

Estudio del biodeterioro y evaluación de actividad proteolítica causada por microorganismos en especímenes de una colección zoológica en Colombia

Estudo da biodeterioração e avaliação da atividade proteolítica causada por microorganismos em espécimes de uma coleção zoológica da Colômbia

Study of biodeterioration and evaluation of proteolytic activity caused by microorganisms in specimens of a zoological collection in Colombia

LISA MARÍA CARRILLO-
CHÁVEZ ^{1*} 

NICOLÁS ARIAS-
BERMÚDEZ ¹ 

MARÍA JOSÉ NIETO-
VENEGAS ¹ 

NELSY ROCIO PINTO-
SÁNCHEZ ^{1,2} 

MARÍA CAMILA PATIÑO ² 

1. Semillero de Evolución y
Conservación (SEC), Facultad de
Ciencias Básicas y Aplicadas,
Universidad Militar Nueva
Granada, Cajicá, Colombia

2. Facultad de Ciencias Básicas y
Aplicadas, Universidad Militar
Nueva Granada, Cajicá, Colombia

*lisamacarrillo@gmail.com

Resumen

Las colecciones zoológicas albergan especímenes que representan la historia de la biodiversidad en un momento y lugar en particular. Su deterioro a través del tiempo resulta en la pérdida de información, por ello, es crucial evaluar el estado de preservación de las colecciones para tomar medidas respecto a su manejo. En este estudio se diagnosticó el estado de conservación de los especímenes depositados en la colección de zoología, teniendo en cuenta la presencia de indicadores de deterioro y biodeterioro. Además, se aislaron hongos y bacterias y se evaluó la actividad proteolítica de algunas cepas dominantes de hongos. Un 42 % de los 146 especímenes analizados presentaron signos de biodeterioro asociados a microorganismos comúnmente reportados en ambiente, tales como *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp., que presentaron proteólisis en sustratos de plumas y pelo. Esto sugiere una asociación entre las condiciones ambientales y la forma de almacenamiento con el deterioro de los especímenes.

Resumo

As coleções zoológicas albergam espécimes que representam a história da biodiversidade num determinado tempo e lugar. A sua deterioração ao longo do tempo resulta na perda de informação, pelo que é fundamental avaliar o estado de conservação das coleções para tomar medidas relativas à sua gestão. Neste estudo, foi diagnosticado o estado de conservação dos espécimes depositados na coleção de zoologia, tendo em conta a presença de indicadores de deterioração e biodeterioração. Além disso, foram isolados fungos e bactérias e avaliada a atividade proteolítica de algumas estirpes de fungos dominantes. Determinou-se que 42 % dos 146 espécimes analisados mostraram sinais de biodeterioração associados a microrganismos comumente registados no ambiente, tais como *Penicillium* sp. e *Cladosporium* sp. que mostraram proteólise em sustratos de penas e pelos. Este facto sugere uma associação entre as condições ambientais e o modo de armazenamento com a deterioração dos espécimes.

Abstract

Zoological collections shelter specimens that represent the history of biodiversity at a particular time and place. Their deterioration over time results in the loss of information, therefore, it is crucial to evaluate the state of preservation of the collections to take measures regarding their management. In this study, the state of conservation of the specimens deposited in the zoology collection was diagnosed, taking into account the presence of indicators of deterioration and biodeterioration. In addition, fungi and bacteria were isolated and the proteolytic activity of some dominant strains of fungi was evaluated. It was found that 42 % of the 146 specimens analyzed showed signs of biodeterioration associated with microorganisms commonly reported in the environment, such as *Penicillium* sp. and *Cladosporium* sp., which presented proteolysis in feather and hair substrates. This suggests an association between environmental conditions and the manner of storage with the deterioration of the specimens.

PALABRAS-CLAVE

Conservación del patrimonio
Colección biológica
Historia Natural
Proteólisis
Colecciones

PALAVRAS-CHAVE

Conservação do património
Coleção biológica
História Natural
Proteólise
Coleções

KEYWORDS

Heritage conservation
Biological collection
Natural History
Proteolysis
Collections

Introducción

Las colecciones biológicas están conformadas por un conjunto de ejemplares que son catalogados, organizados y almacenados teniendo en cuenta sus características y clasificación, normalmente en base a su taxonomía y nomenclatura [1]. La naturaleza de sus ejemplares es única y nos cuenta la historia natural de un momento y lugar determinado [2]. Dentro de sus usos están la verificación de teorías científicas, la comunicación del conocimiento y el desarrollo de investigaciones, por lo que su preservación es importante para el desarrollo científico [3]. En los últimos 20 años se ha buscado entender el efecto que tienen las variables ambientales sobre los especímenes depositados en las colecciones [4], con el fin de generar estrategias que permitan prolongar su vida útil, y de la información relevante para la comunidad científica.

Los especímenes tienden a sufrir procesos de deterioro y envejecimiento a causa de la naturaleza de su composición, los protocolos de conservación y la forma de almacenamiento. Estos procesos pueden acelerarse por factores ambientales como la temperatura, la humedad relativa, la incidencia de la radiación y agentes contaminantes [5]. La manipulación también tiene incidencia dentro de los procesos de deterioro ya que hay una exposición a choques, abrasión y presión, que son visibles en forma de deformaciones, aplastamiento o fisuras en el espécimen [5]. Finalmente, se encuentra el daño causado por los agentes biológicos, los cuales producen cambios en las propiedades de un material causado por las actividades vitales de un organismo, a esto se le conoce como “biodeterioro” [6-7].

El biodeterioro causado por microorganismos genera un cambio en las propiedades del espécimen, como el color, estructura y caracteres diferenciales [1]. Puntualmente, los hongos pueden llegar a ser difíciles de controlar porque pueden degradar una amplia gama de compuestos biológicos y además cuentan con gran capacidad de dispersión a través de esporas, lo que les brinda resistencia a condiciones ambientales adversas [8]. Las colecciones biológicas, al contener material orgánico expuesto, son más atractivas para algunas plagas, como los hongos [9].

La Colección de Zoología “José Ricardo Cure Hakim” de la Universidad Militar Nueva Granada (CZCH-UMNG) alberga fauna representativa de diferentes regiones geográficas de Colombia, cuyo patrimonio biológico conservado es material base para realizar investigaciones y desarrollar inventarios de biodiversidad local y nacional [10]. Sin embargo, el deterioro de sus especímenes a causa de diferentes factores, puede ser un motivo relevante en la pérdida de información biológica. Por esta razón, el objetivo del presente estudio fue establecer cuál es el estado de conservación actual de la CZCH-UMNG, identificando los agentes biológicos que posiblemente causen su deterioro y evaluando la actividad proteolítica de los microorganismos aislados de la colección como parte de la identificación de estos mecanismos.

Métodos

Revisión de la colección y diagnóstico del estado de conservación

La Colección de Zoología “José Ricardo Cure Hakim” (CZCH-UMNG) de la Universidad Militar Nueva Granada cuenta con 130 registros biológicos almacenados en seco. Adicionalmente, se revisó la colección en seco, de docencia y la colección de exhibición, para un total de 174 especímenes. Posteriormente se clasificaron los especímenes conservados en seco por subgrupo de animales y tipo de material: las aves en esqueletos, plumas y picos, las tortugas en caparzones, y los mamíferos en esqueletos, pelo y piel. El estado de conservación de cada espécimen fue diagnosticado teniendo en cuenta la inspección preliminar de la colección, donde se reconocieron los indicadores de deterioro físico, tipo de almacenamiento, integridad del espécimen e indicadores de posible biodeterioro como la presencia de insectos, micelio

(material pulverulento), propágulos microbianos, manchas, entre otros [1]. Se realizó registro fotográfico de los indicadores mencionados para cada uno de los especímenes.

Toma de muestras

Los especímenes con deterioro biológico fueron organizados determinando su forma de almacenamiento, diagnóstico de estado de conservación, indicadores de biodeterioro presentes y el agente biológico aislado. Se seleccionaron 60 especímenes de los 174: aquellos que tuvieran indicadores de biodeterioro diferenciales para cada grupo de material (plumas, esqueletos, caparazones y pelos). De los especímenes seleccionados se tomaron muestras mediante técnica de hisopado y raspado con bisturí [1]. Posteriormente, se realizó una reactivación de los microorganismos en caldo Sabouraud incubado durante una semana a 25 °C, con posterior transferencia a medio PDA (Potato Dextrose Agar) sin cloranfenicol (1 semana a 25 °C) y se realizó la purificación de las colonias obtenidas realizando pases en medio PDA.

Luego se identificaron los agentes biológicos aislados de la colección a través de tinciones para microorganismos con azul de lactofenol para hongos filamentosos y tinción de Gram para bacterias. La identificación de hongos filamentosos hasta género se llevó a cabo utilizando la clave taxonómica de Barnett & Hunter [11].

Análisis estadístico

Para evaluar qué proporción de la colección presentaba indicadores de deterioro o biodeterioro en relación al tipo de material (plumas, esqueletos, caparazones y pelos) se realizaron pruebas no paramétricas de Verosimilitud y Pearson [12]. Los análisis se realizaron usando el programa estadístico JMP (Versión 9. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989–2007). Adicionalmente, se realizó estadística descriptiva en la cual se presentan gráficas de frecuencia de aparición de los diferentes microorganismos con respecto al total de aislamientos obtenidos.

Para poder entender si la presencia de los agentes biológicos estaba generando una afectación directa en los especímenes, se realizaron pruebas específicas mencionadas a continuación siguiendo la metodología de Gómez [13].

Evaluación de la actividad proteolítica en placa

Para la evaluación de actividad proteolítica se escogieron los cinco hongos más representativos de los especímenes depositados en la CZCH-UMNG: *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Micelia sterilia* sp., *Scopulariosis* sp. y *Cladosporium* sp.. Para poder observar la actividad proteolítica se realizó una estandarización del medio agar leche descremada, basándose en Manrique y colaboradores [7], hasta obtener un medio que permitiera observar la actividad proteolítica en los hongos. El agar leche se compuso de 2 g de leche en polvo, 0,10 g de sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄), 0,10 g de cloruro de calcio (CaCl₂), 0,02 g de fosfato monobásico de potasio (KH₂PO₄), 3 g de agar-agar y 200 mL de agua destilada (H₂O), verificado mediante varias pruebas hasta obtener un halo de degradación. El protocolo de Manrique et al. [7] propone inoculación en pozo, y diluciones de los cinco hongos seleccionados. Como control positivo, se usó *Fusarium oxysporum* obtenido del cepario de la Universidad Militar Nueva Granada, el cual ha sido reportado como un hongo con actividad proteolítica [14-15]. Para la medición de la potencia enzimática por difusión en el agar, se utilizó el procedimiento planteado por Tapia y Moreno [16], se tomó el diámetro de la colonia (DC) y el diámetro del halo de hidrólisis (H), siendo el diámetro total (DT), y luego se calculó el índice de potencia (IP) mediante la siguiente fórmula: $IP=(DT/DC)$. Considerando presencia de actividad proteolítica cuando $IP > 1$. Para dar validez a los resultados, se usó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis, ya que los datos no se ajustaron a la normalidad. Esta prueba comparó los índices de potencia de cada uno de los cinco hongos obtenidos y el control. Los hongos que presentaron mayor actividad proteolítica fueron seleccionados para realizar las siguientes pruebas.

Evaluación de la actividad queratinolítica de los microorganismos en pelo animal

Para este ensayo se escogieron los hongos *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp., que presentaron mayor actividad proteolítica, para luego realizar la evaluación microscópica de invasión en pelo de perro y pelo obtenido de la CZCH-UMNG-M-066 esterilizados previamente según la metodología descrita por Gómez [13]. Para la inoculación se tomó el hongo crecido durante 13 días a 25 °C a partir del cual se realizó una suspensión de conidios con una concentración de 10^6 conidios/mL en solución salina. La incubación fue a temperatura ambiente durante 30 días, con el fin de simular las condiciones reales del almacenamiento de la CZCH-UMNG. La evaluación de la invasión se realizó haciendo montajes de segmentos de pelo con azul de lactofenol a los 7, 14, 21, 28 y 36 días por medio de observación microscópica [11]. Para la evaluación cualitativa de colonización de pelo se tuvieron en cuenta diferentes parámetros para determinar el grado de daño. Se siguieron las escalas de daño propuestas por Miranda y Otoyá [17]. Las escalas relacionaban el tipo de colonización, es decir, endotrix (interna) o ectotrix (externa). Se determinó el tipo de daño causado, como la presencia de escamas, quebrado, formación de bulbos y presencia de clamidosporas. A cada tipo de colonización y a cada lesión, le fue asignado un valor que representa la intensidad de daño para obtener un valor de grado de daño, basado en la escala de lesiones histopatológicas propuesta por Gibson-Corley y colaboradores en 2013 [18].

Evaluación de la actividad queratinolítica de los microorganismos en plumas

Para evaluar la degradación de las plumas se utilizaron tubos de 30 mL que contenían una pluma de pato blanco como control y en otras plumas de un espécimen de la CZCH-UMNG previamente esterilizadas, en 25 mL de caldo basal (1 g/L KH_2PO_4 ; 2 g/L de sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); 1 g/L $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 3 g/L cloruro de amonio (NH_4Cl) y un inóculo de la solución de 0,5 mL a concentración de 10^6 conidios/mL. Se mantuvo a temperatura ambiente durante cuatro semanas y se revisó semanalmente la degradación comparándola frente al control sin inocular. Este tipo de método es una estimación cualitativa [19].

Resultados y discusión

Los especímenes que fueron conservados en seco se clasificaron en tres tipos de materiales: 69 (39,6 %) esqueletos y caparazones, 45 (25,9 %) especímenes de aves (pico, piel con plumas y garras) y 60 (34,5 %) especímenes de mamíferos (piel con pelo). Los especímenes de la colección se caracterizan por tener heterogeneidad en sus métodos de montaje, etiquetado, y almacenamiento. Esto a causa de que han pasado por manos de diversos investigadores encargados y no se han estandarizado los protocolos de montaje, preservación y manipulación de la misma. A causa de esto, se genera condiciones propicias para la aparición de procesos de deterioro llegando así, a causar pérdida de especímenes como de información valiosa para la investigación.

Se obtuvieron diferencias significativas entre el deterioro físico y el tipo de material (plumas, esqueletos-caparazones y pelo) (verosimilitud $\chi^2=15,72$, $P=0,000$; Pearson $\chi^2=15,31$, $P < 0,000$). También se obtuvieron diferencias significativas con respecto al biodeterioro y el tipo de material (plumas, esqueletos-caparazones y pelo) (verosimilitud $\chi^2=26,774$, $P < 0,000$; Pearson $\chi^2=25,74$, $P < 0,000$). Sin embargo, el r^2 del modelo del deterioro es 0,078 y el del biodeterioro es 0,135, lo cual muestra que únicamente el 7,8 % y 13,5 % de la variación respectivamente está siendo explicado por el tipo de material, indicando que posiblemente el tipo de material no es la principal causa del deterioro y biodeterioro de la colección.

Esqueletos y caparazones

Se evidenció que los esqueletos y caparazones son los que presentan una mayor proporción de especímenes con algún tipo de deterioro (Figura 1) y biodeterioro (Figura 2), esto se debe a que

los esqueletos son más frágiles respecto a los otros especímenes cuya estructura está compuesta por piel, pelo y garras, que son menos propicios al quiebre, lo que los hace vulnerables a perder su forma estructural original (Figura 2). Además, al poseer restos de carne expuestos funciona como un sustrato ideal para los microorganismos, razón por la que también poseen la mayor proporción de biodeterioro (Figura 2).

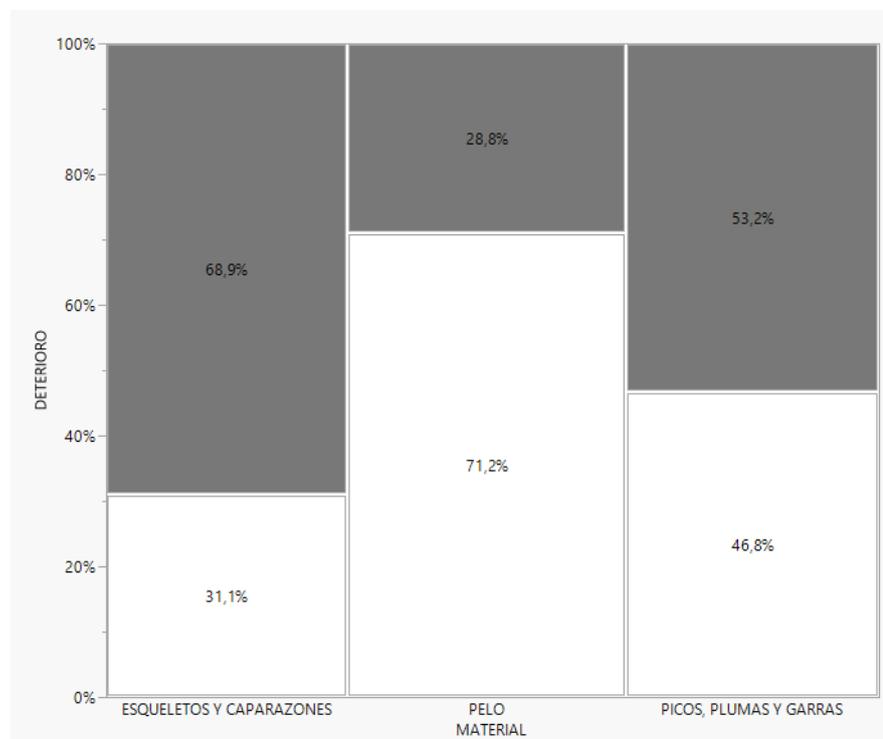


Figura 1. Porcentaje del biodeterioro de los especímenes almacenados en seco en la Colección de Zoología “José Ricardo Cure Hakim” de la Universidad militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia, discriminado por tipo de material. El valor de χ^2 es de 0,0004 y el de R^2 es de 0,0777. En gris se muestra el porcentaje de afectación y en blanco la porción que no se encuentra afectada.

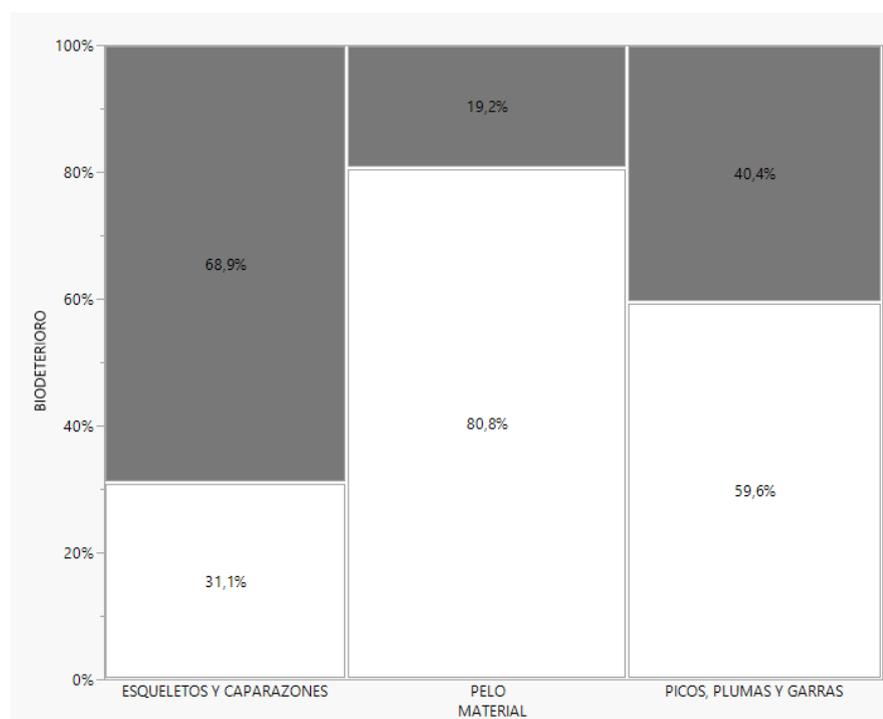


Figura 2. Porcentaje del biodeterioro de los especímenes almacenados en seco en la Colección de Zoología “José Ricardo Cure Hakim” de la Universidad militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia, discriminado por tipo de material, en donde el color gris corresponde a presencia de biodeterioro y el color blanco corresponde a ausencia de biodeterioro. El valor de χ^2 es de 0,0001 y el de R^2 es de 0,1354.

De los 60 especímenes con biodeterioro, los microorganismos encontrados con mayor frecuencia en los aislamientos realizados fueron *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., levaduras, que se caracterizan por estar presentes en el ambiente [8], bacilos Gram positivos, reportados por tener actividad proteolítica [20]. Las levaduras se encuentran relacionadas con la manipulación sin protocolos de seguridad para evitar su proliferación (Figura 3) [7, 21].

En esqueletos y caparazones (Figura 4) específicamente, los microorganismos aislados en su mayoría fueron bacterias y algunas levaduras. Las bacterias suelen proliferar en soportes que son degradados mediante la producción de enzimas, ácidos orgánicos e inorgánicos. Esta actividad enzimática se beneficia por las condiciones ambientales como las fluctuaciones de la temperatura, la humedad relativa y la presencia de material particulado [7]. En el espécimen de la Figura 4a se observa material particulado en la bolsa plástica donde se encuentra almacenada la tortuga, de la cual se aisló un morfotipo bacteriano cuya morfología correspondía a bacilos Gram positivos esporulados (Figura 4b-c) [22]. Este tipo de bacterias tienen la capacidad de subsistir en una amplia gama de sustratos gracias a la producción de endosporas, las cuales son estructuras de resistencia que le permiten sobrevivir en condiciones extremas y una diseminación más eficiente [23]. Aunque no se determinaron las muestras a género, podemos inferir que posiblemente corresponden al género *Bacillus* debido a que son concordantes con la morfología y con las condiciones en las cuales se encuentran almacenadas las muestras, en construcciones sin mantenimiento [24].

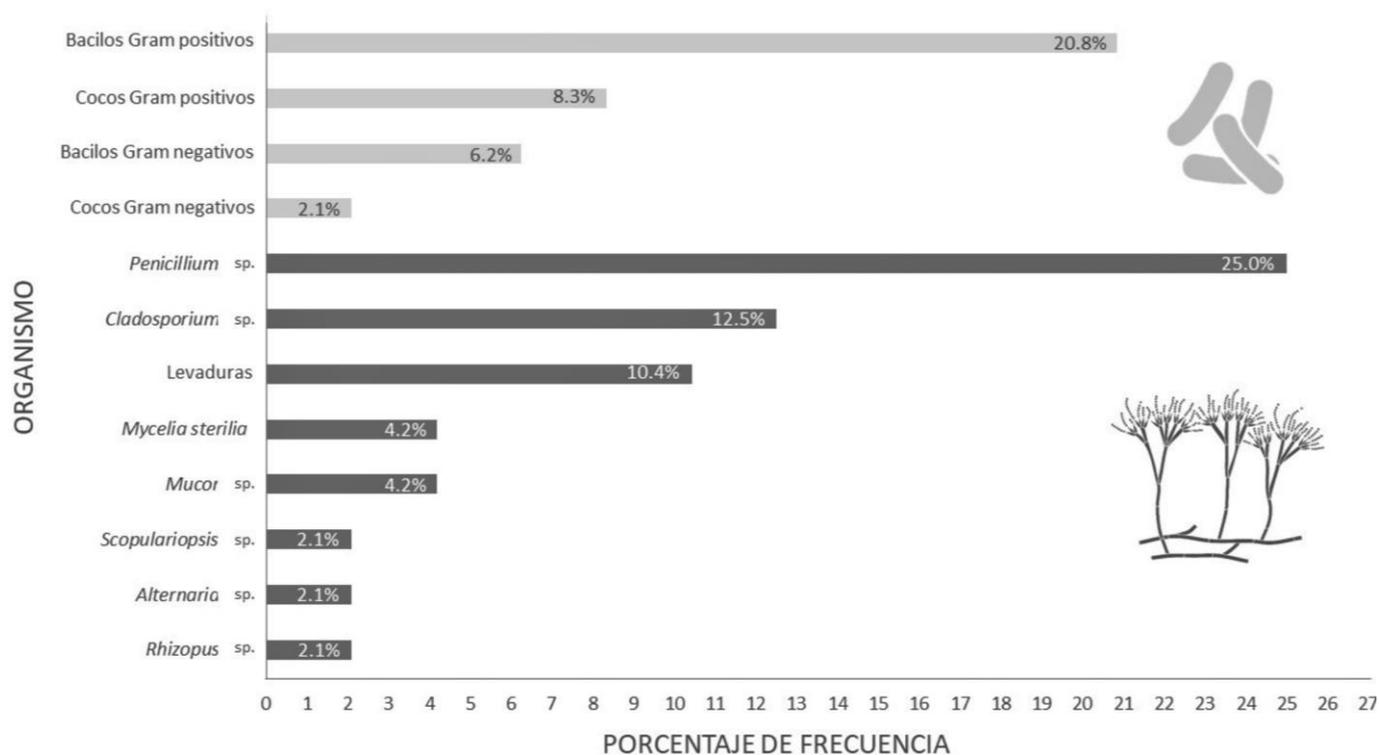


Figura 3. Frecuencia de aparición de los diferentes microorganismos de los especímenes con algún grado de biodeterioro de la Colección de Zoología “José Ricardo Cure Hakim” de la Universidad militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia, con respecto al total de aislamientos obtenidos. Las barras negras ejemplifican las levaduras y hongos, y las barras grises las bacterias.

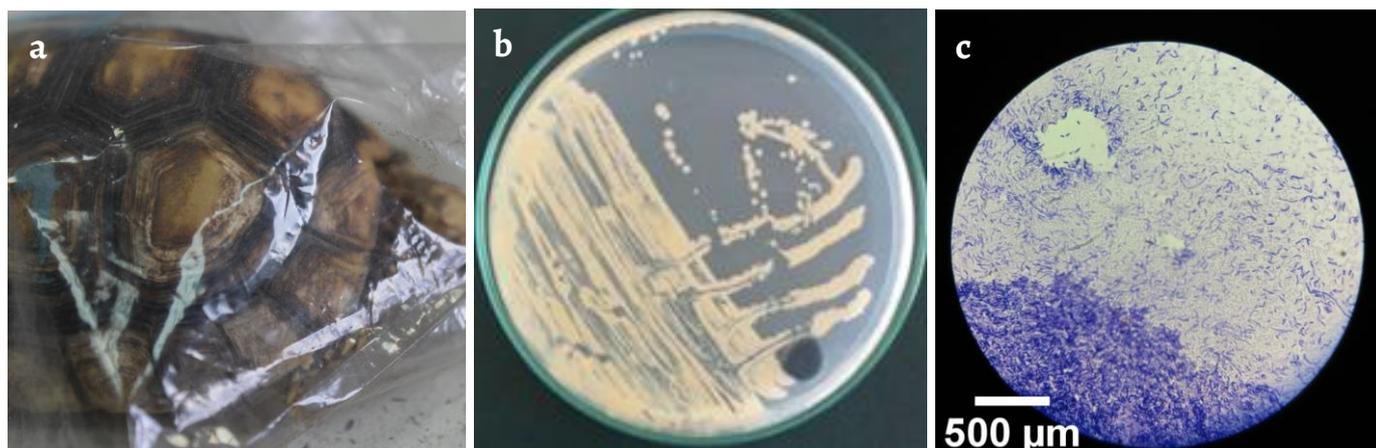


Figura 4. Caparazone: a) Tortuga de colección de docencia almacenada en bolsa plástica; b) morfología macroscópica de la bacteria aislada; c) bacilos Gram positivos esporulados (40×).

Pico, garras y plumas

A partir de sustratos como el pico, garras y plumas de las aves, se aislaron los géneros *Cladosporium*, *Penicillium* y *Scopulariopsis* (Figura 5). Las partes del cuerpo de las aves son ricas en queratina, por lo tanto, son sustratos ideales para que los hongos realicen actividad queratinolítica. Arenas et al. [8] también encuentran los géneros *Cladosporium* y *Penicillium* (Figura 5a-b) en la colección de aves del ICN, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, y resaltan que estos géneros están asociados a la contaminación del aire y son relevantes por su capacidad de realizar actividad celulolítica. Las esporas de estos hongos en los países tropicales como Colombia se encuentran en niveles más altos principalmente por las condiciones de humedad, que beneficia la proliferación de dichas esporas sobre los sustratos, generando una mayor susceptibilidad por parte de sustratos orgánicos e inorgánicos al biodeterioro [20]. Otro de los géneros aislados en este grupo de animales de la colección fue *Scopulariopsis*, (Figura 5c), un hongo filamentososo que causa daños como la pérdida de la integridad estructural, decoloramiento y manchas en materiales orgánicos [25].

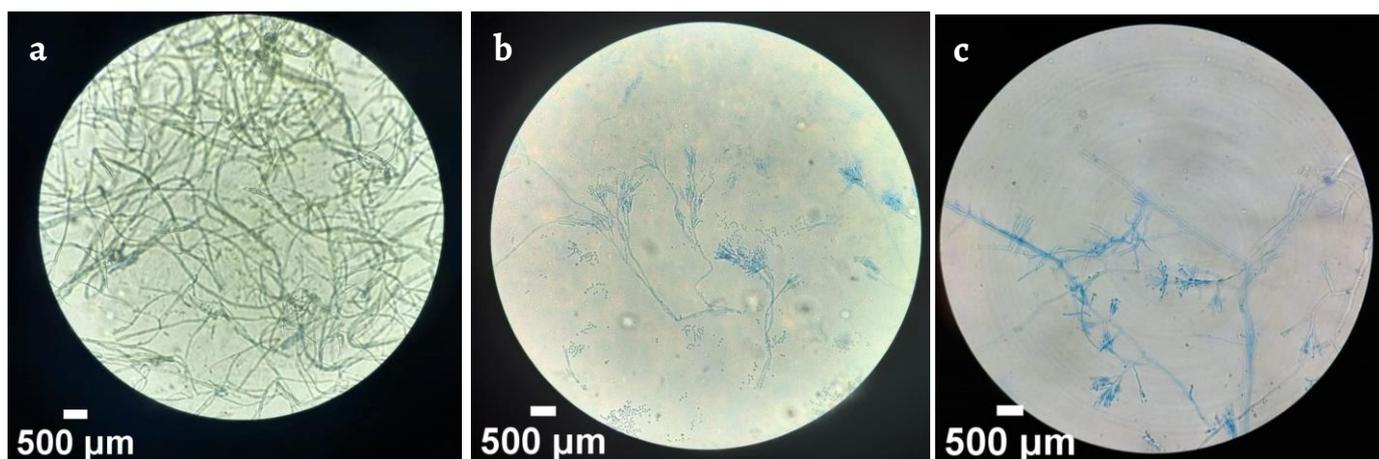


Figura 5. Observación microscópica (100×) de hongos aislados de *Coccyzus americanus* (CZCH-UMNG-Av-018): a) del micelio dematiáceo, septado, con presencia de estructuras reproductivas *Cladosporium* sp.; b) del micelio delgado, hialino, septado con filídes y conidios catenulados, *Penicillium* sp.; c) del hongo aislado, *Scopulariopsis* sp.

Pelo y piel

A partir de sustratos como el pelo y la piel de los mamíferos (Figuras 6a-c) los géneros obtenidos fueron *Mucor*, *Alternaria* y *Rhizopus* (Figura 6d-e y 6i), los cuales han sido reportados anteriormente como generadores de procesos de biodeterioro [26]. El género *Mucor* (Figura 6d) ha sido reportado en museos de zoología con un alto porcentaje de ocurrencia. Al ser aislado de

este sustrato, puede estar relacionado con la capacidad de realizar actividad proteolítica, ya que produce una proteasa ácida que le ayuda a degradar el sustrato [27]. *Alternaria* sp. (Figura 6e) ha sido registrado por producir decadencia en las cadenas del pelo de los especímenes, y juega un papel importante en el biodeterioro de los mismos, si está en un sustrato ideal [28]. Para el género *Rhizopus* (Figura 6i), se ha reportado con un alto porcentaje de ocurrencia en museos de zoología, aunque no se conoce su mecanismo de acción [28]. También se observaron levaduras como *Rhodotorula* y cocos y bacilos Gram positivos (Figura 6f-h).

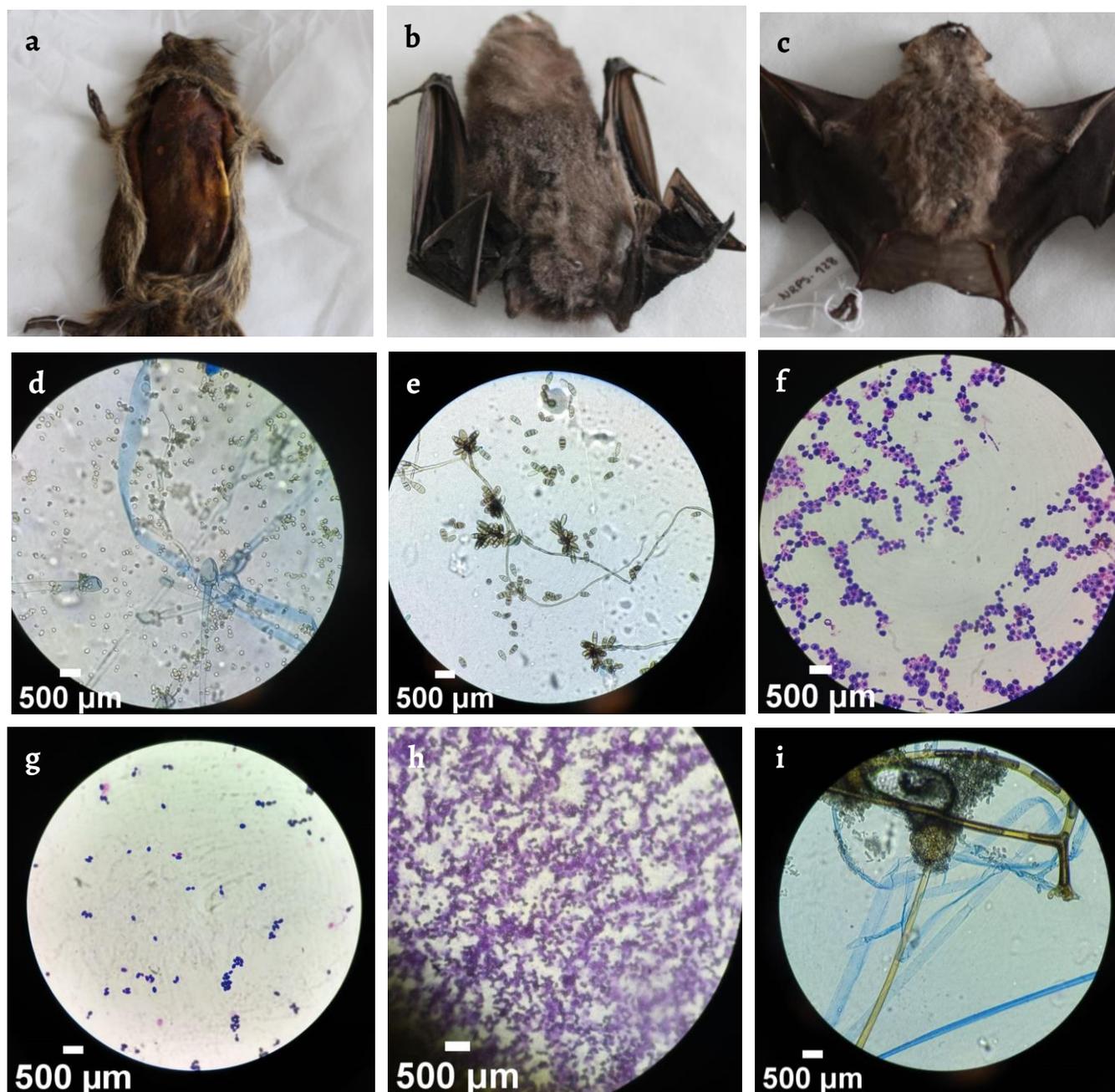


Figura 6. Los mamíferos observados: a) *Cavia aperea*, con manchas de aspecto brillante color rojo sobre la piel; b) *Phyllostomidae* (CZCH-UMNG-M-072) con material pulverulento color café sobre el pelo; c) *Carollia brevicauda* (CZCH-UMNG-M-011) con indicador de material pulverulento café sobre el pelo; Observación microscópica (100×) de: d) estructuras de *Mucor*; e) *Alternaria* sp.; f) cocos Gram positivos; g) células levaduriformes en gemación, *Rhodotorula* sp.; h) bacilos Gram positivos; i) *Rhizopus* sp.

Evaluación de actividad proteolítica

Al obtener en mayor proporción hongos filamentosos, se enfocó en ellos para estimar su actividad proteolítica, concretamente de los microorganismos: *Penicillium* sp., *Micelia sterilia* sp., *Scopulariosis* sp. y *Cladosporium* sp. (pluma de aves) y *Alternaria* sp. (pelo de mamíferos). Inicialmente, fue necesario estandarizar un medio que permitiera evaluar dicha actividad proteolítica. Finalmente, se escogió el medio agar leche basado en Manrique et al. [7], el cual permitió corroborar la actividad proteolítica mediante la observación de halos de degradación.

Los resultados de la actividad proteolítica muestran halos de degradación con un índice de potencia mayor a uno [16] para el hongo *Penicillium* sp.. La prueba de Kruskal Wallis muestra diferencias significativas en el índice de potencia de los cinco hongos filamentosos ($\text{Chi}=22,72$, $P=0,0040$) (Figura 7). *Cladosporium* sp., al obtener valores similares al control, se tuvo en cuenta para ser evaluado en la siguiente fase de evaluación de actividad queratinolítica en pelo y pluma junto con *Penicillium* sp., ya que en las plumas se observó la presencia de pérdida de barbas plumáceas a causa de la actividad del hongo sobre esta (Figura 8). *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. han sido ampliamente reportados debido a que sus esporas muestran una presencia importante en varios ambientes [29]. Otros reportes corroboran que dichos hongos son frecuentes en colecciones que sufren de biodeterioro. En el museo arqueológico ubicado en Jordania, se descubrió que la carga microbiana del interior de sus instalaciones presentaba con mayor frecuencia hongos ambientales como *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp. y *Aspergillus* sp. [30]. Al encontrarse en varios ambientes, se cree que dichos hongos poseen mecanismos para poder degradar grandes cantidades de componentes que les permiten adaptarse y adquirir recursos con mayor facilidad [31].

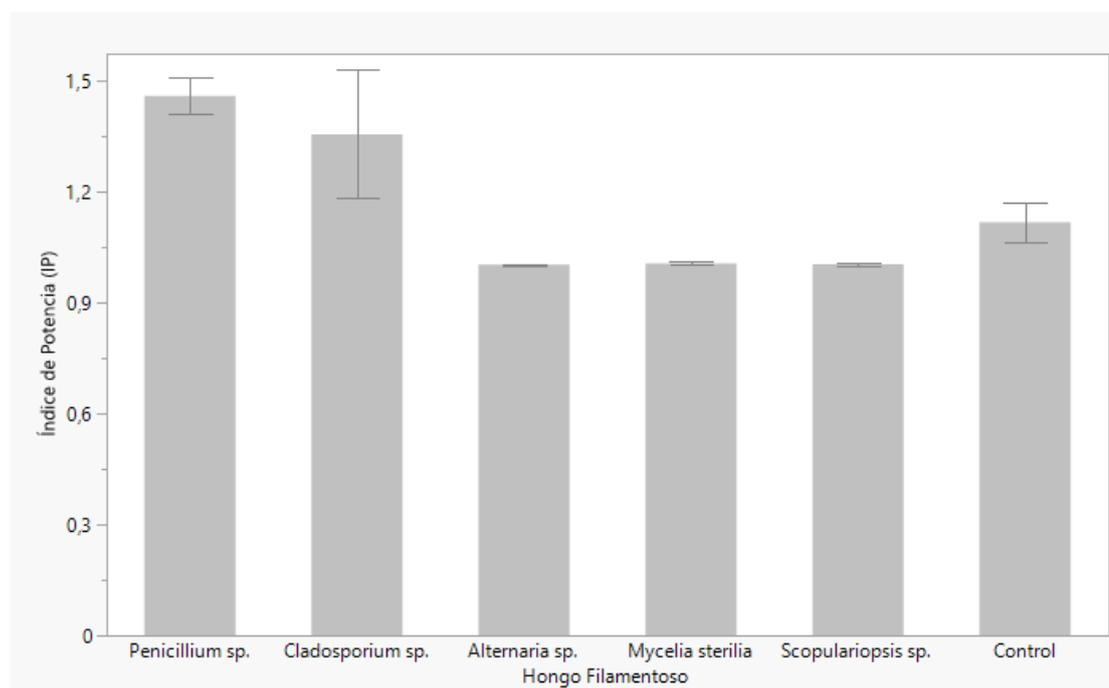


Figura 7. Prueba de Kruskal Wallis (KW; $\text{Chi}=22,72$, $P=0,0040$) mostrando las diferencias entre los índices de potencia (IP) de los hongos filamentosos aislados de plumas, y de pelo de especímenes de la Colección de Zoología “José Ricardo Cure Hakim” de la Universidad militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia.

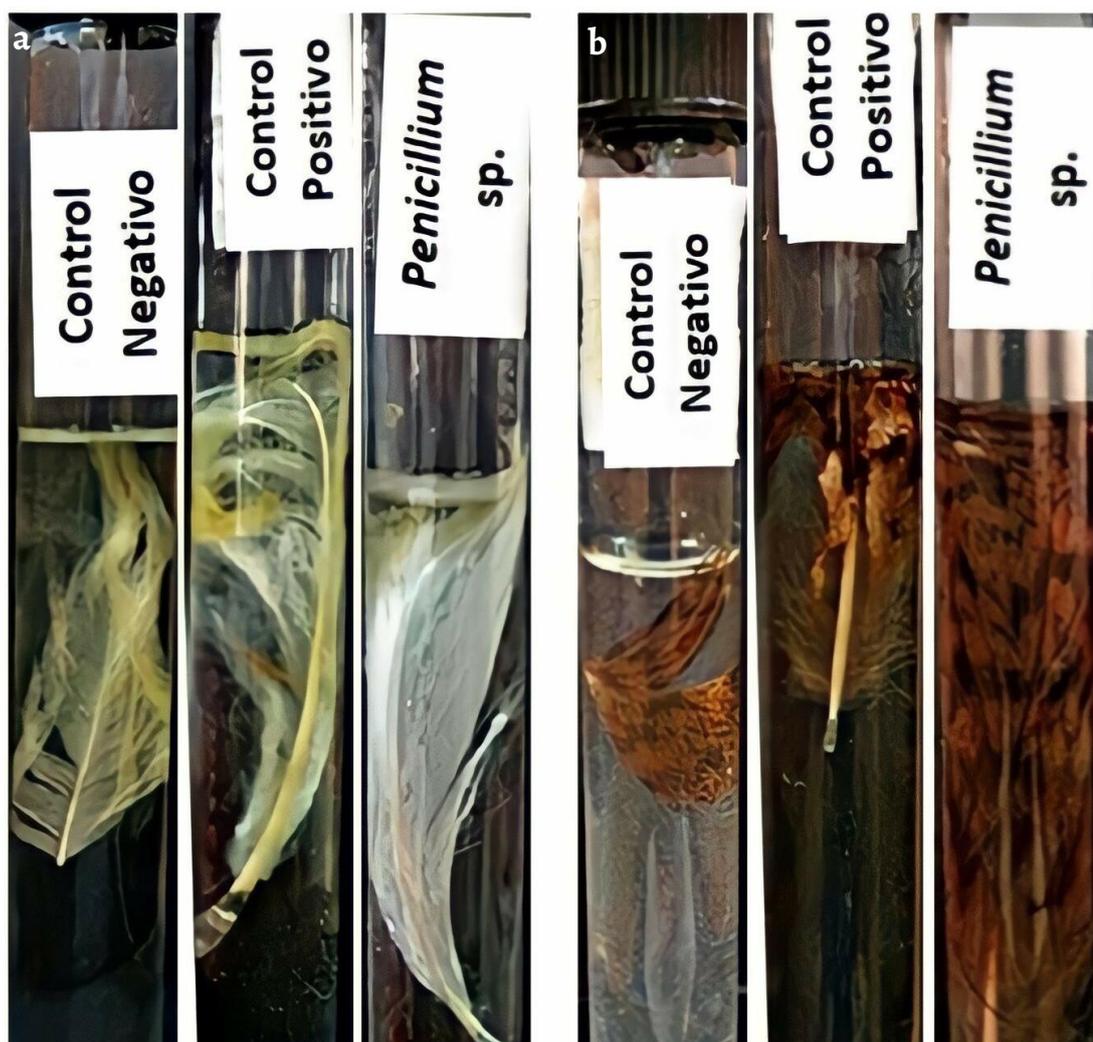


Figura 8. Evaluación de actividad queratinolítica en plumas de especímenes vivos *versus* especímenes depositados en la Colección de Zoología “José Ricardo Cure Hakim” de la Universidad militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia: *a)* hongos filamentosos *Penicillium* sp. en plumas de pato a lo largo de las diferentes semanas, se observa degradación de la pluma de pato frente al control; *b)* hongos filamentosos *Penicillium* sp. en plumas de la CZCH.

Evaluación cualitativa para medir la capacidad de invasión de pelo y pluma

En los resultados de las semanas evaluadas se resalta que, aunque los aislamientos de *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. mostraron actividad proteolítica, ambos tuvieron dificultad para colonizar las plumas de la CZCH-UMNG, en mayor medida para *Cladosporium* sp.. Sin embargo, reportes como los de Miranda-Hoyos y Otoya [17] muestran que evaluando a nivel cuantitativo la actividad queratinolítica de *Penicillium* sp. dicho hongo presenta los valores más altos de colonización (Tabla 1).

Tabla 1. Grado de daño obtenido por los cuatro hongos estudiados después de 36 días de muestreo en pelo de perro, y pelo de mamífero de la CZCH-UMNG-M-066; el valor obtenido es la suma de las características de invasión que puede tener un hongo en un sustrato, valores altos indican mayores daños en el pelo.

Tipo de pelo	Hongo	Valor	Grado daño
Perro	Control 1 <i>Microsporium gypseum</i>	7	3
	Control 2 <i>Colletotrichum</i> sp.	5	2
	<i>Penicillium</i> sp.	5	2
Colección <i>Didelphis pernigra</i> M-066	<i>Cladosporium</i> sp.	2	1
	Control 1 <i>Microsporium gypseum</i>	10	3
	Control 2 <i>Colletotrichum</i> sp.	11	3
	<i>Penicillium</i> sp.	8	3

A nivel cualitativo, se observó una colonización en pluma de pato desde el día 7 hasta el día 31 con una disminución considerable de barbas plumáceas para la pluma inoculada por *Penicillium* sp.. No obstante, en las plumas de la CZCH-UMNG se evidenció una degradación menor con respecto a la magnitud presente en las plumas de pato. Este hecho puede deberse a que las características estructurales de la pluma de la colección son diferentes al presentar una coloración intensa, ya que colores más oscuros indican una mayor cantidad de melanina, lo que le dificulta al hongo la capacidad de penetrar el sustrato [29]. Además, ambos tipos de plumas fueron lavados y esterilizados previamente para tener las mismas condiciones.

En el caso de los aislamientos de *Cladosporium* sp., no se observó colonización por parte del hongo en ninguna de las plumas. Esto puede indicar que, aunque cuente con los mecanismos enzimáticos para degradar, el hongo necesitaría de una mayor cantidad de tiempo o condiciones de incubación diferentes para lograrlo. Cabe resaltar que la prueba se realizó a temperatura ambiente imitando las condiciones de almacenamiento de la colección, por lo que es posible que si se hubiera cambiado la temperatura de incubación se habría favorecido el proceso de colonización.

El control positivo fue *Colletotrichum* sp. basado en el trabajo de Gómez [13], donde realizó un estudio de actividad queratinolítica en pelo, y los resultados mostraron que *Colletotrichum* sp. fue el aislamiento más agresivo en cuanto al estudio de actividad queratinolítica en pluma, ya que fue el que más causó pérdida de barbas plumáceas.

Invasión de hongos filamentosos en pelo

Se obtuvo un mayor grado de daño en las muestras de pelos de la colección, ya que tres de los cuatro aislamientos presentaron el mayor grado de deterioro en comparación con los resultados en pelo de perro, donde solo el control 1 de *Microsporum gypseum* llegó a la escala máxima (Tabla 1). Esto se pudo deber a que, aunque el pelo de la colección mostró invasión en los pelos más oscuros, el individuo (*Didelphis pernigra*) tenía zonas claras y oscuras, es decir que en la colección se presentaban fibras capilares con poca o igual cantidad de melanina que en el caso del pelo de perro (Golden retriever), permitiendo que los hongos filamentosos invadieran primero dichas estructuras (Figura 9). Al comparar los resultados se obtuvo una invasión más rápida en el pelo de perro mostrando sacos de hifas desde el inicio. Esto se pudo deber a la diferencia entre la estructura de la queratina de los dos diferentes tejidos y que posiblemente las fibras de pelo ya hayan tenido una degradación previa facilitando su invasión [13].

Un estudio realizado por Betancourt y colaboradores [32] aisló hongos no dermatofitos de pelo en gatos, obteniendo *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp.. Estos hongos son conocidos por ser queratinofílicos oportunistas o bien por contar con formas de ataque similares a los hongos queratinolíticos [28]. *Penicillium* sp. muestra que es capaz de infligir un grado de daño alto en pelo de la colección y de perro. El hongo *Cladosporium* sp. mostró que puede crecer y formar sacos de hifas, además de utilizar un mecanismo de tipo ectotrix en cuanto a la invasión del pelo. Posiblemente, este hongo tenga la capacidad de degradar el sustrato debido a su maquinaria enzimática, aunque los factores ambientales no propicien que esto ocurra.

Esto genera preocupación debido al origen de donde se colectó la muestra, mostrando que se encuentran a la espera de que se den las condiciones óptimas para poder desarrollarse. Cabe resaltar que estos hongos pueden colonizar las vías respiratorias en el ser humano, generando alergias y produciendo reactividad cutánea o neumonía [32], por lo que personas que manipulan la colección pueden verse afectadas por la presencia de estos hongos. La literatura muestra que algunas especies de *Cladosporium* sp. son agentes etiológicos en humanos, es decir, capaces de producir enfermedades [33].

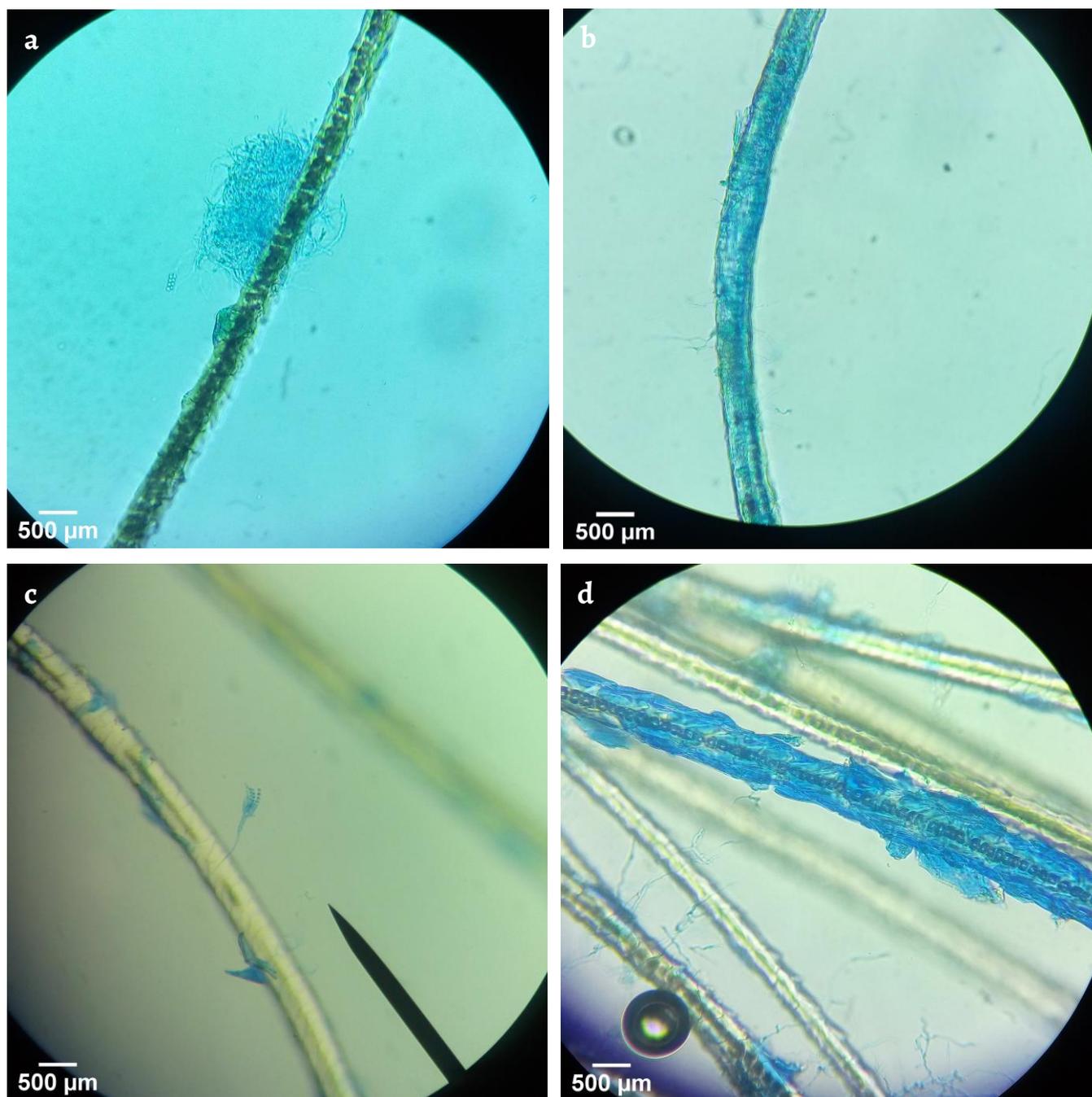


Figura 9. Evaluación de actividad queratinolítica de *Penicillium* sp. en pelo de perro versus especímenes de *Didelphis pernigra* depositados en la Colección de Zoología “José Ricardo Cure Hakim M-066” de la Universidad Militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia (40 ×): a) en especímenes de colección Día 7; b) especímenes de colección Día 36; c) en pelo de perro Día 7; d) en pelo de perro Día 36.

Conclusión

El 48,6% de la colección de zoología se encontraba afectada por deterioro de tipo físico, químico o biológico. El 41,1% de la colección zoológica se encuentra con algún indicador de biodeterioro. Las pruebas estadísticas indican que, aunque existe una relación entre el tipo de material y el proceso de biodeterioro y deterioro, es posible que otros factores como el método de almacenamiento, el protocolo de montaje, y la carga ambiental pueden estar generando el biodeterioro y deterioro de los especímenes. Los hongos más representativos encontrados tanto en pelo como en plumas fueron el género *Penicillium* sp. seguido por el género *Cladosporium* sp..

Se demostró que el mecanismo principal de biodeterioro es la actividad proteolítica, específicamente la actividad queratinolítica. En la evaluación de la capacidad de colonización y daño en plumas y pelo, se evidenció principalmente a *Penicillium* sp. como el hongo más agresivo en la invasión de estos materiales.

El estado de conservación actual de la colección de zoología es crítico y está relacionado con las prácticas de manejo y las condiciones ambientales donde se encuentra almacenada, lo cual indica que los hongos aislados representan un gran riesgo para la conservación de los especímenes al contar con la capacidad de degradar los sustratos que los componen.

Agradecimientos

Agradecemos a la laboratorista Mónica Melo por su apoyo técnico, a la sección de Arte y cultura de la UMNG y Programa de Biología Aplicada por la financiación de este proyecto. Este manuscrito contó con la retroalimentación de la Dra. Maribeb Castro González, MSc. Mariana Restrepo, y de los miembros del Semillero de Evolución y Conservación (SEC), en especial de Natalia Suárez Ayala.

REFERENCIAS

1. Simmons, J. E. y Muñoz-Saba, Y. (Eds.), *Cuidado, manejo y conservación de las colecciones biológicas*, vol. 1, Conservación internacional, Bogotá (2005), <https://www.researchgate.net/publication/266249611> (acceso en 2023-05-17)
2. Cristín, A.; Perrilliat, M. del C., 'Las colecciones científicas y la protección del patrimonio paleontológico', *Boletín de la sociedad geológica mexicana* **63**(3) (2011) 421-427, https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-33222011000300004 (acceso en 2023-05-17).
3. Cotterill, F., 'The second Alexandrian tragedy, and the fundamental relationship between biological collections and scientific knowledge', in *The value and valuation of natural science collections*, vol. I, eds. J. R. Nudds y C. W. Pettitt, The Geological Society, London (1997), 227-241. <https://www.researchgate.net/publication/236108929> (acceso en 2023-05-17).
4. Pyke, G. H.; Ehrlich, P. R., 'Biological collections and ecological/environmental research: a review, some observations and a look to the future', *Biological Reviews* **85**(2) (2010) 247-266, <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2009.00098.x>.
5. Carter, D. J.; Walker, A. K., 'Policies and procedures', in *Care and conservation of Natural History collections*, eds. D. Carter y A. Walker, Butterworth Heinemann, Oxford (1999) 177-192, <https://www.natsca.org/sites/default/files/publications/> (acceso en 2021-12-18).
6. Allsopp, D.; Seal, K. J.; Gaylarde, C. C., *Introduction to biodeterioration*, vol. 24, 2 ed., Cambridge University Press, Cambridge (2004), <https://www.cambridge.org/core/books/> (acceso en 2023-05-17).
7. Manrique Hernández, A. L.; Patiño Ramírez, M. C.; Angulo, S.; Villalba Corredor, L. S.; Rodríguez Bocanegra, M. X.; Gutiérrez Chaves, A. C., 'Estudio del microdeterioro del fondo documental Anselmo Pineda de la Biblioteca Nacional de Colombia', *Revista Conservamos* **5** (2012) 3-31, https://catalogoenlinea.bibliotecanacional.gov.co/client/es_ES/search/asset/137886 (acceso en 2021-12-18).
8. Arenas-Castro, H.; Muñoz-Gomez, S. A.; Uribe-Acosta, M.; Castano-Castano, L.; Lizarazo-Medina, P. X., 'Richness cellulolytic activity, and fungicide susceptibility of fungi from a bird biological collection', *Acta biológica Colombiana* **21**(1) (2016) 167-173, <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1.49240> (acceso en 2021-12-18).
9. Stephen, L. W., 'Appendix T: curatorial care of biological collections', in *The museum handbook part I: Museum Collections*, NPS Museum Handbook, Washington DC (2005) T1-T119, <https://www.nps.gov/museum/publications/MHI/AppendixT.pdf> (acceso en 2021-12-18).
10. Ossa L., P. A.; Giraldo M., J. M.; López G., G. A.; Dias, L. G.; Rivera P., F. A., 'Colecciones biológicas: una alternativa para los estudios de diversidad genética', *Boletín científico. Centro de museos. Museo de historia natural* **16**(1) (2012) 143-155, <http://www.scielo.org.co/pdf/bccm/v16n1/v16n1a12.pdf> (acceso en 2021-12-18).
11. Barnett, H. L.; Hunter, B. B., *Illustrated genera of imperfect fungi*, The American Phytopathological Society, St. Paul (1998), <https://www.academia.edu/35499449/> (acceso en 2021-12-18).
12. Whitlock, M.; Schluter, D., *The analysis of biological data*, 2 ed, WH Freeman, New York (2020), <https://whitlockschluter.zoology.ubc.ca/> (acceso en 2023-05-17).
13. Gómez, F., *Evaluación de la actividad queratinolítica en pelo de Fusarium spp. asociados a procesos patogénicos en humanos, animales y plantas*, ms., Tesis de pregrado, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C. (2011).
14. Hernández Martínez, R.; López Benítez, A.; Borrego Escalante, F.; Espinoza Velázquez, J.; Sánchez Aspeytia, D.; Maldonado Mendoza, I. E.; López Ochoa, L. A., 'Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en predios tomateros en San Luis Potosí', *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* **5**(7) (2014) 1169-1178, <https://www.redalyc.org/pdf/2631/263131533003.pdf> (acceso en 2023-05-12).
15. Ortoneda, M.; Guarro, J.; Madrid, M. P.; Caracuel, Z.; Roncero, M. I.; Mayayo, E.; Di Pietro A., '*Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals', *Infection and Immunity* **72**(3) (2004) 1760-1766, <http://dx.doi.org/10.1128/iai.72.3.1760-1766.2004>.
16. Tapia, F.; Moreno, P., *Formulación de medios de cultivo y producción de Bacillus thuringiensis var. Kurstaki*, ms., Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina, La estancia, Perú (2012).

17. Miranda-Hoyos, S. M.; Otoyá, N., Evaluación de la actividad queratinolítica de aislamientos de *Fusarium* spp. De origen humano, animal y vegetal, ms., Tesis de pregrado, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá (2016).
18. Gibson-Corley, K. N.; Olivier, A. K.; Meyerholz, D. K., 'Principles for valid histopathologic scoring in research', *Veterinary of Pathology* **50**(6) (2013) 1007-1015, <https://doi.org/10.1177/0300985813485099>.
19. Moreira, F. G.; de Souza, C. G. M.; Costa, M. A. F.; Reis, S.; Peralta, R. M., 'Degradation of keratinous materials by the plant pathogenic fungus *Myrothecium verrucaria*', *Mycopathologia* **163** (2007) 153-160, <https://doi.org/10.1007/s11046-007-0096-3>.
20. Borrego, S. F.; Pons, V.; Perdomo, I., 'La contaminación microbiana del aire en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba', *CENIC Ciencias Biológicas* **39**(1) (2008) 63-69, <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181214889005> (acceso en 2021-12-18).
21. Valentin, Nieves; García, R. El biodeterioro de materiales orgánicos. *Jornadas Monográficas Prevención del biodeterioro en archivos y bibliotecas. Instituto del Patrimonio Histórico Español* **14** (2004) 15-84, <https://citeseerx.ist.psu.edu/document>.
22. Rosero Lasprilla, L.; Lizarazo Forero, L. M.; Gómez Bernal, C. M.; Álvaro Alba, W. R.; Landínez Torres, Á. Y.; Lagos López, M. I.; Acosta Vega, N. L.; Zabala Rivera, J. C.; Hernández-Buitago, S. M.; Dáz Suárez, H. A.; Meneses Ortegón, L. A.; Díaz Tamayo, E. R., 'Identificación de agentes contaminantes de la colección del herbario de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja (Boyacá-Colombia)', *CONEXAGRO JDC* **4**(2) (2014) 25-44, <https://www.researchgate.net/publication/303718891> (acceso en 2021-12-18).
23. Guiamet, P.; Lavin, P.; Gómez, A.; Gómez de Saravia, S., 'Biodeterioro en acervos documentales: incidencia del ambiente', in *2do. Congreso Iberoamericano y X Jornada "Técnicas de Restauración y Conservación del Patrimonio"*, Argentina, (2011) 1-9, [Microsoft Word - COIBRECOPA enviado \(core.ac.uk\)](https://www.core.ac.uk/document/181214889005) (acceso en 2021-12-18).
24. Atrih, A.; Foster, S. J., 'Bacterial endospores the ultimate survivors', *International Dairy Journal* **12**(2-3) (2002) 217-223, [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00157-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00157-1).
25. Mandrioli, P.; Caneva, G.; Sabbioni C. (Eds), *Cultural heritage and aerobiology: methods and measurement techniques for biodeterioration monitoring*, Springer, Dordrecht (2003) <https://doi.org/10.1007/978-94-017-0185-3>.
26. Páramo-Aguilera, L.; Ortega-Morales, B. O.; Narváez-Zapata, J. A., 'Culturable fungi associated with urban stone surfaces in Mexico City', *Electronic Journal of Biotechnology* **15**(4) (2012) 4-4, <http://doi.org/10.2225/vol15-issue4-fulltext-6>.
27. Ottesen, M.; Rickert, W., 'The isolation and partial characterization of an acid protease produced by *Mucor miehei*', *Comptes rendus des Travaux du Laboratoire Carlsberg* **37**(14) (1970) 301-325.
28. Grabek-Lejko, D.; Tekiel, A.; Kasprzyk, I., 'Risk of biodeterioration of cultural heritage objects, stored in the historical and modern repositories in the Regional Museum in Rzeszow (Poland). A case study', *International Biodeterioration and Biodegradation* **123** (2017) 46-55, <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.05.028>.
29. Shabbir, A.; Khan, M. A.; Khan, A. M.; Iqbal, M.; Ahmad, F., 'Fungal biodeterioration: a case study in the zoological museum of the Punjab University', *Journal of Animal and Plant Sciences* **17**(3-4) (2007) 90-92, <https://www.researchgate.net/publication/268116951> (acceso en 2021-12-18).
30. *Manual básico de microbiología*, 4 ed., Cultimed, s.l.(2003), https://issuu.com/sardilacc/docs/panreac_-_manual_microbiologia_2003 (acceso en 2021-12-18).
31. Mallo, A. C.; Nitiu, D. S.; Eliades, L. A.; Saparrat, M. C. N., 'Fungal degradation of cellulosic materials used as support for cultural heritage', *International Journal Of Conservation Science* **8**(4) (2017) 619-632, <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/71511> (acceso en 2021-12-18).
32. Betancourt, O.; Zaror, L.; Senn, C., 'Aislamiento de hongos filamentosos desde pelaje de gatos sin lesiones dérmicas en Temuco, Chile', *Revista Científica* **23**(5) (2013) 380-387, <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95928428003> (acceso en 2021-12-18).
33. Wang, B.; Yang, W.; McKittrick, J.; Meyers, M. A., 'Keratin: structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration', *Progress in Materials Science* **76**(2016) 229-318, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmatsci.2015.06.001>.

RECIBIDO: 2022.1.11

REVISTO: 2022.6.12

ACEPTADO: 2022.6.24

ONLINE: 2023.7.9



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
AtribuciónNoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional.

Para ver una copia de esta licencia, visite

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>