

Actividad biocida de dos plantas cosechadas en Cuba contra hongos aislados del ambiente de depósitos de archivos

Biocidal activity of two plants harvested in Cuba against isolated fungi from the archive repositories environments

Oderlaise Valdés Pérez
Sofía F. Borrego Alonso
Karla Martínez Puldón
Yarelis Ortiz Nuñez

INTRODUCCIÓN: Los hongos son los principales agentes biológicos causantes del biodeterioro en documentos patrimoniales. La colonización fúngica está favorecida por los altos valores de humedad relativa y temperatura de climas tropicales. Los productos empleados en su control están compuestos por sustancias químicas con efectos nocivos sobre las personas, además de acelerar el deterioro de los materiales. En la actualidad se continúa a la búsqueda de alternativas como es el uso racional de productos naturales provenientes de plantas. **OBJETIVO:** Evaluar la actividad antifúngica de los aceites esenciales de caisimón de anís y caña santa frente a cuatro cepas fúngicas aisladas del ambiente de depósitos del Archivo Nacional de Cuba. **METODOLOGÍA:** Se empleó el método de difusión por en agar mediante la técnica de los pocillos, se emplearon como controles positivos timol al 5 % y cloruro de benzalconio al 10 %. **RESULTADOS:** Ambos aceites esenciales mostraron actividad antifúngica positiva ante todas las cepas a la concentración del 50 %, con excepción del *Aspergillus flavus* en el primer caso y *Aspergillus niger* para el último. La actividad de ambos aceites fue negativa al 10 % para todas las cepas, excepto el aceite esencial de caña santa frente a *Penicillium aurantiogriseum*; además, se observó afectación en la conidiogénesis del género *Aspergillus*. **CONCLUSIONES:** Los resultados fueron similares entre los aceites estudiados y el timol al 5 %, siendo superiores al cloruro de benzalconio al 10 %, asimismo se evidenció afectación en la conidiogénesis del género *Aspergillus*, lo cual restringe la contaminación de los documentos y del personal.

Palabras clave: Actividad antifúngica; aceites esenciales; biodeterioro; hongos filamentosos; conservación.

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCTION: Fungi are the main biological agents that cause biodeterioration in heritage documents. Fungal colonization is favored by high values of relative humidity and temperature in tropical climates. Products used in their control are composed of chemicals with harmful effects on people and accelerate the deterioration of materials. Today we continue to search for alternatives such as the rational use of natural products from plants. **PURPOSE:** Evaluate the antifungal activity of anise and lemongrass essential oils against four fungal strains isolated from indoor air of repositories of the National Archives of Cuba. **METHODOLOGY:** The hole-plate diffusion in agar plate method was used. As controls thymol 5% and benzalkonium chloride 10% were used. **RESULTS:** Both essential oils showed positive antifungal activity against all strains at the concentration of 50%, except in *Aspergillus flavus* in the first case and *Aspergillus niger* for the last. The activity of both oils was negative 10% for all strains except the essential oil of lemongrass against *Penicillium aurantiogriseum*, also affectation was observed in the conidiogenesis the genus *Aspergillus*. **CONCLUSIONS:** The results were similar between the studied oils and thymol 5%, being superior than the benzalkonium chloride 10%; besides, affectation in the conidiogenesis of genus *Aspergillus* was observed, which restricts pollution of documents and staff.

Keywords: Antifungal activity; essential oils; biodeterioration; filamentous fungi; conservation.

Introducción

El patrimonio cultural está expuesto constantemente a la influencia del ambiente (Guamet *et al.* 2011). Factores físicos, químicos y biológicos interactúan sobre los materiales y provocan cambios en su estructura y composición. El deterioro se define como el cambio indeseado de las propiedades físico-químicas de los diferentes materiales; la intensidad del mismo está en función de la composición del material, las condiciones ambientales, los agentes biológicos, entre otros. Cuando el deterioro es causado por la actividad vital de los organismos recibe el nombre de biodeterioro (Allsopp *et al.* 2004).

Los archivos y bibliotecas atesoran documentos de gran valor patrimonial, la mayoría de los cuales están constituidos de material orgánico, susceptible al ataque de diferentes agentes biológicos que lo utilizan como sustrato. En estos ambientes, los hongos son los causantes mayoritarios del biodeterioro, ellos tienen mayor adaptabilidad que las bacterias a condiciones ambientales como: niveles bajos de humedad relativa, amplio rango de temperaturas y pH, entre otros (Lavin *et al.* 2014). En países tropicales el clima se caracteriza por altos valores de temperatura y humedad relativa. En Cuba las fluctuaciones de estos parámetros condicionan el desarrollo de microorganismos en los documentos, principalmente de los hongos (Molina *et al.* 2014). La colonización fúngica provoca alteraciones irreversibles y la consecuente pérdida del valor patrimonial de los documentos (Gómez de Saravia *et al.* 2013).

Estudios de caracterización de la microbiota ambiental en depósitos de archivos y bibliotecas demuestran que representantes de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium* están entre los hongos predominantes y muestran un alto potencial biodeteriorígeno (Micheluz *et al.* 2015; Borrego & Perdomo 2012, 2014; Molina & Borrego 2014). En Cuba especies de los grupos *Aspergillus flavus*, *A. niger*, el complejo *Cladosporium cladosporioides* así como otras especies de *Penicillium* spp. se han reportado entre las de mayor poder biodeteriorígeno para documentos en papel (Rojas & Aira 2012, Borrego *et al.* 2015; Borrego & Perdomo 2014; Borrego *et al.* 2016; Molina & Borrego 2015).

Varios países han venido desarrollando importantes estudios acerca de la utilización de productos inocuos provenientes de plantas para el control del biodeterioro (Sequeira *et al.* 2012; Borrego *et al.* 2012; Morales *et al.* 2013; Gómez de Saravia *et al.* 2013; Borrego-Alonso, 2015; Borrego *et al.* 2016; Caminiti *et al.* 2016; Pietrzak *et al.* 2016; Shaban *et al.* 2016), debido a que los productos químicos que tradicionalmente son empleados como antifúngicos, pueden causar daños estructurales y estéticos en los documentos, perjuicios en la salud del personal que está en contacto con ellos, así como al ambiente circundante (Stupar *et al.* 2014). En la actualidad, existe gran interés de los científicos por el uso de productos naturales, tal es el caso de los aceites esenciales (AE) que por sus propiedades antifúngicas resultan ser efectivos en el control del biodeterioro fúngico y además constituyen una alternativa ecológica para el medio ambiente (Borrego-Alonso 2015). El Archivo Nacional de la República de Cuba (ARNAC) es el centro que atesora la mayor cantidad de documentos de interés patrimonial de la nación cubana, la mayoría de ellos en soporte papel.

Desde hace algunos años, sus especialistas vienen realizando investigaciones relacionadas con el uso de AE como biocidas en el control del biodeterioro. De ahí que el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antifúngica de AE provenientes de plantas frente a cepas de cuatro especies fúngicas predominantes en el ambiente de depósitos documentales del ARNAC.

Metodología

Obtención de los productos

Se emplearon AE de *Piper auritum* (caisimón de anís, CA) y *Cymbopogon citratus* (caña santa, CS) donados por el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT). Los aceites se obtuvieron por el método de hidrodestilación por medio de un destilador Clevenger durante 3 h a partir de material seco.

Preparación del inóculo de las cepas fúngicas a evaluar

Se emplearon cuatro cepas fúngicas

(*Aspergillus niger*, *Aspergillus. flavus*, *Penicillium aurantiogriseum* y *Cladosporium cladosporioides*) que se consideraron las más frecuentes en los diferentes muestreos ambientales realizados en los depósitos del ARNAC (Borrego *et al.* 2012; Molina & Borrego 2014; Borrego & Perdomo 2014, 2016). Cada cepa se hizo crecer en cuñas de Agar Extracto de Malta (AEM) se incubaron a 30°C durante siete días. Luego del crecimiento, se realizaron suspensiones de conidios en una solución acuosa de cloruro de sodio al 0,85% (p/v) y Tween 80 al 0.1% (v/v) y se ajustaron a 10⁵ conidios/mL mediante conteo en cámara de Neubauer (Araujo *et al.* 2004).

Preparación del producto a evaluar y sus concentraciones

Se evaluaron los AE a dos concentraciones (50 y 10%, v/v) disueltos en etanol al 70%. Como controles positivos se emplearon solución de timol al 5% (p/v) en etanol al 70%, utilizado como biocida en la conservación y restauración de documentos (Araujo *et al.* 2004) y una solución acuosa de cloruro de benzalconio al 10% (v/v) cuyo nombre comercial es Newdes, que es ampliamente usada en tratamientos del patrimonio cultural (Stupar *et al.* 2014). Como control negativo se usó etanol al 70%.

Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro*.

Para evaluar la actividad antifúngica de los AE se empleó el método de difusión en agar mediante la técnica de los pocillos (Trivedi & Hotchandani 2004). En los pocillos se dispuso 10 iL de cada concentración del AE analizado así como de cada producto control correspondiente. Las placas se incubaron a 30°C por siete días. Los ensayos se realizaron por triplicado. Para determinar la susceptibilidad de las cepas al aceite se midieron los halos de inhibición total del crecimiento fúngico (ITCF) (Borrego *et al.* 2012) y de inhibición parcial de la esporulación (IPE).

Resultados y discusión

La actividad antimicrobiana que poseen los AE de muchas plantas está ampliamente reportada (Sequeira *et al.* 2012; Morales *et al.* 2013; Borrego-Alonso, 2015). Muchos de estos productos interfieren con algún

estadio del ciclo de reproducción asexual en hongos (Stupar *et al.* 2014). Por esta razón, la comunidad científica dedicada a la conservación del patrimonio cultural ha estudiado la actividad de AE contra microorganismos aislados tanto de documentos dañados como del ambiente de archivos, bibliotecas y museos (Borrego *et al.* 2012; Gómez de Saravia *et al.* 2013; Lavin *et al.* 2013; Borrego *et al.* 2016; Caminiti *et al.* 2016; Pietrzak *et al.* 2016; Shaban *et al.* 2016). No obstante, dichos estudios aún son insuficientes (Borrego-Alonso 2015), y en la actualidad no se dispone de suficientes productos comerciales a base de sustancias vegetales para el tratamiento de colecciones patrimoniales infestadas por hongos (Morales *et al.* 2013).

Los resultados obtenidos tanto en la inhibición total del crecimiento fúngico (ITCF) como IPE de las cuatro cepas fúngicas se muestran en (Tabla 1). En relación a la ITCF el AE de caña santa (CS) al 50% mostró una pronunciada actividad positiva para todas las cepas a excepción de *Aspergillus flavus* donde la actividad fue negativa. El AE de caisimón de anís (CA) al 50% mostró similar respuesta con todas las cepas menos con *Aspergillus niger* donde la actividad fue negativa. La actividad antifúngica fue nula cuando la concentración de ambos AE bajó a 10%, menos en el caso de CS frente a *Penicillium aurantiogriseum* donde se observó una actividad moderada. La actividad antifúngica de los aceites a la concentración de 50% fue similar a los obtenidos con timol al 5% y superiores a los de cloruro de benzalconio al 10% (solución de Newdes) en este estudio.

Respecto a la IPE solo se evidenció para el AE de CS al 10% frente a *Aspergillus niger* y *A. flavus*. La IPE (Fig. 1) resulta una respuesta de interés, dado a que aunque los hongos son capaces de reproducirse por fragmentos de micelio, hifas aéreas, conidios (esporas asexuales) y esporas producidas de forma sexual, la germinación de los conidios es la manera más común de reproducción en la mayoría de los hongos (Madigan *et al.* 2011) y por tanto, la de mayor interés en el área de la conservación de documentos. Es a través de este mecanismo que los hongos son capaces de colonizar otras partes del sustrato y alcanzar incluso, otros materiales que se encuentren distantes. Los conidios generalmente presentan una morfología que posibilita su dispersión por el aire a largas distancias (Almaguer & Rojas 2013). Es por tanto, la inhibición de la

conidiogénesis una respuesta importante en un producto candidato a ser utilizado como antifúngico en el área de la conservación de documentos.

La actividad biocida de los productos naturales provenientes de plantas se atribuye a la existencia de metabolitos secundarios en sus componentes, estos sirven a la planta como defensa contra el ataque de los microorganismos, insectos, entre otras funciones (Montes-Belmont 2009). Entre estos componentes se encuentran terpenos, fenoles y aldehídos aromáticos (Sequeira *et al.* 2012) cuyas actividades antifúngicas han sido evaluadas con anterioridad (Rakotonirainy & Lavédrine 2005).

Varios autores han realizado estudios de

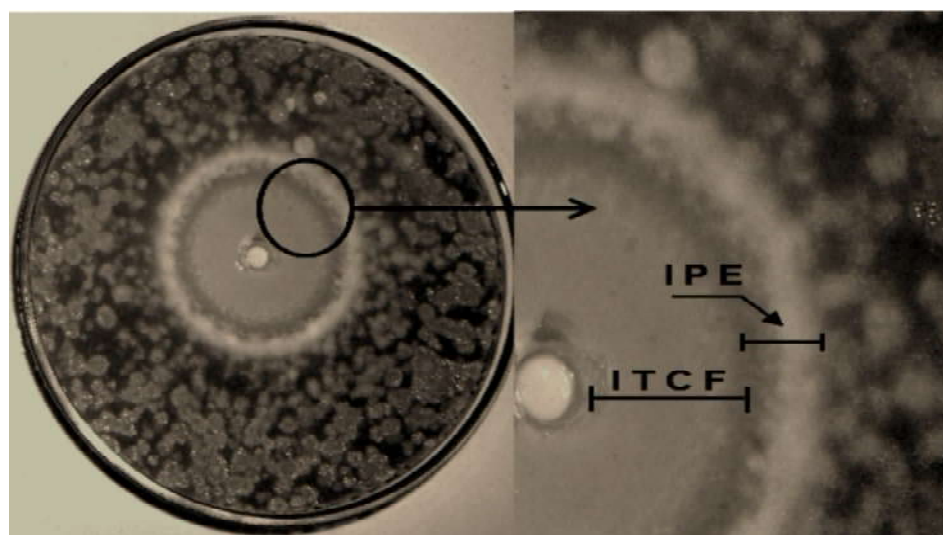


Figura 1. Halo de inhibición total del crecimiento fúngico (ITCF) e inhibición parcial de la esporulación (IPE) obtenidos para *Penicillium aurantiogriseum* con AE de caña santa.

Tabla 1. Diámetros de los halos de inhibición obtenidos a los 5 días como resultado de la actividad antifúngica de los AE evaluados a las dos concentraciones estudiadas frente a las cuatro cepas fúngicas.

Aceite esencial	Conc. (%)	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
Diámetro del halo de inhibición (mm) medido a los 5 días¹					
<i>Cymbopogon citratos</i> (Caña santa)	50	60	6	60	60
	10	0(+)	0(+)	8	0
<i>Piper auritum</i> (Caisimón de anís)	50	6	60	60	60
	10	0	0	0	0
Timol	5	60	60	60	60
Cloruro de benzalconio	10	4	0(+)	6	20
Etanol	70	0	0	0	0

¹ Cada valor es equivalente a la media de tres réplicas. Los valores representan el diámetro del halo de inhibición total del crecimiento fúngico (ITCF). (+) Indica una inhibición parcial de la esporulación. Criterio de selección para la ITCF según Borrego *et al.* (2012): d >= 6 mm indica una actividad negativa; d = 7-10 mm indica una actividad moderada y d >= 11 mm indica una actividad positiva.

la composición química del AE de *Cymbopogon citratus* (CS). Se ha reportado en la especie de CS cubana la presencia de geraniol, linalol, metilheptona, citronelol, limoneno, diterpenos y otras sustancias (Roig-Mesa 1974). Los componentes activos principales de su aceite son el geraniol y nerol (α y β citral respectivamente) que representan entre el 70 - 85% de la composición (Inga & Giovanna 2012). Estos compuestos manifiestan propiedades antisépticas, antifúngicas e incluso bactericidas (Guerra *et al.* 2004). El AE de *Piper auritum* (CA) inhibe el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos que causan infecciones importantes al hombre, las plantas y los animales. Se han efectuado estudios acerca de la composición química de este, encontrándose como constituyente principal al safrol en aproximadamente 75 - 90 %, entre otras sustancias (García *et al.* 2007; Sánchez *et al.* 2009). Se ha reportado que el AE de esta especie contiene una fracción oxigenada como componente mayoritario, la cual es rica en safrol, b- linalol, cineol y acetato de terpineol, así como una fracción hidrocarbonada rica en sesquiterpenos (Blanco *et al.* 2006).

Considerando la variedad de compuestos químicos que se presentan en los AE, varios autores reportan que la actividad antimicrobiana o antifúngica de algunos no es atribuible a un mecanismo específico, sino a la acción combinada de varios de ellos sobre distintas localizaciones de la célula (Fabio *et al.* 2007; Sánchez *et al.* 2009; Valdés *et al.* 2016). Sin embargo, el mecanismo de acción específico de estos compuestos aún hoy no ha sido claramente dilucidado. Algunos autores plantean que su actividad se debe fundamentalmente a la sobrecarga a la que es sometida la membrana celular de los microorganismos de forma tal que la hace perder su estabilidad e integridad (López 2006) y otros incluso a que inhiben la formación de biopelículas (Manganyi *et al.* 2015; Borrego *et al.* 2016). Todos estos aspectos inciden en el crecimiento de las cepas y sus efectos podrían provocar afectaciones en la formación de conidios.

Conclusiones

Los aceites esenciales de caña santa y caisimón de anís al 50% mostraron actividad antifúngica positiva para tres de las cuatro cepas estudiadas, la cual se torna negativa a la concentración del 10% para todas las

cepas a excepción del AE de caña santa frente a *P. aurantiogriseum* que presenta actividad antifúngica moderada. El AE de caña santa al 10% afectó la formación de conidios en las dos especies del género *Aspergillus*, efecto similar se obtuvo con el control de cloruro de benzalconio al 10% (solución de Newdes) para *Aspergillus flavus*.

Los AE empleados en este estudio se obtuvieron de plantas cosechadas en Cuba, lo que resulta favorable ya que no es necesario importar el AE pues se posee la materia prima necesaria para extraerlo en nuestro país. Asimismo, las personas están sensibilizadas a las sustancias de estas plantas dado a su uso medicinal tradicional para diferentes afecciones.

Por los resultados obtenidos estos AE podrían ser promisorios para la elaboración de productos biocidas útiles en el control del biodeterioro fúngico de documentos de valor patrimonial al obtener resultados análogos a los alcanzados con las sustancias comerciales que hoy se emplean en el control del biodeterioro en la conservación y restauración de documentos de valor patrimonial. El efecto que tiene el AE de caña santa sobre la afectación del crecimiento y desarrollo de conidios de las especies del género *Aspergillus*, tiene una notable importancia en el control de la propagación de la contaminación fúngica dentro de un depósito de archivo. Además, limita la concentración fúngica en el aire que favorece no solo la contaminación sino también enfermedades alérgicas y micosis en el personal que allí labora. Por tanto, los AE provenientes de plantas pudieran constituir una alternativa valiosa para el control de la contaminación fúngica.

Bibliografía

- Allsopp, D., Seal, K., & Gaylarde, C. (2004). *Introduction to biodeterioration*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Almaguer, M. & Rojas, T. I. (2013). Aeromicota viable en la atmósfera de La Habana, Cuba. *NACC*, 20, 35-45.
- Araujo, R., Rodríguez, A. G., & Pina-Vaz, C. (2004). A fast, practical and reproducible procedure for the standardization of the cell density of an *Aspergillus* suspension. *J Med Microbiol*, 53(8), 783-786.
- Blanco, N. H., Ramos, A. R., & Vizoso, A. P. (2006). Evaluación tóxica y genotóxica del extracto fluido de *Piper auritum* H.B.K. *Rev Cubana Plant Med [online]*, 11(3-4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962006000300004
- Borrego, S., Gómez de Saravia, S., Valdés, O., Vivar, I., Battistoni, P., & Guiamet, P. (2016). Biocidal activity of two essential oils on fungi that cause degradation of paper documents. *IJCS*, 7(2), 369-380.
- Borrego, S., & Perdomo, I. (2016). Airborne microorganisms cultivable on naturally ventilated document repositories of the National Archive of Cuba. *Environ Sci Pollut Res*, 23, 3747-3757.
- Borrego, S., Molina, A., & Santana, A. (2015). Mold on stored photographs and maps: A case study. *Topics in Photographic Preservation*, 16, 109-120.
- Borrego-Alonso, S. (2015). Los biocidas vegetales en el control del biodeterioro del patrimonio documental. *Perspectivas e impacto. Rev CENIC Ciencias Biológicas*, 46(3), 259-269.
- Borrego, S., & Perdomo, I. (2014). Caracterización de la micobiota aérea en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba. *Rev Iberoam Micol*, 31(3), 182-187.
- Borrego, S., & Perdomo, I. (2012). Aerobiological investigations inside repositories of the National Archive of the Republic of Cuba. *Aerobiologia*, 28(3), 303-316.
- Borrego, S., Valdés, O., Vivar, I., Lavin, P., Guiamet, P., Battistoni, P., Gómez de Saravia, S., & Borges, P. (2012). Essential oils or plants as biocides against microorganisms isolated from Cuban and Argentine documentary

- heritage. ISRN Microbiol, 2012:10, doi:10.5402/2012/680598.
- Caminiti, R., Campanella, L., Plattner, S. H., & Scarpellini, E. (2016). Effects of innovative green chemical treatments on paper. Can they help in preservation? *IJCS*, 7(1), 247-258.
- Fabio, A., Cermelli, C., Fabio, G., Nicoletti, P., & Quaglio, P. (2007). Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. *Phytother Res*, 21(4), 374-377.
- García, A. R., Leyva, M. A., Martínez, J. R., & Stashenko, E. E. (2007). Determinación de la composición química y actividad antioxidante *in vitro* del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (*Piperaceae*) difundida en la costa colombiana. *Scientia et Técnica*, XIII(33), 439-442.
- Gómez de Saravia, S., Borrego, S., Lavin, P., Valdés, O., Vivar, I., Battistoni, P., Guimet, P. (2013). Environmentally friendly products from plants in the control of biodeteriogen agents. *NPAIJ*, 9(5), 167-174.
- Guerra, M., Rodríguez, M., García, G., & Llerena, C. (2004). Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). *Stapf. Rev Cubana Plant Med [online]*, 9(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000200005.
- Lavin, P., Perdomo, I., & Gómez de Saravia, S. (2011). Biofouling and biodeterioration in materials stored at the Historical Archive of the Museum of La Plata, Argentine and at the National Archive of the Republic of Cuba. *Colloid Surface B*, 85(2), 229-234.
- Inga, M., & Giovanna, G. (2012). Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de: *Menta piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Cándida albicans* ATCC 90028. 2007 – 2012. Inédito Tesis para optar el título de Cirujano Dentista. Universidad Privada Norbert Wiener, Perú.
- Lavin, P., Gómez de Saravia, S. G., & Guimet, P. S. (2014). An environmental assessment of biodeterioration in document repositories. *Biofouling*, 30(5), 561-569.
- López, L. M. T. (2006). Tomillo. Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. *Fitoterapia*, 25(1), 74-77.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2010). *Brock Biology of Microorganisms*. 13th edition, Pearson Benjamin Cummings, San Francisco.
- Manganyi, M.C., Regnier, T., & Oliver, E.I. (2015). Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. *S African J Bot*, 99, 115-121.
- Micheluz, A., Manente, S., Tigini, V., Prigione, V., Pinzari, F., Ravagnan, G., & Varese, G. (2015). The extreme environment of a library: Xerophilic fungi inhabiting indoor niches. *Int Biodeter Biodegr*, 99, 1-7.
- Molina, A., & Borrego, S. (2015). El planero como barrera contra agentes biodeteriorantes de mapas y planos. *ph investigación [en línea]*, 4, 45-61. Disponible en: <http://www.iaph.es/phinvestigacion/index.php/phinvestigacion/article/view/77>.
- Molina, A., & Borrego, S. (2014). Análisis de la micobiota existente en el ambiente interior de la mapoteca del Archivo Nacional de la República de Cuba. *Bol. Micol*, 29(1), 2-17.
- Molina, A., Valdés O., Borrego S., Pérez D., & Castro M. (2014). Diagnóstico micológico ambiental en depósitos de la Oficina Cubana de la Propiedad Industrial. *NACC*, 21: 107-117.
- (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Rev. Mex. Mic*, 29, 73-82.
- Morales, R., Blanco, P., Lalana, P., Pardo de Santayana, M., & Valentín, N. (2013). Extractos naturales para la desinfección y desinsectación de bienes culturales. Las plantas medicinales y el patrimonio histórico. En: *La Ciencia y el Arte IV*. Ciencias experimentales y conservación del patrimonio. Edición Secretaría General Técnica. Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, España.
- Pietrzak, K., Otlewska, A., Danielewicz, D., Dybka, K., Pangallo, D., Kraková L., et al. (2016). Disinfection of archival documents using thyme essential oil, silver nanoparticles misting and low temperature plasma. *Journal of Cultural Heritage*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.culher.2016.10.011>.
- Rakotonirainy, M. S., & Lavédrine, B. (2005). Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. *Int Biodeter Biodegr*, 55:141-147.
- Roig-Mesa, J. T. (1974). Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica, Instituto del Libro.
- Rojas, T. I., & Aira, M. J. (2012). Fungal biodiversity in indoor environments in Havana, Cuba. *Aerobiology*, 28, 367-374.
- Shaban, N. Z., Darouish, S. S., & Salah, T. A. (2016). Experimental study on the cleaning of foxing spots on the old paper manuscripts using natural products. *IJCS*, 7(4), 1023-1030.
- Sánchez, Y., Pino, O., Correa, T., Naranjo, E., & Iglesia, A. (2009). Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (caisimón de

anís). *Rev. Protección Veg*,
24(1), 39-46.

Sequeira, S., Cabrita, E. J., & Macedo, M. F. (2012). Antifungals on paper conservation: An overview. *Int Biodeter Biodegr*, 74, 67-86.

Džamiæ, A., Unkoviæ, N., Ristiæ, M., Jelikiæ, A., & Vukojeviæ, J. (2014). Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects. *S African J Bot*, 93, 118-124.

Trivedi, N. A., & Hotchandani, S. C. (2004). Study of the antimicrobial activity of oil of Eucalyptus. *Indian J Pharmacol*, 36(2), 93-95.

Valdés, O., Borrego, S., Vivar, I., Anaya, M. & Molina, A. (2016). Actividad antifúngica del aceite esencial

de clavo de olor en el control del biodeterioro fúngico de documentos. *Rev. CENIC Ciencias Biológicas*, 47(2), 78-85.

Recibido: 31 de agosto de 2016.
Aprobado en su forma definitiva:
27 de septiembre de 2016.

Oderlaise Valdés Pérez

Archivo Nacional de la República de Cuba
La Habana, Cuba.
Correo electrónico:
odette2005@arnac.cu

Sofía F. Borrego Alonso

Archivo Nacional de la República de Cuba
La Habana, Cuba.
Correo electrónico:
sofia@arnac.cu

Karla Martínez Puldón

Facultad de Biología. Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.
Correo electrónico:
krlaUH@mail.com

Yarelis Ortiz Nuñez

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical, Santiago de las Vegas
La Habana, Cuba
Correo electrónico:
yarelis@inifat.cu
