2010). Insectos Bibliófagos II. INTI-Celulosa y Papel. **Boletín sobre Conservación y Restauración**. 3 (10): 2-7.
 - Shelton B. G., K. H. Kirkland, W. D. Flanders y G. K. Morris (2002): Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. **Applied and Environmental Microbiology** 68: 1743–1753.
 - Sing, S.M. y K. Barde (1983): A Case of Onychomycosis Caused by *Aspergillus sclerotiorum*. **Indian Journal of Dermatology, Venerology and Leprology**. 49: 22-25.
 - Someillan, M, A. Gómez y G. González (2006): Aspectos teóricos y conceptuales útiles para el diseño e implementación de una política de conservación preventiva. *Acimed*. (14) 6-12.
 - Tacón, J. (2002): La conservación del libro antiguo. Documentos de trabajo U.C.M. Biblioteca Histórica; 04/02
 - Vaillant, M. y N. Valentín (1996): Principios Básicos de Conservación Documental y Causas de su Deterioro, Madrid: Ministerio de Educación y Cultura. 23.
 - Valentín, N, R. García, O. De Luis y S. Maekawa (1998): Microbial Control in Archives, Libraries and Museums by Ventilation Systems. **Restaurator**. 19: 85-107
 - Valentín, N. (2003): Diseño y propuestas para el control y erradicación del biodeterioro. Microorganismos e insectos. Jornadas monográficas.

- Prevención del biodeterioro en archivos y bibliotecas. Instituto del Patrimonio Histórico Español. 84-89
- Villalba, L. S., J.F. Mikán, y J. Sánchez (2004): Actividades hidrolíticas y caracterización isoenzimática de poblaciones microbianas aisladas del patrimonio documental del Archivo General de Colombia. **NOVA-PUBLICACION CIENTIFICA**, 2: 50-58.
 - Villena, G y M. Gutierrez-Correa. (2003): Biopelículas de *Aspergillus niger* para la producción de celulasas: algunos aspectos estructurales y fisiológicos. **Rev. Peru. biol.** 10(1): 78-83
 - Villena,G.; P. Moreno y M. Gutierrez-Correa (2001): Cellulase production by fungal biofilms on polyester cloth. **Agro-food-Industry Hi-Tech**, 12(Iss1): 32-35.
 - White, T. J., T. Bruns, S. Lee, y J. Taylor (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, p. 315–322. En M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White (ed.), **PCR protocols**. Academic Press, San Diego, Calif.
 - Yela, JL. (1997): Insectos causantes de daños al patrimonio histórico y cultural: caracterización, tipos de daño y métodos de lucha (Arthropoda: Insecta). **Boletín S.E.A.** 20: 111-122.
 - Zotti, M., A. Ferroni y P. Calvini (2011): Micological and FTIR analysis of biotic foxing on paper substrates. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 65: 569-578.

Anexos

Anexo I: Listado de ejemplares presentes en la colección y principales alteraciones

Siglo XVI

1- Circerous de OFFICIIS. Libri III. Cato maior, uel De Senecfute æ lius, uel De Amicitia Paradoxa Stoicorum fex. Cum Petri Marfi Francisci Maturanti, Omniboni, Martini Philetici, e Ascensio, in hec Omnia preftantifsimis commentarijs. 1572.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera,

Daño por insectos bajo.

2- Institutiones. AC Meditationes in GRÆCAM Livgam. N Clenardo Arthore. 1572.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera.

Daño por insectos bajo.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

3-Ensayo de una Bibliotheca de traductores Españoles. D. Juan Antonio Pellicer y Saforcada. Madrid, 1578.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera.

Daño por insectos bajo.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

Siglo XVII

4- Descripción de Los Indios Occidentales. Década Primera. Antonio de Herrera, 1601. Restaurado.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

5- Historia General de los Hechos de los Castellanos en las Islas y Tierra-Firme del Mar Océano. Década Segunda. Antonio de Herrera. Impreso en Madrid, en la Oficina Real de Nico Rodriguez Franco. 1601.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño alto.

6- Historia General de los Hechos de los Castellanos en las Islas y Tierra-Firme del Mar Océano. Década Cuarta. Antonio de Herrera. 1601.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera.

Erosión.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

7- Historia General de los Hechos de los Castellanos en las Islas y Tierra-Firme del Mar Océano. Década Sexta, Tomo VI. Antonio de Herrera. 1602.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño media.

8- Inventaire General Des PLVS CVRIEV-les Recherches des Royaume d' Espagne. 1615.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

9- Del Teatro de los dioses de la gentilidad, Segunda parte. Padre Fray Baltasar de Victoria, Predicador de San Francisco de Salamanca y natural de la misma ciudad. Imprenta Real. 1657.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Extremo posterior de un espécimen de una especie de tijereta perteneciente al Orden Dermaptera.

Larva de un insecto del Orden Coleoptera, Familia Tenebrionidae

Daño por insectos medio.

Enmohecido. Intensidad del daño baja.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

10- Historia General de los Hechos de los Castellanos en las Islas y Tierra-Firme del Mar Océano. Década Cuarta. Antonio de Herrera. 1661.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

11- Historia General de los Hechos de los Castellanos en las Islas y Tierra-Firme del Mar Océano. Década Sesta, Tomo IV. Antonio de Herrera. 1661.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

12- Historia General de los Hechos de los Castellanos en las Islas y Tierra-Firme del Mar Océano. Década Octava, Tomo II. Antonio de Herrera. 1661.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

13- Parte Primera del Tesoro de la Lengua Castellana o Española. Sebastian de Covarruvias. Madrid. 1674.

Alteraciones:

Cucaracha viva.

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

14- ΓΡΑΜΜΑΤΙΚΗ ΤΗΣ ΓΛΩΣΣΑΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ. RPF Martin del Castillo. 1678.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Erosión.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

Siglo XVIII

15- Theatro Critico Universal o Discursos Varios en Todo Género de Materias, para desengaño de errores comunes. Tomo-Quinto. Quarta impresión, en Madrid Imprenta de los Herederos de Francisco del Hierro. RP Fray Benito Geronymo. 1753.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera.

Adulto y larva de *Lasioderma serricorne*.

Excrementos.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño bajo.

16- Cartas Eruditas, y Curiosas, en que, por la mayor parte, se continua el Designio del Theatro Critico, Universal, impugnando, ó reduciendo á dudosas, varias opiniones comunes. Tomo Quinto. Impreso en Madrid, por Joachin Ibarra. Benito Geronymo Feyjoó. 1760.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño bajo.

17- Oracion EUCARÍSTICA, que en la solemne accion de gracias que tributaron al todo-poderoso. Impreso en Madrid por Pantaleon Aznar Don Josef Mariano Beristain. 1792.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

18- Edicto en que el ilustrísimo señor Dr. D. Felipe Joseph de Trespalacios y Verdeja, primer Obispo de la Havana y provincias de la Luisiana y Florida, Corrige Varios Desórdenes y que se haga de noche las Procesiones de la semana santa: y asimismo Altares de Cruz y Nacimientos en casas particulares sin la licencia necesaria que, quando se excusen irreverencias se concederá graciosamente á las gentes devotas. Impreso en la Havana, en la imprenta de la Curia Episcopal y Real Seminario de San Carlos, calle Obrapia # 164. Dr. D. Felipe Joseph de Trespalacios y Verdeja. 1792.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

19- Moneda-Papel y Crédito Público. Ensayo Económico sobre el sistema de la Moneda-Papel y sobre el Crédito Público. Impreso en Madrid, en la Imprenta Real. Don Joseph Alfonso Ortiz. 1796.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos bajo.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

20- Oración Fúnebre. D. Alexandro de O'Reilly, conde de O'Reilly, Teniente General. 1794.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

21- Instrucción de lo que *fe* ha de practicar para que tenga *fu* entero cumplimiento mi Real intención, en la libertad de Comercio, que por Decreto de esta fecha, concedo á mis *Vaffallos*, para que puedan hacerle á la Isla de Cuba, Santo Domingo, Puerto Rico, Margarita y Trinidad, sin necesidad de recurrir a solicitar mi Real *Permiffo*. Marqués de Squilace. 1765.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

22- Tratado de amistad, límites y navegación concluido entre el Rey Nuestro Señor y los Estados Unidos de América, firmado en San Juan Lorenzo el Real a 27 de octubre de 1795. Impreso en Madrid, en la Imprenta Real.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Larva de *Lasiderma serricorne*.

Excrementos.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

23- Tratado Definitivo de Paz Concluido entre el Rey Nuestro Señor y el Rey de Gran Bretaña. Firmado en Versalles á 3 de septiembre de 1783, con sus artículos preliminares. Impreso en Madrid, en la Imprenta Real. 1783.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

24- Tratado definitivo de Paz concluido entre el Rey Nuestro Señor y S.M. Cristianísima por una parte, y S.M. Británica por otra, en París a 10 de febrero de 1763.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

25- Origen de la casa de Beneficiencia. 1796.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

26- Historia política de los establecimientos ultramarinos de las Naciones Europeas". Tomo II-III. Impreso en Madrid, por D. Antonio de Sancha. Eduardo Malo de Luque. 1785.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Ejemplar adulto muerto, larva muerta y restos de bolsas pupales de *Lasioderma serricorne*.

Ecrementos.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño bajo.

27- Historia política de los establecimientos ultramarinos de las Naciones Europeas". Tomos IV-V. Eduardo Malo de Luque. 1785.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

28- Gramática de la lengua inglesa, que contiene reglas fáciles para su pronunciación y aprenderla metódicamente, con muchas observaciones, y notas críticas de los mas celebres autores puramente ingleses, especialmente de Lowth, Priestley y Trinder. Tercera edición. Impreso en Madrid, en la Imprenta Real, por Don Pedro Julian Pereyra impresor de Cámara de SM. Padre Fr. Tomás Connelly. 1798

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño alto.

29- Historia política de los establecimientos ultramarinos de las Naciones Europeas". Tomos IV Eduardo Malo de Luque. 1785.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

30- Paleogeografía Española. P. Eftevan de Terreros y Pando. Restaurado.

Historia política de los establecimientos ultramarinos de las Naciones Europeas". Tomos IV. Impreso en Madrid, por Joachin Ibarra. Eduardo Malo de Luque. 1785.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño alto.

31- Gramática de la Lengua Castellana, compuesta por la Real Academia Española. Impreso en Madrid, en la Imprenta de la Viuda de Ibarra. D. Joachin de Ibarra. 1771.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

32- Gramatica Spagnuola ED italiana. Impreso en Venezia, Nella Stamperia Baglioni. Lorenzo Franciosini Fiorentino. 1787.

Alteraciones:

Erosión. Intensidad del daño baja.

33- Declamación contra los abusos introducidos en el Castellano. Impreso en Madrid, en la Imprenta de la Viuda de Ibarra. 1793.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

34- Descripción de Diferentes Piezas de Historia Natural. Impreso en la Havana. Don Antonio de Parra. 1787.

35- El Viajero Universal. Tomo II. Viajero Universal, o noticia del mundo antiguo y nuevo. D.P.E.P. 1795.

36- El Viajero Universal. Tomo VIII. Viajero Universal, o noticia del mundo antiguo y nuevo. D.P.E.P. 1796.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño bajo.

37- El Viajero Universal. Tomo XI. Viajero Universal, o noticia del mundo antiguo y nuevo. D.P.E.P. 1797.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

38- El Viajero Universal. Tomo XIX. Viajero Universal, o noticia del mundo antiguo y nuevo. D.P.E.P. 1798.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño bajo.

39- El Viajero Universal. Tomo XXI. Viajero Universal, o noticia del mundo antiguo y nuevo. D.P.E.P. 1798.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

40- Voyage Dans. L'Hémisphere Austral, Et autor Du Monde. Tomo I. 1792.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

41- Voyage Dans. L'Hémisphere Austral, Et autor Du Monde. Tomo II. 1792.

42- Voyage Dans. L'Hémisphere Austral, Et autor Du Monde. Tomo III. 1792.

43- Voyage Dans. L'Hémisphere Austral, Et autor Du Monde. Tomo IV. 1792.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

44- Voyage Dans. L'Hémisphere Austral, Et autor Du Monde. Tomo V. 1792.

45- Voyage Dans. L'Hémisphere Austral, Et autor Du Monde. Tomo VI. 1792.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

46- Obras en prosa y verso del Cura Fruime. Tomo III. D. Diego Antonio Cernadas y Castro. 1779.

Alteraciones:

Galerías de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

Manchas distintas del foxing. Manchas de color gris oscuro. Intensidad del daño baja.

47- Traducción del Arte Poética de Horacio o Epístola a lo pinsones. P.Fr. Fernando Lozano. Impreso en Sevilla: por Manuel Nicolás Vázquez, y Compañía. 1777.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

48- Centon Epistolario del Bachiller Fernan Gomez de Cibderal; y Generaciones y semblanzas del noble Caballero Fernan Perez de Guzman. Impreso en Madrid, por Don Gerónimo Ortega e hijos de Ibarra. 1779.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

49- Oración Apologética por la España y su mérito literario para que sirva de exôrnacion al discurso leído por el abate Denina en la Academia de Ciencia sde Berlin, respondiendo á la Qüestion Qué se debe á España?. D. Juan Pablo Forner. Madrid en la imprenta Real. 1786.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

50- Historia Literaria de España. Origen, progresos, decadencias y restauración, de la Literatura Española, en los tiempos primitivos, de los Phenicios, de los Cartagineses, de los Romanos, de los Godos, de los Arabes y de los Reyes Católicos: con las de esta Nacion, juicio crítico de sus Obras, extractos y Apologías de algunas de ellas: Disertaciones históricas y críticas sobre varios puntos dudosos: Para desengaño é instruccion de la Juventud Española. Tomo III. Los PP. Fr. Rafael y Fr. Pedro Rodríguez Mohedano.1770.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos bajo.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

51- Historia Literaria de España. Origen, progresos, decadencias y restauración, de la Literatura Española, en los tiempos primitivos, de los Phenicios, de los Cartagineses, de los Romanos, de los Godos, de los Arabes y de los Reyes Católicos: con las de esta Nacion, juicio crítico de sus Obras, extractos y Apologías de algunas de ellas: Disertaciones históricas y críticas sobre varios puntos dudosos: Para desengaño é instruccion de la Juventud Española. Tomo V. Los PP. Fr. Rafael y Fr. Pedro Rodríguez Mohedano.1777.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Larva de *Lasioderma serricorne*.

Excrementos.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

52- Historia Literaria de España. Origen, progresos, decadencias y restauración, de la Literatura Española, en los tiempos primitivos, de los Phenicios, de los Cartagineses, de los Romanos, de los Godos, de los Arabes y de los Reyes Católicos: con las de esta Nacion, juicio crítico de sus Obras, extractos y Apologías de algunas de ellas: Disertaciones históricas y críticas sobre varios puntos dudosos: Para desengaño é instruccion de la Juventud Española. Tomo VII. Los PP. Fr. Rafael y Fr. Pedro Rodríguez Mohedano.1781.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

53- Pomponii Malae de situ Orbis. Tomo III. Isaci Vossi, Jacobi Perizonii, et ABrahami Gronovii. 1748.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño alto.

54- Diccionario geográfico-histórico de las indias occidentales ó america.Tomo I. D. Antonio de Alcedo. 1786.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

55- Diccionario geográfico-histórico de las indias occidentales ó america.Tomo IV. D. Antonio de Alcedo. 1788.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

56- La Poetica ó Reglas de la Poesía en General, y de sus principales especies. Don Ignacio de Lvzan. Impreso en Zaragoza: por Francisco Revilla. 1737.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Erosión.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

57- Reflexiones imparciales sobre la humanidad de los Españoles en las Indias, contra los pretendinos filósofos y Políticos. Abate Don Juan Nuix. Madrid. 1782.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

58- Solución del Gran problema acerca de la población de las Américas, en que fobre el fundamento los Libros Santos fe defcubre facil camino á la tranfmigracion de los Hombres del uno al otro continente; y como pudieron

pafar al Nuevo Mundo no folamente las Beftias de fervicio, fino tambien las Fieras, y nocivas y con esta ocasión se sasface plenamente al delirio de los Pre-Adamitas apoyado con efta dificil objecion hafta no bien defatada. P. Francisco Xavier Alexo. México, Imprenta Real del Superior Gobierno, 1763.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

59- Annales D'Espagne et de Portugal. Volumen I. Don Juan Alvarez de Colmenar. Amsterdan, 1741.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

60- Annales D'Espagne et de Portugal. Volumen II. Don Juan Alvarez de Colmenar. Amsterdan, 1741.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

61- The General History of the Late War.1762. Restaurado.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

62- Viaje al estrecho de Magallanes. Pedro Sarmiento de Gamboa. Imprenta Real de la Gazeta, Madrid. 1768.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Erosión.

Daño por insectos alto.

Enmohecido. Intensidad del daño baja.

Manchas (foxing). Intensidad del daño alto.

63- La Castilla Historia de Rodrigo Diaz. La Castilla y el mas famoso Castellano Historia del Célebre Castellano Rodrigo Diaz, llamado vulgarmente el CID Campeador. P Mro. Fr. Manuel Risco. Madrid. 1792.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos alto.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

64- Recherches Philosophiques sur les Americains. Tomo I. Don Pernely. 1771.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

65- Recherches Philosophiques sur les Americains. Table Générale du second tome. Don Pernely. 1771.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

66- Política Indiana del Señor Don Juan de Solorzano, ilustrada, y añadida. Tomo I. 1736.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

67- Política Indiana del Señor Don Juan de Solorzano, ilustrada, y añadida. Tomo II. 1739.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

68- Historiadores Primitivos de las Indias Occidentales, Que Juntó, Traduxo en Parte, y facó á luz, ilustrados con erudítas Notas, y copiosos Indices. Tomo I. Andres González Barcia. 1749.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

69- Historiadores Primitivos de las Indias Occidentales, Que Juntó, Traduxo en Parte, y facó á luz, ilustrados con eruditas Notas, y copiosos Indices. Tomo II. Andres González Barcia. 1749.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Erosión.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

70- Historiadores Primitivos de las Indias Occidentales, Que Juntó, Traduxo en Parte, y facó á luz, ilustrados con eruditas Notas, y copiosos Indices. Tomo III. Andres González Barcia. 1749.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

71- A Descriptive Account of the Island of Jamaica. Volumen I. Willian Beckford. London, Witehall, 1790.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos bajo

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

72- A Descriptive Account of the Island of Jamaica. Volumen II. Willian Beckford. London, Witehall. 1790.

Alteraciones:

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

73- Representación o defensa del Conde de Luperunda en la famosa causa En la pérdida de Albama. 1764.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

74- Satisfaccion del Coronel D. Balthasar Ricaud de Tirgal, Ingeniero que fue Gefe de la Plaza de la Habana á los Cargos que le hace y de que le acufa el

feñor Fifcal de la Junta creada por fu Mageftad para instrucció del Proceffo fobre rendicion de aquella Plaza, y fus reflutas. 1764.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

75- Llave del Nuevo Mundo. Josse Martin Felix de ARRATE. 1761.

Alteraciones:

Manchas (foxing) Intensidad del daño medio.

Siglo XIX

76- La Moderna Poesía. Curiosidades Gramaticales. Gramática Aplicada del idioma español y sus dialectos. D. Ramón Martínez García. 1896.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

77- El amigo de las leyes. Traducción de una noticia Biográfica. Imprenta Real, Habana. 1820.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

78- Asonadas y Motines. Remitido. Puerto Príncipe, 1822.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

79- Elogio de Dr. D Eusebio Valli, Médico Ordinario del Hospital Militar de Dijon individuo de la Academia Virgiliana de Mantua, de la Sociedad de Medicina de Venecia, del Colegio Medico de Edimbuego. Havana Oficina de Arazoza y Soler, impresores del Gobierno y de la Real S. P. por S.M.1816.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

80- Decretos del Rey Nuestro Señor D. Fernando VII de Borbon. (Q.D.G) Expedidos Después de su feliz Regreso al trono de sus Augustos Predecesores Con la Plenitud de soberanía. Primera colección. Havana Oficina de Arazoza y Soler, impresores del Gobierno y de la Real S. P. por S.M. 1815.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.

81- Decretos del Rey Nuestro Señor D. Fernando VII de Borbon. (Q.D.G) Expedidos Después de su feliz Regreso al trono de sus Augustos Predecesores Con la Plenitud de soberanía. Novena colección. Havana Oficina de Arazoza y Soler, impresores del Gobierno y de la Real S. P. por S.M., 1817.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera.

Daño por insectos bajo.

82- Práctica de los tribunales, arreglada a la constitución, y leyes posteriores. Primera parte. Habana, Imprenta Fraternal de los Díaz de Castro, impresores del Consulado nacional: plazuela de San Juan de Dios, casa #66. 1821.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera.

Daño por insectos bajo

83- Memorias de la Clase de derecho Patrio del Real y Conciliar Colegio Seminario de la Habana. Nº1. Habana en la imprenta de Marina. Por la viuda é hijo de D. Esteban José Boloña, Impresor de Cámara de S.M. año de 1819.

Alteraciones:

Erosión.

84- Decretos de las Cortes Generales extraordinarias anexos a la Constitución, Política de la Monarquía Española, y publicados en el diario del Gobierno de esta Cuiudad. Habana. Oficina de Arazoza y Soler, impresores de la R.S.P. 1812.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera.

Daño por insectos bajo.

Siglo XX.

85- Real Cédula de erección del Consulado de la Havana, expedida en Aranjuez a IV de abril de MDCCXCIV. 1974.

Alteraciones:

Galerías posiblemente de Isoptera y Coleoptera.

Daño por insectos medio.

Manchas (foxing). Intensidad del daño medio.