

75
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DETERMINACION Y CONTROL CON PROPIONATO
DE SODIO DE Penicillium spp. QUE DETERIORAN
DOCUMENTOS HISTORICOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MARIA DEL ROCIO GONZALEZ VAZQUEZ



MEXICO, D. F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MIS PADRES

ADOLFO GONZALEZ CH.

CAMILA VAZQUEZ DE GONZALEZ

A MIS HERMANOS Y SOBRINOS

GRACIAS POR SU COMPRESION Y APOYO,

AGRADECIMIENTOS

A M. en C. Mariasol Robledo y Monterrubio,

Dr. Teófilo Herrera Suárez,

Biól. Rosario Vázquez Bravo,

M. en C. Rosa Marfa E. Mercado Domenech,

Biól. Fernando Olivo Aranda

Por su tiempo, enseñanza y apoyo para la realización de este trabajo,

Al personal del laboratorio de Morfofisiología Vegetal por su apoyo.

Al personal del laboratorio de Microbiología Experimental de la Facultad de Química, especialmente a la M. en C. Rosa Marfa Ramírez Gama y a la Q.F.B. Ma. Guadalupe Tsuzuki por la ayuda proporcionada.

A mis amigos: Gina y Gaby Luna, Román Leal C., Guadalupe Vargas,

Carmelita Victorio, Martha y Carlos Sabido C., y Gaby Veraza,

Por su cariño y apoyo incondicional.

INDICE

	Pag.
1.- RESUMEN.	I
2.- INTRODUCCIÓN	
3.- Características del papel.	3
Daños ocasionados por hongos	5
Niveles ecofisiológicos de los hongos que deterioran documentos	7
Fungicidas	8
Clasificación de fungicidas.	9
Medidas preventivas.	13
El ácido propiónico y sus sales.	13
3.- OBJETIVOS.	16
4.- ANTECEDENTES	
Antecedentes taxonómicos en México	17
Importancia de <u>Penicillium</u> en el biodeterioro de materiales artísticos	18
5.- MATERIAL Y MÉTODO	
Toma de muestras	20
Aislamiento	20
Purificación y mantenimiento de cepas.	21
CONTROL CON PROPIONATO DE SODIO	
Diámetro de la colonia en medio sólido	21
Germinación de esporas en medio de cultivo líquido.	22
Análisis de datos.	23
Determinación de cepas aisladas.	24

6.- HISTORIA Y TAXONOMÍA	
Descripción del género <u>Penicillium</u>	28
Clave para determinar subgéneros de <u>Penicillium</u>	31
7.- DESCRIPCIÓN DE LOS SUBGÉNEROS Y ESPECIES DETERMINADAS	
Subgénero Aspergilloides.	32
<u>Penicillium glabrum</u> (Westling).	33
Subgénero Biverticillium.	34
Subgénero Furcatum.	34
P. <u>chrysogenum</u> (Thom)	36
P. <u>ochrochloron</u> (Biourge)	37
P. <u>simplicissimum</u> (Thom).	39
Subgénero Penicillium	40
P. <u>olsonii</u> (Bain & Sartory)	42
8.- RESULTADOS	
Aislamiento	45
Determinación	45
Diámetro de la colonia.	46
Germinación de esporas.	47
Gráficas y tablas	49
9.- DISCUSIÓN	
Muestreo, Aislamiento y Determinación	80
Diámetro de la colonia.	84
Germinación de esporas.	86
10.-CONCLUSIONES.	89
11.-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	90

RESUMEN

Se efectuó un muestreo sistemático de documentos deteriorados por hongos en el Archivo General de la Nación, en la galería No. 7 conocida como "Archivos Incorporados", con el objeto de conocer los géneros que ocasionan alteraciones, además de caracterizar la distribución, en cuanto a la frecuencia y abundancia relativa de Penicillium y algunas especies de él. Los documentos muestreados fueron de los siglos XVI, XVII, XVIII, XIX y XX.

De éste muestreo se aislaron 197 colonias de diferentes géneros de las cuales 117 pertenecieron a Penicillium: con base a Pitt (1979, 1985) se realizó la determinación a subgénero de todas las colonias, teniendo la siguiente frecuencia: Aspergilloides (23.7%), Biverticillium (38.2%), Furcatum (12.2%) y Penicillium (30.6%). La distribución de los subgéneros en los diferentes siglos fue muy diversa, siendo el siglo XVII y el XX los más afectados por todos ellos.

Del total total de colonias (117) se eligieron 8 al azar para determinarlas hasta especie, y realizar en ellas las pruebas de control con propionato de sodio (Diámetro de la colonia en medio sólido y germinación de esporas en medio líquido). Las especies determinadas fueron: P. glabrum, P. chrysogenum, P. simplicissimum, P. ochrochloron y P. olsonii (cepas 19 y 56); dos especies quedaron en P. spl y P. sp2

Pruebas con propionato de sodio revelan el grado de resistencia que tienen las cepas a las concentraciones probadas.

En el caso del diámetro de la colonia, fue diferente la respuesta en todas las cepas; *P. chrysogenum* presentó una inhibición en la mínima concentración probada (50,000 ppm) y *P. glabrum* y *P. olsonii* (cepa 56) mostraron una gran resistencia al crecer en la máxima concentración (150,000 ppm), las otras cepas presentaron un comportamiento intermedio. La germinación de esporas de las especies resultó más sensible. *P. chrysogenum*, *P. glabrum* y *P. olsonii* (cepa 56) no crecieron en ninguna concentración; mientras que las más resistentes, en esta prueba, fueron *P. simplicissimum*, *P. sp1* y *P. sp2* que germinaron en 50,000. Las esporas resultaron más sensibles a éste compuesto, en comparación con el micelio.

Las especies determinadas se describen y discuten, así como su aparición en otros sustratos en México.

INTRODUCCIÓN.

Los hongos microscópicos han sido desde hace años la causa de daños y beneficios para el hombre, ya que son altamente ubicuos, por lo que desempeñan un papel importante en las modificaciones que se realizan en nuestro alrededor.

En la industria son utilizados para diferentes fines, en los alimentos constituyen la base de procesos de fermentación en la elaboración de pan, vino y cerveza; por otro lado, son utilizados para la producción de quesos, como es el caso de Penicillium roquefortii Thom y P. camemberti Thom (Alexopoulos, 1979); en el aspecto médico se utilizan P. notatum Thom y P. chrysogenum Thom para la obtención de penicilina (Deacon, 1988), antibiótico que ayudó grandemente al hombre, e indirectamente provocó la sobrepoblación al bajar el índice de mortandad del ser humano (Pitt, 1979); aunque este no es el único antibiótico producido por hongos.

Hay otros (que incluyen una gran variedad de ácidos orgánicos) como la citrinina, griseofulvina, notatina, spinulosina, los ácidos puberólico, puberulónico, luteico y el micofenólico entre otros (Skinner, 1957; Deacon, 1988).

Los hongos no siempre han sido benéficos, ya que muchos de ellos causan enfermedades en el hombre, animales y plantas (Huerta et al., 1971; Alexopoulos, 1979; Coutiño, 1979; Campos-Nieto, 1980; Ruiz-Sánchez et al., 1982; Herrera y Ulloa, 1990; García y Martínez, 1991). Otros, causan graves pérdidas económicas al afectar productos alimenticios como frutas, conservas, semillas almacenadas, cosechas, etc.

(Alexopoulos, 1979; Nava-Rodríguez *et al.*, 1983; Rodríguez, 1988; Martínez, 1986; Sánchez, 1989; Alvarez, 1990; García y Martínez, 1991; Mondragón, 1992). En el aspecto cultural han ocasionado grandes pérdidas en museos, pinturas, archivos, fotografías, libros e incluso en colecciones entomológicas (Gallo, 1963; Nyuksha, 1974; Kowalik, 1980 y Banks, 1983).

Para que estos microorganismos se desarrollen, necesitan una gran humedad en su ambiente, ya que las esporas se encuentran en suspensión en el aire y solo necesitan condiciones favorables para que germinen. Cuando lo hacen en materiales realizados por el hombre se considera que causan biodeterioro.

Sharp (1978) menciona que " el biodeterioro es cualquier cambio indeseable en las propiedades de un material, ocasionado por las actividades de un organismo." Para Moore-Landecker(1972), el biodeterioro es "una reducción en las propiedades útiles de materiales debido a su descomposición parcial".

Se ha observado una pérdida en la calidad del papel, desde su aparición hasta nuestros días. En el siglo XVI las propiedades del papel eran constantes y posteriormente fueron decreciendo, esto fue ocasionado por diferentes factores; introducción de maquinaria, uso de nuevas fibras, y adición de productos químicos, dando como resultado un deterioro en la permanencia y durabilidad del papel a partir del siglo XVII (Barrow, *et al.*, 1964). La permanencia es la estabilidad química, el grado de resistencia de un material al deterioro, a través del tiempo, aun cuando no esté en

uso; y la durabilidad se refiere a la resistencia física, es decir, la capacidad de resistir la tensión mecánica (Banks, 1983).

Cunha (1975), estima que el deterioro que han tenido los documentos durante el período de 1970-1975 y que han sido manufacturados en el siglo XX, ha sido mayor que el ocurrido en los papeles durante todo el siglo XVII.

La baja calidad de los papeles modernos, se debe a que contienen una gran cantidad de impurezas, polímeros y materiales no fibrosos diferente a la celulosa.

CARACTERÍSTICAS DEL PAPEL. El papel ha sido uno de los principales inventos del hombre, ya que en él se ha plasmado la historia, la cultura y el arte.

Su fabricación ha variado a lo largo de los siglos, sin embargo está constituido principalmente por: fibra que es la materia prima del papel, formada por celulosa obtenida de la madera; encolante, compuesto por gomas naturales como la gelatina, cola, brea, etc. y forma aproximadamente el 10% del papel, su función es hacer al documento resistente a la penetración de líquidos, dar solidez a la hoja y endurecimiento, además previene el corrimiento de la tinta al escribir; y la carga, formada por polvos minerales que rellenan los huecos entre las fibras, reducen las irregularidades de la superficie y le dan una textura más fina; pueden ser silicatos, sulfatos, etc.

La calidad de las materias primas que se emplean en la fabricación del mismo, y las condiciones ambientales en que se

almacenan son factores determinantes en su permanencia y durabilidad a través de los años (Banks, 1983).

Banks (1983) propone que el deterioro de este material se debe a diferentes factores:

a) Características propias del papel.- El material que se utiliza para su elaboración es importante para la durabilidad del mismo. En un principio el papel era fabricado con residuos de tela, siendo fibras más largas y resistentes. A principios del siglo XIX se utilizó pulpa de madera para su elaboración, produciendo fibras cortas y finas que son más vulnerables; además la presencia de lignina provoca acidez, acelerando el deterioro de la celulosa, de la cual dependen las propiedades de calidad del papel.

b) Medio ambiente.- Existen diferentes factores físicos y químicos que han ocasionado el deterioro, por ejemplo; luz, humedad, temperatura y aereación baja ó nula.

c) Uso inadecuado de materiales gráficos.- Principalmente por el manejo y mal cuidado de los encargados y los usuarios en los lugares de consulta.

d) Desastres.- Tales como inundaciones, guerra, incendio, vandalismo, etc., ya que provocan la pérdida de grandes volúmenes de material.

e) Enemigos biológicos.- Dentro de este grupo se encuentran diferentes tipos de organismos que pueden ser; bacterias, hongos, insectos, roedores, e incluso el hombre mismo.

De todos los enemigos biológicos, los hongos son considerados los de mayor importancia, ya que tienen la ventaja de presentar estructuras somáticas llamadas hifas que ejercen una presión mecánica en el sustrato, acoplado con la producción de enzimas extracelulares que les permiten una rápida extensión sobre el papel.

Daños ocasionados por hongos:

Los hongos que habitan el papel le causan diferentes daños, dependiendo del nivel en que lo ataquen. Gallo (1963) encontró que existen varios tipos de alteraciones en el papel, como son:

- a) ALTERACIONES QUÍMICAS.- Comprenden la degradación de la celulosa por la acción enzimática de los hongos.
- b) ALTERACIONES MECÁNICAS.- Las hifas de los hongos penetran en el papel y debilitan las fibras, principalmente si son cortas y delgadas como en el caso de documentos del siglo XIX y XX.
- c) ALTERACIONES CROMÁTICAS.- La infiltración del micelio entre las fibras del papel, produce manchado en éste por la secreción de pigmentos que contienen carotenoides y antraquinonas. Los colores adquiridos por el papel pueden ser; amarillo, rosa, negro, etc., y esto depende de diferentes factores, por ejemplo; el tipo de papel, su manufactura, tiempo de acción de la especie fúngica, coexistencia de varias especies, presencia de ciertos metales y acidez del papel.

La contaminación de los materiales de archivo por hongos puede ocurrir de muy diversas formas, desde la presencia de esporas en la materia prima, en el aire circundante, o en documentos ya deteriorados. Para que ocurra la acción deteriorante de los hongos, se necesitan condiciones ambientales favorables como son: la alta humedad relativa (70%), temperaturas templadas o altas (25-37°C) y oxígeno.

Posteriormente la proliferación de estos microorganismos se da principalmente por los diferentes nutrimentos que tienen a su disposición en el papel: celulosa, lignina, hemicelulosa, pectinas, ceras, taninos, proteínas, constituyentes minerales, materiales resinosos e impurezas, materia orgánica de origen humano, que también forman parte de su dieta (Kowalik, 1980).

Actualmente se conocen una gran cantidad de géneros que habitan en el papel de los cuales no todos son rigurosos destructores de la celulosa. La frecuencia genérica, según estudios cualitativos en los que se ha encontrado hongos en el papel es la siguiente: Acremonium, Acrothecium, Alternaria, Aspergillus, Asteromella, Absidia, Aureobasidium, Botryotrichum, Botrytis, Cephalotrichum, Chaetomium, Cladosporium, Ceratocystis, Chrysosporium, Chloridium, Cladobotryum, Chaetomella, Cephalosporium, Drechslera, Epicoecum, Fusarium, Geovrichum, Gliomatrix, Hapnographium, Helminthosporium, Helicostilum, Myrothecium, Memnoniella, Mycogona, Mucor, Myxotrichum, Neurospora, Nigrospora, Oidium, Penicillium, Peyronellaea, Paecilomyces, Phialospora,

Preussia, *Rhizopus*, *Rhodotorula*, *Sepedonium*, *Scopulariopsis*, *Sporotrichum*, *Stachybotrys*, *Stemphylium*, *Sordaria*, *Spicaria*, *Syncephalastrum*, *Sededonium*, *Stysanus*, *Trichoderma*, *Torula*, *Trichothecium*, *Trichosporium*, *Trichocladium*, *Thermoascus*, *Ulocladium* y *Verticillium* entre otros géneros que atacan al papel o su materia prima (Nyuksha, 1974; Kowalik, 1980; Robledo *et al.*, 1988; Sarkar, 1984).

En investigaciones realizadas en torno al biodeterioro del papel causado por hongos, se han podido conocer las especies que intervienen en ello, y el daño que ocasionan; Nyuksha (1974) agrupó dichas especies en diferentes niveles ecofisiológicos, dependiendo del daño que ocasionan y su permanencia en el papel:

- 1.- Las que se encontraron permanentemente en el papel, que penetran en el filamento y que conducen al sustrato a un estado de desintegración.
- 2.- Las que se encuentran constantemente sobre el papel y que provocan algunas alteraciones en su textura.
- 3.- Las que asimilan ciertos componentes específicos del papel (ceras, parafina, asfalto, polímeros sintéticos, lana, caucho, etc.)
- 4.- Aquellas cuya presencia en el papel depende de la micobiota circundante, sin ocasionar daños en el papel.
- 5.- Las eventuales que dependen de las condiciones casuales específicas del local donde se almacenan los documentos.

FUNGICIDAS

Requerimientos y usos: Para evitar el ataque de estos microorganismos se ha utilizado una gran variedad de medidas preventivas, y algunas veces correctivas, que van desde el uso de irradiaciones (luz ultravioleta o rayos gamma), hasta sustancias químicas con efecto fungicida. Aunque se ha observado que los métodos empleados en su mayor parte pueden causar daño a los documentos. (Calvini y Santucci, 1978 - 1979; Santucci, 1983).

Nyuksha (1969), propuso que un biocida debe cumplir los siguientes requerimientos para la protección de un libro;

- a).- Efecto combinado, cubriendo todos los factores biológicos capaces de deteriorar un documento.
- b).- Habilidad para inhibir la germinación de esporas y la actividad fermentativa de los microorganismos.
- c).- Acción favorable de biocidas y sus productos de degradación sobre la permanencia y durabilidad del papel.
- d).- Toxicidad mínima de los compuestos para los animales de sangre caliente; límite de concentración 1-2%. Ausencia de propiedades carcinogénicas y teratogéneas y de contaminación ambiental.
- e).- Niveles de pH cercanos al neutro o con tendencia a la alcalinidad.

- f).- Capacidad higroscópica menor que la de los documentos.
- g).- Compatibilidad y distribución uniforme en el material.
- h).- La interacción química con materiales gráficos no debe ocurrir.
- i).- Solubilidad en agua o alcohol etílico.
- j).- Ser compuesto incoloro, así como también sus productos de degradación .

Aunque muchos fungicidas son sumamente eficaces, ninguno cumple todos los requerimientos, y muchas veces causan daños a los materiales o son tóxicos para el hombre.

Clasificación de fungicidas:

- Forma de acción: - Contacto; Actúan en la región donde se aplican.
- Sistémicos; Se distribuyen a áreas alejadas.
- Forma física: - Gaseosos
- Líquidos
 - Sólidos
- Composición: - Inorgánicos; metales o sus sales química
- Orgánicos; metales o sus sales, más carbono
- Daño provocado: - Irreversible; Destruyen las enzimas
- Reversibles; Modifican o bloquean uno o más grupos funcionales de enzimas.

Desde el punto de vista celular, su método bioquímico de acción comprende:

1.- Los que inhiben la producción de la energía, bloqueando los grupos -SH o las cadenas respiratorias. Un ejemplo es el Captán y los Ditiocarbamatos.

2.- Los que inhiben la biosíntesis de los ácidos nucleicos; Un ejemplo es el Etirimol.

3.- Los que interfieren en el desarrollo de los procesos nucleares inhibiendo la división celular de mitosis

4.- Los que inducen efectos indirectos sobre algunos organismos, con cambios de interacciones patógenas en otros; un ejemplo es el Triadimefón y el Imazalil.

La mayoría de los fungicidas son del tipo número 1 y 2 (Lelo de Larrea, 1989; Cremlyn, 1992).

FUNGICIDAS EMPLEADOS. Es una gran cantidad de fungicidas que se ha empleado para el control de hongos, aunque se han utilizado principalmente en alimentos (conservas, semillas, etc.), y un número menor contra hongos que atacan bienes culturales, especialmente el papel. En este caso se busca prevenir, o en su defecto, controlar el deterioro.

Los más utilizados son: vapores de formol, a partir de una solución de aldehído fórmico, o bien con formol y permanganato

de potasio utilizado como agente vaporizante (Lab. del Centro de Estudios sobre la Universidad. CESU); algunos autores consideran que es poco efectivo y causa daño a los materiales (Flieder, 1969; Paullada-Mena, 1982).

El ortofenilfenol sólo proporciona protección temporal (Santucci, 1983; Haines y Kohler, 1986); el óxido de etileno es uno de los más eficaces, sin embargo es explosivo, a menos que se combine con anhídrido carbónico (UNESCO, 1969); los vapores de timol se han mencionado que no son efectivos contra los hongos y que pueden causar daño a los materiales, ya que es un poderoso solvente (Flieder, 1969; UNESCO, 1969; Paullada-Mena, 1982; Daniels y Boyd, 1986; Kowalik, 1980; Sarkar, 1984).

El Irgasan DP-30 (2-4-4' tri-cloro-2'-dihydroxifeniléter), es utilizado con una solución de 1% de etanol y se considera bastante efectivo; también el dicloro-fenol (2-2'-dihydroxi-5-5'-diclorodifenilmetano), con mayor eficacia que el primero (Kowalik, 1980).

En trabajos realizados por la UNESCO (1969) se ha probado el bromuro de lauril-dimetil-carboximetilamonio, utilizado a bajas concentraciones para aplicarse en atomizaciones, siendo efectivo aunque irritante de mucosas, además de causar fuerte depolimerización de la celulosa debido a la hidrólisis gradual, con producción de ácido bromhídrico (Santucci, 1983).

Sarkar (1984) probó el paranitrofenol, observando que es eficaz, pero solamente en algunos hongos, además tinte ligeramente

ciertos tipos de papeles; otros fungicidas probados por él son: pentaclorofenol, que es efectivo a 0.35% y 0.4%; la formalina que es recomendable en concentraciones mayores al 3%; el B-naphtol lo es a niveles de 0.25%

No obstante que haya una gran variedad de fungicidas, en la actualidad ninguno es efectivo completamente, ya que hay especies sumamente resistentes; tal es el caso para los géneros Aspergillus y Penicillium que son tolerantes al arsénico; los silicofluoruros y el tartrato de potasio y antimonio son tolerados por Trichoderma viride; Gliocadium sp. es resistente a los fluoruros, al óxido arsenioso, al bisulfato de sodio y al formaldehído; Aspergillus niger y varias especies de Penicillium son resistentes al cobre; Penicillium cyclopium Westling y P. roquefortii Thom tienen alta resistencia a los compuestos de mercurio orgánicos, como es el fosfato etilmercurio.

En países del viejo mundo, se han realizado una gran cantidad de trabajos de investigación, tanto para conocer la micobiota del papel, como los fungicidas que ayudan a su control. En México se han realizado pocos trabajos con este fin, aunque se ha probado una gran cantidad de fungicidas sobre hongos que atacan alimentos, principalmente granos almacenados (García-Aguirre, 1985; González y Zenteno, 1988), algunos de ellos también en hongos del papel; como es el caso del Tecto 60, que junto con el Brestan 60 pH al 1%, es eficaz y no modifica el pergamino (Lelo de Larrea, 1989).

MEDIDAS PREVENTIVAS: Por otro lado se han buscado otros métodos para control de microorganismos degradadores de papel. Valentin *et al.* (1990) proponen emplear bajas concentraciones de oxígeno (menos del 5%) y humedad relativa entre 43% y 33%. Estas condiciones podrían ser eficaces, ya que los microorganismos necesitan Hr de 70% para crecer además de niveles de oxígeno relativamente altos y temperaturas templadas de 25° a 37°C; aunque en la práctica es difícil de mantenerlas, ya que los museos o bibliotecas mantienen su temperatura a 20°C, y la Hr es de 50 - 70% por lo que este tipo de control no se podría llevar a cabo, por que ocasionaría un deterioro en los documentos.

Flieder (1978) y Moretti (1981) proponen irradiar con rayos gamma el papel deteriorado para inhibir el crecimiento de hongos, pero la primera autora encontró que dichos rayos alteran las propiedades fisicoquímicas del papel.

EL ÁCIDO PROPIONICO Y SUS SALES: El ácido propiónico es un miembro de los ácidos alifáticos monocarboxílicos, su fórmula condensada es $CH_3 - CH_2 - COOH$; es un líquido blanco de olor penetrante y corrosivo, no tóxico. Producido por varias especies de Propionibacterium.

Tiene la propiedad de ser antimicrobiano, principalmente contra mohos, en menor medida contra bacterias y prácticamente no tiene efecto contra levaduras (Belitz, 1986). Se ha observado que tal efecto es por las moléculas no disociadas, teniendo

cierta solubilidad en las membranas celulares (es liposoluble); por tal motivo se piensa que interfiere en la permeabilidad de la membrana, causando desacoplamiento del transporte de electrones y la fosforilación oxidativa (Baird-Parker, 1980).

Russell (1991) propone que el ácido propiónico afecta la unión de aminoácidos, provocando con esto un bajo o nulo crecimiento del organismo, incluso se piensa que compete con la alanina (Branen, 1990). Se han realizado estudios sobre *E. coli* observando que hay una inhibición general por la acidificación del citoplasma.

La propiedad de ser microbicida la comparte también con sus sales. El propionato de sodio es la sal de sodio del ácido propiónico; su fórmula condensada $\text{CH}_3 \text{CH}_2 \text{COONa}$, tiene un peso molecular de 95.07; y son gránulos cristalinos transparentes, delicuescentes en ambiente húmedo; su olor es penetrante; da una reacción neutra o alcalina con el tornasol, aunque es más activo en medios ácidos; es soluble en agua y alcohol. En la industria se le conoce como Mycoban.

Es utilizado principalmente como conservador de alimentos, como es el caso de; mantequilla, frutas, productos lácteos, e incluso en granos; dependiendo del tipo de alimento, se utilizan 1000 - 5000 ppm/Kg. (Belitz, 1986; Baird-Parker, 1980; Weiser, 1962; Russell, 1991); en veterinaria se usa para tratar dermatosis, infecciones y conjuntivitis; en medicina, para curar pie de atleta, etc. (Merck Index, 1976; Jungermann y Schwartzman, 1977)

El efecto fungicida probablemente se deba a la acumulación de éste, interfiriendo con el metabolismo normal de los carbohidratos, afectando el sistema de las deshidrogenasas.

En México se conocen tres trabajos en los que se propone la utilización del propionato de sodio como fungicida en documentos deteriorados; Riesgo *et al.* (1985) probaron su acción en *Aspergillus niger* y *Chaetomium* sp., encontrando que a 750 ppm no se desarrollaron; Vargas *et al.* (1988), lo hicieron en 5 diferentes especies de *Chaetomium*, no observando crecimiento micelial a 100 000 ppm; Robledo (1991) encontró que la inhibición de crecimiento variaba dependiendo de la especie de *Aspergillus*; en algunos casos fue a 50 000 ppm y en otros hasta 175 000 ppm (probadas en crecimiento micelial y en germinación de esporas).

OBJETIVOS:

- 1.- Aislar y purificar cepas de Penicillium, a partir de un muestreo sistemático de documentos deteriorados de la galería No.7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación
- 2.- Determinar y describir los subgéneros de algunas cepas aisladas del género Penicillium
- 3.- Conocer la distribución, abundancia e importancia cuantitativa de los subgéneros aislados de Penicillium en documentos pertenecientes a los siglos XVI, XVII, XVIII, XIX y XX.
- 4.- Determinar y describir a nivel específico algunas cepas aisladas de Penicillium.
- 5.- Probar la acción fungicida del propionato de sodio en el crecimiento micelial y germinación de esporas de las cepas estudiadas a nivel específico.

ANTECEDENTES

Penicillium quizá sea, de todos los hongos, el que se encuentra con mayor frecuencia, además de ser la más numerosa de todas las formas eucarióticas de la vida terrestre. Se le conoce como un hongo sumamente destructor en la naturaleza, participando en el reciclaje de materia orgánica de todo tipo. Voltaire dijo a este respecto "si Penicillium no existiera, lo hubiésemos tenido que inventar ". Una gran variedad de compuestos químicos, conocidos como metabolitos secundarios, son producidos por Penicillium, teniendo diferentes usos, e incluso muchos de estos aún se están estudiando; algunos de ellos son considerados como micotoxinas, presentando un número mayor de estas, incluso más que Aspergillus; por lo anterior, es necesario realizar trabajos de investigación que permitan conocer la frecuencia de las especies de Penicillium y su incidencia en los diferentes sustratos.

En México se han reportado 42 especies presentes en diferentes sustratos; una gran cantidad de ellas se registran sobre granos almacenados, como es el maíz, sorgo, arroz y cebada (Moreno, 1977; Reyes y Castillo, 1981; Lappe y Ulloa, 1982; Moreno y Ramírez, 1982; Nava-Rodríguez et al., 1983; Montiel, 1988; Rodríguez, 1988; Sánchez, 1989 y Martínez, 1991); en bebidas como es el pozol (Ulloa y Herrera, 1971; Ulloa, 1974) y el tesgüino tarahumara (Lappe y Ulloa, 1982); además de encontrarse en diferentes alimentos como naranjas, plátano y conservas (González y Zenteno, 1988; Mondragón, 1992); otros más

están presentes en el suelo, atacando la rizosfera del arroz o en estiércol de ratones (Samaniego, Ulloa y Herrera, 1988; Reyes y Castillo, 1981; Aguirre-Acosta y Ulloa, 1982 y Martínez, 1986).

En otras investigaciones se reportan especies con propiedades tan variadas, como es el ser bioabsorbentes de materiales pesados como la plata (Sosa et al., 1988), e incluso como causantes de padecimientos tales como aborto, retención placentaria y alergias en el hombre como resultado de la alta cantidad de micotoxinas (Campos-Nieto, 1978).

IMPORTANCIA DE Penicillium EN EL BIODETERIORO DE MATERIALES ARTÍSTICOS.

Es común encontrar a Penicillium causando deterioro, de materiales artísticos, e incluso formando parte de la micobiota del papel. Nyuksha (1974) clasifica algunas especies dentro de sus 5 niveles ecofisiológicos, mencionando a P. funiculosum Thom, P. purpurogenum Stoll, P. tardum (Bainier) Thom, para el primer nivel; P. canescens Sopp, P. decumbens Thom, P. miczynskii Zaleski y P. roquefortii Thom para el segundo nivel; P. brevi-compactum Dierckx, P. citrinum Thom, P. oxalicum Currie et Thom y P. puberulum Bainier para el tercer nivel; en el cuarto nivel encontró una mayor variedad de especies como es el caso de P. commune Thom, P. fellutarum Biourge, P. martensii Biourge, P. meleagrinum Biourge, P. ochraceum (Bainier) Thom, P. psitacinum Thom, P. puberulum Bainier, P. terlicowskii Zalesky y P. turbatum Westling.

Russell (1961) y Sarkar (1984) citan a Penicillium, junto con otros géneros, como microorganismos comunes tanto en pulpa como en papel, en especial a P. roqueforti y P. rubrum, por el manchado de color café que producen; Ross (1976) encontró a P. oxalicum deteriorando pinturas de óleo; Nieves (1990) cita a P. diversum, P. chrysogenum y P. commune atacando objetos de museo.

En México, Robledo y Moretti (1986) aislaron a P. luteum Zunkal de documentos deteriorados en el Archivo General de la Nación, encontrando que mancha el papel de color rojo; además de citar 7 especies diferentes (no determinadas) del aire del mismo lugar. Con respecto a la micoflora del papel, se han realizado pocos trabajos, algunos de ellos aislando hongos que deterioran documentos del mismo lugar (Robledo et al., 1988); algunos otros trabajos relacionados con el deterioro de pergaminos y lienzos (Moretti, et al., 1988; Lelo de Larrea, 1989) y con hongos celulolíticos (Moretti y Robledo, 1985; Vázquez y Moreno, 1991).

MATERIAL Y MÉTODO

TOMA DE MUESTRAS. En el Archivo General de la Nación se realizaron cuatro muestreos sistemáticos en el año de 1988, en la galería 7 denominada como " Archivos Incorporados ". Se entregaron 40 documentos pertenecientes a los siglos XVI, XVII, XVIII, XIX Y XX (8 documentos de cada uno), en los acervos 53, 54 y 55 de la mencionada galería.

Los documentos seleccionados fueron aquellos que ya no fuese posible restaurar y que presentaran manchas probablemente ocasionados por hongos. Se eligieron las hojas internas y las partes alejadas de los bordes, para evitar que las cepas que se obtuvieran fueran producto de la contaminación por el contacto con otros documentos.

Se recortaron 4 muestras de cada documento; de 3 X 3 cm., con tijeras estériles; junto al mechero, con pinzas estériles, se depositaron en bolsas de plástico limpias para ser transportadas y procesadas en el Laboratorio de Morfofisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias, UNAM.

AISLAMIENTO. De las muestras de cada documento, dos se depositaron en cajas de petri con un medio de cultivo de Celulosa-Agar (CA); (fosfato de potasio 10 g., cloruro de potasio 0.5 g., sulfato de magnesio 0.2 g., cloruro de calcio 0.1 g., sulfato de amonio 0.5 g., celulosa 5 g., agar 20 g. y agua destilada 1000 ml); las otras muestras se colocaron en cámaras húmedas incubándose a 27°C durante 30 días.

PURIFICACIÓN Y MANTENIMIENTO DE CEPAS. Las colonias purificadas fueron aquellas que originalmente se desarrollaron sobre el papel. Con un asa de siembra se tomó una muestra de cada colonia y se inoculó en cajas de petri con Extracto de Malta Agar (EMA) incubándose a 27°C. Este paso se repitió varias veces hasta obtener la colonia pura. Con los datos obtenidos se hizo una lista de las cepas de Penicillium que se encontraron.

PRUEBA DE PROPIONATO DE SODIO: Se utilizaron dos técnicas, una en medio de cultivo sólido, evaluando el diámetro de la colonia, y otra en medio de cultivo líquido, evaluando el porcentaje de germinación de esporas.

Para la primera prueba se prepararon diferentes concentraciones; 50,000; 75,000; 100,000; 125,000 y 150,000 ppm que se calcularon mediante la siguiente fórmula:

$$\text{CONCENTRACION} = \frac{\text{gramos de propionato de sodio}}{\text{ml. de volumen de agua}} \times 1,000,000$$

(Mc Callan ,1947; Sharvelle ,1969 y Sharp ,1978).

Para la técnica de germinación de esporas se utilizaron las concentraciones que resultaron letales para cada especie en la prueba del diámetro de la colonia.

DIÁMETRO DE LA COLONIA EN MEDIO SÓLIDO: Se realizó una modificación a las técnicas de Sharp (1978) y Vargas *et al.*(1988), que consistió en el uso de una aguja de disección estéril, para tomar una muestra de esporas de una colonia previamente incubada

en EMA, inoculando en el centro de las cajas de petri con EMA más la concentración del propionato de sodio, incubándose a 27 C durante 28 días (o hasta que el control alcanzara el diámetro de la caja de petri). El diámetro de la colonia se midió en sentido vertical y otro horizontal cada tercer día. Se realizaron tres repeticiones para cada concentración, incluyendo al testigo, obteniendo así por día, un total de 6 datos por concentración. Al término del experimento, se realizaron gráficas del promedio (X) de las lecturas del diámetro de la colonia contra tiempo, para cada concentración de propionato de sodio.

GERMINACIÓN DE ESPORAS EN MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO: Se siguió la técnica propuesta por Sharvelle (1969), Robinson (1978) y Vargas *et al.* (1988). A cada caja de los cultivos vigorizados se le agregó agua destilada estéril, posteriormente se hizo un ligero raspado con el asa de siembra, para obtener las esporas, se decantó y se filtró esta suspensión; se procedió a hacer suspensiones valoradas de esporas con ayuda de un hematocitómetro, ajustándose a 50,000 esporas por mililitro.

Se utilizaron frascos ampolleta a los cuales se les agregó 1 ml de la suspensión valorada de esporas y 1 ml de la solución del fungicida con extracto de malta al 1% (se calculó el doble para compensar la dilución con el agua de la suspensión de esporas); al testigo se le agregó agua sin propionato de sodio.

Esto se hizo por triplicado para cada concentración,

incubándose durante 3 días a 27° C; se tomaron de cada frasco alícuotas de 0.1 ml para la lectura de la germinación, contando esporas germinadas y no germinadas, calculando el porcentaje. Posteriormente los datos sirvieron para realizar gráficas del porcentaje de germinación contra el tiempo, para cada concentración del fungicida.

ANÁLISIS DE DATOS. Se realizó el análisis de distribución obteniendo densidades y frecuencias relativas para el género y los subgéneros aislados de Penicillium. Las fórmulas empleadas fueron:

DENSIDAD RELATIVA

$$Dr = \frac{\text{No. de colonias del género, grupo o especie}}{\text{No. total de colonias de todos los géneros, grupos o especies}} \times 100$$

FRECUENCIA RELATIVA

$$Fr = \frac{\text{No. de muestras en las que se encontro el género}}{\text{No. total de muestras utilizadas}} \times 100$$

VALOR DE IMPORTANCIA DE LA ESPECIE (modificado)

$V_i = \text{Densidad Relativa} + \text{Frecuencia relativa}$

ÍNDICE DE SIMILITUD

$$I.S = \frac{\text{No. de grupos o especies compartidas por dos siglos}}{\text{No. de grupos de un siglo} + \text{No de grupos de otro siglo}}$$

(de acuerdo con Krebs, 1978; Smith, 1980)

Para comparar los documentos de los diferentes siglos, se utilizó la prueba no paramétrica de ANAVA ($\alpha=0.05$) con un solo criterio de clasificación. Por rangos de Kruskal-Wallis comparando con valores teóricos de X (Daniels, 1984)

DETERMINACIÓN DE CEPAS AISLADAS. De un total de 46 cepas de Penicillium, todas se determinaron a subgénero y de estas fueron escogidas 8 cepas al azar para determinar las especies y probar en ellas el efecto del fungicida. La determinación a especie se llevó a cabo con base en las claves de Pitt (1979-1985); para ello fue necesario utilizar 3 tipos de medio de cultivo; Extracto de Malta Agar (EMA a 25°C); Glicerol 25% Nitrate (G25N, a 25°C) y Czapek Extracto de Levadura (CYA, a 5°, 25° y 37°C). Cuando crecieron en estos medios, se estudiaron tanto su crecimiento, como sus características morfológicas a nivel macro y microscópico.

Los datos macroscópicos se tomaron después de 7 días de incubación, y fueron; características de la colonia (diámetro, coloración, color en la parte inversa, si es flocosa, velutinosa o aterciopelada); el micelio (abundancia, exudado presente o ausente, color, si provoca pigmentación en el medio de cultivo).

Para observar las características microscópicas, se elaboraron preparaciones semipermanentes en lactofenol, de cultivos crecidos tanto en EMA como en CYA. Las características que se to-

maron en cuenta fueron : conidióforos (tamaño, número de ramificaciones, métulas, tamaño y forma de éstas, presencia o ausencia de rama o ramuli, número de fiálides, tamaño y forma de ellas, si los conidióforos son intercalares o terminales y si tienen septos o no); esporas o conidiosporas (color, forma, ornamentación y tamaño).

HISTORIA Y TAXONOMÍA DE Penicillium

El nombre genérico de Penicillium (Latin, penicillus = pequeño pincel) fue publicado por primera vez por Link, 1809 en su "Observationes in Ordines plantarum naturales" describió 3 especies, P. glaucum, P. candidum y P. expansum; los dos primeros son difíciles de igualar con los conceptos modernos, sin embargo describió a P. expansum causando pudrición de raíces de frutas, coincidiendo Thom con este hallazgo en 1910, por lo que se considera a esta como la especie tipo del género.

Antes del último Código Internacional de Nomenclatura Botánica, se le concedió el crédito a Fries de haber dado nombre al género; ello fue por que lo publicó en "Systema Mycologicum" durante el año de 1821 (a partir del cual se hicieron válidas las publicaciones de nuevos géneros y especies de hongos); aunque anteriormente se habían citado otras posibles especies de Penicillium, por ejemplo, Linneo en 1729 refirió sus especies a una ilustración de Michelis (1729) como un hongo "semejante a Botrytis."

En 1824, Link agrupó a todos los Penicillium verdes bajo el nombre de P. glaucum, causando fuerte impacto, conociéndose a todos los Penicillium con este nombre por mucho tiempo.

Durante los años de 1830 a 1900 se describieron muchas especies, aunque posteriormente se revisó el material de herbario y muy pocas resultaron verdaderas. Brefeld (1874) escribió la historia de P. glaucum, en la cual describe e ilustra especies

de Penicillium biverticilados, además de un desarrollo de cleistotecios esclerotizados y su eventual producción de ascas y ascosporas. En 1821 Delacroix describió P. duclauxii y mantuvo vivo el aislamiento, distribuyéndolo como material de herbario, siendo el primer trabajo de este tipo. Posteriormente, Dierckx (1901) describió minuciosamente 25 nuevas especies, manteniendo el cultivo de P. griseoroseum vivo hasta la actualidad.

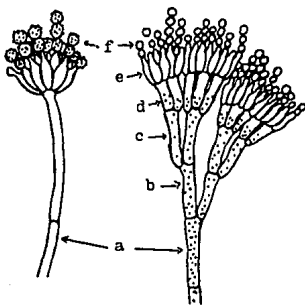
Biourge, en 1923 escribió la primera clasificación subgenérica, describiendo además 125 especies, siendo 60 de ellas nuevas para la ciencia. Thom escribió en 1906 "Hongos en la maduración de quesos", y encontró a P. roquefortii y P. canembertii;. En 1910 escribió "Estudios de cultivos para especies de Penicillium", enfatizando la necesidad de realizar análisis comparativos de especies sobre medios estandarizados; además describió 13 nuevas especies y realizó la primera clave para el género. Reconoció la importancia de la temperatura como un parámetro que controla el crecimiento; su trabajo culmina en 1930 con la publicación de "The Penicillia", compendio de todas las especies publicadas, con descripción de 300 especies, clave para su identificación y algunas indicaciones de sinonimia; además dividió el género en 4 subgéneros y subdividió cada uno de ellos en secciones y subsecciones. Por último colaboró con K.B. Raper para producir el "Manual of the Penicillia".

K.B. Raper y D.I. Fennell realizaron un manual nuevo, basán-

dose en los registros de Thom; para ello Raper examinó todas las especies y redujo la mayoría a sinonimias, aceptando solamente 137, las cuales ordenó en 4 secciones y 41 series. Otro aspecto importante de Raper fue que usó por primera vez la técnica de liofilización en Micología.

DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO Penicillium

El penicilio es la estructura reproductora, siendo la base más satisfactoria para la clasificación. El siguiente esquema, de acuerdo con Pitt (1985), representa las estructuras básicas de los penicilios, mostrando el tipo más simple y el más complejo.



- a) Conidióforo b) Rama c) Ramuli d) Métula e) Fiálide
f) Conidios

Estas estructuras, específicamente fructíferas, nacen terminal o intercalaramente de hifas o conidióforos; están

comprendidos por fiálides que nacen directamente de estípites, con 1, 2, o raramente más verticilos de métulas y ramas como células de soporte; las fiálides nacen en verticilos compactos, son relativamente cortas, con paredes lisas, teniendo una porción apical (cólula); los conidios nacen en largas cadenas, son unicelulares, comunmente miden de 2 a 4 um o a veces exceden los 6 um; pueden ser esferoidales, elipsoidales, piriformes o apiculados, raramente cilindroidales; en masa verde-gris, gris-azul o gris, a veces olivo o de color café.

Las especies de Penicillium pueden presentar dos estados de desarrollo: estado anamórfico (que se reproducen asexualmente, por medio de conidios) y telomórfico (se reproducen sexualmente, por medio de ascocarpos formados en cleistotecios).

Las especies anamórficas son divididas en 4 subgéneros, dependiendo del tipo de estructura fructífera, clasificándolos en base a 3 tipos de características:

- 1.- Rango de crecimiento diametral de la colonia
- 2.- Morfología de la colonia
- 3.- Morfología microscópica

Para determinar el subgénero se deben contar en primer lugar el número de puntos de ramificación entre la fiálide o cadenas conidiales y el estípite. Cuando el penicilio es monoverticilado se clasifica dentro del subgénero ASPERGILLOIDES. El penicillium más complejo se caracteriza por tener 3 puntos de ramificación, o en algunas especies hasta 4, llamándose tri o cuatriverticilado

respectivamente; dichas especies pertenecen al subgénero **PENICILLIUM**. Los Penicillium con complejidad intermedia son biverticilados; a esta categoría pertenecen 2 subgéneros: **BIVERTICILLIUM** y **FURCATUM**. Para distinguir entre los dos se debe observar; el largo de fiálides y métulas, el número de métulas por estípote, el diámetro de la colonia sobre el medio de cultivo G25N, y la forma de las fiálides. Las diferencias entre ambas se muestran enseguida;

ESTRUCTURAS	PENICILIOS BIVERTICILADOS	
	FURCATUM	BIVERTICILLIUM
Largo de fiálides comparada con largo de métulas	mucho menos que una	aproximadamente una
# de métulas por estípote	raramente exceden 5	usualmente exceden 5
Diámetro de la colonia sobre G25N	10-18 mm.	menos de 10 mm.
Forma de las fiálides	forma de botella gradualmente adelgazada en la punta.	lados paralelos, abruptamente adelgazado hacia la punta

CLAVE PARA DETERMINAR SUBGÉNEROS DE Penicillium

1.- Penicilios monoverticilados o con número menor de métulas presentes----- Subg. Aspergilloides

Penicilios comúnmente biverticilados o más complejos----- 2

2.- Penicilios predominantemente biverticilados o irregularmente monoverticilados o biverticilados. Colonias sobre G25N raramente mayores de 18 mm de diámetro----- 3

Penicilios predominantemente triverticilados. Colonias sobre G25N raramente menos de 18 mm de diámetro---- Subg. Penicillium

3.- Penicilios predominantemente biverticilados o raramente triverticilados; radio de fialides, comparándolo con el largo de las métulas, es casi igual. Colonias sobre G25N más de 10 mm de diámetro----- Subg. Biverticillium

Penicilios biverticilados o irregularmente monoverticilados y triverticilados; largo de fialides, comparándolo con el largo de métulas, es mucho menor. Colonias sobre G25N más de 9 mm de diámetro----- Subg. Furcatum

DESCRIPCIÓN DE LOS SUBGÉNEROS Y ESPECIES DETERMINADAS

ASPERGILLOIDES. Dierckx

Annls Soc. Scient. Brux. 25:85, 1901

Conidióforos estricta o predominantemente monoverticilados, las fiálides nacen directamente sobre el estípite, con un solo punto de ramificación entre el estípite y la cadena de conidios; las métulas son producidas por algunas especies, aunque son relativamente raras.

Pitt (1979) dividió este subgénero en 2 secciones. Aspergilloides y Exillicaulis, basada en la presencia ó ausencia de una vesícula en el extremo del estípite (éste es considerado vesiculado cuando el engrosamiento terminal es el doble del diámetro o más (Pitt, 1973). Dicha vesícula es un carácter con significado taxonómico, indicando las relaciones entre especies de manera más exactas que las características del rango de crecimiento o textura de la colonia.

En algunos casos, el crecimiento sobre Extracto de Malta (MEA) puede ser examinado microscópicamente, debido a la vesiculación más pronunciada en este medio.

Penicillium glabrum. (Wehmer) Westling.

Ark. Bot. 11(1): 131, 1911

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS:

CYA 25° C. Colonias de 44 mm de diámetro, colonia densa y radialmente sulcada, con el centro deprimido; la superficie es de textura velutinosa; conidiogénesis moderada en toda la superficie, su color es verde oscuro (M 24C3) al centro y hacia el margen es verde polvo (M 24B3). El reverso se tiñe de color crema.

EMA 25° C: Colonia de 49 mm, baja y velutinosa, plana, con micelio visible en el centro, conidiogénesis moderada, color como en CYA, exudado ausente, el reverso se tiñe de amarillo intenso.

G25N 25° C: Colonia pequeña de 8 mm, blanca, radialmente sulcada, conidiogénesis moderada, reverso de color café-amarillo.

CYA 5° C: Colonia de 10 mm, blanca, velutinosa, radialmente sulcada, conidiogénesis moderada.

CYA 37° C: Sin crecimiento.

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

Conidióforos nacen de hifas aéreas, estípites de 34-105 X 3-3.5 μ m de paredes lisas a finamente rugosas, monoverticilados a ocasionalmente biverticilados, comunmente con vesículas que miden arriba de 6 μ m. de diámetro; fiálides numerosas, de 12 a 16 por verticilo, ampuliformes de 8.5-10.2 X 2.5-3.5 μ m.; conidios esféricos a subesferoidales, comunmente de (1.95)2.6-3.9 μ m., con

paredes lisas a muy finamente rugosas, nacen de grandes columnas definidas.

Distribución: Es una especie muy común, y se ha encontrado en pinturas, combustible de aviación, papel, pulpa de papel, cereal, suelo y aire.

Discusión: La cepa estudiada varía un poco en el color de la colonia en CYA 25° C, así como en G25N, donde la colonia es más pequeña que lo reportado por Pitt (1979); con respecto a los conidios, en general se encuentran dentro del rango establecido. Esta especie se ha reportado en México contaminando maíz para consumo humano (García, 1991) y produce la micotoxina conocida como penitremo A.

Se cita por primera vez en México como un agente deteriorante de papel.

BIVERTICILLIUM. Dierckx
apud Blourge. Cellule 33:31, 1923

Penicilio característicamente biverticilado, algunas veces triverticilado, siempre terminales, numerosas mótulas en verticilos simétricos o divergentes, de aproximadamente la misma longitud que las fiálides, las cuales son típicamente acerosas, con célula cónica, terminando en un poro recto o angosto en el ápice, en unas especies es ampuliforme-acerosa; conidios elipsoidales a fusiformes, en algunas especies son esferoidales con fiálides ampuliformes.

Colonias sobre CYA a 25° C comúnmente producen pigmentación amarilla o roja en el micelio, exudado, pigmentos solubles al

reverso del medio de cultivo; comunmente crecen a 37°C.

El crecimiento a 5°C es excepcional; crecen muy poco sobre G25N, las colonias miden menos de 10 mm en 7 días a 25°C (con excepción de especies de la serie Duclauxii.

Este subgénero comprende un gran grupo de especies con muchas características en común, como son estructura del penicilio , forma de las fiálides, pigmentación de la colonia y rango de crecimiento sobre G25N. La característica más obvia para reconocer los miembros de éste subgénero es el penicilio característicamente biverticilado.

FURCATUM. Pitt, subgen. nov.

Incluye especies que producen penicilios regular o irregularmente biverticilados, con 2 a 5 métulas terminales; las fiálides son ampuliformes, con un poro apical ancho, son más cortas que las métulas que las sostienen, algunas especies producen una proporción de penicilios monoverticilados.

Las colonias sobre G25N siempre exceden de 9 mm. de diámetro en 7 días. Algunas pocas especies producen métulas en verticilos de 5 a 9 (semejantes a Biverticillium), pero son reconocidas como miembros de Furcatum por las fiálides ampuliformes, con crecimiento relativamente rápido sobre G25N, las cuales son más cortas que las métulas.

Pitt (1979) lo dividió en 2 secciones: Furcatum y Divaricatum; las métulas del primero son exclusivamente de

nacimiento terminal, y en el segundo caso, produce penicilios biverticilados irregulares, con métulas que nacen terminales, subterminales y en regiones muy bajas del estípite.

Penicillium chrysogenum Thom

Bull. Bur. Anim. Ind. US Dep. Agric. 18:58, 1910

CYA 25°C: Colonias de 55 mm de diámetro, densa y velutinosa, a veces flocosa, con diferentes colores; rojo (M 10A4), blanco y verde gris; conidiogénesis leve a moderada; reverso de color rojo (M 9C6).

EMA 25°C: Colonias de 43 mm, baja y relativamente esparcida, superficie velutinosa, ocasionalmente flocosa; conidiogénesis moderada a alta, color verde polvo (M 27D3), reverso color rojo-café (M 9A4).

G25N 25°C: Sin crecimiento.

CYA 5°C: Microcolonias de 2 mm

CYA 17°C: Sin crecimiento.

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS:

Los conidióforos nacen de hifas superficiales, estípites de 119-187 X 3.0-4.0 μm ., con paredes lisas, penicilios típicamente triverticilados, aunque pueden ser bi o cuatriverticilados; ramas de 15-20 X 3.0-4.0 μm , métulas en verticilos de 3-5, de 10.2-13.6 X 2.5-3.4 μm ., con célula corta y abruptamente angosta; conidias elipsoidales a subesferoidales, menos comunmente esferoidales

(1.95)2.5-4.0 X 2.6-3.4 μ m., con pared lisa, nacen en columnas irregulares.

Distribución: Es el más ubicuo de los Penicillium, ocupando el más amplio rango de habitats.

Discusión: Las colonias en CYA 25° C y en EMA son ligeramente más grandes. Pitt(1976), reporta crecimiento en G25N, pero no se encontró tal; las fiálides son también ligeramente más grandes. Esta especie es la más ubicua de todas, teniendo una gran variedad de hábitats; en México se ha reportado atacando semillas almacenadas, cereales, masa de harina de maíz y manzanas; además de producir micotoxinas tales como; roquefortina C, citrinina, ácido micofenólico, ocratoxina A, ácido penicílico y patulina (Alvarez, 1990; García, 1991; Mondragón, 1992). Por otro lado, se ha encontrado también en suelos (Samaniego *et al.*, 1988) y deteriorando pergamino (Lelo, 1989). En México se cita por primera vez como hongo deteriorante de documentos.

Penicillium ochrochloron. Biourge
Cellule 33: 269, 1923

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS:

CYA 25° C: Colonia de 38 mm. de diámetro, con ligeros radios, flocosa, márgenes moderadamente deprimidos, micelio blanco, conidiogénesis ausente o muy ligera, inconspicua, exudado ausente, reverso de la colonia de color pálido.

EMA 25° C; Colonia de 30 mm, plana, flocosa, colonia verde oscuro (M 27D3), reverso color crema.

G25N 25° C; Colonia pequeña, de 10 mm., color crema (M 4A2) y blanco, con radios bien marcados, flocosa a funiculosa, exudado ausente, reverso pálido.

CYA 5° C; Microcolonia de 8 mm., micelio blanco, velutinoso.

CYA 17° C; Sin crecimiento.

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS:

Los conidióforos nacen de hifas marginales o aéreas, estípites de 140-280 X 2.2-3.4 μ m., con paredes lisas a finamente rugosas, producen métulas terminales o intercalares y en menor número, miden de 6.8-8.5 X 2.5-3.4 μ m.; fiálides en verticilos de 4 a 8, miden 8-10.2 X 2.5-3.4 μ m con una larga colula, conidios elipsoidales a apiculadas, con paredes lisas, nacen en cadenas cortas y desordenadas.

Distribución: Raper y Thom (1949) reportaron que el aislamiento de esta especie lo hicieron a partir de soluciones de sulfato de cobre o de ácido sulfúrico, de fábricas de lonas o lienzos que usaban inhibidores para hongos que contenían cobre, por lo que concluyeron que es básicamente un microorganismo del suelo.

Discusión: El diámetro de la colonia en EMA es ligeramente más pequeño, además de que el color del micelio es diferente (aunque se ha observado cambio en las características morfológicas de un cultivo a otro); las métulas son ligeramente más cortas, y

algunos conidios son más pequeños. Esta especie es nuevo registro para México, ya que no se ha reportado en ningún trabajo realizado, por lo que también es un nuevo registro de hongo detectorante de documentos en México.

Penicillium simplicissimum. (Oudem) Thom
Penicillia 335, 1930

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS:

CYA 25° C: Colonias de 65 mm. de diámetro, velutinosas, micelio denso color amarillo claro (M 3A2-3A3), radialmente sulcada, conidiogénesis ausente o muy ligera, el reverso se tiñe de amarillo (M 3A2).

EMA 25° C: Colonias de 45 mm, plana, de velutinosa a flocosa, micelio blanco, conidiogénesis moderada, color verde grisáceo (M 24B3), a verde oscuro (M 24D3), reverso color amarillo intenso (M 3A5).

G25N 25° C: Colonias de 15 mm, plana, radialmente sulcada, de velutinosa a flocosa, micelio blanco, conidiogénesis ligera, reverso color amarillo (M 3A5).

CYA 5° C: Microcolonias de 9 mm, velutinosa, micelio blanco.

CYA 17° C: Sin crecimiento.

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS:

Los conidióforos nacen de hifas superficiales o aéreas, estípites de 204-238 X 3.4 μ m, usualmente de paredes rugosas, verticilos de méticas de 2 a 5, midiendo 8.5-10.2 X 2.5-4 μ m, de

pared rugosa; fiálides ampuliformes de 4 a 8 por métula, miden 10.2-11.9 X 2.5-3.4 μm ; cólula abruptamente adelgasada; conidios muy variables, aunque comunmente elipsoidales, pero a veces esferoidales, subesferoidales o piriformes (1.95) 2.5-3.9 X 2-3.5 μm , con paredes finamente rugosas o espinulosas, nacen en cadenas desordenadas cortas a moderadamente largas.

Distribución: Por ser un agente altamente degradador, se ha encontrado en muchos tipos de materiales degradados, también distribuido en suelos.

Discusión: El color de la colonia en CYA 25°C varía un poco, el crecimiento en CYA 37°C no se produjo, contrario a lo reportado por Pitt (1979); los conidióforos son más pequeños, al igual que las métulas. En México se ha reportado creciendo en masa de harina de maíz y en maíz almacenado (García, 1991; Mondragón, 1992), produciendo micotoxinas, fumitremorginas A y B, ácido penicílico, verruculógeno, toxina de viridicatum y citreoviridina. En México se reporta por primera vez como agente deteriorante de papel.

PENICILLIUM:

Sect. Asymmetrica Raper & Thom, Man. Penicillia: 254, 1949

En este subgénero los penicilios son predominantemente terminales, triverticilados o en algunas especies cuatriverticilados; las fiálides siempre nacen sobre métulas, y éstas a su vez nacen de una rama bien definida; las fiálides son típicamente

ampuliformes y algunas cilindroidales o acerosas en algunas especies. Colonias sobre G25N normalmente exceden 18 mm, no crecen en CYA a 37°, en CYA 5°C siempre crecen formando por lo menos colonias microscópicas.

Este subgénero es el más difícil taxonómicamente, ya que tiene numerosas especies y las diferencias entre ellas son muy pequeñas; existen diferentes sistemas de clasificación: Raper y Thom (1949), Samson *et al* (1976) y Pitt (1979) utilizan el sistema basado sobre la morfología y fisiología; recientemente Frisvad (1981) y Frisvad y Filtenborg (1983) realizaron un sistema diferente basado en la producción de metabolitos secundarios; cada sistema tiene sus ventajas y sus desventajas.

Pitt dividió el subgénero en 4 secciones, basándose en las diferencias morfológicas microscópicas.

- *Penicillium*.- Incluye la gran mayoría de especies; los conidióforos nacen únicamente agregados en fascículos o en coremia rudimentarios, por lo que regularmente presentan penicilios triverticilados, aunque aparecen bi o cuatriverticilados; las fiálides son ampuliformes; crecen rápidamente sobre G25N, excediendo por lo general los 18 mm de diámetro; no crecen a 37°C y a 5°C el crecimiento es mínimo.

- *Coronatum*.- Formada por una sola serie, la serie *Olsonii*, y una sola especie *P.olsonii*, con penicilios multiramulados en el ápice de un único estípote.

- *Cylindrosporium*.- Produce característicamente penicilios triver-
ticilados; las conidias se forman de las fiálides como cilindros,
muchas de ellas retienen su forma cilíndrica cuando maduran, pero
otras se vuelven más o menos elipsoidales.

- *Inordate*.- Con una sola serie, la serie *Arenicola*, y una
especie *P. arenicola*, con penicilios predominantemente
irregulares, con colores en la colonia que son anormales para
especies de este género.

Penicillium olsonii. Bain & Sartory
Annls mycol. 10:398, 1912

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS:

CYA 25° C: Colonias de 28-38 mm de diámetro, plana con ligeros
radios superficiales, velutinosa, margen entero, micelio blanco,
con partes de color café pálido (M 5B2), conidiogénesis moderada,
exudado de color amarillo (M 2A3), el reverso se tiñe de amarillo
(M 3A5).

EMA 25° C: Colonias de 35 mm, plana a ligeramente umbonada,
velutinosa, micelio inconspicuo, excepto en el centro; conidiogé-
nesis moderada; color verde-grisáceo (M 25D3) con secreciones
amarillas, el reverso es de color café claro (M 4B5).

G25N 25° C: Colonias de 10 mm, color crema (M 5B2) o blanco,
radialmente sulcada, tiñe el medio de café claro (M 4A3).

CYA 5° C: Microcolonias de 7 mm, blancas y velutinosas.

CYA 37° C: Sin crecimiento.

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

Conidióforos nacen de una hifa muy larga, con estípites de 500-2000 X 4-6 μm , terminando en un penicilio característico que puede ser tri o cuatriverticilado; 2 ó 3 ramas por estípite aunque pueden ser hasta 5-6, miden 10-12(20) X (3)4-5 μm ; tienen de 3 a 5 métulas por verticilo, midiendo 10.2-15.3 X 3-4 μm .; fiálides de 5 a 8 por métula, ampuliformes, con una célula corta, miden 6.8-11.9 X 3-4 μm .; conidios elipsoidales de 2.6-4.5 (5.2) X 1.95-2.6 μm ., con paredes lisas a finamente rugosas, nacen en cadenas desordenadas.

CARACTERÍSTICAS Y DISTRIBUCIÓN: Es la única especie que produce penicilios terminales multiramulados, de hasta 6 ramas juntas en el ápice del estípite. Este es un desarrollo extraordinario en la evolución del género Penicillium, siendo la única especie comparable con Aspergillus, en cuanto a la habilidad para producir un gran número de fiálides en estípites individuales; probablemente tienen 200 a 300 fiálides por penicilio. Se ha encontrado pocas veces y solo sobre suelo y agua.

Discusión: La cepa estudiada tiene pocas variaciones, por ejemplo, la presencia de exudado en EMA, un diámetro menor en G25N, además de que las fiálides y conidios varían ligeramente, aunque por lo general están dentro del rango reportado. Esta especie se ha reportado en México en masa de harina de maíz (Mondragón, 1992), así como habitante del suelo en Coahuila (Samaniego et al., 1988). Es un nuevo registro en México como

deteriorante de documentos.

R E S U L T A D O S

Aislamiento.- De las 197 colonias, 117 (59.3%) pertenecieron al género *Penicillium* y 60 (40.6%) a otros géneros (Ver gráfica 1); dichas colonias se aislaron en cámara húmeda en menor número que en medio de cultivo sólido (CA). En la gráfica No. 2, se observa el crecimiento de colonias en los dos métodos; en cámara húmeda, germinó un menor número de colonias, sobre todo en el siglo XIX, donde hubo una densidad relativa de 6 %, y de estas el mayor porcentaje se presentó en el siglo XX ($Dr = 22$). Con relación al medio de cultivo sólido, el número de las colonias aumentó en cada siglo, teniendo un máximo en el siglo XIX y un mínimo en el siglo XVI.

Las 117 colonias de *Penicillium* estuvieron distribuidas en los documentos de los siglos XVI, XVII, XVIII, XIX y XX como se observa en la Gráfica No. 3.

Determinación.- Las colonias de *Penicillium* fueron determinadas a subgénero con ayuda de las claves de Pitt (1979 y 1985). En la Gráfica 4 se observa la Densidad Relativa (Dr), Frecuencia relativa (Fr) y Valor de importancia (Vi) de los cuatro subgéneros; los que se presentaron de la siguiente manera: *Aspergilloides* ($Vi = 23.7\%$), *Biverticillium* ($Vi = 38.2\%$), *Furcatum* ($Vi = 12.2\%$) y *Penicillium* ($Vi = 30.6\%$).

En los documentos de los diferentes siglos, los subgéneros crecieron de diferente manera; en las Gráficas 5 a 9 se observa

la Densidad relativa (Dr), Frecuencia relativa (Fr) y Valor de importancia (Vi) de ellos: en el siglo XVI (Gráfica 5) sólo crecieron *Biverticillium* y *Furcatum*; en el siglo XVII (Gráfica 6) se presentaron los cuatro subgéneros, aunque *Biverticillium* y *Penicillium* fueron los más frecuentes; en el siglo XVIII (Gráfica 7) solo crecieron *Biverticillium* y *Penicillium*, teniendo el primero un mayor número; en el siglo XIX (Gráfica 8) crecieron tres subgéneros; *Aspergilloides*, *Biverticillium* y *Penicillium*; en el siglo XX crecieron los cuatro, en donde el subgénero *Aspergilloides* fué el que predominó.

De las colonias encontradas, se escogieron 8 al azar, que tuvieran características diferentes, tanto morfológicas como fisiológicas para utilizarlas en los métodos de control con propionato de sodio. Seis de ellas se determinaron a especie con ayuda de las claves de Pitt (1979, 1985); todas fueron nuevos registros para la microbiota deteriorante del papel en México, aunque han sido reportadas como degradadores de diferentes tipos de materia orgánica; una especie es nuevo registro para México.

Diámetro de la colonia.- Las cepas de *Penicillium* fueron tratadas con las concentraciones de 50,000; 75,000; 100,000; 125,000 y 150,000 ppm de propionato de sodio. En la tabla 2 están reportados los diámetros de la colonia de las diferentes especies, alcanzados después de 28 días de incubación (promedio de tres repeticiones). Las especies más resistentes fueron

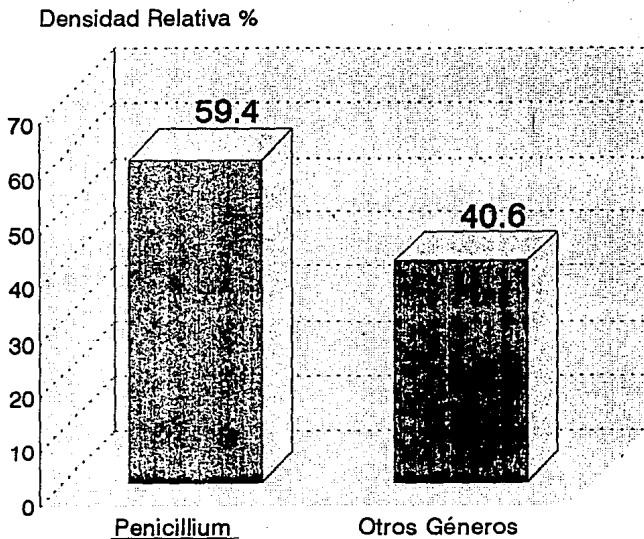
P. glabrum y *P. olsonii* (56) ya que crecieron en todas las concentraciones, incluso a 150,000 ppm, una especie (*P. simplicissimum*) creció a 125,000 ppm, tres más (*P. ochrochloron*, *P. olsonii* 19 y *P. spl*), lo hicieron en 100,000 ppm, otra especie, (*P. sp2*) fue relativamente sensible, germinando solamente a 75,000 ppm y la más sensible fué *P. chrysogenum* que sólo creció en 50,000 ppm.

Germinación de esporas.- Basándose en el crecimiento que presentaron las especies en el método de control, se procedió a probar la germinación de las esporas de todas las cepas, en las concentraciones que resultaron letales en el crecimiento micelial 25,000; 50,000; 75,000; 100,000 y 125,000 ppm de propionato de sodio. En la tabla 4 se observa el porcentaje de la germinación de esporas de las diferentes especies, siendo tres de ellas totalmente inhibidas (*P. glabrum*, *P. chrysogenum* y *P. olsonii* 56); dos especies más solo crecieron en 25,000 ppm (*P. ochrochloron* y *P. olsonii* 19); tres más crecieron en 50,000 ppm (*P. simplicissimum*, *P. spl* y *P. sp2*)

En la tabla 5 se resumen los rangos de dosis inhibitoria de propionato de sodio en la germinación de esporas y el crecimiento micelial de las especies de *Penicillium*, proponiendo la dosis que es necesaria para ambas etapas de desarrollo.

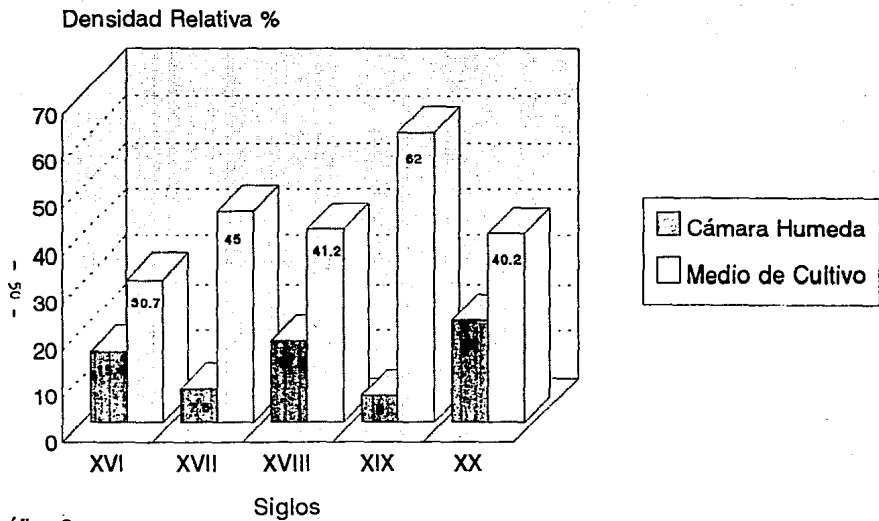
El comportamiento que tuvieron las cepas durante los 28 días de incubación en medio de cultivo sólido con propionato de sodio, se

puede apreciar en las gráficas 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23 y 25; y el comportamiento, durante 4 días de incubación en medio de cultivo líquido, para cuantificar la germinación de las esporas, se aprecia en las gráficas 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 y 26.



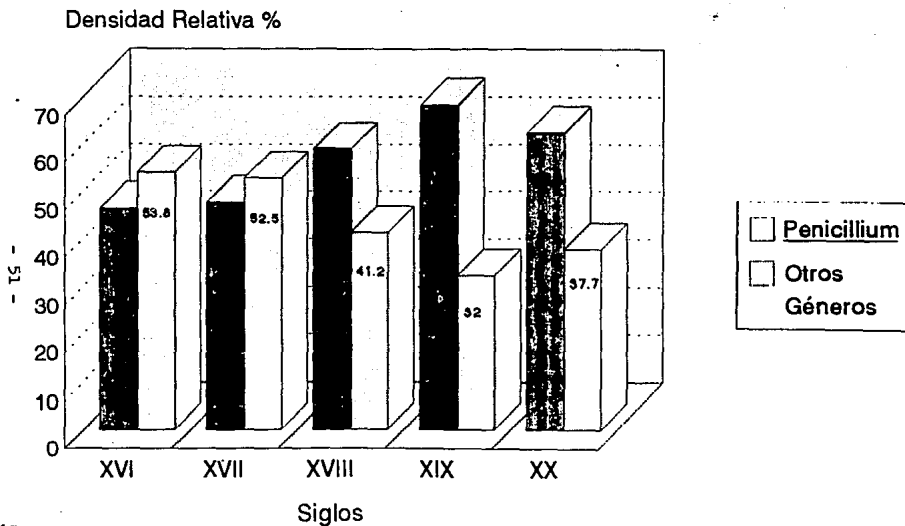
Gráfica 1

Densidad Relativa de Penicillium y Otros Géneros de colonias aisladas de Documentos Deteriorados



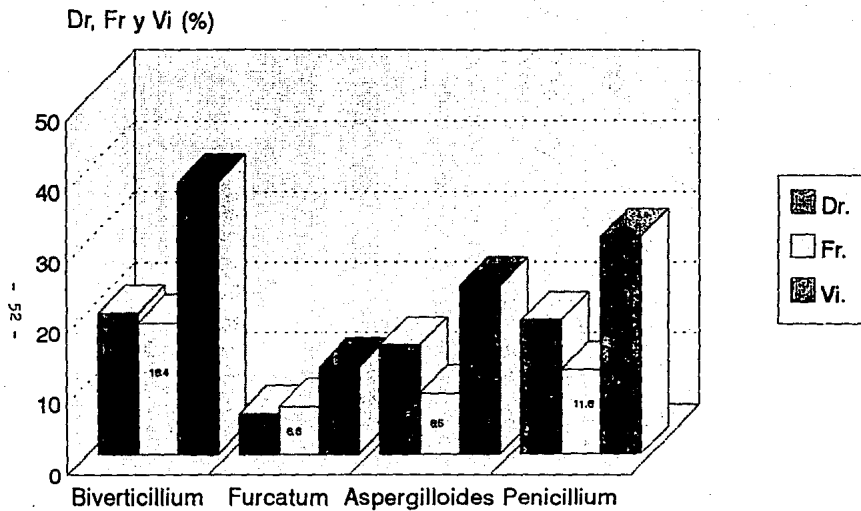
Gráfica 2

Densidad Relativa de las Colonias de Penicillium que crecieron en Cámara Humeda y en Medio de Cultivo, de Documentos de Diferentes Siglos



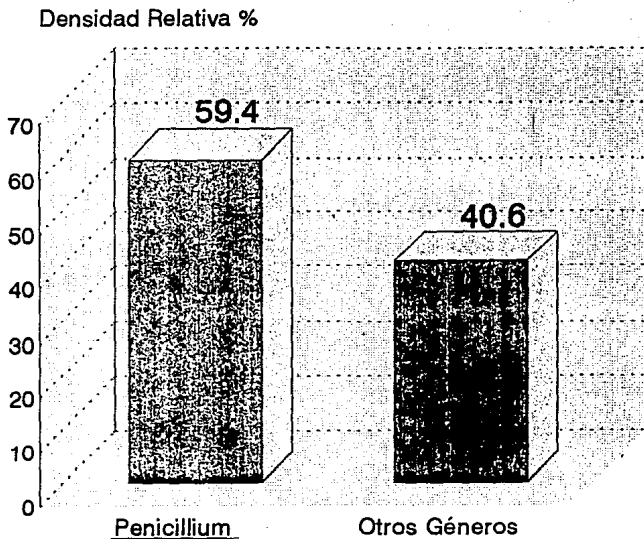
Gráfica 3

Densidad Relativa de las Colonias Aisladas de Penicillium en Documentos Deteriorados de Diferentes Siglos



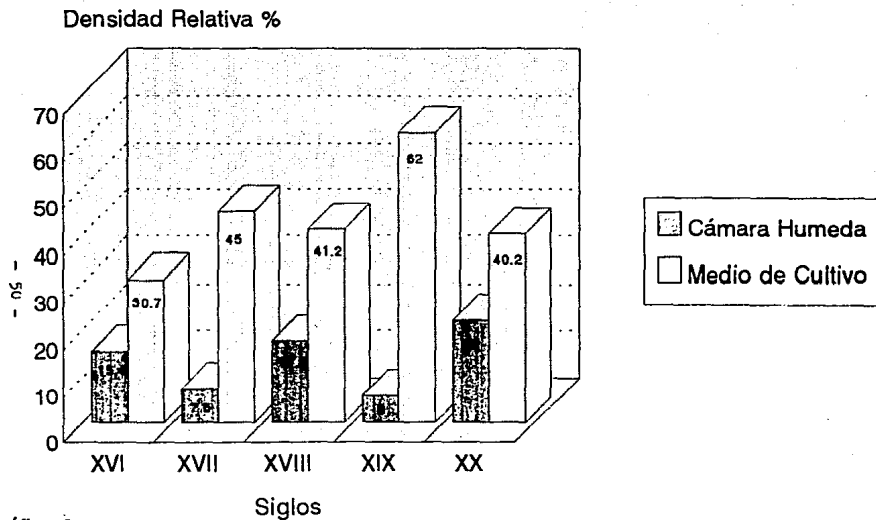
Gráfica 4

Densidad Relativa (Dr), Frecuencia Relativa (Fr) y Valor de Importancia (Vi), de los Subgéneros de Penicillium



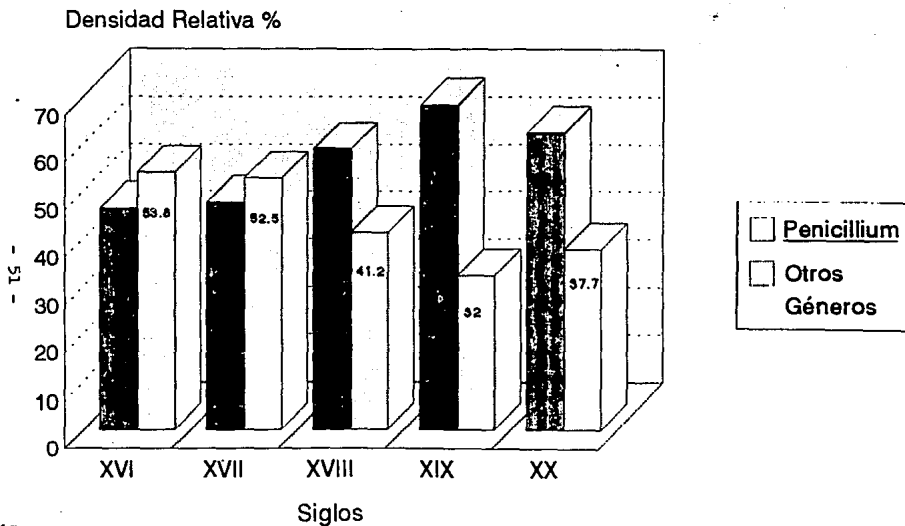
Gráfica 1

Densidad Relativa de Penicillium y Otros Géneros de colonias aisladas de Documentos Deteriorados



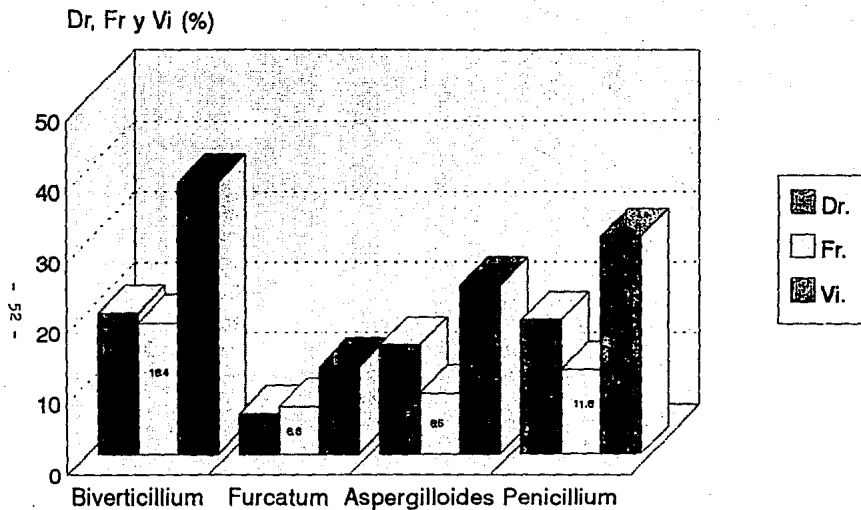
Gráfica 2

Densidad Relativa de las Colonias de Penicillium que crecieron en Cámara Humeda y en Medio de Cultivo, de Documentos de Diferentes Siglos



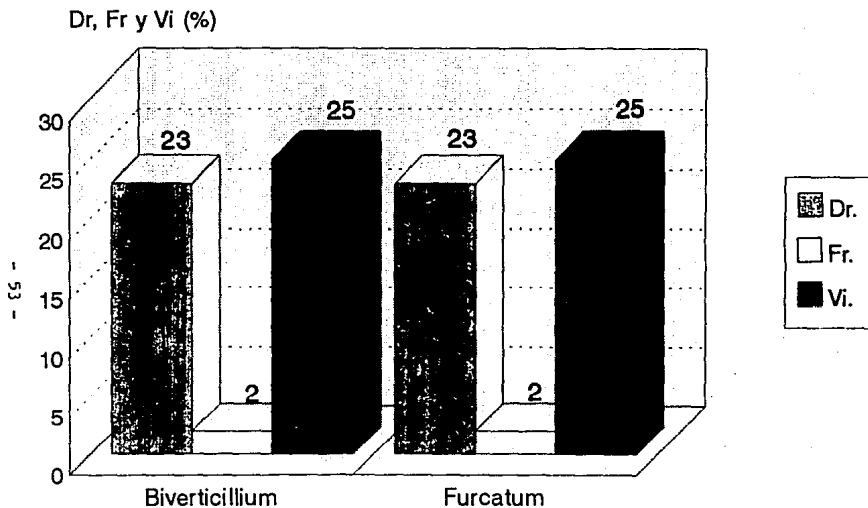
Gráfica 3

Densidad Relativa de las Colonias Aisladas de Penicillium en Documentos Deteriorados de Diferentes Siglos

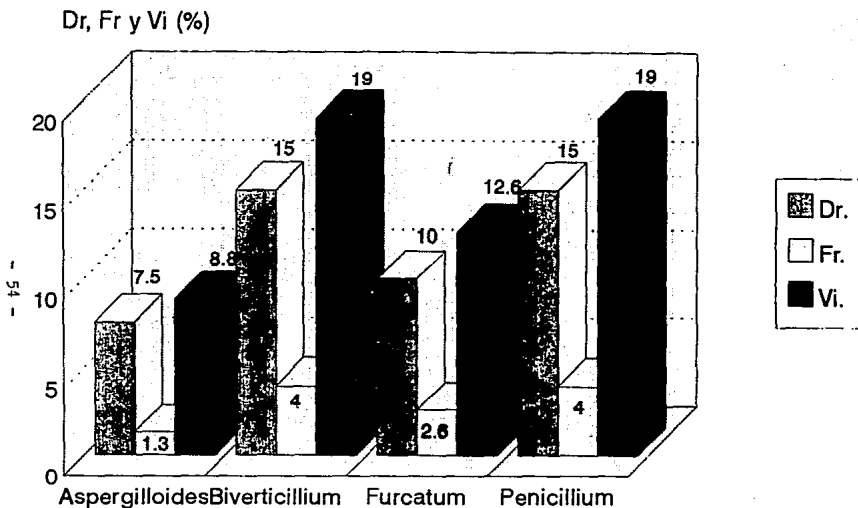


Gráfica 4

Densidad Relativa (Dr), Frecuencia Relativa (Fr) y Valor de Importancia (Vi), de los Subgéneros de Penicillium

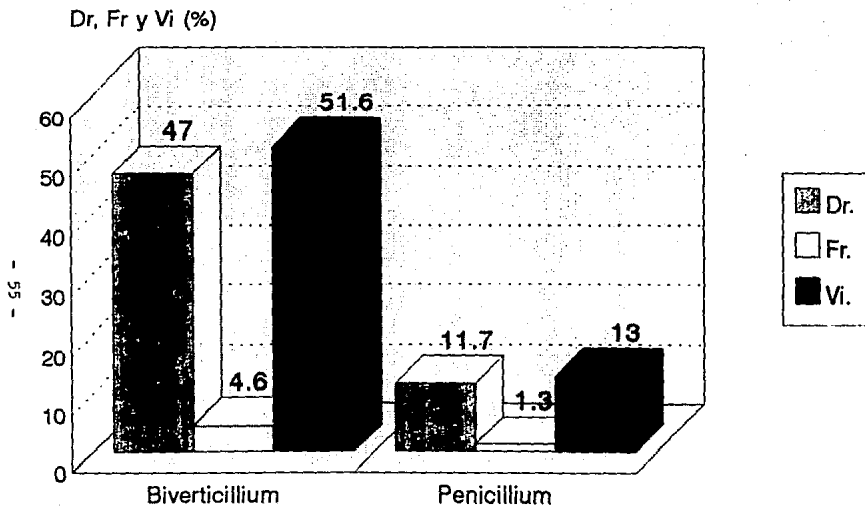


Gráfica 5
 Densidad Relativa (Dr), Frecuencia Relativa (Fr) y Valor de Importancia (Vi),
 de los Subgéneros de Penicillium en el Siglo XVI



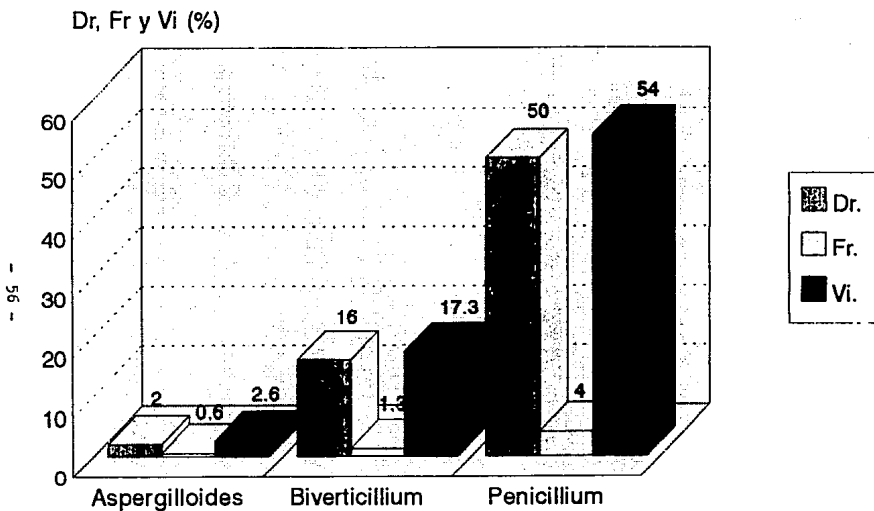
Gráfica 6

Densidad Relativa (Dr), Frecuencia Relativa (Fr) y Valor de Importancia (Vi), de los Subgéneros de Penicillium en el Siglo XVII



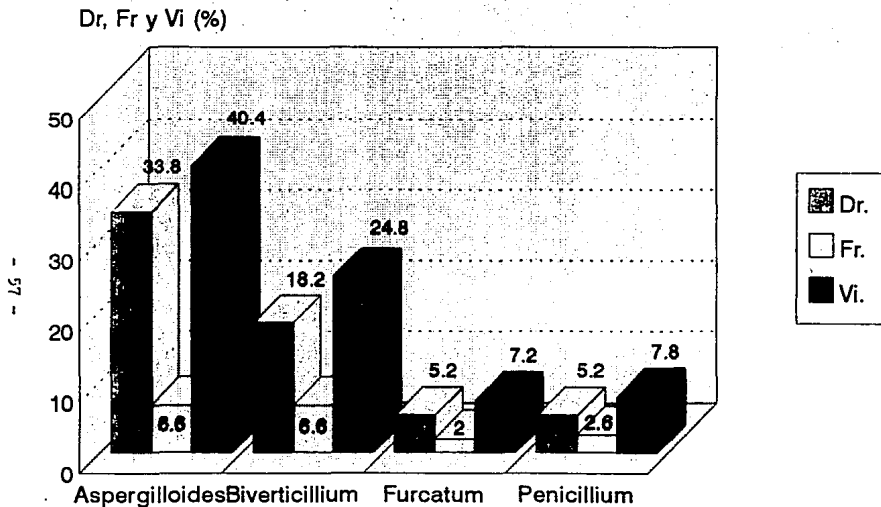
Gráfica 7

Densidad Relativa (Dr), Frecuencia Relativa (Fr) y Valor de Importancia (Vi), de los Subgéneros de Penicillium en el Siglo XVIII



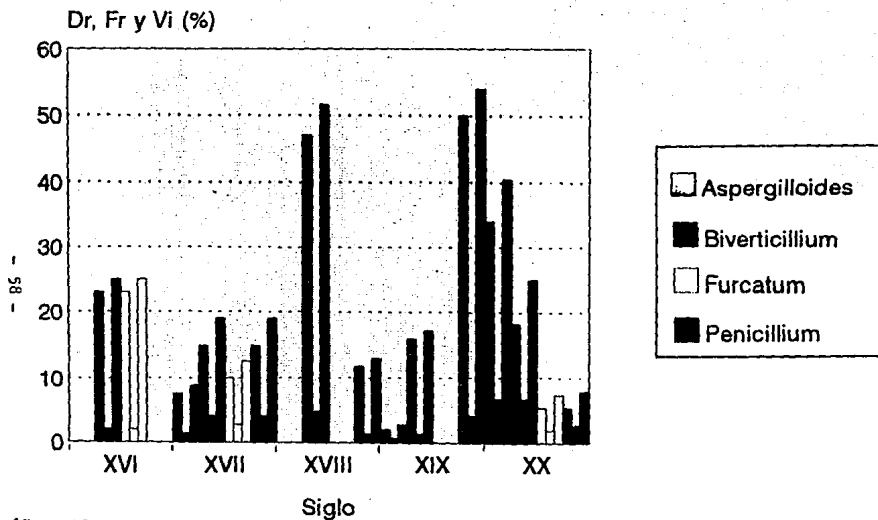
Gráfica 8

Densidad Relativa (Dr), Frecuencia Relativa (Fr) y Valor de Importancia (Vi), de los Subgéneros de Penicillium en el Siglo XIX



Gráfica 9

Densidad Relativa (Dr), Frecuencia Relativa (Fr) y Valor de Importancia (Vi), de los Subgéneros de Penicillium en el Siglo XX



Gráfica 10

Densidad Relativa (Dr), Frecuencia Relativa (Fr) y Valor de Importancia (%), de los Subgéneros de Penicillium en los diferentes Siglos

SIG	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX
XVI	1				
XVII	0.66	1			
XVIII	0.5	0.66	1		
XIX	0.4	0.85	0.8	1	
XX	0.66	1	0.66	0.86	1

TABLA 1

Índice de similaridad en la micobiota de Penicillium, a nivel de subgénero, en los documentos de los diferentes siglos.

CEPA	1	2	3	4
<u>P. glabrum</u>	XVII	*	*	
<u>P. chrysogenum</u>	XVI	*	*	
<u>P. ochrochloron</u>	XVII		*	*
<u>P. simplicissimum</u>	XVIII	*	*	
<u>P. sp1</u>	XVII			
<u>P. olsonii</u>	XVII	*	*	
<u>P. olsonii</u>	XIX	*	*	
<u>P. sp2</u>	XX			

TABLA 2

Especies de Penicillium Determinadas:

1. Siglo del Documento en que se encontro
2. Reportada en México en otros sustratos
3. Nuevo Registro para la micoflora de papel en México
4. Nuevo Registro en México

CEPA	CONTROL	50,000	75,000	100,000	125,000	150,000
<u>P. glabrum</u>	83 mm	54 mm	47.3 mm	32 mm	28.3 mm	2.6 mm
<u>P. chrysogenum</u>	76	18	0	0	0	0
<u>P. ochrochloron</u>	78	81	72	57	0	0
<u>P. simplicissimum</u>	79.5	55	46.3	33	18	0
<u>P. sp1</u>	83.5	90	51.5	35	0	0
<u>P. olsonii</u>	80.3	86.3	85	44.6	0	0
<u>P. olsonii</u>	83	61	51	31.6	17.6	6
<u>P. sp2</u>	90	7.3	1.5	0	0	0

TABLA 3

Diámetro de la colonia (mm) después de 28 días de incubación con diferentes concentraciones de propionato de sodio (ppm) (promedio de tres repeticiones)

CEPA	CONTROL	25,000	50,000	75,000	100,000	125,000
<u>P. glabrum</u>	100 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
<u>P. chrysogenum</u>	100	0	0	0	0	0
<u>P. ochrochloron</u>	100	100	0	0	0	0
<u>P. simplicissimum</u>	100	100	50	0	0	0
<u>P. sp1</u>	100	100	50	0	0	0
<u>P. olsonii</u>	100	50	0	0	0	0
<u>P. olsonii</u>	100	0	0	0	0	0
<u>P. sp2</u>	100	100	70	0	0	0

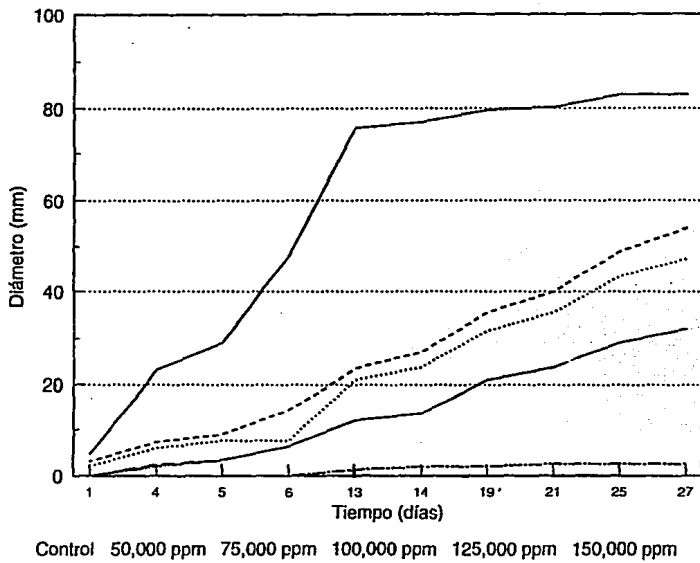
TABLA 4

Germinación de esporas (%) con diferentes concentraciones de propionato de sodio (ppm) (promedio de tres repeticiones)

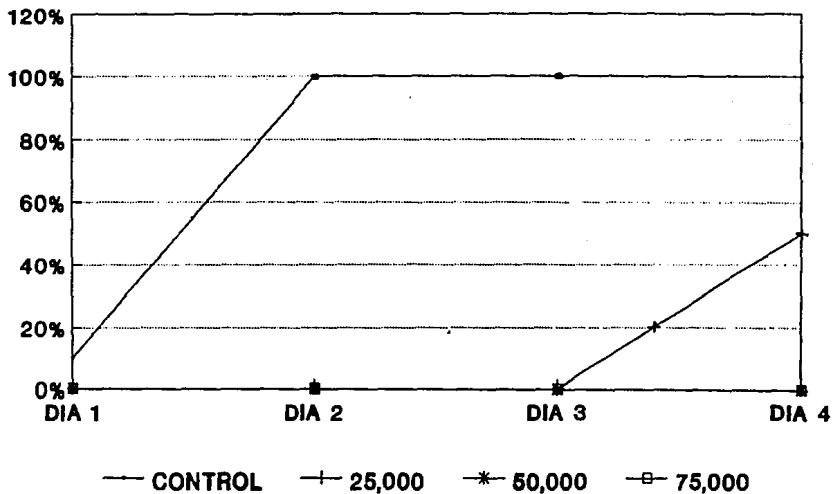
Subgenero y especie	Nº de Cepas	R.D.I.M.	R.D.I.G.E.
Aspergilloides <u>P. glabrum</u>	24	125,000 > 150,000	< 25,000
Furcatum <u>P. chrysogenum</u>	6	50 000	< 25,000
<u>P. ochrochloron</u>	28	100,000 > 125,000	< 50,000
<u>P. simplicissimum</u>	30	125,000 > 150,000	< 50,000
<u>P. sp1</u>	32	100,000 > 125,000	< 75,000
Penicillium <u>P. olsonii</u>	19	75,000 > 100,000	< 50,000
<u>P. olsonii</u>	58	150,000 > 100,000	< 25,000
<u>P. sp2</u>	70	50,000 > 75,000	< 75,000

TABLA 5

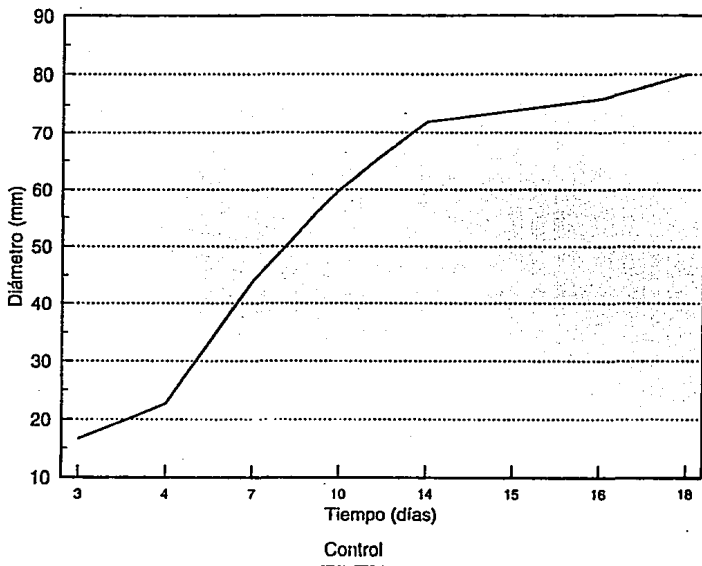
Efecto del Propionato de Sodio, rango de dosis inhibitoria en el crecimiento del micelio (R.D.I.M.); rango de dosis inhibitoria en la germinación de esporas (R.D.I.G.E.) cocentraciones en ppm.



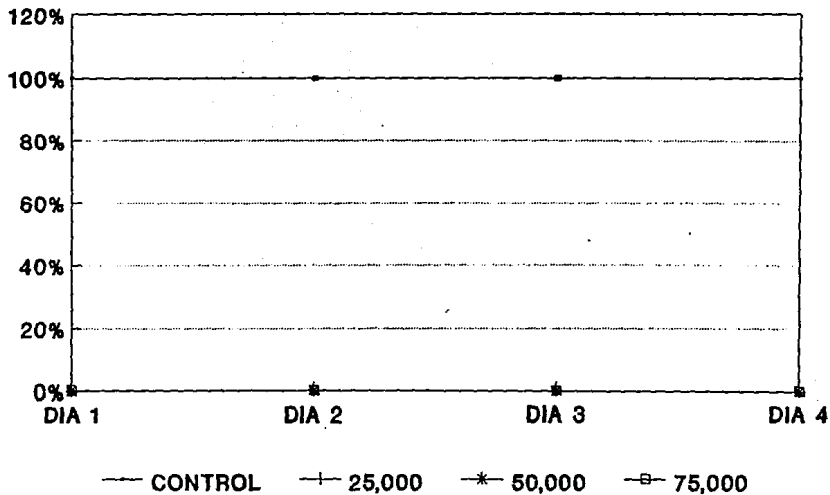
GRÁFICA 11. CRECIMIENTO MICELIAL DE *P. glabrum* DESPUÉS DE 28 DÍAS DE INCUBACIÓN CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO CON EXTRACTO DE MALTA AGAR A 27°C. (PROMEDIO DE 2 LECTURAS POR COLONIA CON TRES REPETICIONES)



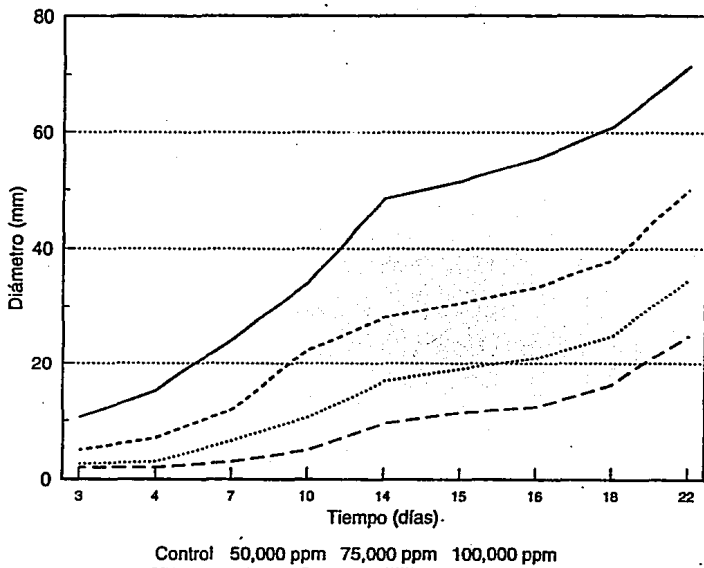
GRÁFICA 12. GERMINACIÓN DE ESPORAS DE *P. glabrum* A TRAVÉS DEL TIEMPO ANTE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO EN EXTRACTO DE MALTA LÍQUIDO A 27°C. (PROMEDIO DE TRES REPETICIONES).



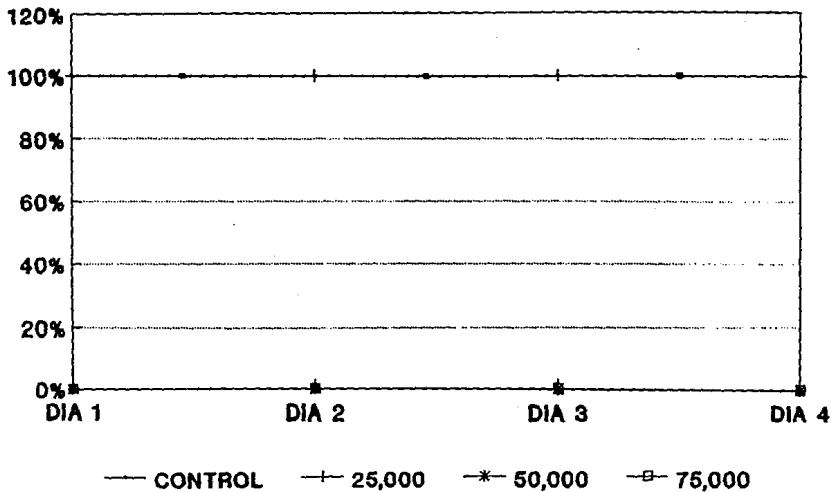
GRÁFICA 13. CRECIMIENTO MICELIAL DE *P. chrysogenum* DESPUÉS DE 28 DÍAS DE INCUBACIÓN CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO CON EXTRACTO DE MALTA AGAR A 27°C. (PROMEDIO DE 2 LECTURAS POR COLONIA CON TRES REPETICIONES)



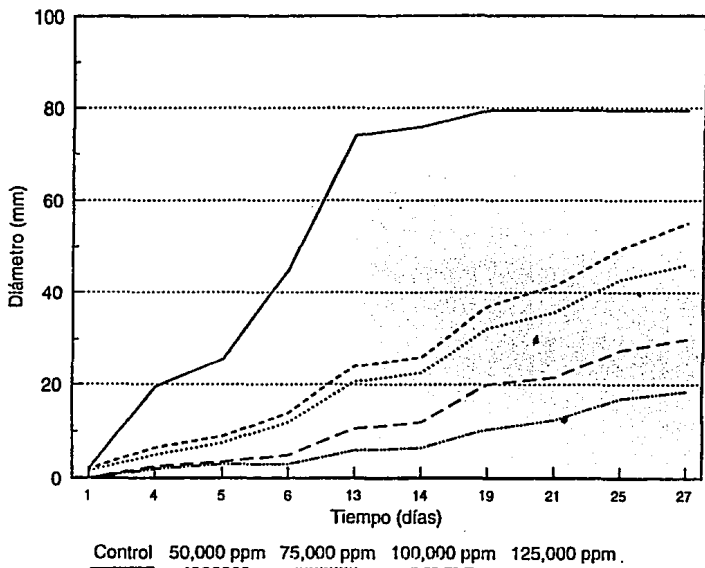
GRÁFICA 14. GERMINACIÓN DE ESPORAS DE P. chrysogenum A TRAVÉS DEL TIEMPO ANTE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO EN EXTRACTO DE MALTA LÍQUIDO A 27°C. (PROMEDIO DE TRES REPETICIONES).



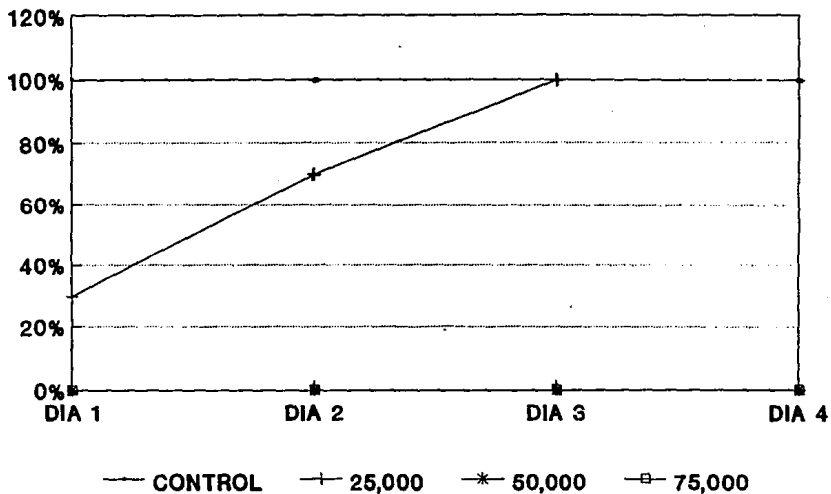
GRÁFICA 15. CRECIMIENTO MICELIAL DE *P. ochrochloron* DESPUÉS DE 28 DÍAS DE INCUBACIÓN CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO CON EXTRACTO DE MALTA AGAR A 27°C. (PROMEDIO DE 2 LECTURAS POR COLONIA CON TRES REPETICIONES).



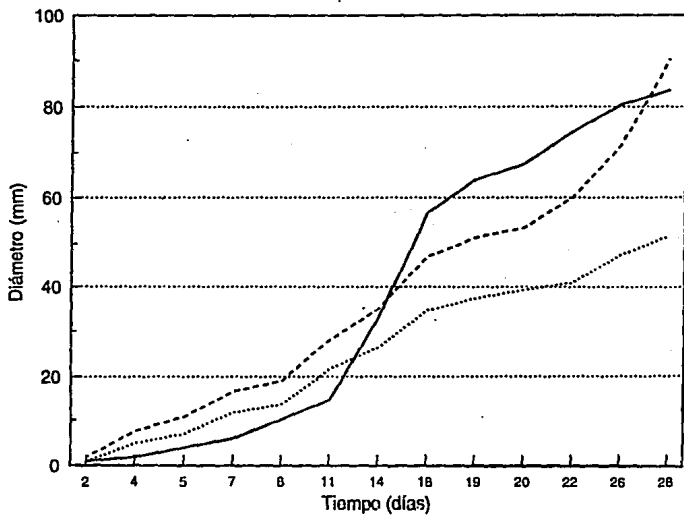
GRÁFICA 16. GERMINACIÓN DE ESPORAS DE *P. ochrochloron* A TRAVÉS DEL TIEMPO ANTE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO EN EXTRACTO DE MALTA LÍQUIDO A 27°C. (PROMEDIO DE TRES REPETICIONES).



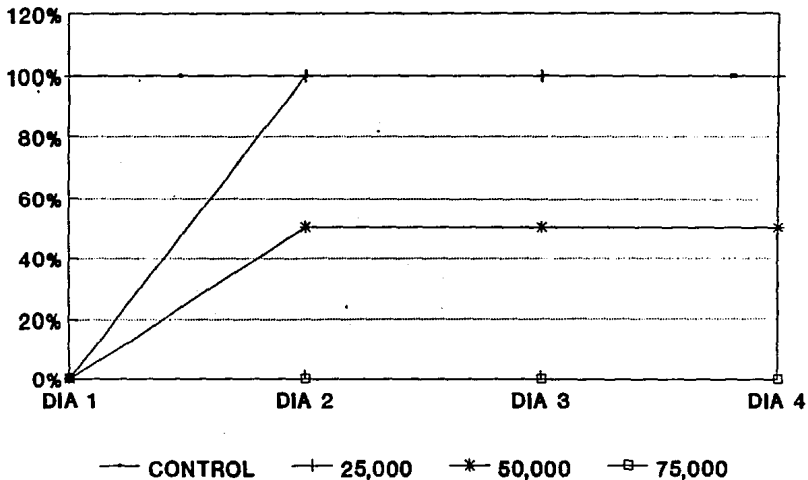
GRÁFICA 17. CRECIMIENTO MICELIAL DE *P. simplicissimum* DESPUÉS DE 28 DÍAS DE INCUBACIÓN CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO CON EXTRACTO DE MALTA AGAR A 27°C. (PROMEDIO DE 2 LECTURAS POR COLONIA CON TRES REPETICIONES).



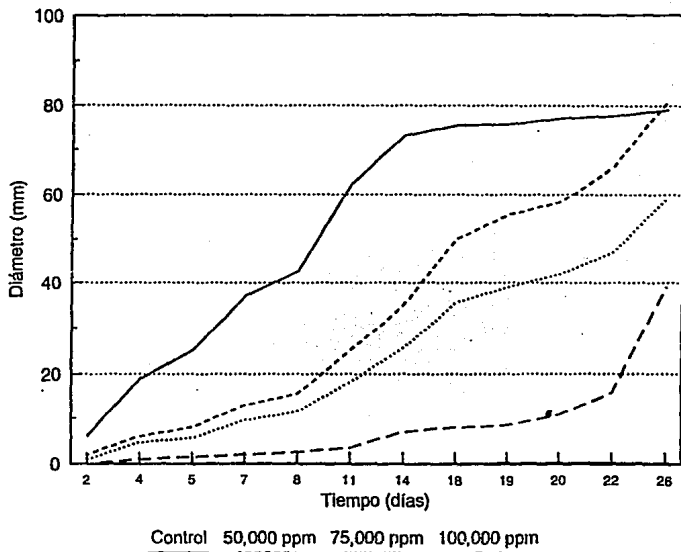
GRÁFICA 18. GERMINACIÓN DE ESPORAS DE *P. simplicissimum* A TRAVÉS DEL TIEMPO ANTE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO EN EXTRACTO DE MALTA LÍQUIDO A 27°C. (PROMEDIO DE TRES REPETICIONES).



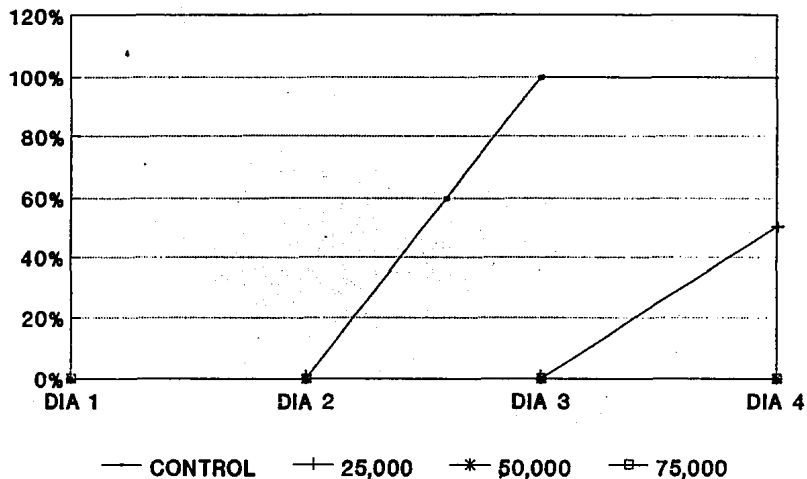
GRÁFICA 19. CRECIMIENTO MICELIAL DE *P. spl* DESPUÉS DE 28 DÍAS DE INCUBACIÓN CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO CON EXTRACTO DE MALTA AGAR A 27°C. (PROMEDIO DE DOS LECTURAS POR COLONIA CON TRES REPETICIONES).



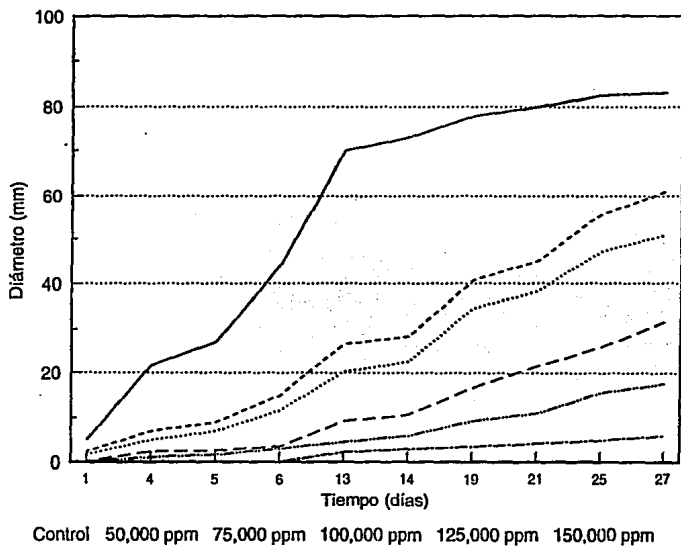
GRÁFICA 20. GERMINACIÓN DE ESPORAS DE *P. sp1* A TRAVÉS DEL TIEMPO ANTE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO EN EXTRACTO DE MALTA LÍQUIDO A 27°C. (PROMEDIO DE TRES REPETICIONES).



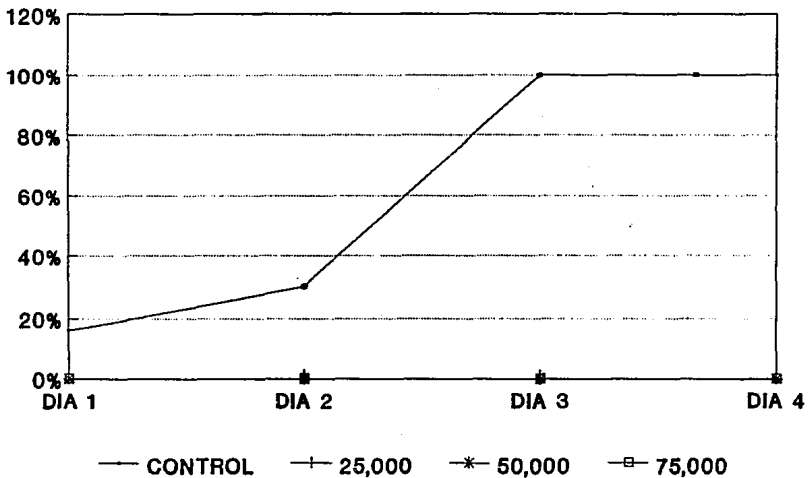
GRÁFICA 21. CRECIMIENTO MICELIAL DE *P. olsonii* (CEPA 19) DESPUÉS DE 28 DÍAS DE INCUBACIÓN CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO CON EXTRACTO DE MALTA AGAR A 27°C. (PROMEDIO DE DOS LECTURAS POR COLONIA CON TRES REPETICIONES).



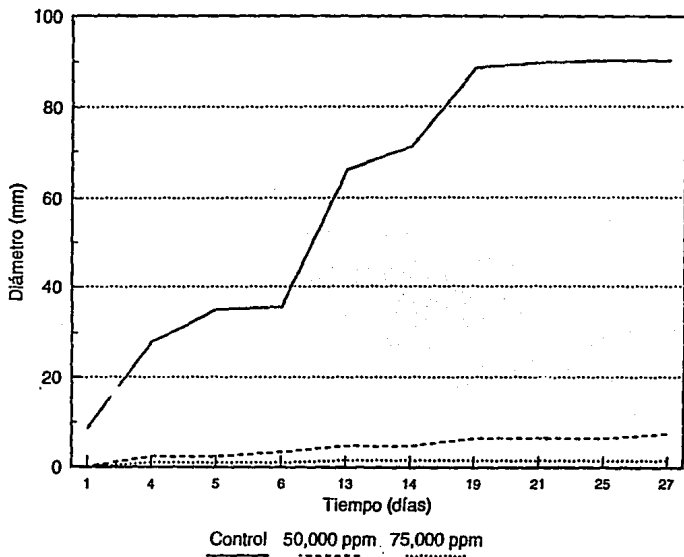
GRÁFICA 22. GERMINACIÓN DE ESPORAS DE *P. oligosporii* (CEPA 19) A TRAVÉS DEL TIEMPO ANTE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO EN EXTRACTO DE MALTA LÍQUIDO A 27°C. (PROMEDIO DE TRES REPETICIONES).



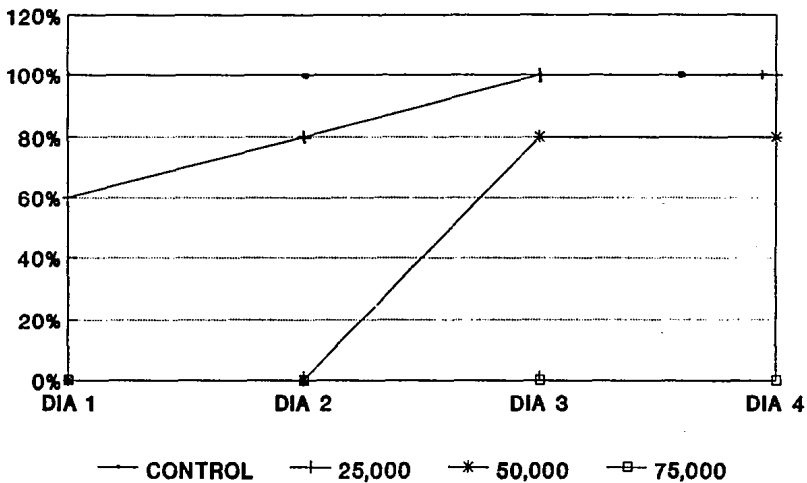
GRÁFICA 23. CRECIMIENTO MICELIAL DE *P.olsonii* (CEPA 56) DESPUÉS DE 28 DÍAS DE INCUBACIÓN CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO CON EXTRACTO DE MALTA AGAR A 27° C. (PROMEDIO DE DOS LECTURAS POR COLONIA CON TRES REPETICIONES).



GRÁFICA 24. GERMINACIÓN DE ESPORAS DE *P. olsonii* (CEPA 56) A TRAVES DEL TIEMPO ANTE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO EN EXTRACTO DE MALTA LÍQUIDO A 27°C. (PROMEDIO DE TRES REPETICIONES).



GRÁFICA 25. CRECIMIENTO MICELIAL DE *P. sp2* DESPUÉS DE 28 DÍAS DE INCUBACIÓN CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO CON EXTRACTO DE MALTA AGAR A 27°C. (PROMEDIO DE DOS LECTURAS POR COLONIA CON TRES REPETICIONES).



GRÁFICA 26. GERMINACIÓN DE ESPORAS DE *P. sp2* A TRAVÉS DEL TIEMPO ANTE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE SODIO EN EXTRACTO DE MALTA LÍQUIDO A 27°C. (PROMEDIO DE TRES REPETICIONES).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

D I S C U S I Ó N

Muestreo, Aislamiento y Determinación.- El número de colonias aisladas que pertenecieron al género Penicillium, fue de 117, el cual es muy alto comparado con el de otros géneros (80), que incluyen Alternaria, Aspergillus y Chaetomium entre otros, esto concuerda con lo propuesto por Nyuksha (1974) y Kowalik (1980) con respecto a la frecuencia genérica de hongos deteriorantes de papel; estos géneros, además de Penicillium, tienen especies consideradas como altamente celulolíticas (Nyuksha, 1974; Robledo, 1986, 1991) por lo que se considera a este último como el más ubicuo, por lo que no es raro encontrarlo incluso en papel.

Nyuksha (1974) en sus niveles ecofisiológicos, propuso que los hongos que se desarrollan en el papel se alimentan de sus diferentes componentes; en el primer nivel, reporta pocas especies de Penicillium como verdaderos celulolíticos, y en los otros niveles incluye especies que toman nutrientes de ceras, polvos minerales, etc. En la gráfica 2, se observa el número de colonias que se aislaron en cámara húmeda y en medio de cultivo; en el primer caso, el número fue siempre menor, ya que pocas especies pudieron alimentarse directamente de papel filtro utilizado en la prueba. En el medio de cultivo de celulosa-agar, las colonias fueron siempre más por lo que se deduce que los nutrientes los pudieron tomar de sales minerales o agua del medio; es probable que la mayoría de las especies de Penicillium, no sean fuertemente celulolítica y participen en el biodeterioro del papel aprovechando tintas, encolante, etc., para comprobarlo

sería necesario hacer pruebas de degradación de celulosa.

Por otro lado, el número de colonias aisladas del género, es ascendente progresivamente con respecto al siglo de manufactura, lo que concuerda con Barrow *et al.* (1964), Nyuksha (1974), Kowalik (1980) y Banks (1983) que reportan una pérdida de calidad en el papel a partir del siglo XVII, lo que permite una mayor susceptibilidad al deterioro.

La incidencia que tuvo Penicillium, en los documentos de los diferentes siglos, comparandolo con otros géneros, se demuestra en la gráfica 3, siendo el comportamiento muy semejante al de las colonias aisladas en medio sólido; su número fue en aumento a la inversa de los otros géneros, ésto se puede explicar por la competencia para obtener alimento que existe entre ellos. Penicillium es un productor de toxinas con rápido crecimiento y reproducción, al igual que Aspergillus, y esto le permite inhibir a otras colonias para obtener nutrientes y sustrato (Alexopoulos, 1979; Deacon, 1985).

Determinación.- Las 117 colonias se determinaron a subgénero con base en las obras de Pitt (1979 y 1985), siendo Biverticillium el que predomina (38.2%) seguido por Penicillium (30.6%), en tercer lugar se encontró a Aspergilloides (23.7%) y por último Furcatum (12.2%) (gráfica 4).

En la gráfica 10, se muestra la distribución de los subgéneros en los diferentes siglos: En el siglo XVI se encontró a Biverticillium y Furcatum, ambos con un valor de importancia de 23%; en el siglo XVII, se encontraron los 4 subgéneros, aunque

con valores de importancia menores, ésto pudo ser por la pérdida de calidad del papel, aunado al proceso de manufactura que contó a partir de este siglo, con el uso de maquinaria, además del uso de pulpa de madera para su elaboración, siendo un medio factible para la germinación y contaminación por esporas; lo anterior se reafirma por los 2 subgéneros que se encontraron en documentos del siglo anterior; en el siglo XVIII sólo se encontraron *Biverticillium* y *Penicillium*, el primero tuvo un alto valor de importancia, ya que es el subgénero más ubicuo; en el siglo XIX, los que se encontraron fueron *Aspergilloides*, *Biverticillium* y *Penicillium*, en éste caso el último se encontró en mayor número (54%), ésto seguramente por la presencia de contaminantes en la materia prima, un ejemplo de ello es *P. olsonii*, que pertenece a éste subgénero, el cual es poco común y sólo se ha encontrado en suelo y agua (Pitt, 1979); por último, en el siglo XX, los 4 subgéneros estuvieron bien representados, siendo en éste caso *Aspergilloides* el de mayor valor de importancia. Comparando el siglo XVII y XX se observa que, a pesar que su valor de similaridad es 1 (Tabla 1), tienen también diferencias significativas, ya que en el primero el número de colonias aisladas fue menor; para explicar ésto, basta conocer el proceso de manufactura del papel en el siglo XX, ya que contienen un gran número de impurezas, lo que permite una amplia variedad de especies de microorganismos. Por otro lado, en la tabla 1, se observa que los siglos con menor índice de similaridad fueron el XVI y el XIX, compartiendo un subgénero, que es *Biverticillium*,

el que, por ser ubicuo, no indica una alta concentración de contaminantes en el papel.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo citado por Robledo (1991) quien encontró que la distribución de Aspergillus es semejante a la de Penicillium, ya que en los siglos XVII, XIX y XX hubo una mayor incidencia de colonias, por lo que se observa que la manufactura del papel en los diferentes siglos es la que establece la diversidad genérica de hongos en el mismo.

De las 117 colonias, se escogieron 8 al azar para determinarlas a especie; para realizarla es necesario utilizar 5 cajas de Petri con 3 cultivos diferentes, incubándolas durante 7 días de la siguiente manera: CYA a 5°C, 25°C y 37°C; EMA a 25°C y G25N a 25°C; Pitt (1979, 1985) propone inocular 3 colonias en cada caja de petri con cultivo, etc. En 6 especies fue factible realizarlo, aunque en otras fue imposible por las siguientes causas:

- a) El diámetro de la colonia de algunas especies es muy grande (más de 40 mm) y al crecer se confundían las tres colonias, por lo que se optó por inocular una colonia por caja con cultivo, realizando tres repeticiones y obteniendo la media.
- b) Otras especies presentaban esporas hidrofóbicas, por lo que fue imposible inocular estas en el medio, ya que en todos los intentos no se logró obtener una colonia, creciendo siempre varias; para esto se recomienda realizar una suspensión de esporas y Extracto de Malta o de Levadura para evitar la dispersión.

- c) El género Penicillium tiene una gran plasticidad genética, variando sus características morfológicas, incluso de una cepa a otra, por lo que es fácil confundirse, para lo cual se propone al menos tres repeticiones por cada medio de cultivo para obtener una media representativa.
- d) Por último, las especies comparten características que son muy semejantes en varias de ellas, por lo que se llega a una determinación equivocada.

De las especies determinadas, 6 fueron nuevos registros para la micobiota del papel en México (P. glabrum, P. chrysogenum, P. ochrochloron, P. simplicissimum y P. olsonii (cepas 19 y 56), lo que demuestra que en México son escasos los trabajos de investigación para este fin (Moretti y Robledo, 1985; Robledo, 1986; Moretti y Lelo, 1988; Moretti y Vargas et al., 1988; Robledo et al., 1991; González y Robledo 1991), en los lugares visitados (CESU y Escuela de Restauración del INAH), no se encontró información sobre hongos aislados, ya que los documentos deteriorados por ellos son fumigados rápidamente sin tomar muestras para su determinación posterior.

Diámetro de la colonia.- Las cepas seleccionadas para la determinación fueron sometidas a las pruebas de crecimiento micelial en EMA con diferentes concentraciones de propionato de sodio. El comportamiento de la colonia micelial durante los 28 días de incubación, se observa en las gráficas 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23 y 25. Analizando estas, se puede observar que

existieron 4 tipos de comportamiento similares entre las 8 cepas probadas:

El primero lo llevaron a cabo las cepas de P. chrysogenum y P. sp2 (Gráficas 13 y 25 respectivamente), siendo una inhibición total en el primer caso, y una muy alta en el segundo, presentando formación de microcolonias sólo en 50,000 y 75,000 ppm.

El segundo fue de una inhibición gradual, que aumento a medida que lo hacía la concentración de propionato de sodio, realizándolo las cepas de P. glabrum, P. ochrochloron, P. simplicissimum y P. olsonii (cepa 56). En el caso de P. glabrum y P. olsonii (cepa 56), el crecimiento se realizó incluso en 150,000 ppm formando microcolonias; P. ochrochloron tuvo un comportamiento similar, no obstante que sólo creció hasta 100,000 ppm, así como P. simplicissimum que creció hasta 125,000 ppm en todos los casos el control superó por mucho el diámetro de las colonias que crecieron en las diferentes concentraciones, por lo que se concluye que dichas cepas son sensibles al propionato de sodio aún en bajas concentraciones.

El tercero lo realizó P. olsonii (cepa 19); éste fue muy semejante al segundo, con la variante que en el día 26, el diámetro de la colonia que creció en 50,000 ppm sobrepasó el del control, pudiendo ser por que la cepa se adaptó rápidamente al fungicida y tomó solamente los nutrientes del medio.

Por último, P. sp1 tuvo un comportamiento irregular, donde el diámetro del control estuvo por debajo de los de 50,000 y

75 000 ppm aunque a partir del día 11 la tasa de crecimiento aumentó considerablemente, sobrepasando a las otras colonias. Este comportamiento pudo ser por que las esporas que germinaron eran menos viables y después, en presencia de nutrientes del medio, recuperaron su tasa de germinación.

Los resultados concuerdan con lo obtenido por Vargas *et al.* (1988) y Robledo (1991) quienes encontraron que el propionato de sodio inhibe el crecimiento micelial de Chaetomium spp y Aspergillus spp respectivamente. En el caso de Chaetomium, las concentraciones utilizadas fueron de 1,000, 10,000 y 100,000 ppm, siendo totalmente inhibidas por la última y con crecimiento variable, dependiendo de la especie en las otras concentraciones.

En el caso de Aspergillus se encontró un comportamiento semejante a Penicillium, reduciendo el crecimiento micelial a medida que crecía la concentración del fungicida, siendo las dosis inhibitorias entre 50,000 y 125,000 ppm. Por lo anterior, se observa que algunas especies de Penicillium son más resistentes al propionato de sodio, ya que crecieron incluso a 150,000 ppm.

Germinación de esporas.- La tasa de germinación que tuvieron las esporas fue variada, pero todas germinaron en concentraciones menores a las del diámetro de la colonia. Las especies que fueron inhibidas totalmente son P. chrysogenum (Gráfica 14) y P. olsonii (cepa 56) (Gráfica 24) germinando solamente en el control; su rango de dosis inhibitoria es muy por abajo de 25,000

ppm (tabla 6). P. ochrochloron (Gráfica 16) geminó en igual porcentaje para el control y 25,000 ppm, siendo su rango de dosis inhibitoria mayor que ésta, al igual que P. simplicissimum.

P. sp1 y P. sp2 (gráficas 20 y 26 respectivamente) germinaron en 50,000 ppm, siendo las cepas más resistente al propionato de sodio, en cuanto a la germinación de esporas.

P. glabrum y P. olsonii (cepa 19) germinaron solamente en 25,000 ppm (Gráficas 12 y 22 respectivamente).

Comparando estos resultados con los obtenidos por Vargas *et al.* (1988) y Robledo (1991) se observa que Penicillium tiene una inhibición intermedia, con un rango entre 25,000 y 50,000 ppm, Chaetomium spp por su parte, tuvo un rango entre 1,000 y 10,000 ppm, siendo 100,000 la dosis en que la inhibición fue total en todas las especies; por otro lado, las especies de Aspergillus son más resistentes, a la inversa del crecimiento micelial, con un rango de dosis inhibitoria entre 50,000 y 150,000 ppm.

Por lo anterior, se propone el uso del propionato de sodio con una concentración de 150,000 ppm para inhibir tanto el crecimiento micelial como la germinación de esporas. La aplicación puede ser durante la manufactura del papel para que la sal quede impregnada entre las fibras del papel cuando seque; o bien cuando un material deteriorado sea restaurado en las pilas de blanqueo.

Realizando la observación del comportamiento de las cepas en las pruebas de diámetro de la colonia y germinación de esporas se resume lo siguiente:

P. glabrum tiene una mayor resistencia al propionato de sodio en el crecimiento de las hifas, y en la germinación de esporas es más sensible, ya que germinó sólo en 25,000 ppm.

P. chrysogenum es inhibida totalmente en ambos aspectos, estando su rango de dosis inhibitoria menor a 25,000 ppm.

P. ochrochloron resiste más en el crecimiento de las hifas, germinando aún en 100,000 ppm; y en germinación de esporas lo hizo en 25,000 ppm.

P. simplicissimum es más resistente en el crecimiento de las hifas, creciendo a 125,000 ppm; en germinación de esporas, solo germinaron estas a dicha concentración.

P. sp1 es igualmente sensible en ambas pruebas, ya que en la primera creció a 75,000 ppm y en el segundo germinó a 50,000 ppm.

P. olsonii tuvo un comportamiento diferente en las dos cepas; la cepa 19 es más resistente en el crecimiento de la colonia, germinando en 100,000, en comparación con la cepa 56 que es más resistente, creciendo en 150,000: En la germinación de esporas, la cepa 19 germinó en 25,000 y la cepa 56 es más sensible puesto que sólo germinó el control.

CONCLUSIONES

- 1.- El género Penicillium ocupa el primer lugar a nivel genérico como hongo frecuente y deteriorante en los documentos.
- 2.- El subgénero mejor representado, por el número de colonias aisladas, fue Biverticillium, seguido por Penicillium.
- 3.- La distribución de los subgéneros y especies de Penicillium tienen una distribución, en los documentos, que depende del siglo de manufactura de estos, siendo los siglos XVII y XX los que tienen una mayor variedad de micobiota.
- 4.- Las especies de Penicillium aquí descritas son todas nuevos registros para la micobiota deteriorante de papel en México.
- 5.- P. ochrochloron es un nuevo registro para la micobiota de México.
- 6.- En la prueba del diámetro de la colonia, la concentración de 150,000 ppm fue la más adecuada.
- 7.- Con respecto a la germinación de esporas, la inhibición total de las esporas fue a 50,000 ppm.
- 8.- Las cepas tuvieron respuestas muy variadas a las pruebas con propionato de sodio, incluso las cepas 19 y 56 de P. olsonii.
- 9.- La acción del propionato de sodio es más eficaz en la germinación de esporas, ya que las hifas son más resistentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre-Acosta, E. y M. Ulloa. 1982. Mohos que se desarrollan en el estiércol de algunos ratones silvestres de México. Bol. Soc. Mex. Mic. 16:55-66.
- Ahmed, S. & A.L. Branen. 1981. Inhibition of molds growth by butylated hydroxyanisole. J. Food Sci.46(4): 1059-1063 p.
- Alexopoulos, C. A. 1979. Introducción a la micología. 3a. edición. Edit. Universitaria de Buenos Aires 615 p.
- Alvarez R.R. 1990. Micoflora de mazapan y mantequilla de caca - huate: análisis de riesgo potenciales. Tesis profesional. Fac. de Ciencias UNAM. 150 p.
- Baird-Parker A.C. 1980. Microbial ecology of foods Vol.I. Factors Affecting Life and death of microorganisms. The international commissions on microbiological specifications of foods. Academic Press. USA. 320 p.
- Banks, P. 1983. Los enemigos de los acervos. Memoria del I Seminario Internacional de documentos, libros y materiales gráficos. Información de Archivos A.G.N. 20:9-26
- Barrow, W. et al. 1964. Test data of naturally aged papers W.J. Barrow, Research Laboratory Richmond Virginia, USA. 48 p.
- Belitz, H.D. & W. Grosch. 1986. Food Chemistry. Springer-Verlag Berlin 774 p
- Biurge, P. 1923. Les moisissures du groupe Penicillium Link. Cellule 33: 7- 331
- Brefeld, O. 1874. Botanische Untersuchungen uber Schimmelpilze Heft 2. "Die Entwicklungsgeschichte von Penicillium". Leipzig 98
- Calvini, P. y L. Santicci, 1978-79. Alcuni dati sugli effetti dell'irradiazioni gamma sulla carta. Bol. del ICPL: 35-55.
- Campos-Nieto, E. 1978. Aborto micótico exógeno indirecto en bovinos de México. Bol.Soc. Mex. Mic. 12: 117-124.
- Campos -Nieto, E., A. Cruz y J. Leyva, 1988. Dos casos de aborto porcino en una posible asociación con aflatoxina B1. Bol. Soc. Mex. Mic. 14: 101-105.
- Coutiño, B., 1979. Importancia de los hongos en las alergias de tipo respiratorio y su estudio en México. Bol. Soc. Mex. Mic. 13: 215-222.

- Cremllyn, R. 1992. Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Ed. Limusa. México. 355p.
- Cunha, G., 1975. Conserving local archival materials. Technical Leaflet 30(11):25
- Daniel, W. 1984. Bioestadística. Limusa, México. 485 p.
- Daniels, V. y B. Boyd, 1986. The Yellowing of thymol in display of prints. Studies in conservation. no. 21 (4): 156-158.
- Deacon, J.W., 1988. Introducción a la micología moderna. 1a. edición. Ed. Limusa. 350 p.
- Dierckx, R. P. 1901. Un essai de revision du genre Penicillium Link. Annls. Soc. Scient. Brux. 25: 83-89
- Fennell, D.I., 1973. Review of "The genus Talaromyces: studies on Talaromyces and related genera". Mycologia 65:1221-1223
- Flieder, F., 1969. La conservation des documents graphiques. Recherches experimentales. Editions Eyrolles. Paris. 288.
- Gallo, F. 1963. Biological agents which damage paper materials in libraries and archives. Contributions to the IIC. Rome conference, 1961. Thomson, G. Ed. London. Recent advances conservation: 55-61.
- García-Aguirre, G. 1985. Uso de fungicidas en el almacenamiento de arroz: dosis mínima efectiva de thiabendazole Rev. Mex. Mic. 1: 201-210.
- _____ y R. Martínez. 1991. Análisis micológico de granos de sorgo dulce. Rev. Mex. Mic. 7: 129-138.
- García, D.M. y V. M. Rodríguez. 1988. Efecto de una benzoquinona en el crecimiento de tres hongos con capacidad celulolítica. Memorias de III Congreso Nacional de Micología, Cd. Victoria, Tamp. Mex. 124.
- González, M. C. y M. Zenteno. 1988. Acción del fungicida tecto-60 sobre los hongos que causan la podredumbre de la corona del plátano. Rev. Mex. Mic. 4: 59-67.
- González M.R. y M. Robledo. 1991. Efecto del propionato de sodio en Penicillium spp. que deterioran documentos. Memorias del IV Congreso Nacional de Micología, Tlaxcala, Tlax. México.
- Haines, J. y S. Kohler. 1986. An evaluation of ortho-phenil-phenol as a fungicidal fumigant for archives and libraries. JAIC 25: 49-55.

- Herrera, T. y M. Ulloa. 1990. El reino de los hongos. UNAM. Fondo de cultura económica. 501 p.
- Huerta, L. , J. Cuevas y R. Gómez. 1971. Aspergilosis y asma bronquial. Alergia 19: 25-36.
- Jungermann, P. y R. Schwartzman, 1977. Micología médica veterinaria. CECSA. 1a. ed. México, D. F. 240.
- Krebs, C. 1978. , Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance. Harper & Row. New York. 678 p.
- Kowalik, R. Microbiodeterioration of library materials II. Restaurator 4 (4): 135-219.
- Lappe, P. y M. Ulloa. 1982. Estudios microbiológicos del tesgüino tarahumara I. Micoflora del maíz utilizado en su elaboración. Resúmenes del I Congreso Nacional de Micología: 81.
- Link, H:F: 1809. Observaciones in ordines plantarum naturales. Dissertatio Ima Berlin Ges. Nat Kde 3: 1-42
- Lelo de Larrea, L.E., 1989. Control de los hongos destructores del pergamino colonial. Tesis profesional. Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía. INAH-SEP. 180 p.
- Martínez, M.E. 1986. Catálogo de fitopatógenos registrados en 30 cultivos agrícolas de importancia económica para México. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias. UNAM. 178 p.
- Merck Index, 1976. 9 th edition. Merck Co. Inc. Rahway. N.Y.
- Mc. Callan, A. 1947. Biossay of agricultural fungicides. Contrib. Bouca. Thompson. Inst. 2: 23-33
- Micheli, P. A. 1729. Nova plantarum genera ivxta Tovrnefortii methodum disposita. Florence
- Mondragón, M.C. 1992. Determinación de hongos en harina de masa de maíz. Del. Benito Juárez. Tesis profesional. Fac. de Ciencias UNAM. 210 p.
- Montiel, S:D. 1988. Enfermedades de la cebada (Hordeum vulgare L.) causadas por hongos transmitidos por semillas en el Valle de México. Tesis profesional. Fac. de Ciencias. UNAM. 198 p.
- Moore-Landecker, E. 1972. Fundamentals of the fungi. Prentice-Hall Englewood Cliffs, N.Y. 482
- Moreno, E. 1977. Los hongos y la calidad de los granos y semillas. Bol. Soc. Mex. Mic. 11: 127-135.

- _____ y J. Ramírez. 1982. Aplicación en húmedo y en seco de fungicidas en la conservación de granos y semillas almacenados. Mem. 1er. Cong. Nal. Mic. Xalapa, Ver. 95-98.
- _____ y C. Márquez. 1985. Almacenamiento hermético de semillas de maíz tratadas con fungicidas. Rev. Mex. Mic. 1: 301-308.
- Moretti, C., L. Lelo, M. Nieto, G. Zepeda. 1988. Detección de la micobiota en lienzos del Museo del Virreynato en Tepetzotlan. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 122.
- _____ y M. Robledo. 1985. Estudio de hongos celulolíticos en el AGN. Mem II Seminario de documentos, libros y materiales gráficos (CODOLMAG) . Información de archivos. 26: 75-77.
- _____ y _____. 1988. Aislamiento de hongos del aire en el AGN. Rev. Mex. Mic. 4: 145-152.
- Nava-Rodríguez, et al. 1983. Efecto de diferentes sustancias en el desarrollo de algunas especies de hongos de granos almacenados. Bol. Soc. Mex. Mic. 18: 85-93.
- Nieves, V., M. Lidstrom & F. Preusser. 1990. Microbial control by low oxygen and low relative humidity environment. Studies in Conservation 4: 35 222-230
- Nyuksha, J. 1974. Paper inhabilitating fungi. Mikol. Fitopatol. 8. (4): 306-3
- Paullada-Mena, M. 1982. La conservación preventiva de los materiales de archivo (TESIS PROF.) Información de archivos AGN 15: 1-253.
- Pitt, J. 1973. An appraisal of identification methods for Penicillium species: novel taxonomic criteria based on temperature and water relations. Mycologia 65: 1135-1157
- Pitt, J. 1979. The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces. Academic Press Inc. London
- Pitt, J. 1985. A laboratory guide to common Penicillium species CSIRO Division of food research, Australia 184 p
- Raper, K. B. and Thom C. 1949. "A manual of the Penicillia". Baltimore: Williams and Williams.
- Raper, K. 1957. Nomenclature in Aspergillus and Penicillium. Mycologia 49: 644-662
- Reyes, J. y J. Castillo, 1981. Micromicetos de la rizósfera del sorgo. Bol. Soc. Mex. Mic. 15: 5-8

- Riesgo, E. et al. 1985. Efecto del propionato de sodio como agente fungicida en el papel. Memoria del III Simposio de Ciencias en Sistemas Biológicos. Depto. de Biología. Fac. de Ciencias, UNAM: 4.
- Robinson, P. 1978. Practical Fungal Physiology. Jhon Wiley & Sons. 123.
- Robledo, M. y C. Moretti. 1986. Aislamiento de algunos hongos que atacan documentos en el AGN. Rev. Mex. Mic. 2: 279-296
- Robledo, M. 1986. Aislamiento y descripción de Chaetomium spp. en documentos del AGN. (TESIS PROF.). Fac. de Ciencias, UNAM. 124 p.
- _____. 1991. Caracterización taxonómica, distribución y algunos aspectos fisiológicos de Aspergillus spp. que deterioran documentos en el Archivo General de la Nación. (Tesis de M en C) Fac. de Ciencias, UNAM. 126 p.
- _____, E. Bazán y R. González. 1991. Biodeterioro de papel in vitro ocasionado por 13 cepas de hongos deteriorantes de documentos antiguos. Memorias del IV Congreso Nal. de Mic. Tlaxcala, Tlax.
- Rodríguez, G:C: 1988. Identificación de la micoflora y análisis de las micotoxinas en sopa de pasta. Tesis profesional. Fac. de Ciencias. UNAM.
- Ross, R.T. y C.G. Hollis. 1976. Microbiological deterioration of pulpwood, paper and paint. In: Industrial Microbiology. Mc. Graw Hill. N.Y.
- Ruiz-Sánchez, D., R. López-Martínez y J. Huerta. 1982. Aislamiento de los hongos productores de alergias en la zona sur de la Cd. de México. Resúmenes del II Congreso Nacional de Micología:55
- Russell, P. 1991. Microbiological studies in relation to moist groundwood pulp. Chem. Ind. 20: 642-649
- Samaniego, J., M. Ulloa y T. Herrera, 1988. Micobiota del suelo en huertas de nogal atacadas por Phymatothicum omnivorum en Coahuila, México. Rev. Mex. Mic. 4: 43-57.
- Santucci, L. 1983. Insecticidas y fungicidas para libros y documentos. Tratamiento y sus efectos. I Memoria del I Seminario Internacional de Conservación de Documentos, Libros y Materiales gráficos. Información de archivos 20: 42-57
- Sarkar, N.N. 1984. Control of biological agents of library materials in India. National Library. Calcuta. 122-130

- Samson, R.A., Stoik, A.C. & Hadlok, R. 1976. Revision of the subsection Fasciculata of Penicillium and some allied species. Stud. Mycol. Baarn 11: 1-47
- Sharp, R., 1978. Investigative Mycology. Heinemann Educational Books. Great Britain. 1th. Ed. 136 p.
- Sharvelle, G., 1969. Chemical control of Plant Disease. Prestige Press, Texas.
- Skinner et al. 1957. Molds, yeasts and Actinomycetes. 2a. edición. John Wiley & Sons. Inc. 409 p
- Sosa, L. et al. 1988. Utilización de hongos como bioabsorbentes de metales pesados. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 145.
- Thom, C. 1906. Fungi in cheese ripening: Camembert and Roquefort. Bull. Bur. Anim. Ind. U.S. Dep. Agric. 118: 1-109
- Ulloa, M. y T. Herrera. 1971. Mohos aislados del pozol en medios con deficiencia o carencia de nitrógeno. Bol. Soc. Mex. Mic. 5: 13-21.
- _____ . 1974. Mycofloral sucesión in pozol from Tabasco, Mexico. Bol. Soc. Mex. Mic. 8: 17-48.
- _____ y R. Hanlin, 1978 Atlas de Micología Básica. Ed. Concepto. México, D.F. 158 p.
- UNESCO, 1969. La conservación de los bienes culturales. Museos y Monumentos XI. México, D.F. 361 p.
- Valentin, N. Lidstrom, M. & Preusser F. 1990. The Journal of the International Institute for Conservation of Historic and Artistic Works: Studies in Conservation 35: 222-230
- Vargas et al. 1988. Efecto del propionato de sodio en Chaetomium spp. que deterioran documentos. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 119
- Vázquez, R. y G. Cruz. 1991. Identificación de algunas especies de hongos que deterioran documentos del siglo XVI. Memorias del IV Congreso Nacional de Micología. Tlaxcala, Tlax.
- Weiser, H.H. 1962. Practical food microbiology and technology. The Avi. Publishing Company Inc. West Port Connecticut. 110 p.