



00361
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO 27

FACULTAD DE CIENCIAS 29

“ Caracterización Taxonómica, distribución
y algunos aspectos Fisiológicos de Aspergillus
spp. que deterioran documentos en el
Archivo General de la Nación ”

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

Que para obtener el **Grado** de:
MAESTRO EN CIENCIAS
(B I O L O G I A)

p r e s e n t a :

Maria Sol Robledo y Monterrubio

1991



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.

INDICE

1. RESUMEN.....	pág. 1
2. INTRODUCCION.....	3
2.1. Biodeterioro de materiales culturales ocasionado por hongos.....	3
2.2. Importancia y composición del papel.....	3
2.3. Breve historia de la manufactura del papel.....	4
2.4. Hongos como agentes deteriorantes del papel	5
2.4.1. Daños ocasionados en el papel por hongos	6
2.4.2. Historia de un documento	6
2.4.3. Hongos causantes de deterioro en documentos y factores ambientales que favorecen el biodeterioro	7
2.4.4. Niveles ecofisiológicos de los hongos que deterioran documentos,.....	8
2.5. Fungicidas empleados en el biodeterioro	9
2.5.1. Requerimientos que un biocida debe tener para proteger documentos	9
2.5.2. Fungidas empleados en documentos deteriorados	10
2.5.3. El ácido propiónico y sus sales	10
2.6. Importancia del género <u>Aspergillus</u> en el biodeterioro de materiales artísticos.....	11
2.6.1. Grupo <u>A. fumigatus</u> , distribución e importancia en el biodeterioro	12
2.6.2. Grupo <u>A. niger</u> , distribución e importancia en el bio deterioro	13
2.6.3. Grupo <u>A. flavus</u> , distribución e importancia en el biodeterioro	14
2.6.4. Grupo <u>A. wentii</u> , distribución e importancia en el biodeterioro	14
2.6.5. Grupo <u>A. versicolor</u> , distribución e importancia en el biodeterioro	15

2.6.6. Grupo <u>A. nidulans</u> , distribución e importancia en el biode- terioro	15
2.7. Objetivos	16
3. ANTECEDENTES.....	17
3.1. Antecedentes taxonómicos en MÉxico	17
3.2. Antecedentes fisiológicos y de biodeterioro de <u>Aspergillus</u> en México	17
3.3. Antecedentes de control químico	18
4. MATERIALES Y METODOS.....	20
4.1. Muestreo, aislamiento y purificación de cepas	20
4.1.1. Toma de muestras	20
4.1.2. Aislamiento	20
4.1.3. Purificación y mantenimiento de cepas	21
4.1.4. Análisis de datos	21
4.2. Determinación de las cepas aisladas	22
4.3. Prueba de biodeterioro en papel filtro	23
4.4. Prueba del efecto del propionato de sodio como fungicida	24
4.4.1. Diámetro de la colonia en medio de cultivo sólido	24
4.4.2. Germinación de esporas en medio de cultivo líquido	24
4.4.3. Análisis de datos.....	25
5. HISTORIA, POSICION TAXONÓMICA Y DESCRIPCION DEL GENERO <u>Aspergillus</u>	26
5.1. Historia	26
5.2. Posición taxonómica de <u>Aspergillus</u>	28
5.3. Descripción del género <u>Aspergillus</u>	29
6. DESCRIPCION DE LOS GRUPOS Y ESPECIES DETERMINADAS	31
6.1. Grupo <u>Aspergillus fumigatus</u>	31
6.1.1. <u>Aspergillus brevis</u>	31
6.2. Grupo <u>Aspergillus niger</u>	33
6.2.1. <u>Aspergillus foetidus</u>	33
6.2.2. <u>Aspergillus phoenicis</u>	34
6.2.3. <u>Aspergillus pulverulentus</u>	36
6.3.3. <u>Aspergillus tubingenis</u>	37
6.3. Grupo <u>Aspergillus flavus</u>	38

6.3.1.	<u>Aspergillus flavus</u>	39
6.3.2.	<u>Aspergillus flavus</u> var. <u>columnaris</u>	39
6.3.3.	<u>Aspergillus oryzae</u>	40
6.4.	Grupo <u>Aspergillus wentii</u>	42
6.4.1.	<u>Aspergillus thomii</u>	42
6.5.	Grupo <u>Aspergillus versicolor</u>	43
6.5.1.	<u>Aspergillus speluneus</u>	44
6.6.	Grupo <u>Aspergillus nidulans</u>	46
6.6.1.	<u>Aspergillus nidulans</u>	47
7.	CLAVES DICOTÓMICAS DE LOS GRUPOS Y ESPECIES ESTUDIADOS	49
7.1.	Clave para determinar los grupos de <u>Aspergillus</u>	49
7.2.	Clave para determinar las especies de <u>Aspergillus</u>	49
8.	RESULTADOS	52
8.1.	Determinación	52
8.2.	Muestreo, aislamiento y purificación	52
8.3.	Prueba de biodeterioro	53
8.4.	Efecto fungicida del propionato de sodio	54
8.4.1.	Diámetro de la colonia en medio de cultivo sólido	54
8.4.2.	Germinación de esporas en medio de cultivo líquido	54
8.4.3.	Análisis de datos	55
	Diagramas 1 al 8	56 - 63
	Tablas 1 a la 7	64 - 70
	Gráficas 1 a la 30	71 - 100
9.	DISCUSIÓN	101
9.1.	Determinación del material estudiado	101
9.2.	Muestreo, aislamiento y distribución de las especies determinadas	102
9.3.	Prueba de biodeterioro en papel filtro	106
9.4.	Efecto fungicida del propionato de sodio	110
9.4.1.	Diámetro de la colonia en medio de cultivo sólido	110
9.4.2.	Germinación de esporas en medio de cultivo líquido	112
10.	CONCLUSIONES	116
11.	LITERATURA CITADA	118

I. RESUMEN

Se efectuó un muestreo sistemático de documentos deteriorados por hongos en el Archivo General de la Nación, en la galería no. 7 "Archivos Incorporados", con el objeto de aislar las colonias de Aspergillus y caracterizar su distribución, en cuanto a frecuencia relativa y abundancia relativa se refiere (Krebs, 1978 y Smith, 1980). Se muestrearon documentos de diferentes siglos, XVI, XVII, XVIII, XIX y XX.

Se determinaron un total de 6 grupos del género, 10 especies y una variedad, entre ellas, 8 especies y una variedad fueron nuevos registros para la micoflora mexicana: A. brevipes, A. foetidus, A. phoenicis, A. pulverulentus, A. tubingensis, A. flavus var. columnaris, A. thomii, A. speluncus y A. nidulans. Se discuten también los nuevos registros de la micoflora deteriorante de papel en México y en el mundo.

Aspergillus se encontró en un 33% de los documentos muestreados; el mayor número de colonias y la mayor diversidad del género se presentaron en los documentos pertenecientes a los siglos XIX y XX. Las especies con el mayor valor de importancia (modificado) para el muestreo, fueron A. brevipes, A. nidulans y A. flavus.

Las cepas obtenidas de Aspergillus fueron sometidas a una prueba de actividad celulolítica (agresividad), para saber el daño que ocasiona cada una en el papel; utilizando el % de pérdida de peso que provoca en el mismo, así como también se observaron las alteraciones cromáticas que produjeron. En este trabajo, se discute la importancia de cada cepa aislada, tanto en el muestreo, como en su agresividad al papel; aunando estos valores, se ubicaron las especies en los niveles ecofisiológicos propuestos por Nyuksha (1974).

En lo que respecta a la prueba de biodeterioro, las cepas más agresivas fueron: A. pulverulentus, A. nidulans y A. brevipes.

También, se probó el efecto fungicida del propionato de sodio en el crecimiento micelial y en la germinación de esporas de todas las cepas de Aspergillus aisladas en el muestreo, se aplicaron las pruebas estadísticas para conocer la significancia de los resultados obtenidos.

Se encontró que la concentración de propionato de sodio más adecuada para

inhibir el desarrollo de estos hongos, fue de 150,000 ppm. Las esporas resultaron ser más resistentes que el micelio a este compuesto.

Se discuten y describen las especies encontradas en el muestreo, así como también su probable participación en el deterioro. Se incluye una clave dicotómica para las especies determinadas.

2. INTRODUCCION

2.1. Biodeterioro de materiales culturales ocasionado por hongos.

Desde tiempos muy remotos, el hombre ha creado o procesado materiales como reflejo de su cultura y de su historia, tales como monumentos, ropajes, banderas, pergaminos, manuscritos, papiros, pinturas, cueros, pieles, fotografías, películas, madera, cerámica, vidrio, metal, etc. Muchos de ellos, han sido constituidos principalmente de materiales orgánicos de origen vegetal o animal, todos estos sujetos a ser degradados por hongos.

Los mohos y otros microorganismos juegan un papel importante en la descomposición de estos materiales usados por los humanos, cualquiera de estos productos puede presentar crecimiento de hongos saprobitos si las condiciones ambientales son favorables, estableciéndose de esta manera una relación substrato-saprobionte. Generalmente, los hongos atacan cuando la humedad relativa y la temperatura son altas.

La acción descomponedora de estos microorganismos es esencial para desintegrar los productos que las civilizaciones desechan.

Así, Moore-Landecker (1972) considera el deterioro como "una reducción en las propiedades útiles de materiales debido a su descomposición parcial"; Sharp en 1978 menciona que el biodeterioro es "cualquier cambio indeseable en las propiedades de un material ocasionado por las actividades de organismos". Es decir, el biodeterioro se origina cuando un organismo se establece en un material apreciado por el hombre, alterando una o más de sus propiedades.

En los últimos años, diversos investigadores han mostrado interés por conservar estos bienes y conocer a fondo el proceso de biodeterioro en cada uno de estos materiales que ha sido ocasionado por hongos, así como también encontrar una manera adecuada de combatirlos, sin causar daño alguno en ellos.

2.2. Importancia y composición del papel.

Uno de los bienes culturales más importantes para el hombre, es el papel, ya que en él se ven reflejadas sus ideas, costumbres y su historia; así como también ha sido un medio de comunicación masiva hasta en la actualidad. En lo que respecta a la industria del papel, ésta constituye una fuente importante de tra-

bajo para más de un millón de personas en nuestro país (Carvajal y Lomelí, 1993).

Los restauradores e historiadores, son hasta ahora los únicos interesados en conservar estos materiales gráficos, a través de los tiempos, ya que han apreciado el valor cultural que ellos representan para nuestro país y para el mundo.

La fabricación de papel ha sido muy diversa a lo largo de los siglos, de ahí que su composición ha variado; sin embargo se puede afirmar que el papel está constituido principalmente por materia orgánica en sus ingredientes que se llaman fibra y encolante; la primera, contiene la materia prima del papel que es la celulosa obtenida en un 85 a 90% de la madera, y el segundo, constituido por gomas naturales como la gelatina, cola, brea, etc., formando alrededor de un 10% del papel, la función del encolante es hacer a los documentos resistentes a la penetración de líquido, da solidez a la hoja y la endurece; además previene el corrimiento de la tinta al escribir. Otra parte secundaria que constituye al papel, que es la de origen inorgánico, es conocida como 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; son muy variados, pueden ser silicatos, sulfatos, etc.

Como se puede notar, los componentes orgánicos del papel pueden ser degradados por microorganismos y por lo tanto están expuestos al deterioro.

La calidad de las materias primas que se emplean en la fabricación del mismo y las condiciones ambientales en que es almacenado, son factores determinantes en su permanencia y durabilidad a través de los años (banks, 1983).

La permanencia, es la estabilidad química, el grado de resistencia de un material al deterioro, a través del tiempo, aún cuando no esté en uso; y la durabilidad se refiere a la resistencia física, o sea, a la capacidad de resistir "la tensión mecánica" (Banks, 1983).

2.3. Breve historia de la manufactura del papel.

La alta calidad del papel más antiguo, es el resultado de una cuidadosa manufactura, del empleo apropiado de las fibras y de accidentes como el uso de carbonatos. Así, las propiedades del papel del siglo XVI fueron constantes. La presión por una mayor producción contribuyó a la introducción de maquinaria, uso de las nuevas fibras y la adición de productos químicos. Esto marcó el comienzo de

un deterioro en la permanencia y durabilidad del papel a partir del siglo XVII (Barrow, et al., 1964).

Para comprender las causas del deterioro es importante darse cuenta que el descenso en la duración empieza mucho antes de la mitad del siglo XIX. La resistencia al doblar del papel ha ido declinando desde el siglo XVII (Banks, 1983). Entre las principales causas se encuentran la introducción del alumbre (sulfato de potasio) como encolante en el siglo XVII, ya que acidifica el papel, el reemplazo del molino de piones por la batidora holandesa y estampadoras que originan fibras más cortas y como consecuencia papel más débil. En el siglo XVIII existieron modificaciones en el proceso de fabricación que no hacía necesario el uso de carbonato de calcio; y se utilizó el cloro como blanqueador. En el siglo XIX la principal causa del deterioro fue el uso de la madera molida (pulpa) y no purificada como materia prima de la fibra.

El largo de la fibra es determinante para la resistencia del papel; si dos papeles se están deteriorando bajo las mismas condiciones, el más débil originalmente llegará a ser inservible antes que el que era más fuerte al principio. Esta es en parte, la razón por la que muchos documentos de los siglos XIX y XX estén tan deteriorados. Muchos de estos papeles fueron débiles desde el principio por las fibras cortas usadas en su fabricación.

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 XVIII.

La baja calidad de los papeles modernos, se debe a que contienen una gran cantidad de impurezas, polímeros y material no fibroso diferente a la celulosa. Todos ellos son factores que causan un crecimiento prolífico de hongos. Hay, sin embargo organismos específicos, que utilizan a la celulosa como fuente de carbono.

El papel puede ser degradado por diferentes hongos, dependiendo de su manufactura, composición química, acidez, contenido de humedad, humedad relativa, luz y temperatura (Kowalik, 1980).

2.4. Hongos como agentes deteriorantes del papel.

De los diferentes organismos que tienen la capacidad de deteriorar los documentos, los hongos son el grupo de mayor importancia dada la abundancia de espe-

cies que en él habitan y el daño que ocasionan. Algunas características que les permiten rápida expansión sobre el papel son su versatilidad, su adaptación a condiciones ambientales desfavorables, requerimientos nutricionales modestos y la ventaja de poseer estructuras somáticas filamentosas (hifas); éstas además de la producción de enzimas extracelulares, les permiten una fijación excelente, y una rápida extensión sobre el papel (Gallo, 1963; Hudson, 1972; Meynell y Newsam, 1978).

2.4.1. Daños ocasionados en el papel por hongos. Los hongos que habitan en el papel causan diversos daños, entre ellos tenemos:

a) **Alteraciones químicas.** Comprenden la degradación de celulosa por la acción enzimática de los hongos, catalizando la conversión del polímero en mono o disacáridos solubles en agua. El complejo enzimático que poseen estos microorganismos para metabolizar la celulosa consta de tres enzimas: la C_1 que actúa solamente sobre la celulosa nativa, originando cadenas lineales, se encuentra en verdaderas especies celulolíticas; la β_{1-4} glucanasa, conocida como C_x , rompe polímeros parcialmente degradados (cadenas lineales o celulosa modificada) originando celobiosa y oligómeros; por último la β -glucosidasa que hidroliza moléculas de bajo peso molecular como la celobiosa y oligómeros, transformándolos en glucosa.

Existen especies que pueden presentar todo el complejo, o solamente 1 o 2 enzimas.

b) **Alteraciones mecánicas.** Las hifas de los hongos penetran en el papel y favorecen el debilitamiento de las fibras, esto aunado a la celulolisis origina una completa destrucción.

c) **Alteraciones cromáticas.** Consisten en la aparición de manchados en los documentos, originados por el color del micelio que se infiltra entre las fibras, por pigmentos secretados por el micelio como un resultado de su metabolismo, o por la acción celulolítica. El tipo de manchado presente, dependerá no solo de la especie de hongo invasora, sino también de otros factores.

2.4.2. Historia de un documento. Para estudiar los orígenes y métodos de formación de la micoflora de un papel es necesario conocer el proceso de manufactura, "historia" de la materia prima que se emplea en su elaboración (cuando se encuentra en la naturaleza como madera en pie, y su almacenamiento hasta llegar a la

fábrica de papel), y la historia de su almacenamiento una vez que se ha transformado en documento.

Para conocer los orígenes y métodos de la formación de la micoflora del papel sería considerar tres etapas determinantes:

a) Origen e historia de la materia prima. Es el período que comprende los procesos por los que pasa la materia prima antes de llegar a la fábrica de papel. Generalmente consiste en recolección, almacenamiento y transporte; por ejemplo, si hablamos de madera, las condiciones que tenían los árboles colectados en el bosque, y las de almacenamiento de la madera son importantes en la formación de determinada micoflora.

b) Procesos de manufactura. Es el tiempo en el que la materia prima y otros componentes (ya mencionados) pasan por diversas etapas hasta transformarse en papel. Estos están íntimamente relacionados con la historia de su manufactura, que es determinante en la micoflora genérica que se encuentre en cada documento (Nyuksha, 1974).

c) Almacenamiento del papel. Es la etapa final que comprende desde el momento en que el papel sale de la fábrica, el lugar donde es almacenado y conservado como documento hasta la actualidad; en ésta, son muy importantes los factores ambientales ya que también están relacionados directamente con el tipo de biodeteriorio que presente un documento determinado, asimismo los materiales en que son depositados y la atmósfera determinan la micoflora dominante.

Estas tres etapas conforman lo que se denomina como "historia de un documento", la cual es sumamente difícil de conocer, y hasta ahora no se sabe de estudios completos realizados para conocer la micoflora en cada una de estas etapas.

2.4.3. Hongos causantes de deterioro en documentos y factores ambientales que favorecen el biodeteriorio. La contaminación de los materiales de archivo por hongos puede ocurrir de muy diversas formas; desde la presencia de esporas en la materia prima; esporas presentes en el aire circundante; o presencia de esporas en documentos ya deteriorados.

Para que ocurra la acción deteriorante de los hongos, se necesitan condiciones ambientales favorables como son las altas hr (70%), temperaturas templadas o altas (25-37°C) y oxígeno.

Actualmente, se conocen 132 géneros, y 308 especies de hongos que habitan en el papel (Nyuksha, 1974); de ellas, 14 especies corresponden a la clase Zygomycetes; 55 a Ascomycetes; 8 a Deuteromycetes; las que se encuentran en 12 órdenes y 132 familias.

La micoflora del papel se compone, no solamente por rigurosos destructores de la celulosa. La frecuencia genérica, según estudios cuantitativos en los que se ha encontrado hongos en el papel, es la siguiente: Penicillium, Aspergillus, Chaetomium, Mucor, Ulocladium, Stemphylium, Cladosporium, Stachybotrys, Alternaria, Sporotrichum, Trichoderma, Acremonium, Trichothecium (Nyuksha, 1974). Sin embargo, la frecuencia con la que se presentan no revela su acción deteriorante, ya que muchos de ellos son ubicuos. Los habitantes reales del papel y sus productos, se han establecido con base en el estudio del deterioro y medida del daño causado a ellos.

2.4.4. Niveles ecofisiológicos de los hongos que deterioran documentos. Según el grado de ubicación en el sustrato (papel) y agresividad, Nyuksha (1974), los ha clasificado en 5 niveles ecofisiológicos:

1o. Hongos que se encuentran permanentemente en el papel, que penetran en las fibras y conducen al sustrato a un estado de desintegración. Todos estos hongos reúnen la capacidad de destrucción de las distintas formas de celulosa.

2o. Hongos que se encuentran constantemente en el papel y que provocan algunas destrucciones en su textura, aunque no al grado de las anteriores, en agrupaciones pueden actuar como sinergistas.

3o. Hongos que asimilan ciertos componentes específicos (cera, parafina, caucho, etc.). El número de especies es menos constante que en las anteriores y puede modificarse según la medida de desarrollo de la producción poligráfica; los distingue la capacidad de multiplicarse en el papel más rápidamente que los otros lo cual acrecienta sus colonias y les permite ocupar una mayor parte del papel.

4o. Hongos cuya presencia en el papel depende de la micoflora circundante. La presencia cuantitativa de estas especies supera significativamente a su nocividad, esto es debido a su ubicuidad.

5o. Ciertos representantes casuales. Esta micoflora depende de las condiciones específicas del local donde se almacenan los documentos.

2.5. Fungicidas empleados en el biodeterioro.

Se han realizado muchos esfuerzos para evitar que los hongos ataquen documentos; entre ellos, se han tomado medidas preventivas, como mantener las condiciones de almacenamiento adecuadas, protegerlos contra humedad y temperatura desfavorables, dar más bioestabilidad al papel durante exposiciones desfavorables, - etc.; otros han empleado control físico como medida curativa, irradiando documentos con luz ultravioleta o rayos gamma; y también se han utilizado sustancias químicas para evitar el desarrollo de microorganismos en el papel.

Todos estos mecanismos han resultado insuficientes, ya que aunque se mantengan almacenados a temperatura y humedad adecuadas, no debemos perder de vista los siniestros como inundaciones, incendios, terremotos, etc., que deterioran documentos, por lo que será necesario aplicar medidas curativas.

En lo que respecta al control físico, éste no ha sido muy eficiente, además de que el mismo tratamiento puede dañar los documentos (Calvini y Santucci, 1978-1979; Santucci, 1983); con las sustancias químicas ocurre algo similar, además de ser sumamente tóxicas para quienes las aplican (Santucci, 1983).

2.5.1. Requerimientos que un biocida debe tener para proteger documentos. Así, Nyuksha en 1969, propone que los requerimientos que un biocida debe cumplir para la protección de un libro son:

- 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 16 propiedades carcinogénicas y teratogénicas y de contaminación ambiental.
- e) Niveles de pH cercanos al neutral o con tendencia a la alcalinidad.
- f) Capacidad nigroscópica 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 inodoro así como también sus productos de degradación.

Ninguno de los compuestos conocidos hasta ahora, cumple con todas estas características, inclusive algunos de ellos tienen resultados negativos, dañando a los documentos y orillando a los microorganismos a crear cepas resistentes. Debido a ello, las investigaciones en búsqueda de nuevos biocidas aún continúa.

2.5.2. Fungicidas empleados en documentos deteriorados. Los fungicidas más comúnmente empleados en la restauración de documentos son: el timol (Flieder, 1969; UNESCO, 1969; Paullada-Mena, 1982), sobre el cual algunos autores han mencionado que no es efectivo contra los hongos y que puede causar daño en los materiales (Flieder, 1969; Daniels y Boyd, 1966); el orto-fenil-fenol, que sólo proporciona protección temporal (Santucci, 1983; Haines y Konler, 1986); el formaldehído, del que también se ha observado poca efectividad, además de causar daño en los materiales (Flieder, 1969; Paullada-Mena, 1982); el óxido de etileno que es el que mejores resultados ha dado, pero es un compuesto sumamente tóxico, explosivo, y que además para su aplicación se requiere de equipo especializado (Flieder, 1969; Paullada-Mena, 1982).

También se han empleado algunas sales y sus ácidos en el control de microorganismos deteriorantes de materiales gráficos, como: la sal de sodio diclorofenol (Sadurska y Kowalik, 1968), que ha mostrado ser efectiva como fungicida, no cambia el pH ni la resistencia del papel; el pentaclorofenato de sodio que sí interfiere al papel (Santucci, 1983); se ha recomendado el uso de propionato de calcio para tratar papel (Desarkissian y Goodberry, 1980); en Francia se han utilizado derivados de una sal amonio llamado bromuro de lauril-dimetil-carboxi-metilamonio conocido con el nombre comercial de Caeguartil B. E., su desventaja es ser tóxica para el hombre (UNESCO, 1969), además de causar fuerte depolimerización de la celulosa debido a la hidrólisis gradual con producción de ácido bromhídrico (Santucci, 1983); otras sales que han sido probadas, son la sal de sodio (Topano W.S.) derivada del O-fenilfenol; la salicilamida, que no es persistente y difícil de aplicar debido a su insolubilidad en agua (Santucci, 1983).

2.5.3. El ácido propiónico y sus sales. El ácido propiónico es un miembro de la

serie de los ácidos alifáticos monocarboxílicos. Es un líquido blanco, de olor penetrante y corrosivo, siendo su fórmula condensada $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$. Debido a su fuerte olor y poder corrosivo, se han empleado sus sales de sodio y calcio, las cuales al disociarse liberan moléculas de ácido, el cual es el ingrediente activo.

El propionato de sodio, es la sal de sodio del ácido propiónico. Su fórmula condensada es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COONa}$, tiene un peso molecular de 95.07; son gránulos cristalinos transparentes. Deliquescentes en ambiente húmedo; da una reacción neutra o alcalina con tornasol, aunque es más activo en medios ácidos. Es soluble en agua y alcohol.

Se ha utilizado en la industria alimentaria como fungicida y preservador, en veterinaria para tratar dermatosis, infecciones y conjuntivitis; en medicina para curar pie de atleta, etc. (Jungermann y Schwartzman, 1977; Merck Index, 1976).

Por lo anterior, tomando en cuenta sus propiedades fungicidas y el no ser tóxico para el hombre, se propuso hacer pruebas para control de Aspergillus spp. que deterioran documentos en el Archivo General de la Nación.

2.6. Importancia del género Aspergillus en el biodeterioro de materiales artísticos.

Este género fue descrito desde 1753 por Micheli en su "Nova Plantarum Genera" pero a partir del siglo XIX se le empezó a reconocer como agente causal del proceso de pudrición y deterioro de algunos materiales; de enfermedades humanas y como agente fermentador capaz de producir metabolitos valiosos.

Probablemente ningún otro microorganismo había tenido mucho efecto en la industria procesadora de alimentos en los pasados 50 años como Aspergillus flavus Link. El descubrimiento de aflatoxinas producidas por estas especies dió como resultado un nuevo campo de estudio, la Micotoxicología, que es de carácter interdisciplinario, donde intervienen en biólogos, químicos, veterinarios, médicos y patólogos.

El papel de Aspergillus como agente causal de enfermedades en el hombre, animales, plantas y semillas, se conoce profundamente en diversas obras (Euzéby, 1969; Olivas-Enriquez et al., 1975; Velasco y Tay, 1975; y Schwartzman, 1977), la importancia que el género tiene en el biodeterioro de materiales culturales será

el tema a tratar en este trabajo.

Aspergillus y Penicillium son los más nocivos agentes causales de deterioro en la tierra, además de tener una amplia distribución. Las especies de Aspergillus tienen en general requerimientos de temperaturas altas para su desarrollo, por lo cual es más comúnmente encontrado en zonas tropicales. Las especies que son frecuentemente encontradas causando deterioro son xerófilas. La dominancia del género en el mundo del biodeterioro es indudablemente debido a muchos factores, los principales probablemente sean la prolífica cantidad de pequeños conidios, su diversidad bioquímica y su habilidad para crecer en bajos niveles de humedad.

El género se ha encontrado destruyendo una gran diversidad de materiales, - entre ellos tenemos a los textiles, el papel, equipo electrónico, plástico, pinturas, madera, barnices, ceras, equipo automotor y aeronáutico (Fennell, 1965; - Kowalik, 1980; Pitt, 1981; Jong y Gratt, 1984).

De aquellas especies destructoras de papel, se han realizado extensos estudios de la actividad celulolítica que presentan, donde se ha observado que la enzima C_x o B_{1-4} glucanasa es común en todas las especies de Aspergillus (Reese y Downing, 1951) es decir, son capaces de hidrolizar los enlaces 1,4 β -glucosídicos en la cadena de celulosa. Se ha observado que en presencia de azúcares como la glucosa en el medio, el género es capaz de utilizar el algodón y el papel filtro (celulosa nativa) (Dholakia y Chhatpar, 1980).

Nyuksha (1974), establece que Aspergillus ocupa el segundo lugar en frecuencia cuantitativa genérica de los hongos que se encuentran en el papel, sus especies ocupan los tres primeros niveles ecofisiológicos de ataque al papel.

2.6.1. Grupo Aspergillus fumigatus, distribución e importancia en el biodeterioro. Pitt (1981), menciona que es un verdadero hongo termófilo, aunque también se le considera como termotolerante (Raper y Fennell, 1965); por lo tanto se encuentra frecuentemente en áreas tropicales. En vegetación en descomposición por calor, se ha considerado que las especies de éste, constituyen el 70% de la micoflora de una composta sometida a descomposición termófila (Raper y Fennell, 1965). Crece bien a 37°C.

Se ha encontrado deteriorando papel, textiles, algodón, yute, resinas, etc.

(Raper y Fennell, 1965; UNESCO, 1969; Nyuksha, 1974; Orlita, 1977; Kowalik, 1980; Pitt, 1981).

Se ha mencionado que es un fuerte destructor del papel (UNESCO, 1969; Kowalik, 1980; Deacon, 1985), ocasiona manchados de colores grises, verdes, café pulverulento (Kowalik, 1980). Nyuksha (1974) lo ubica en el primer nivel ecofisiológico de ataque al papel.

En cuanto a estudios de su actividad celulolítica, se cita como potente degradador de celulosa (UNESCO, 1969; Jong y Gantt, 1984); es capaz de elaborar celulosa extracelular (C_x) y producir suficiente hidrólisis de carboxi-metil-celulosa (Reese y Downing, 1951; Shah y Chhatpar, 1980; Thakre y Johri, 1980); se ha determinado que A. fumigatus es capaz de degradar yute, algodón y papel filtro en 25 días de incubación bajo condiciones adecuadas de temperatura y humedad relativa (Thakre y Johri, 1980).

2.6.2. Grupo Aspergillus niger, distribución e importancia en el biodeterioro.

Son hongos mesofílicos, que se desarrollan preferentemente en altas temperaturas y son xerofílicos; sus especies son aisladas frecuentemente en zonas secas, probablemente al color oscuro de sus conidios (Pitt, 1981) que el confieren especial resistencia a la luz del sol. Es cosmopolita, muy frecuente en climas templados (UNESCO, 1969).

Se ha encontrado deteriorando materiales en fábricas de textiles y algodón; también deteriora cuero, papel, pinturas, motores e equipo automotor y de aviación; material eléctrico y fotográfico, lana, plásticos, madera, barnices y ceras (Raper y Fennell, 1965; UNESCO, 1969; Flieder, 1969; Orlita, 1977; Kowalik, 1980; Paullada-Mena, 1982; Jong y Gantt, 1984). A. niger se ha citado como fuertemente celulolítico (UNESCO, 1969), en el papel es frecuente (Kowalik, 1980) y en presencia de glucosa decrece la resistencia del material celulósico. Se ha registrado como degradador de la carboxi-metil-celulosa (Shah y Chhatpar, 1980; Jong y Gantt, 1984); posee enzimas como la β -glucosidasa; que A. foetidus y A. phoenicis también sintetizan (Herr et al., 1978). Nyuksha (1974), lo ha ubicado en el segundo nivel ecofisiológico de ataque al papel; hasta ahora no se registra ningún tipo de manchado que ocasione en los documentos (Flieder, 1969; UNESCO, 1969; Paullada-Mena, 1982).

El tipo de daño que ocasiona en los materiales aún es incierto, ya que algunos autores (Raper y Fennell, 1965) mencionan que A. niger tiene baja actividad en la degradación de estos substratos, es decir, la frecuencia con la que es aislado no es proporcional al daño que ocasiona, esto lo explican debido a que es una especie ubicua; otros estudios realizados en algodón y lana muestran su inactividad sobre estos materiales (Resse y Downing, 1951); sin embargo, otras investigaciones demostraron que A. niger reduce la tensión y longitud de bandas de algodón en sales minerales con 5% de glucosa (Simpson y Marsh, 1959; Gans, 1960).

2.6.3. Grupo Aspergillus flavus, distribución e importancia en el biodeterioro.

Es un grupo con especies mesofílicas, que prefiere las temperaturas altas, es xerofílico.

Se ha encontrado deteriorando textiles, componentes de automóviles y aeronaves, equipo eléctrico, plásticos, madera, laminados, ceras, lana, papel, etc. (Raper y Fennell, 1965; Flieder, 1969; UNESCO, 1969; Nyuksha, 1974; Kowalik, 1980; - Jong y Gantt, 1984).

Su actividad celulolítica aún es indecifrabla, ya que la UNESCO (1969) lo caracterizó como poco celulolítico, así como Raper y Fennell (1965); sin embargo Gallo en 1963, lo cita como fuertemente celulolítico. Reese et al. (1950), Jermy (1952) y Kooiman (1957) indican que enzimas producidas por A. flavus Link y A. oryzae (Ahlb.) Cohn son capaces de degradar la carboxi-metil-celulosa sódica (Jermy, 1952); otros estudios revelan la capacidad de A. flavus para producir oligosacáridos (Raper y Fennell, 1965); Reese y Downing (1951); Shah y Chhatpar (1980) y Jong y Gant (1954) mencionan la realización de experimentos donde se demostró que A. flavus secreta la enzima C_x capaz de degradar la carboxi-metil-celulosa en niveles muy altos; Billai et al. (1978) caracterizaron a A. oryzae como fuertemente celulolítico.

Nyuksha (1974) ubica a A. flavus en el segundo nivel ecofisiológico de ataque al papel; él mismo, no hace referencia a A. oryzae. Se ha citado que A. flavus no causa manchado en el papel (Flieder, 1969; Paullada-Vena, 1982); a diferencia de A. oryzae ya que Billai et al. (1978) lo registran como dañino para los materiales gráficos por la pigmentación que produce.

2.6.4. Grupo A. wentii, distribución e importancia en el biodeterioro. Comúnmente

crece en los suelos, en material vegetal sometido a descomposición lenta.

Poco es lo que se conoce de las especies de este grupo como biodeteriorantes de materiales artísticos; Nyuksha (1974), lo ubica en el segundo nivel ecológico de ataque al papel, y Kowalik (1980) menciona que destruye levemente los documentos y causa manchados de color rosa claro. Reese y Downing (1951) caracterizaron a A. wentii como carente de actividad celulolítica.

2.6.5. Grupo Aspergillus versicolor, distribución e importancia en el biodeterioro. Sus especies crecen más lentamente que los otros grupos del género; A. versicolor (Vuill) Tiraboschi. y A. sydowi (Bain & Start.) Thom & Church son profundamente xerofílicos (Pitt, 1981) y se encuentran en amplia variedad de materiales deteriorados. Su distribución es muy amplia en la naturaleza, principalmente aquellos substratos expuestos al aire húmedo o a descomposición lenta.

Se ha encontrado deteriorando papel, algodón en las fábricas, equipo y material de guerra, instrumentos ópticos, componentes automotores, equipo eléctrico y electrónico, plástico, caucho, cloruro de vinilo y piedra (Gallo, 1963; Raper y Fennell, 1965; UNESCO, 1969; Nyuksha, 1974; Orlita, 1977; Jong y Gantt., 1984).

Nyuksha, en 1974 lo ubicó en el segundo nivel ecofisiológico de ataque al papel. Gallo en 1963, menciona que es levemente celulolítica, sin embargo, en estudios realizados por Reese y Downing (1951) encontraron que no es capaz de degradar la celulosa nativa. Los restauradores no mencionan si ocasiona alguna coloración en los materiales gráficos que deteriora. Se ha establecido que A. wentii causa el 50% de pérdida de peso de la celulosa en yute (Basu, 1948); se ha aislado frecuentemente en tapices de edificios públicos en Nueva Zelanda (Brien y Deene, 1945); y se registra como muy abundante en material deteriorado de la II Guerra Mundial, además de ser muy tolerante a amplia variedad de agentes tóxicos (Raper y Fennell, 1965).

2.6.6. Grupo Aspergillus nidulans, distribución e importancia en el biodeterioro. Sus especies son comúnmente aisladas de zonas templadas y tropicales, en materiales sujetos a descomposición lenta; algunas especies son xerofílicas (Raper y Fennell, 1965).

No han sido encontradas con frecuencia en materiales artísticos, se menciona

solamente en papeles antiguos causando manchados de color café o beige (Flieder, 1969; Paullada-Mena, 1962).

Se ha caracterizado como una cepa con actividad celulolítica, degradando algodón y lana (Reese y Downing, 1951); también existen cepas capaces de hidrolizar la carboxi-metil-celulosa (Jong y Gantt, 1984).

2.7. Objetivos.

En México, Robledo (1986) mencionó que la presencia de Aspergillus en documentos deteriorados del Archivo General de la Nación, fue muy abundante y que se ría interesante hacer un estudio al respecto de este género; por lo cual surgió el interés de conocer las especies que tienen participación en el proceso de bio deterioro, aspecto que aún no ha sido estudiado en nuestro país.

Los principales objetivos de la presente investigación fueron:

1o. Aislar y purificar Aspergillus spp. a partir de un muestreo sistemático de documentos deteriorados de la galería no. 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación.

2o. Determinar y describir las especies de las cepas aisladas del género Aspergillus.

3o. Conocer la distribución, abundancia e importancia cuantitativa de los grupos y especies aisladas de Aspergillus en documentos pertenecientes a los siglos XVI, XVII, XVIII, XIX y XX.

4o. Evaluar el biodeterioro ocasionado por medio de la técnica de pérdida de peso en papel filtro de cada una de las cepas aisladas.

5o. Probar la acción fungicida del propionato de sodio en el micelio y en la germinación de esporas de las cepas aisladas.

3. ANTECEDENTES

Existen en México numerosos trabajos sobre el género Aspergillus; muchos de ellos se refieren a su acción deteriorante en granos almacenados y su control (Moreno, 1979; Vidal-Gaona, 1982; Nava-Rodríguez et al., 1983; García-Aguirre, 1985; García-Aguirre y Martínez-Flores, 1985, 1986; Moreno et al., 1985; Martínez-Flores et al., 1988); otros tratan sobre su patogenicidad y propiedades alergénicas en el hombre (Huerta et al., 1971; Coutiño, 1979; Ruiz-Sánchez et al., 1986; Toriello et al., 1986; Pérez y Toriello, 1988); es sujeto de estudio por médicos veterinarios (Campos-Nieto et al., 1980); como fitopatógeno (Ramírez y Riquelme, 1911; Ramírez, 1912); y otros se han aislado de diversos substratos (Ulloa, 1974; Reyes y Castillo, 1981; Aguirre-Acosta y Ulloa, 1982; Heredia y Ulloa, 1982; Lappe y Ulloa, 1982; Rosas y Calderón, 1986; Samaniego et al., 1988).

3.1. Antecedentes taxonómicos en México.

De las 200 especies registradas para el género en el mundo; solamente se han citado 34 de México. La mayoría, han sido aisladas de semillas, de suelo, de excremento de animales y del aire; solamente algunas de documentos deteriorados (A. flavus, A. niger y A. versicolor) y otras del aire del Archivo General de la Nación (A. terreus, A. oryzae, A. candidus, A. flavus y A. niger), por lo que en nuestro país, los estudios sobre las especies de Aspergillus como hongos deteriorantes de materiales gráficos son muy escasos.

Es sorprendente que a pesar de ser un género con gran importancia para el hombre, no exista en México ningún trabajo taxonómico donde se incluyan descripciones de las especies aisladas.

Sobre taxonomía de hongos microscópicos deteriorantes en México se conocen algunos trabajos recientes (Robledo, 1986; Robledo y Moretti, 1986; Robledo y Cifuentes, 1986; De la Cruz y Robledo, 1988; Moretti y Robledo, 1988).

3.2. Antecedentes fisiológicos y de biodeterioro de Aspergillus en México.

En nuestro país, son diversas las investigaciones realizadas recientemente sobre la fisiología del género; entre ellas ha llamado la atención de los biotecnólogos la producción de pectinasas (Cabello et al., 1986 b; Aguilar y Huitrón,

1988; Solís y Huitrón, 1988), de ácido glucónico (Montúfar y Jiménez, 1986); como bioabsorbente de metales pesados (Sosa et al., 1988); en obtención de biomasa fúngica (Cabello et al., 1986 a) y en desarrollar técnicas para estudiar la germinación de esporas (Barrios y Anaya, 1987).

No existe en México ningún estudio sobre su capacidad deterioradora y mucho menos su participación como degradador de papel.

En el extranjero, existe un trabajo muy completo sobre la actividad celulítica de más de cien aislamientos de Aspergillus spp. en lana y algodón (Reese y Downing, 1951); Raper y Fennell (1965) hacen una importante recopilación de investigaciones realizadas sobre el tipo de deterioro ocasionado en materiales como textiles, papel, equipo fotográfico, etc.; se conocen otros trabajos sobre biodeterioro en papel filtro y documentos, ya sea detectando enzimas celulíticas o el % de pérdida de peso en el papel (Billai et al., 1978; Herr et al., 1978; Dhoulakia y Chhatpar, 1980; Nyuksha, et al., 1980; Shah y Chhatpar, 1980; Thakre y Johri, 1980; Deacon, 1985).

3.3. Antecedentes de control químico.

Son innumerables los trabajos que existen en el extranjero sobre el control de hongos deteriorantes en documentos (Flieder, 1969; Kowalik, 1980; Nyuksha et al., 1980; Santucci, 1983).

Sin embargo, en lo referente a sustancias poco tóxicas, que han sido utilizadas como conservadores de alimentos, son escasas las investigaciones efectuadas; se ha propuesto el ácido sórbico para controlar el crecimiento de hongos en papel de envoltura de pan (Pirogova et al., 1975) también para conservar la pulpa con la que se elabora el papel (Mikhonovskaya, 1979); para la conservación de fotografías ("poster de color") Sholakia y Chhatpar (1980) proponen al ácido bórico; y en particular Khadzhieva y Khristov (1974), hicieron pruebas con seis fungicidas y su capacidad para impregnarse en papeles de envolturas, los compuestos que probaron fueron benzoato de sodio, ácido propiónico, urotropina, bórax, ácido salicílico y ácido sórbico, en una concentración de 3 a 5%, ellos concluyeron que los cuatro primeros compuestos, sólo tienen una débil acción fungistática o son inactivos, los dos últimos fueron más efectivos al 5%; los mismos científicos en 1977, obtuvieron resultados positivos usando sales de sodio como fungistáticas en la

industria papelera para envolver fruta, en una proporción de 2-3%.

En México se conocen solo dos 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) en cinco diferentes especies de Chaetomium, no observaron crecimiento de micelio en 100,000 ppm, en las concentraciones de 1000 y 10,000 sí se presentó desarrollo micelial.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Muestreo, aislamiento y purificación de cepas.

4.1.1. 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 "Archivos Incorporados".

Se entresacaron 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 aquéllos que ya no fuese posible restaurar y que presentaran manchados que probablemente hayan sido ocasionados por hongos. Se escogieron 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.

Las muestras fueron tomadas en el Laboratorio de Química del Departamento de Restauración del Archivo General de la Nación, utilizando todas las medidas de asepsia.

Se recortaron 4 muestras de cada documento ; de 3 x 3 cm con ayuda de tijeras estériles, junto al mechero; con pinzas estériles, se depositaron en bolsas de plástico limpias para ser transportadas y procesadas en el Laboratorio Especializado de Morfofisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de la UNAM; en total, se procesaron 160 muestras provenientes de 40 documentos.

Para cada documento , se hizo una historia clínica, que contempla los siguientes datos: procedencia, siglo, año, tinta, tipo de manchado, otros daños causados por insectos o roedores, ubicación (archivo, galería, acervo), fecha de colecta y colector.

4.1.2. Aislamiento. Se realizó de acuerdo a una de las técnicas propuestas por Robledo (1986). De las cuatro muestras obtenidas de cada documento, dos se depositaron en cajas de petri con 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, agua destilada 1000 ml; las otras muestras se colocaron en cámaras húmedas. Se incubaron a 27°C durante 30 días.

4.1.3. Purificación y mantenimiento de cepas. Al aparecer las primeras colonias, se procedió a su purificación, tomando en cuenta solamente aquellas que originalmente se desarrollaron sobre el papel. Con una asa de siembra, se tomó una muestra de cada colonia y se inoculó en cajas de petri con extracto de malta agar (EMA) (Ulloa y Hanlin, 1978), incubándose a 27°C. Este paso se repitió varias veces hasta obtener la cepa pura, una vez purificadas, se resembraron en tubos con medio de cultivo inclinado (EMA) y se conservaron en refrigeración.

El material estudiado fue depositado en el Cepario de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

4.1.4. Análisis de datos. Se realizó el análisis de distribución obteniendo densidades y frecuencias relativas para el género, los grupos y las especies aisladas de Aspergillus. Las fórmulas empleadas fueron de acuerdo con Krebs (1978) y Smitn (1980):

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

$$\text{Frecuencia Relativa} = \frac{\text{No. de muestras en las que se encontró el género, grupo o especie}}{\text{No. total de muestras utilizadas}} \times 100$$

$$\text{Valor de Importancia de la especie (modificado)} = \text{Densidad Relativa de la especie} + \text{Frecuencia Relativa de la especie}$$

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

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 χ (Daniel, 1984; - Steel y Torrie, 1988).

4.2. Determinación de las cepas aisladas.

Para la identificación de las cepas obtenidas, se utilizaron las obras de Raper y Fennell (1965) y Domsch et al. (1980).

Las cepas se estudiaron tanto en su crecimiento, como en sus características morfológicas a nivel macroscópico y microscópico.

Para tener una amplia representatividad de cada especie, se estudiaron cultivos de diferente edad y que fueron crecidos en EMA y CZAPECK (CZA) (Ulloa y Hanlin, 1978).

La característica fisiológica, se refiere al desarrollo micelial de cada cepa en EMA, a 27 °C, durante 22 días; se evaluó el diámetro de micelio, para así establecer la gráfica de crecimiento de cada cepa, con sus respectivas desviaciones típicas.

Los datos macroscópicos que se tomaron fueron: características de la colonia (coloración, color en la parte inversa; si es flocosa o aterciopelada o velutinoso; estriada o zonada; margen entero o lobulado, delgado o grueso); del micelio (abundancia); aéreo o sumergido, coloración, si se desarrolla más allá de la zona de esporulación; exudado ausente o presente; olor ausente o presente; cabezas conidiales (color, forma, dimensiones); si la colonia provoca o no cambios de color en el medio de cultivo.

Para observar los caracteres microscópicos, se elaboraron preparaciones semipermanentes en lactofenol, de cultivos crecidos tanto en EMA como en CZA, así como también en diferentes estadios de maduración. Las características que se tomaron en cuenta fueron: conidióforos (abundancia, formación rápida o lenta, rectos o sinuosos, coloración, paredes gruesas o delgadas, ornamentación de las paredes, dimensiones); filíides (uniseriadas o biseriadas, abundancia, coloración, forma y dimensiones); esporas (color en masa y con luz transmitida, forma, ornamentación y dimensiones); esclerocios (forma, color y dimensiones); ascosporas (color en masa y con luz transmitida, forma, ornamentación y dimensiones); célu-

las de hülle (forma, color, paredes, dimensiones).

4.3. Prueba de biodeterioro en papel filtro.

Se cuantificó la acción deteriorante de las cepas aisladas en términos de pérdida de peso que se produjo en el papel modificando las técnicas propuestas por Fergus (1969); Pérez-Morales et al. (1977); Pinzón-Picaseño et al. (1978) y Garret (1980).

Se vigorizaron las cepas en EMA, obteniendo cultivos puros de cada ejemplar, una vez maduros se cortaron 3 círculos de un centímetro de diámetro con un sacabocado y en condiciones asépticas.

Por otro lado, se recortaron cuadros de papel filtro contenido en pliegos de 6 x 6 cm y se sometieron a secado en estufa a 105°C durante 18 horas. Posteriormente fueron pesados con un desecador o pesafiltro en balanza analítica para así obtener el peso inicial de cada cuadro (Pi).

Se prepararon cámaras húmedas con charolas de plástico, en cada una se colocó una solución saturada de agua con sulfato de magnesio para conservar una humedad relativa conocida y constante de 96%; en seguida, dentro de la charola, se colocó una rejilla de plástico y sobre ésta se depositaron los cuadros de papel (tres en cada charola), en cada uno de los cuales se inoculó un disco de medio de cultivo con el micelio del hongo, la charola se introdujo en una bolsa de plástico y se selló perfectamente para evitar la pérdida de humedad. Todo esto se realizó bajo estrictas condiciones de asepsia, junto al mechero y dentro de una campana de luz ultravioleta, utilizando pinzas estériles. Las cámaras húmedas fueron incubadas a 27°C durante 3 semanas en condiciones de luz y oscuridad.

Una vez concluido el tiempo de incubación, los cuadros de papel filtro se sacaron de las cámaras húmedas, eliminándose los discos de medio y el micelio desarrollado con un pincel; posteriormente, se sometieron nuevamente a secado en estufa a 105°C durante 18 horas; por último se pasaron en balanza analítica para así obtener el peso final (Pf).

Se tomaron datos si los papeles presentaron algún tipo de manchado. Se hicieron tres repeticiones para cada cepa, así como también para el testigo, al cual se le aplicaron círculos del medio de cultivo sin el hongo.

La diferencia de peso inicial (Pi) y el Peso final (Pf) entre el peso inicial (Pi) por cien, representa el % de pérdida de peso:

$$\% \text{ de pérdida de peso} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

4.4. Prueba del efecto del propionato de sodio como fungicida.

Se utilizaron dos técnicas, una en medio de cultivo sólido y se evaluó el diámetro de la colonia, y otra en medio de cultivo líquido, evaluando el % de germinación de esporas, ambos con respecto al tiempo.

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

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

según Mc Callan (1974); Sharvelle (1969) y Sharp (1978). El propionato de sodio se adquirió a granel en la droguería "Cosmopolita" en el Distrito Federal.

El primer paso, fue vigorizar las cepas aisladas en EMA, una vez que los cultivos estuvieron maduros, se procedió a efectuar estos experimentos.

4.4.1. Diámetro de la colonia en medio de cultivo sólido. Se siguió la técnica propuesta por Sharp (1978) y Vargas et al. (1988). En las cajas de EMA con las cepas puras, se cortaron pequeños círculos con un sacabocado de 9 mm de diámetro; que fueron transferidos al centro de cajas con EMA más la concentración del fungicida, incubándose a 27°C durante 22 días. En la base de cada caja, se marcaron dos ejes perpendiculares para medir el diámetro de la colonia durante su crecimiento. Las mediciones se efectuaron cada dos a tres días. Para cada concentración se realizaron tres repeticiones, incluyendo el testigo; de tal forma que para ca da cepa se trabajó con un total de 18 cajas.

Al término del experimento, se realizaron gráficas de diámetro de la colonia contra tiempo para cada concentración de propionato de sodio.

4.4.2. Germinación de esporas en medio de cultivo líquido con propionato de sodio. 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 des tilada estéril, posteriormente se hizo un ligero raspado con el asa de siembra, para obtener las esporas, se decantó y se filtró esta solución; se procedió ha - hacer soluciones valoradas de esporas con ayuda de un hematócitómetro; se ajustaron a 50,000 esporas por mililitro. Se utilizaron frascos ampollita a los cua-

les se les agregó 1 ml de la solución valorada de esporas y 1 ml de la solución del fungicida en EMA (se calculó el doble para compensar la dilución de la concentración con el agua de la solución de esporas); se añadió extracto de malta al 1% al testigo se le agregó agua sin propionato de sodio.

Esto se hizo por triplicado para cada concentración, en condiciones asépticas. Se incubaron durante 3 días a 27°C. Se tomaron de cada frasco alícuotas de 0.1 ml para las lecturas de la germinación diariamente con ayuda del hematocitómetro; contando esporas germinadas y no germinadas, obteniendo así 3 lecturas - diarias durante tres días, es decir, un total de 9 lecturas por concentración por cada cepa. Se consideraron como esporas germinadas a aquellas que presentaron tu bos de germinación.

Se realizaron gráficas del % de germinación contra el tiempo, para cada - concentración del fungicida.

4.4.3. Análisis de datos. Tanto para el diámetro de la colonia como para la germinación de esporas, se compararon los diferentes tratamientos experimentales - (concentración del fungicida), para lo cual se utilizó la prueba paramétrica ANAVA ($\alpha = 0.05\%$) para un diseño completamente aleatorio comparando con valores de F de Fisher (Daniel, 1984; Steel y Torrie, 1988) .

5. HISTORIA, POSICION TAXONOMICA Y DESCRIPCION DEL GENERO

Aspergillus

5.1. Historia.

Micheli (1729), fue el primero en distinguir los conidióforos y cabezas conidiales. Notó que las cadenas de esporas o columnas radiales provenían de una estructura central formando un patrón que semeja un "aspergillum" (hisopo, aspersorio), de aquí aplicó el nombre de Aspergillus. El describió a estos hongos en frases latinas, por ejemplo, Aspergillus capitatus, Capítulo glauco para una forma verde glauca; Capítulo pullo para algunos miembros del grupo A. niger, etc.

Persoon (1797, 1801) ubicó a los hongos de este género, junto con Monilia, ya que produce esporas en cadenas, no tomó en cuenta el origen de ellas. Micheli no estuvo de acuerdo con Persoon, basándose en que el origen de las cadenas de esporas era de una estructura que las originaba, a la que le denominó "cabeza" (capítulo).

La correcta interpretación de la estructura de la cabeza conidial apareció primero en el trabajo de Corda quien en 1828 publicó estudios e ilustraciones del material fresco.

Montagne (1856) mencionó que ninguna de las descripciones hechas por Corda (1828) fueron identificables.

De Bary et al. (1850), realizaron los primeros cultivos de este género en el laboratorio, entre ellos reconocieron los cleistotecios de Eurotium herbariorum especie descrita por Link; y las cabezas conidiales de Aspergillus glaucus.

En la época de 1860-1880 varios autores europeos encontraron cepas productoras de ácidos orgánicos y productos farmacéuticos (Raulin, 1863; Bainier, 1880).

La primera monografía del género fué realizada por los alemanes Wehmer y Ha nover en 1901.

En 1910, Thom y sus colaboradores publicaron una serie de informes de diferentes grupos del género, los cuales tuvieron importancia en la microbiología de los alimentos, hasta culminar en 1926 con su monografía taxonómica "The Aspergilli" (Thom y Church, 1926). Desde Micheli hasta este entonces, la bibliografía

acumulada sobre el tema, era enorme.

Posteriormente, el grupo de investigadores a cargo de De Bary, empezó a estudiar hongos en cultivos comparativamente, incrementando así el número de publicaciones. En 1929-1930, Tamiya y Morita recopilaron bibliografía referente a Aspergillus en su "Bibliographie von Aspergillus" 1729 bis, 1928; fueron alrededor de 2424 artículos. Un análisis matemático de esta literatura lo hizo Tayamita (1931), mencionó que 71 títulos aparecieron en los 125 años anteriores a la publicación de Debarry en 1854; en los siguientes 37 años aparecieron 309 escritos. Entre 1891 a 1928 se escribieron 2000 documentos más; este período representó el inicio de estudios del género en cultivos, lo cual marcó el principio de investigaciones fisiológicas y bioquímicas; las cuales continuaron reportándose progresivamente en una tasa elevada.

Thom y Church (1926) en su obra "The Aspergillus" hacen una recopilación bibliográfica sobre el género; hasta entonces, se registraban alrededor de 350 especies; ellos aceptaron solamente 69, consideradas en 11 grupos.

Neill (1939), redujo drásticamente el número de especies reconociendo sólo aquellas más conocidas, enfatizando en detalles de la cabeza y formación de esporas. Smith (1938), simplificó las descripciones e introdujo muchas fotomicrografías; él enfatizó en el color y la forma de las cabezas conidiales.

En la década de 1940, el género fue estudiado intensivamente en muchos laboratorios de varios países; se detectó su importancia industrial como productor de ácidos orgánicos; la participación en enfermedades humanas y de animales; su papel en el proceso de descomposición del suelo; así como también su relevancia en estudios fisiológicos para detectar vías metabólicas en microorganismos.

Debido a estos sucesos, se creó la necesidad de hacer una revisión del género más actualizada, que comprendiera todas las especies descritas hasta ese momento. El problema ocasionado por hongos en el deterioro de equipo y material en la II Guerra Mundial agudizó esta necesidad; hasta que en 1945, Thom y Raper, publicaron "A Manual of the Aspergilli", en esta obra presentaron 80 especies y 10 variedades reunidas en 14 grupos, la mayoría de ellas fueron descritas a partir de cultivos puros en el laboratorio, incubados en iguales condiciones.

Posteriormente en 1965, Raper y Fennell publican una monografía más actualizada, donde incluyen 132 especies y 18 variedades.

En la última década se han agregado, más de 90 taxa, de las cuales solamente

te 34 han sido aceptadas por la C.B.S. (Domsch et al., 1980).

5.2. Posición taxonómica de Aspergillus.

Existe una confusión considerable en la nomenclatura aplicada a los miembros de la forma-género Aspergillus; esto debido a la presencia de estado ascospórico en algunas de sus especies. Originalmente el nombre fue establecido por Micheli (1729) al estado sexual de ciertas especies comunes. Posteriormente, Link (1809) estableció el nombre de A. glaucus para las cabezas conidiales de un hongo encontrado en especímenes de herbario; aplicando el nombre de Eurotium herbariorum a los cleistotecios amarillos formados por el mismo hongo. El origen común de las estructuras por las cuales se aplicaron estos nombres fue demostrado claramente por De Bary (1854).

Thom y Church (1926) y Thom y Raper (1945), establecieron que el nombre genérico de Aspergillus debe ser aplicado, sin tomar en cuenta si presenta o no el estado ascospórico. Esta opinión está basada en que el hallazgo y descripción del estado sexual completa la caracterización de un hongo que es conocido comúnmente y las pocas especies que presentan estado sexual serían separadas de aquellas que no lo presentan.

El hecho de aplicar el nombre conidial (Aspergillus) a aquellas especies con o sin ascocarpos (Raper y Thom, 1944; Raper, 1957; Raper y Fennell, 1965), implica que todas las formas con estados conidiales similares, están relacionadas cercanamente sin tomar en cuenta las diferencias morfológicas en estado sexual.

Fisher en 1897, lo ubicó dentro de la Clase Ascomycetes, Orden Plectascineae, Familia Aspergillaceae; Lindau (1900) lo propone dentro de la Clase Fungi Imperfecti, Orden Hyphomycetes, Familia Mucedinaceae, Sufamilia Aspergillae; Bessey en 1950, propone el estado sexual en la Clase Ascomycetes, Orden Aspergillales (Plectascales), Familia Aspergillaceae Género Aspergillus (Eurotium), la fase conidial la ubica en la clase Fungi Imperfecti, Orden Moniliales (Hyphomycetes), Familia Moniliaceae, Género Aspergillus; Raper y Fennell (1965) proponen la siguiente clasificación: Clase-Forma Deuteromycetes, Orden-Forma Moniliales, Familia-Forma Moniliaceae, Género-Forma Aspergillus; Subramanian (1972) ha citado 9 géneros para el estado sexual de Aspergillus, en ellas se incluyen Sclerotium, el estado sexual de A. athecus; Eurotium de A. glaucus; Emericella de A. nidulans;

Fenellia de A. flavipes; Neosartoria de A. fumigatus. Ulloa y Hanlin (1978), lo ubican en la Subdivisión Deuteromycotina, Clase Hyphomycetes, Orden Moniliales, Familia Moniliaceae, Género Aspergillus; Alexopoulos y Mims (1979) lo ubican en la Subdivisión Ascomycotina, Clase Ascomycetes, Subclase Plectomycetidae; Familia Eurotiaceae, Género-Forma Aspergillus; Webster (1980) lo menciona en la Subdivisión Ascomycotina, Clase Plectomycetes, Familia Eurotiaceae, Género-Forma Aspergillus.

5.3. Descripción del género Aspergillus Mich. Fr.

Aspergillus Micheli. Nova Plantarum Genera, p. 212 Lámina 51, 1729.

Colonias de crecimiento rápido, algunas especies son lentas en su desarrollo (A. versicolor); de colores variados; verde amarillo, blanco, negro, pardo, etc.; textura flocosa o aterciopelada; con zonación presente o ausente; con estriaciones o sin ellas; bordes enteros o lobulados, delgados o gruesos.

Micelio vegetativo consistiendo de hifas septadas ramificadas, incoloras, a coloreadas, con tonos brillantes, o en algunas formas tornándose de color café o de otros tonos en áreas localizadas.

Aparatos conidiales desarrollados en conidióforos y cabezas especializadas, alargados; células hifales (células del pie) de pared gruesa, produciendo conidióforos en ramas perpendiculares a la célula del pie y usualmente en la superficie del sustrato; conidióforos septados o aseptados, usualmente alargados a - turbinados en la punta; vesículas elípticas, hemisféricas o globosas; naciendo en ellas células fértiles o fiálides paralelas y en grupos terminales, o radiadas en toda la superficie, fiálides en una serie o doble, en cada mótula nacen en su ápice dos o varias fiálides; conidios variando profundamente el color, tamaño, forma, originando cadenas basipetales no ramificadas de esporas, arregladas en las cabezas conidiales, dando éstas una apariencia globosa, radiada o columnar.

Ascocarpos encontrados en ciertos grupos solamente; no se conocen en muchas especies, son cleistotecios, usualmente de pared delgada, produciendo ascas y ascosporas en pocas semanas, aunque algunas veces requieren meses de maduración.

Estructuras de resistencia llamadas esclerocios, se forman regularmente en

algunas especies, ocasionalmente en otras, pero ausentes en la mayoría; globosas a subglobosas, compuestas de células de pared gruesa y de formas polihédricas.

Ecología. El género es cosmopolita y presenta ubicuidad en los substratos.

La mayoría de las especies crecen bien a 27°C, algunas requieren de altas temperaturas constituyendo verdaderas especies termófilas, ya que necesitan temperaturas de 37°C o quizá más.

Aunque es cosmopolita, se le encuentra frecuentemente en zonas templadas y tropicales. Se le ha aislado de semillas, de suelo, de papel, textiles, madera, material y equipo fotográfico, equipo automotivo, pinturas, lana, caucho, cuero, algodón, equipo y material de guerra, del aire, de plantas, de granos almacenados, de harinas de maíz y de trigo, de alimentos en procesos de descomposición, de micosis humanas y de animales, de polvo de las casas, etc.

6. DESCRIPCION DE LOS GRUPOS Y ESPECIES DETERMINADAS

6.1. Grupo Aspergillus fumigatus.

Colonias aterciopeladas, con coloraciones verdes generalmente. Fructificaciones asexuales pequeñas.

Cabezas conidiales columnares, otras formas son ocasionales; en tonos verdes, de verde azul brillante a verde oscuro.

Conidióforos cortos, de pared lisa; coloreados en tonalidades verdes, particularmente en la zona apical.

Vesícula en forma de frasco; fértil en la mitad o tres cuartas partes de su superficie, comúnmente mostrando una coloración verdosa; en posición erecta o inclinada con respecto al conidióforo.

Uniseriado estrictamente, fiálides agrupadas, frecuentemente concoloras con las vesículas.

Conidiosporas globosas a subglobosas, raramente elípticas, equinuladas a delicadamente rugosas.

Cleistotecios presentes en algunas especies; de color crema cuando jóvenes, amarillo ante o de color naranja con la edad.

Ascosporas incoloras, con crestas ecuatoriales y con superficies convexas diversamente ornamentadas.

Se divide en dos series de acuerdo a la presencia de su estado ascospórico, la serie A. fumigatus presenta los hongos asexuales y la serie A. fischeri las especies con ascocarpos.

6.1.1. Aspergillus brevipes Smith

Brit. Mycol. Soc. Trans. 35(4):241-242, 1952. *

Lámina 10.

Colonias de color verde musgo en Czapeck; en EMA verde amarillento; en la parte inversa color café amarillo rosado en Czapeck, en EMA amarillento; micelio en ambos medios de cultivo blanquecino, escaso y sumergido en el substrato; se extiende 2 a 3 mm o inclusive 1 cm más allá de la zona de esporulación; colonia aterciopelada, pocas veces flocosa, estriada radialmente, con el margen lobulado

y poco atenuado a grueso; exudado y olor ausentes. Tiene crecimiento lento, en EMA alcanza su máximo diámetro (90 μm \pm 0.5 μm) entre el undécimo y vigésimo día de incubación (dependiendo de la cepa), a 27°C.

Cabezas conidiales medianas a pequeñas; de color verde musgo en Czapeck y verde amarillo en EMA; profundamente columnares, algunas radiales escasas cuando jóvenes. De 30-35 μm de diámetro.

Conidióforos abundantes, de mediana longitud, de formación rápida tanto en CZA como en EMA; algunos sinuosos; de color verde café que va aumentando hacia la vesícula o disminuyendo hacia la base hasta hacerse hialino; de paredes lisas y ligeramente anchas; de 0.65 μm o menores de ancho. De 78.2-153 X 5.1-6.6 (8.5) μm .

Vesícula variable en forma, desde la predominante que es piriforme hasta globosa o clavada ligeramente; erecta, aunque algunas veces inclinada; de color café verde en ambos medios de cultivo; lisa; fértil los 2/3 apicales a la $\frac{1}{2}$. De (10.4) 13-19.5 X (10.4) 11.7-19.5 μm .

Estrictamente uniseriado, fiálides de abundancia regular a escasas; verde claras; en forma de botella. De 5.2-6.5 X (1.3) 1.9-2.6 μm .

Conidiosporas en masa verde musgo, con luz transmitida verde claro; globosas a elípticas; equinuladas levemente. De 2.6-3.25 X 1.95-2.6 μm .

Material estudiado. Robledo 270, aislado de un documento del siglo XVII de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación en Celulosa Agar; Robledo 450, aislado de un documento del siglo XIX del lugar mencionado en Celulosa Agar; Robledo 570, aislado de un documento del siglo XIX del mismo archivo en Celulosa Agar.

Discusión. Esta especie se registra por primera vez para la microbiota mexicana, y como deteriorante de papel. Esta cepa se puede considerar como una especie intermedia entre A. duricaulis Raper y Fennell y A. brevipes, ya que comparte algunas características macroscópicas de la colonia con A. duricaulis pero las características microscópicas definitivamente concuerdan con A. brevipes; se puede diferenciar la primera, porque los conidióforos de ésta, son más delgados (3.5-5.5 μm), sus paredes son más gruesas (1-1.5 μm) y presentan septos; otra diferencia importante es la ornamentación de esporas, que en A. duricaulis son profundamente equinuladas y en A. brevipes lo son levemente. Una característica que los autores Raper y Fennell (1965) no mencionan para esta especie es la pre-

sencia de esporas elípticas y globosas, ya que solamente mencionan las segundas. La cepa Robledo 570, comparte características con las cepas 270 y 450, a diferencia de la coloración de la colonia en EMA que es verde; los conidióforos son café amarillo canela; la vesícula es de color café amarillo anaranjada; las fiáldes son de color café canela a café verde y las esporas son verde café.

6.2. Grupo Aspergillus niger.

Colonias aterciopeladas o afelpadas, de color negro con diversos tonos: negro carbón, negro rojizo, negro café; o colores café olivo. Fructificaciones asexuales grandes.

Cabezas conidiales grandes, globosas a radiales, en varios tonos de negro, negro verdoso, negro café, negro púrpura o negro carbón.

Conidióforos largos, abundantes, de pared lisa, algunas especies con paredes levemente granulares o puntadas; hialinos a color café, generalmente de paredes gruesas, frágiles, se rompen longitudinalmente cuando se presionan.

Vesículas globosas a subglobosas, hialinas o levemente coloreadas, en tonos café oscuro, fértiles en toda su superficie.

Biseriado o uniseriado dependiendo de la especie; fiáldes y métulas generalmente coloreadas.

Conidiosporas globosas a subglobosas, elípticas, o aplanadas horizontalmente lisas, equinuladas, verrucosas o con estriaciones longitudinales conspicuas.

Esclerocios globosos a subglobosos, de color crema cuando jóvenes, posteriormente de color ante rosado, o ante grisáceo café.

6.2.1. Aspergillus foetidus (Naka.) Thom y Raper

A Manual of the Aspergilli, pp. 219-220, 1945.

Fig. 61 C.

Colonias en CZA color negro café oscuro; en EMA negro café verde; en la parte inversa blanco crema en CZA, blanco amarillo en EMA; micelio blanco a ligeramente amarillo, escaso, pegado al substrato, que se extiende de 2 a 3 mm más allá de la zona de esporulación; colonia afelpada o aterciopelada, con borde ate

nuado, de lobulado a entero. Llega a su máximo diámetro ($90 \mu\text{m} \pm 0.5 \mu\text{m}$) diez días después de incubarlo a 27°C en EMA.

Cabezas conidiales grandes a medianas, de color café negro con tonos verdosos en CZA; de color café verde en EMA; globosas en CZA y radiales en EMA, estas últimas formando paquetes conidiales divergentes en número de 5 a más abundantes son cortos y anchos. De $61.2-91.8 \times 78.2-108.8$ (163.2) μm .

Conidióforos abundantes, largos, que se forman rápidamente en ambos medios de cultivo; de color café claro en la parte apical, que va disminuyendo hasta volverse hialino en la base; lisos, de paredes gruesas, de $1.3-2.6 \mu\text{m}$ de ancho. De $1936-2940 \times 11.9-17 \mu\text{m}$.

Vesículas grandes, subglobosas, de color café amarillo claro, lisas. De $32.5-52 \times 28.6-45.5 \mu\text{m}$. Con toda la superficie fértil.

Biseriado estrictamente; mêtulas y fiálides abundantes, de color café claro. De $13-16.9 \times 1.3-1.95 \mu\text{m}$.

Conidiosporas en masa de color café obscuro, con luz transmitida de color café claro a café obscuro; elípticas a globosas, deprimidas de un lado, es decir, convexas de un lado y cóncavas del otro; de lisas a rugosas, que dan la apariencia de estriaciones longitudinales o transversales. Algunas ocasiones presentan granulaciones. De $3.25-3.9 \times 2.6-3.25$ (3.9) μm .

Material estudiado. Robledo 500, aislado de un documento del siglo XIX, de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación en Celulosa Agar.

Discusión. Esta especie se cita por primera vez para México, y en el mundo como deteriorante de documentos. Las cabezas conidiales de esta cepa se presentaron más pequeñas ($163.2 \mu\text{m}$ máximo) que las mencionadas por Raper y Fennell ($200-300 \mu\text{m}$), también los conidióforos de esta cepa fueron más cortos.

6.2.2. Aspergillus phoenicis (Cda.) Thom

The Aspergilli, p. 175., 1926.

A Manual of the Aspergilli, pp. 222-243, 1945.

Figs. 61 E, 62 B.

Colonias en CZA negro carbón obscuro; en EMA negro café; en la parte inferior

son blanco amarillas; en EMA son amarillas o incoloras; micelio blanco, escaso, pegado al substrato, más abundante al centro de la colonia, en EMA el color es amarillo; borde de la colonia grueso y de entero a irregular. Llega a su máximo diámetro (90 mm \pm 0.5 mm) a los 8 días de incubación, a 27°C.

Cabezas conidiales grandes, abundantes, negro carbón en CZA; globosas; en EMA son de color verde oscuro, profundamente radiales, formando paquetes conidiales divergentes, de 7 a 8, éstos son largos y delgados. De 74.8-129.2 X 71.4-136 μ m.

Conidióforos abundantes, largos, de formación rápida tanto en CZA como en EMA; de color café claro en la parte apical que va disminuyendo hacia la base hasta hacerse hialino, lisos con paredes gruesas, de 1.3 μ m de ancho. De 1120-2520 X 10.2-17 μ m.

Vesícula subglobosa, ocasionalmente constreñida a los lados, de color café claro a hialino; presenta ligeras cicatrices cuando los conidios se han desprendido; fértil en toda su superficie. De 66-119 X 95.2-136 μ m.

Biseriado estrictamente, mêtulas y fiálides abundantes, de color café claro. De 9.1-10.4 X 1.3 μ m.

Conidiosporas en masa de color café oscuro a negro rojizo; elípticas; equinuladas ligeramente, con estrías y surcos longitudinales; las espinas son de base ancha. De 3.25-3.9 X 2.6-3.9 μ m.

Material estudiado. Robledo 730, aislado de un documento del siglo XX de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación en Celulosa - Agar.

Discusión. Esta especie se cita por primera vez para México y como hongo deteriorante de papel a nivel mundial. Las cabezas conidiales son más grandes en la descripción de Raper y Fennell (1965) (300-500-800-1200 μ m) que las encontradas en el presente material (máximo 250 μ m), lo contrario ocurrió con las vesículas, que en el material estudiado fueron mayores (95.2-136 μ m) que las propuestas por los autores (45-85 μ m) en cuanto a diámetro se refiere. Por último, los esclerocios que se han observado en esta especie no se presentaron en el ejemplar estudiado.

6.2.3. Aspergillus pulverulentus (McAlpine) Thom.

J. Agr. Research 7:10-11, 1915.

The Aspergilli, p. 179, 1926.

Colonias en CZA color negro carbón oscuro; en EMA negro café; en la parte inversa en CZA son blanco cremoso y en EMA amarillo café; micelio blanco, escaso, pegado al substrato y algodonoso al centro de la colonia, en EMA es abundante y algodonoso. El micelio no se desarrolla más allá de la zona de esporulación; colonia aterciopelada o afelpada; con bordes enteros a ligeramente lobulados y atenuados. De crecimiento lento, llega a su máximo diámetro (67.33 mm \pm 0.05 mm) 20 días después de ser incubado a 27°C.

Cabezas conidiales grandes; negras; abundantes; radiales a globosas ligeramente en CZA; en EMA son profundamente radiales, con paquetes conidiales divergentes, cortos y anchos, en número de cinco o más; algunas cabezuelas son globosas. De 78.2-153 X 85-153 μ m.

Conidióforos abundantes y largos, que se forman rápidamente en ambos medios de cultivo; hialinos y algunos en la parte apical de color café claro muy tenue, lisos de paredes gruesas, de 1.3-2.0 μ m de ancho. De 1820-3290 X 8.5-13.6 μ m.

Vesícula globosa a subglobosa, algunas constreñidas en los lados; hialina a color café claro; quedan marcadas las cicatrices al desprenderse los conidios; fértil en toda su superficie. De 26-45.5 X (26)-30-37.7 μ m.

Biseriado estrictamente, métulas y filíides abundantes; hialinas a color café claro (concoloras con las esporas); De 6.5-7.8 X 1.3-1.95 μ m.

Conidiosporas en masa de color café oscuro a negras; con luz transmitida de color café oscuro a ligeramente claro; globosas, equinuladas. De 2.6-3.25 X 2.6 0- 3.25 μ m.

Material estudiado. Robledo 300, aislado de un documento del siglo XVI, de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación en Celulosa Agar.

Discusión. Esta especie se cita por primera vez para México y a nivel mundial como cepa deteriorante de papel. En el presente material se observaron cabezas conidiales más pequeñas (78.2-153 X 85-153 μ m) de las registradas por

Raper y Fennell (1965) (600-700 μm) en cuanto a diámetro, es muy probable que esto se deba al substrato en que fue aislada; lo mismo ocurrió con las vesículas que presentaron un diámetro de 26-45.5 μm y lo citan de 70-80 μm ; así como también el largo de los conidióforos, donde Raper y Fennell (1965) lo citan de 7-8 mm y en el ejemplar estudiado fue de 3 mm máximo.

6.2.4. Aspergillus tubingensis (Shöber) Mosseray

La Cellule 43: 245-247, 1934.

Lámina 3, Figs. 58-60.

Colonias en CZA de color café (pardo) a café negro oscuro; en EMA son de color verde café; en la parte inversa son ligeramente blancas en CZA y negras en EMA; micelio blanco, escaso a abundante, pegado al substrato; que se extiende 2 a 3 mm más allá de la zona de esporulación; colonia con estrías longitudinales; borde entero y grueso, con exudado abundante de color negro. Alcanza su máximo diámetro (90 mm \pm 0.5 mm) el undécimo día de ser incubado a 27°C en EMA.

Cabezas conidiales grandes; negro café; radiales, formando 3 paquetes o más largos y delgados de conidios, son divergentes; las hay también globosas profundamente, ambas son muy abundantes tanto en EMA como CZA. De 78.2-204 X 78.2-136 μm .

Conidióforos abundantes, largos, que se forman con rapidez en ambos medios de cultivo; de color café oscuro que va disminuyendo hacia la base donde son hialinos, algunos son hialinos por completo; lisos, de paredes poco gruesas de 1.3 μm de ancho. De 560-3150 X 10.2-22.1 μm .

Vesícula globosa, algunas con invaginaciones en su contorno; de color café; fértil en toda su superficie; lisa. De 13-52 X 13-52 μm .

Eiseriado predominante, aunque puede ser uniseriado cuando joven; métulas y filíides abundantes; de color café claro, más claro que las esporas. De 13-19.5 X 1.3-2.6 μm .

Conidiosporas en masa de color café oscuro con tonalidades rojizas; con luz transmitida de color café claro a café oscuro con tonos rojizos; globosas, deprimidas de un lado, es decir, cóncavas de un lado y convexas del otro, ornamentación de lisa a verrucosa. De 2.6-3.9 X 2.6-3.9 μm . En ocasiones

presentan líneas longitudinales o transversales a manera de estrías.

Esclerocios presentes en EMA, se forman en los bordes de la colonia; cuando ya los cultivos están viejos; son globosos a ovoides, duros, de color blanco, café o crema, con micelio algodonoso rodeándolos. De 2-3 mm de diámetro.

Material estudiado. Robledo 930, aislado de un documento del siglo XVIII de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación, en Celulosa Agar.

Discusión. Esta especie se cita por primera vez para la micoflora mexicana; así como también con hongo deteriorante de papel. Mencionan Raper y Fennell (1965) que esta especie carece de exudado, lo que no concuerda con el presente material; las cabezas conidiales de éste fueron más pequeñas (78.2-204 X 78.2-136 μm) que las reportadas por los autores (200-300 μm); las fiálides a su vez fueron más delgadas que las citadas por los especialistas. Esta especie se caracteriza por el color de la colonia, su crecimiento, la coloración de los conidióforos y la presencia de esclerocios.

6.3. Grupo Aspergillus flavus.

Colonias aterciopeladas o afelpadas, de colores verde amarillo, café olivó a café. Fructificaciones asexuales grandes a medianas.

Cabezas conidiales variables, globosas, radiadas a columnares; de color verde amarillo, café olivo a café.

Conidióforos largos, abundantes, incoloros, generalmente rugosos, pero variando de lisos a profusamente rugosos.

Vesículas globosas a subglobosas en aquellas grandes, y clavadas o en forma de frasco en las pequeñas, fértil en toda su superficie.

Biseriado o uniseriado, con ambas condiciones en la misma cepa o inclusive en la misma vesícula; fiálides y métulas de hialinas a coloreadas de verde.

Conidios globosos a subglobosos, rugosos al madurar, muestran una variación considerable en tamaño (dimensiones) de cepa a cepa; pueden ser también elípticas, lisas o delicadamente rugosas.

Esclerocios de color café rojizo a café púrpura, negros en la madurez; globosos a subglobosos o verticalmente elongados.

6.3.1. Aspegillus flavus Link.

Observaciones, p. 16., 1824; Species Plantarum VI, p. 66, 1824.

Las colonias de esta especie en CZA presentan color verde amarillo, verde brillante a verde oscuro con tonalidades café, en EMA verde amarillo; en la parte inversa en CZA son de color crema a amarillo; en EMA incoloras a crema; micelio blanco, escaso y poco apreciable en ambos medios de cultivo; colonia afelpada o aterciopelada tanto en CZA como en EMA; bordes gruesos y lobulados ligeramente; con zonación presente o ausente en EMA; exudado ausente. Su máximo diámetro (90 mm \pm 0.05 mm) en EMA a 27°C llega a los diez días de incubación.

Cabezas conidiales pequeñas a medianas; radiales, globosas a columnares; de tonalidades diversas, en CZA verde amarillo limón, verde brillante, verde musgo; en EMA verde amarillo, verde jade; cuando jóvenes son radiales con paquetes de conidios divergentes, al madurar son columnares en CZA, las primeras son las que abundan; en EMA se presentan columnares y radiales en igual proporción. De 250-350 X 50 μ m.

Conidióforos de regulares a abundantes; de longitud media; se forman rápidamente en ambos medios de cultivo; hialinos; espinosos en 3/4 partes del conidióforo y 1/4 en la parte basal casi lisos; de pared delgada, menor de 1.3 μ m de ancho. De 630-910 X 6.8-17 μ m.

Vesícula globosa a subglobosa; hialina a verde amarillo claro; lisa a ligeramente rugosa; fértil toda la superficie. De 40.8-61.2 (74.8) X 37.4-57.8 (71.4) μ m.

Biseriado a uniseriado, fiálides hialinas a verde amarillo claro; en forma de botella, más cortas que las métulas. Fiálides primarias 14.3-19.5 X 3.9-6.5 μ m; métula de 9.1-9.5 X 5.2-6.5 μ m; fiálide secundaria de 6.5-11.7 X 3.9-5.2 μ m.

Conidiosporas en masa color verde café amarillo oscuro; con luz transmitida verde café claro a hialinas; globosas, subglobosas a ovoides; equinuladas. De 3.9-5.2 X 3.3-4.55 μ m.

Material estudiado. Robledo 810, aislado de un documento del siglo XX de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación, en Celulosa Agar y en cámara húmeda.

Discusión. Esta especie ya ha sido citada para México, pero aislada a partir de granos almacenados (García-Aguirre, 1985; García-Aguirre y Martínez Flores, 1985), en papeles deteriorados del AGN (Robledo y Moretti, 1986; De la Cruz y Robledo, 1988), así como también del aire del AGN (Moretti y Robledo, 1988). Otros autores la citan en suelo de nogal en México (Samaniego et al., 1988) y en rizosfera de espina (Heredia y Ulloa, 1982). Los conidióforos de esta cepa son más cortos ($630-910 \times 6.8-17 \mu\text{m}$) que los citados por Raper y Fennell (1965) ($2-2.5 \times 10-20 \mu\text{m}$); las fiálides primarias son más grandes ($14.3-19.5 \times 3.9-6.5 \mu\text{m}$) que las reportadas para esta especie ($6-10 \times 4-5.5 \mu\text{m}$) aunque Raper y Fennell (1965), mencionan que pueden ser en algunas ocasiones mayores de 15 a $16 \mu\text{m}$ de largo; las fiálides secundarias y las métulas suelen ser más angostas en esta cepa que en la citada por los autores.

6.3.2. Aspergillus flavus var. columnaris Raper y Fennell

The Genus Aspergillus, 1965.

Colonias en CZA verde amarillo a verde brillante a verde café con tonalidades amarillas, en EMA es verde claro a verde oscuro; en la parte inversa en CZA de color crema amarillo, en EMA de color crema a incoloro; micelio blanco, escaso, poco apreciable en ambos medios de cultivo; colonia afelpada a aterciopelada tanto en CZA como en EMA; con zonación presente o ausente en EMA; exudado ausente; borde grueso y lbulado ligeramente. Llega a su máximo diámetro ($90 \text{ mm} \pm 0.05 \text{ mm}$) en EMA a 27°C a los ocho días.

Cabezas conidiales pequeñas a medianas; de tonalidades variadas en verde, en CZA se presentan dos tonos bien definidos verde café amarillo y verde brillante, en EMA verde a verde amarillo; son radiales, globosas a columnares, en CZA las cabezas conidiales son columnares cuando jóvenes y radiales a globosas ya maduras (éstas abundan), en EMA son columnares principalmente, las radiales y globosas son muy escasas. De $84-210 \times 125-252 \mu\text{m}$.

Conidióforos de abundancia regular; de longitud media; su formación es rápida tanto en CZA como en EMA; hialinos; rugosos a ligeramente espinosos en $1/4$ de la parte superior, es decir, junto a la vesícula, $3/4$ son lisos; de paredes gruesas, de $1.3 \mu\text{m}$ de ancho. De $378-700$ (1008) $\times 6.5-14.3 \mu\text{m}$.

Vesícula globosa a subglobosa; hialina a verde claro; lisa a ligeramente

rugosa; con toda la superficie fértil, a 3/4 partes y 1/4 (basal) estéril. De 20.8-41.6 X 20.8-33.8 μm .

Biseriado o uniseriado, ocasionalmente se presentan ambas características en una misma vesícula; fiálides uniseriadas hialinas, métulas y fiálides verdes en las cabezuelas biseriadas; fiálides uniseriadas largas, en forma de botella; métulas alargadas; fiálides biseriadas más cortas que las métulas y en forma de botella. Fiálides primarias de 5.85-9.1 X 1.95-2.6 μm ; métulas de 10.4-14.3 X 2.6 μm y fiálides secundarias de 5.2-6.5 X 1.3-2.6 μm .

Conidiosporas en masa verde amarillo, con luz transmitida de verde claro a verde café amarillo; globosas, subglobosas a ovoides; equinuladas levemente. De 3.25-5.2 X 3.25-3.9 μm .

Esclerocios pequeños, que se forman en las colonias muy maduras; escasos, de aspecto blanco en el microscopio estereoscópico; de color café anaranjado a canela con luz transmitida; glotosos; solo se forman en CZA. De 0.5 mm.

Material estudiado. Robledo 100, aislado de un documento del siglo XVII de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación en Celulosa Agar.

Discusión. Esta variedad y especie se citan por primera vez para México y en documentos deteriorados. Se caracteriza por la presencia de cabezuelas columnares en EMA. En este material se observaron cabezuelas más pequeñas (84-210 X 125-252 μm) que las citadas por los autores Raper y Fennell (1965) (400-500 X 50-75 μm); las fiálides primarias de esta cepa fueron más anchas y largas (7-12 X 3.3-4.4 μm) que las del material estudiado (5.85-9.1 X 1.95-2.6 μm); se observó por primera vez la presencia de esclerocios en esta variedad.

6.3.3. Aspergillus oryzae (Ahlburg) Cohn

Janreber, schies. Ges. vaterl. Kultur 61:226, 1884.

Colonias en CZA de color verde pálido y en EMA verde amarillento; en la parte inversa son incoloras o de color café marillo a café anaranjado; micelio escaso, blanquecino, no se desarrolla más allá de la zona de esporulación en ambos medios de cultivo; colonias en CZA aterciopelada o afelpada, con bordes irregulares y delgados; en EMA es aterciopelada o afelpada, lobulada con bordes

gruesos y presenta clara zonación. Exudado y olor ausentes. En EMA llega a su máximo diámetro (80.66 ± 1.15 mm) a los 19 días de incubación a 27°C.

Cabezas conidiales de medianas a grandes; en CZA con diversas tonalidades y formas, las más jóvenes verde claro y columnares, las más maduras verde amarillo a completamente amarillo dorado y radiales, con paquetes conidiales divergentes, algunas verde musgo que presentan formas globosas y radiales, siendo más abundantes las segundas y presentando color amarillo dorado, las columnares de color verde. De 125-200 μ m de diámetro.

Conidióforos abundantes; de longitud mediana; de formación rápida; rectos; incoloros; equinulados profundamente, lisos en la base; pared ligeramente ancha, de 0.65-1.3 μ m. De (420) 658-980 X (8.5) 10.2-11.36 μ m.

Vesícula globosa a subglobosa; hialina a verde amarillo claro con tonalidades de color café; lisa; fértil en toda su superficie. De 26.0-48.1 X 26.0-45.5 μ m.

Estrictamente uniseriado; fiálides abundantes; concoloras con la vesícula; en forma de botella. De 5.2-13 X 3.25-5.2 μ m.

Conidiosporas en masa de color verde amarillo, con luz transmitida verde café claro; globosas, subglobosas a ovoides; de tamaños variables; equinuladas levemente. De 3.25-5.2 X 3.25-5.2 μ m.

Material estudiado. Robledo 510, aislada de un documento del siglo XIX de la galería 7, "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación; en Celulosa Agar.

Discusión. Se ha citado para México en semillas de maíz (García-Aguirre y Martínez-Flores, 1985), en el aire del AGN (Moretti y Robledo, 1988) y deteriorando pinturas (Moretti et al., 1988). Se registra por primera vez como hongo deteriorante de documentos antiguos en México. En esta cepa se encontraron conidióforos más cortos (658-980 μ m) de los reportados por los autores (2.5-5 mm) Raper y Fennell (1965); no se encontraron vesículas biseriadas, solamente uniseriadas, aunque los autores mencionan que en esta especie la presencia de fiálides y métulas es muy variable. Por último, cabe mencionar, que las esporas de la cepa estudiada son más pequeñas en longitud (3.25-5.2 X 3.25-3.2 μ m) que las citadas por los autores mencionados (4.5-7-8-10 μ m). Se hace necesario aclarar que Raper y Fennell (1965), mencionan que A. oryzae es una

especie sumamente variable, y algunas de sus características dependen de la cepa estudiada, indicando además que la cepa WB5004 muestra conidios pequeños con 4.5 μm de máximo diámetro, característica que se presentó en el material estudiado.

6.4. Grupo Aspergillus wentii.

Colonias afelpadas o aterciopeladas, de colores amarillo café o café. Fructificaciones asexuales grandes.

Cabezas conidiales globosas, radiadas a levemente columnares, de colores verde, verde amarillo o café.

Conidióforos largos, abundantes, con paredes lisas a profundamente rugosas de acuerdo con la especie o cepa, incoloros.

Vesícula globosa, subglobosa, piriforme o hemisférica, fértil en toda su superficie.

Biseriados o uniseriados, ambas condiciones pueden ocurrir en la misma vesícula.

Conidios amarillo o amarillo café, elípticos o cilíndricos en su formación; posteriormente globosos, subglobosos a ovoides en la madurez; de ornamentación levemente rugosa.

Formaciones compactas de hifas superficiales, semejando cleistotecios.

6.4.1. Aspergillus thomii Smith

Brit. Mycol. Soc. Trans. 34(1):17-22, 1951.

Colonias en CZA verde pálido a verde amarillo cuando joven, verde café a color café con la edad; en la parte inversa incoloras a color café amarillo; micelio abundante, blanco, floccoso, que se desarrolla unos 3 cm más allá de la zona de esporulación; colonia afelpada o aterciopelada, al centro ligeramente floccosa; con el margen ligeramente lobulado y atenuado, con escasa o leve zonación; exudado y olor inapreciables. Crecimiento no muy rápido, llega a su máximo diámetro (90 mm \pm 0.5 mm.) a los 15 días de incubación a 27°C en FMA.

Cabezas conidiales medianas a pequeñas, globosas y algunas columnares en la madurez, verde amarillo cuando jóvenes y de color café claro con la edad, abundantes. De 525-550 μm de diámetro.

Conidióforos abundantes, largos, ligeramente de formación rápida, rectos, incoloros, verrucosos a equinulados 3/4 partes de la vesícula hacia la base, lisos en la base; paredes con ondulaciones frecuentemente; gruesas, de $1.3 \mu\text{m}$ de diámetro. De 588-868 (1288) X $15.30-20.4 \mu\text{m}$.

Vesícula globosa a subglobosa, hialina, lisa o con leves granulaciones, fértil en toda su superficie o en 3/4 partes apicales. De (34) $40.8-51 \times 34-51 \mu\text{m}$.

Uniseriado predominante, ocasionalmente biseriado; fiálides abundantes, hialinas, digitiformes o en forma de botella. Fiálides primarias de $7.8-14.3 \times 1.95-3.25 \mu\text{m}$; fiálides secundarias de $3.9-9.1 \times 1.95-2.6 \mu\text{m}$.

Conidiosporas en masa de color café amarillo obscuro, con luz transmitida café claro, hialinas cuando jóvenes; globosas, subglobosas a ovoides; pequeñas o grandes; ornamentación variable, equinuladas, verrucosas y menos frecuente lisas. De $3.9-5.2 \times (3.2) 3.9-4.55 \mu\text{m}$.

Material estudiado. Robiedo 760, aislado de un documento deteriorado del siglo XX de la galería 7 "Archivos Incorporados" en Celulosa Agar.

Discusión. Esta especie se registra por primera vez para México, y como hongo deteriorante de documentos en el mundo. Se caracteriza principalmente por el color de la colonia y las conidiosporas. Las variantes que presente la cepa estudiada son pocas, entre ellas la presencia de vesículas uniseriadas predominantes, a diferencia de lo citado por Raper y Fennell (1965) donde las predominantes en CZA son biseriadas y en ENA uniseriadas. Esta especie puede ser confundida fácilmente con A. flavus, pero las diferencias principales entre ellas, son el color de la colonia, las características de las esporas y la presencia frecuente de vesículas biseriadas en A. flavus.

6.5. Grupo Aspergillus versicolor.

Colonias flocosas o aterciopeladas, de coloraciones diversas, verdes, blancas, rosadas, amarillas; de crecimiento lento. Fructificaciones asexuales medianas.

Cabezas conidiales medianas, variables en forma, radiales a levemente columnares, en tonos de verde, pero en algunas especies de colores verde y blanco.

Conidióforos variables, desde incoloros a definitivamente de color café; lisos generalmente a delicadamente rugosos, mostrando depósitos en la superficie de sus paredes, en otras especies son definitivamente rugosos.

Vesículas típicamente ovoides a elípticas, algunas globosas, en cabezas pequeñas frecuentemente turbinadas a espatuladas; fértil la mitad o tres cuartas partes de su superficie.

Biseriado estrictamente, fiálides y métulas abundantes, desde incoloras a color verde.

Esporas globosas a subglobosas, menos frecuentemente elípticas, comúnmente equinuladas.

Células de hülle presentes en algunas especies o cepas, la mayoría globosas a subglobosas.

En algunas especies se producen esclerocios en masas compactas de hifas modificadas.

6.5.1. Aspergillus speluneus Raper y Fennell.

The Genus Aspergillus, 1965.

Colonias en CZA de color rosado amarillento cuando jóvenes, posteriormente verde gris con tonos rosados; en EMA al centro rosado, en la parte media amarillo y enseguida verde, al final blanquecino; en la parte inversa de color café oscuro a café rojizo al centro de la colonia; hacia los bordes de color crema; micelio en CZA blanquecino, floccoso a aterciopelado; pegado o sumergido en el substrato, colonia difícil de romper o desprender con la aguja de disección; bordes lobulados y atenuados; con estrías presentes o ausentes; puede o no presentarse un exudado hialino; en EMA el micelio es blanco, escaso; la colonia es de apariencia aterciopelada, velutinosa a floccosa de acuerdo con la edad del cultivo; zonación presente en la partes finales de la colonia (hacia los bordes). Llega a su máximo diámetro (40.66 mm \pm 4.16 mm) en EMA a 27°C a los 28 días de incubación, por tanto, el crecimiento es muy lento.

Cabezas conidiales medianas; de diferentes tonalidades de verde en CZA, verde claro, verde amarillo, verde café; en EMA son muy variables en cuanto a coloración, las hay verdes, amarillas, de tonos brillantes a claros; de forma

globosa a radial, algunas formando paquetes conidiales divergentes, tanto en CZA como en EMA. De 30.6-68 X 27.2-51 μm .

Conidióforos de abundancia regular a abundantes; de mediana longitud; de formación rápida en ambos medios de cultivo; la coloración y ornamentación es variada de acuerdo con la maduración, que va desde hialinos y paredes lisas hasta color café y rugosas, con incrustaciones a manera de gotas de color café obscuro, tanto en EMA como en CZA; de paredes gruesas de 0.5-1.3 μm . de ancho. De 255-510 X 3.4-6.8 μm .

Vesícula variable en forma, predominando las ligeramente elongadas con la parte apical disminuida o atenuada y la base ancha, algunas ligeramente globosas que son las más escasas; de color variado, desde hialino hasta café; de lisas a rugosas; fértil casi en toda la superficie. De 10.4-14.3 X 6.5-16.7 μm .

Biseriado estrictamente; néculas y fiálides abundantes; de hialinas a verde oscuro con la edad, las néculas son cortas y anchas; las fiálides son largas y delgadas; de 2.6-4.55 X 2.6 μm y de 3.9-5.2 X 1.3 μm , respectivamente.

Conidiosporas en masa verde obscuro; con luz transmitida verde claro; globosas, equinuladas. De 1.56-2.6 X 1.95-2.6 μm .

Células de hülle escasas a abundantes; formando paquetes en la colonia que dan un aspecto de estructuras globosas blanquecinas (como principios de cleistotecio), algunas de forma ovoides a irregular, de paredes delgadas, pero la mayoría globosas de paredes gruesas, semejantes a las de A. nidulans. De 9.1-13 X 9.1-13 μm .

Material estudiado. Robledo 440, aislada de un documento del siglo XIX de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación, en San Luis Potosí.

Discusión. Esta especie se cita por primera vez para México, además de ser un nuevo registro en el mundo como hongo deteriorante de papel. Las cabezas conidiales que describen los autores (Raper y Fennell, 1965) son de mucho mayor longitud (200-300 μm) que las de esta cepa (30.6-68 μm), así como también la forma que predomina es globosa a radial y Raper y Fennell (1965) mencionan que es la columnar; a este respecto, los autores aclaran que esta especie es muy variable en cuanto a forma y tamaño de cabezuelas conidiales. Los conidióforos del material estudiado alcanzan mayores longitudes (255-510 μm) que las citadas

por los autores (300 μm), además mencionan que en CZA son lisos y en EMA presentan protuberancias e incrustamientos de color café, en el material estudiado estas características se presentaron en ambos medios de cultivo; las vesículas predominantes de la especie citada son de forma globosa y en el ejemplar estudiado lo fue la elongada. Las células de hülle no han sido observadas en la cepa tipo, pero en cotipos sí, en medios que contienen 1% de neopeptona y 2% de glucosa o en infusión de paja agar, teniendo un diámetro de 10-12 μm , dimensiones que concuerdan con la cepa estudiada.

6.6. Grupo Aspergillus nidulans.

Colonias aterciopeladas, de colores verde amarillo. Fructificaciones asexuales pequeñas.

Cabezas conidiales cortas, pequeñas, columnares profundamente, de color verde amarillo pero ocasionalmente verde azulado.

Conidióforos cortos, abundantes, de color café, de paredes lisas pero ocasionalmente muestran concreciones en la superficie, comúnmente sinuosos.

Vesículas hemiesféricas, o en forma de frasco, menos comúnmente globosas o aplanadas en los ápices. Fértiles solamente en las partes apicales; concoloras con el conidióforo.

Biseriados estrictos, filiales y néctulas escasas, concoloras con el conidióforo y la vesícula.

Conidiosporas globosas a equinuladas o rugulosas, menos frecuentemente subglobosas; la mayoría entre 2.5 a 4.0 μm de diámetro.

Cleistotecios presentes o ausentes, globosos, variables en tamaño (50-300-400 μm), generalmente cubiertos por una espesa masa de células de hülle.

Ascosporas en tonos rojo anaranjado a violeta azul, con crestas ecuatoriales; con las superficies convexas lisas a ornamentadas.

Células de hülle usualmente presentes, globosas a irregularmente citrifórmes, asociadas con los cleistotecios en especies ascospóricas.

6.6.1. Aspergillus nidulans (Eidam) Wint.

Rab. Krypt. Fl. 1(2):62, 1884.

Colonias en CZA de color verde amarillo cuando joven a verde, en la zona inversa de color café rojizo a púrpura; micelio blanquecino abundante al inicio del crecimiento, no va más allá de la zona de esporulación en ambos medios de cultivo; colonia en CZA aterciopelada, plana, con bordes irregulares a lobulados, delgados, con leve zonación y ligeras estriaciones ocasionalmente cuando joven; en EMA de color variable, de verde, verde brillante, verde amarillo a café verde grisáceo, que se presentan de acuerdo con la edad o condiciones del cultivo; en la parte inversa incoloro, rosado a café rojizo con la edad; colonia aterciopelada, plana a velutinosa y ocasionalmente fiocosa, con los bordes irregulares a lobulados que van desde planos hasta gruesos, ocasionalmente llega a presentar estriaciones. Abundantes cleistotecios tanto en CZA como en EMA después de diez días de incubación. Exudado y olor ausentes. En EMA alcanza su máximo diámetro (90 μm \pm 0.5 μm) entre los 19 y 25 días de incubación (dependiendo de la cepa) a 27°C.

Cabezas conidiales pequeñas; abundantes; en CZA son profundamente columnares; de color verde brillante a verde oscuro, inclusive verde amarillo limón. De 55-65 X 25-30 μm .

Conidióforos abundantes; pequeños; de formación rápida tanto en CZA como en EMA; sinuosos; lisos; de color café rojizo. De 34-136 X 3.4-6.8 μm .

Vesícula hemiesférica, concolora con el conidióforo, fértil solo 1/3 de la parte apical; ligeramente rugosa. De 7.8-15.30 X 6.5-9.75 μm .

Biseriado estrictamente; fiálides concoloras con la vesícula y el conidióforo; mótulas de 2.6-5.2 X 0.65-1.3 μm ; fiálide de 3.25-6.5 X 1.3-3.0 μm . Fiálides y mótulas escasas.

Conidiosporas en masa verde brillante, con luz transmitida verde brillante más claro; globosas; rugulosas. De 2.6-3.25 X 2.6-3.25 μm .

Cleistotecios abundantes; pequeños; de color blanco cuando jóvenes y al madurar amarillo limón bajo el microscopio estereoscópico; son de color café oscuro a negro con luz transmitida. De 44-200 μm ; más frecuentemente de 44-100 X 44-100 μm .

Células de hülle globosas, abundantes, rodeando a los cleistotecios, de paredes gruesas, de color café rojizo a café anaranjado. De 25 μm de diámetro.

Ascosporas púrpuras, lenticulares, con dos crestas ecuatoriales; de paredes lisas; con margen sinuoso y entero, de 0.75 μm de ancho. De 2.6-3.9 X 2.6-3.25 μm .

Material estudiado. Robledo 90, aislada de un documento del siglo XVI de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación en Celulosa Agar; Robledo 160, aislada de un documento del siglo XVII en Celulosa Agar del mismo lugar; Robledo 750, aislada de un documento del siglo XX, en Celulosa Agar, del lugar mencionado.

Discusión. Esta especie se cita por primera vez para México, y como hongo deteriorante de papel en México. Esta cepa concuerda con las características típicas propuestas por Raper y Fennell (1965), tanto en el color de la colonia, como en las características de los conidióforos y los cleistotecios.

En el mundo, solamente Flieder (1969) y Paullada-Mena (1962) lo citan como hongo deteriorante de documentos.

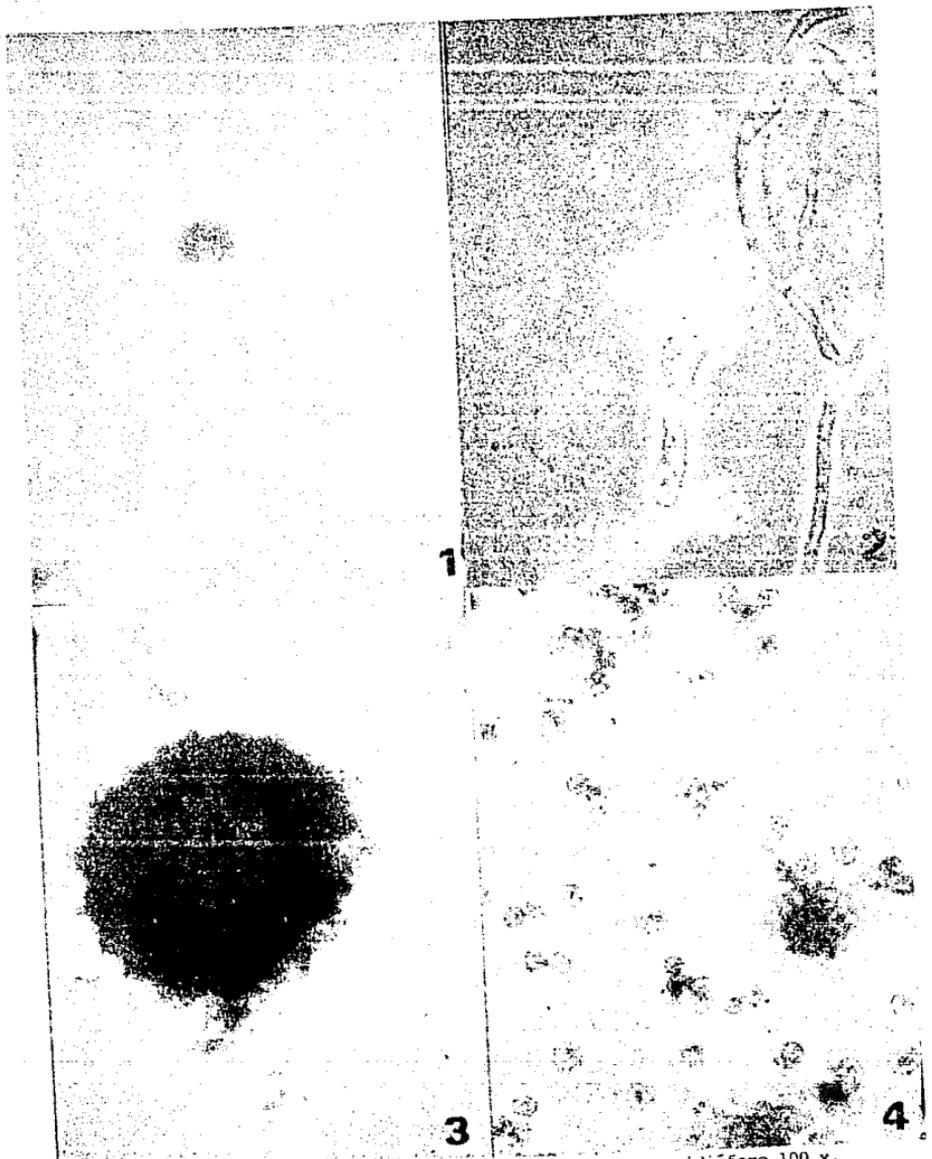


LÁMINA I. A. brevipes, Fig. 1: conidióforo 40 x, fig. 2: conidióforo 100 x.
A. phoenicis, fig. 3: Cabeza conidial 40 x, fig. 3: esporas 100 x.



LÁMINA II. A. foetidus, fig. 1: conidióforos y cabeza conidial 10 x, fig. 2: cabeza conidial 40 x, fig. 3: esporas 100 x.

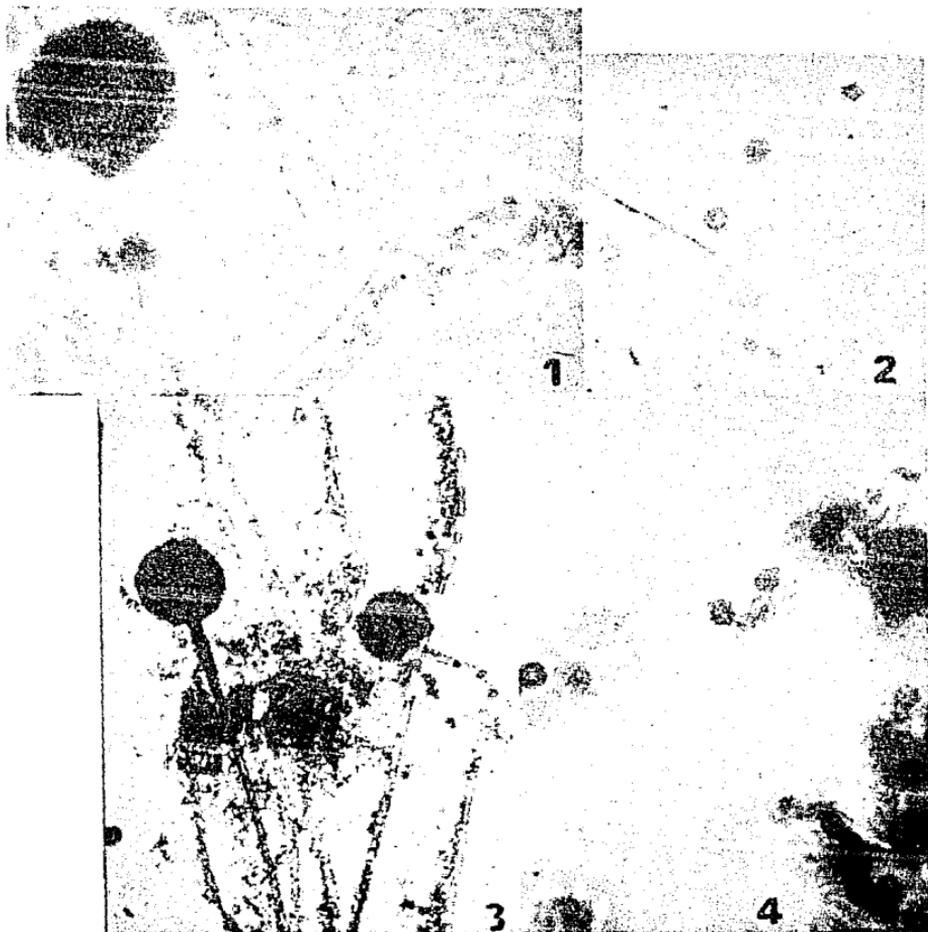
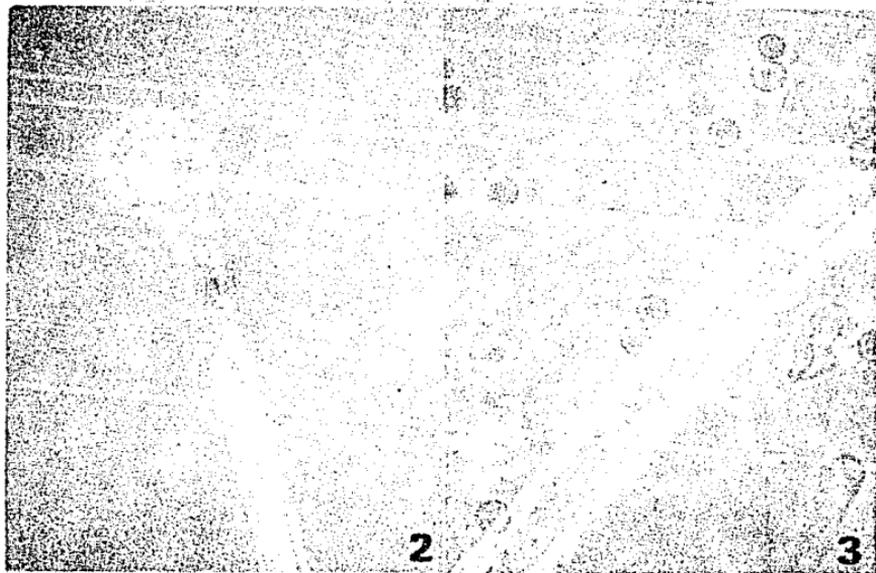


LÁMINA III. *A. pulverulentus*, fig. 1: cabeza conidial y vesícula en 40 x, fig. 2: esporas 100 x. *A. tubingensis*, fig. 3: conidióforo y cabeza conidial 10x, fig. 4: esporas 100x.



LAMINA IV. A. flavus, fig. 1: cabeza conidial biseriada 40 x, fig. 2: cabeza conidial uniseriada 40 x, fig. 3: conidióforo y esporas 100 x.

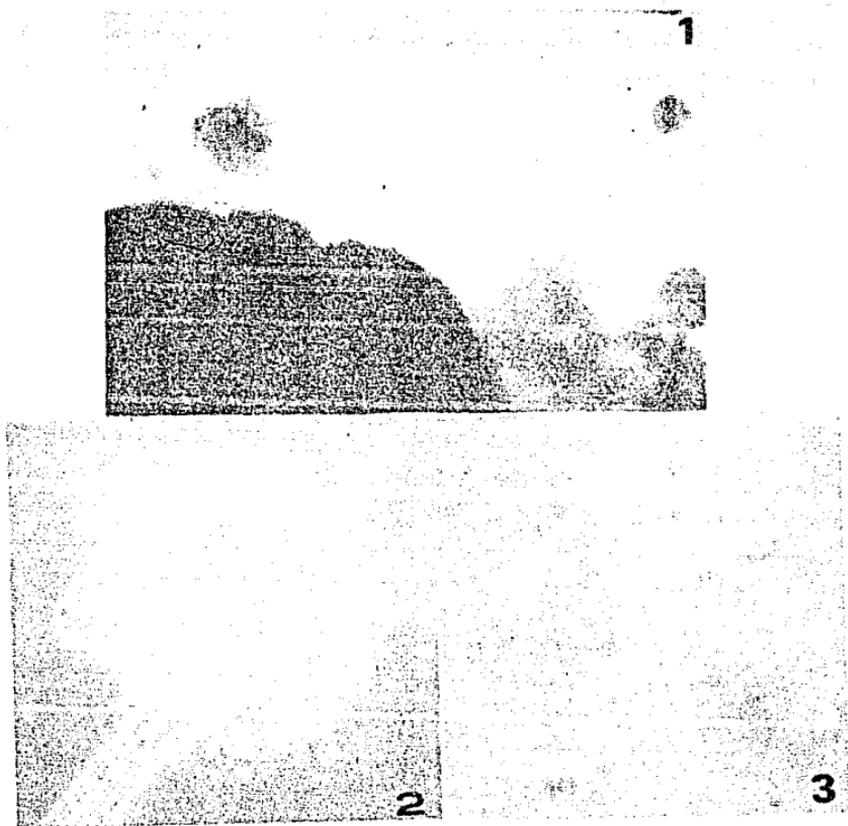
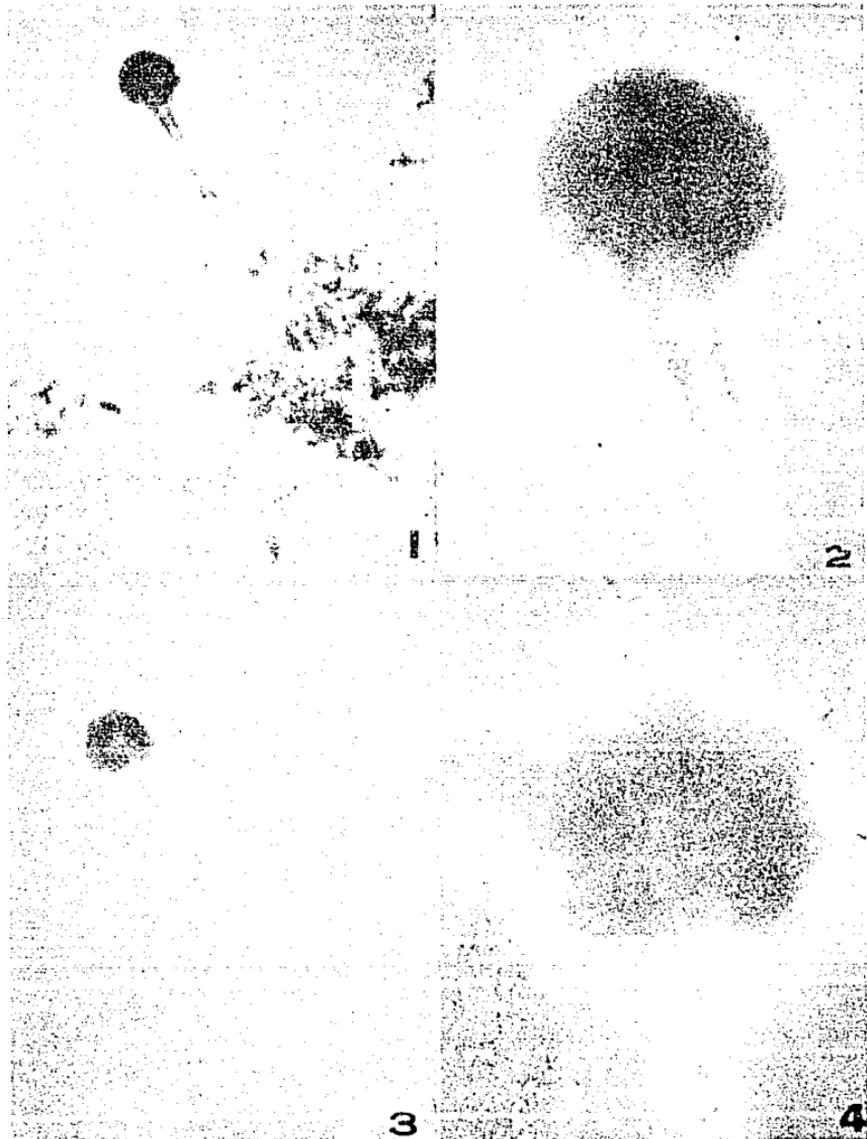


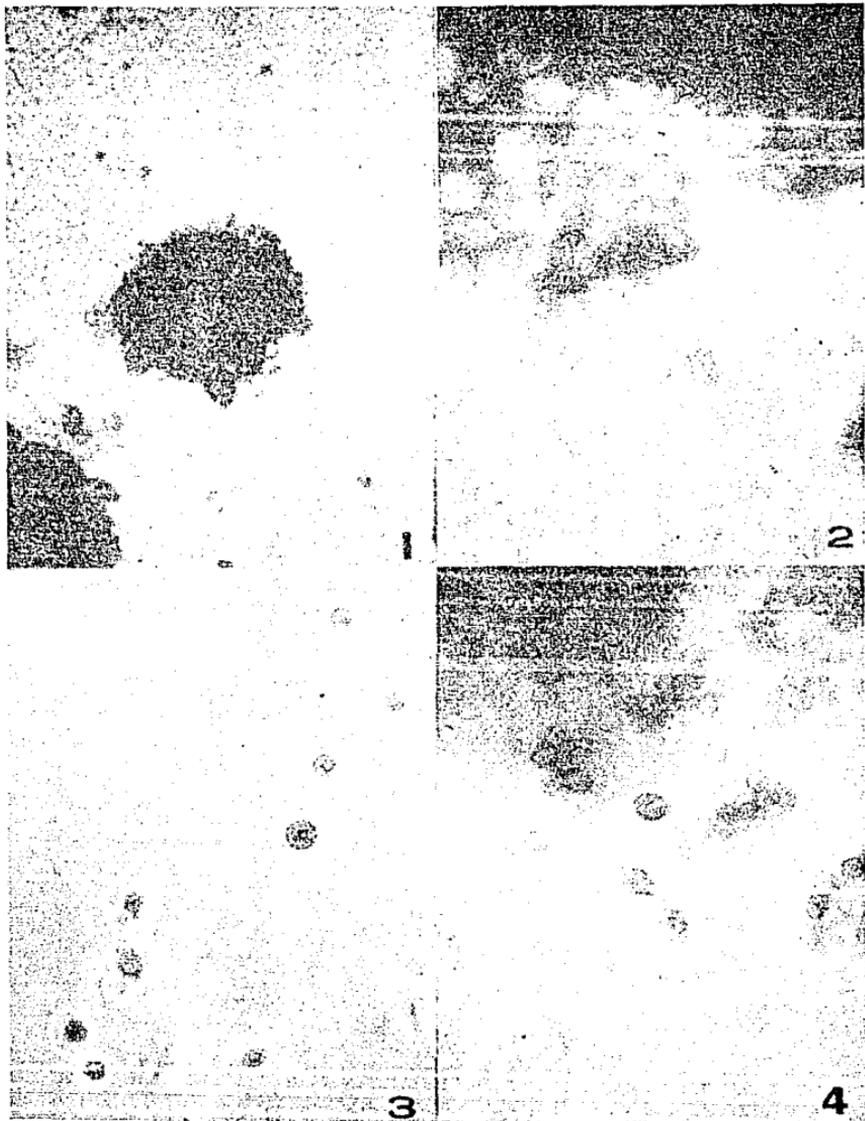
LÁMINA V. *A. flavus* var. *columnaris*, fig. 1: conidióforo y esclerocio 10 x, fig. 2: cabeza conidial biseriada 40 x, fig. 3: cabeza conidial uniseriada



LAMINA VI. *A. oryzae*, fig. 1: conidióforo y cabeza conidial 10 x, fig. 2: cabeza conidial 40 x. *A. thomii*, fig. 3: conidióforo y cabeza conidial 10 x, fig. 4: conidióforo y cabeza conidial 40 x.



LÁMINA VII. *A. speluneus*, fig. 1: conidióforos y cabeza conidial 40 x, fig. 2: conidióforo y cabeza conidial 10 x, fig. 3: células de hülle 100 x.



LAMINA VIII. *A. nidulans*, fig. 1: cleistotecios 10 x, fig. 2: conidióforos, cleistotecios y células de hülle 40 x, fig. 3: células de hülle 40 x, fig. 4: ascosporas y conidiosporas 100x.

7. CLAVES DICOTOMICAS DE LOS GRUPOS Y ESPECIES ESTUDIADAS

7.1. Clave para determinar el grupo de Aspergillus.

- A. Conidióforos cortos, pequeños y coloreadosB
- A'. Conidióforos largos, grandes y hialinos, aunque algunas veces coloreadosC
- B. Conidióforos lisos, de colores verdes, de paredes lisas, rectos; cabezuelas uniseriadas.....Aspergillus fumigatus
- B'. Conidióforos lisos, de color café a café rojizo, de paredes lisas, sinuosos; cabezuelas biseriadasAspergillus nidulans
- C. Cabezuelas biseriadas o uniseriadas.....D
- C'. Cabezuelas biseriadas estrictamente.....Aspergillus versicolor
- D. Colonias con algún tono de verde en su desarrollo.....E
- D'. Colonias de color negro, negro café a carbón.....Aspergillus niger
- E. Conidiosporas elípticas en su formación; no se presentan esclerociosAspergillus wentii
- E'. Conidiosporas globosas a subglobosas; esclerocios presentes o ausentesAspergillus flavus

7.2. Clave para determinar las especies de Aspergillus.

- A. Vesícula biseriada o uniseriada estrictamente.....B
- A'. Vesícula biseriada y uniseriada en la misma cepaC
- B. Conidióforos lisos, de color café rojizo; con la vesícula hemisférica, biseriada estrictamente; conidiosporas de color verde brillante, globosas y rugulosas (2.6-3.9 X 2.16-3.25 μ m); ascocarpos presentes; colonias de crecimiento lentoAspergillus nidulans
- B'. Conidióforos lisos, de color verde café; con la vesícula de formas variadas, uniseriada estrictamente; conidiosporas verde musgo, globosas a elípticas, equinuladas (2.6-3.25 X 1.95-2.6 μ m); ascocarpos ausentes; colonias de crecimiento rápidoAspergillus brevipes

- C. Colonias de color negro; conidióforos lisos; cabezuelas radialesD
- C'.Colonias de colores verdes, amarillos a rosas; conidióforos rugosos a espinosos; cabezuelas globosas, radiales o columnares.....G
- D. Colonias de color café negro en CZA, en EMA negro café verde.....E
- D'.Colonias de color negro carbón oscuro en CZA, en EMA negro caféF
- E. Conidióforos largos, de color café oscuro a hialinos, de 560-3150 X 10.2-22.1 μm ; vesículas grandes, de 13-52 μm , uniseriado cuando joven, biseriado predominante cuando madura; conidiosporas de 2.6-3.9 μm de longitud; esclerocios presentesAspergillus tubingensis
- E'.Conidióforos ligeramente más cortos, de color café claro, de 1036-2940 X 11.9-17 μm ; vesículas medianas, de 13-16.9 μm de longitud, biseriado estricto; conidiosporas de 3.25-3.9 μm de longitud; esclerocios ausentesAspergillus foetidus
- F.Conidióforos largos, de color café claro, de 1820-3290 X 9.5-13.6 μm ; vesículas grandes de 26-45.5 μm de largo, biseriado estricto; conidiosporas de 2.6-3.25 μm de longitud; colonias de crecimiento lento, alcanza 67.33 mm de diámetro a los 20 días de ser incubado a 27°CAspergillus pulverulentus
- F'.Conidióforos largos y anchos, de color café claro, de 1120-2520 X 10.2-17 μm ; vesículas grandes de 68-119 μm de longitud, biseriado estricto; conidiosporas de 3.25-3.9 μm de longitud; colonias de crecimiento rápido, alcanza 90 mm de diámetro a los 8 días de ser incubado a 27°CAspergillus phoenicis
- G.Colonias de colores verdes, verdes amarillos, de crecimiento rápidoH
- G'.Colonias con varias coloraciones, rosado amarillento, amarillo y verde, con crecimiento lento; conidióforos de dos tipos: unos hialinos y lisos, otros de color café y rugosos; biseriado estricto; conidiosporas globosas y equinuladasAspergillus speluneus
- H. Colonias de color verde amarillo a verde oscuro; cabezuelas globosas, radiales a columnares; vesículas biseriadas y uniseriadas.....I
- H'.Colonias de color verde amarillo, verde pálido a verde café; cabezuelas globosas, radiales a columnares; vesículas uniseriadasJ
- I. Cabezas conidiales radiales, globosas a columnares; conidióforos hialinos,

- espinosos, de pared delgada, menor de 1.3 μm , de 630-910 μm de longitud; vesícula de 40.8-61.2 μm de largo; biseriado o uniseriado; conidiosporas de 3.9-5.2 μm de largo Aspergillus flavus
- I'. Cabezas conidiales en EMA columnares; conidióforos hialinos, de rugosos a espinosos, de paredes gruesas, mayores de 1.3 μm , de 378-700 μm de longitud; vesícula de 20.8-41.6 de largo, biseriado a uniseriado; conidiosporas de 3.25-5.2 μm de longitud Aspergillus flavus var. columnaris
- J. Cabezas conidiales columnares, globosas y radiales; conidióforos equinulados profundamente, de 658-980 μm de longitud; vesícula de 26-48.1 μm de largo, uniseriado estricto; conidiosporas de 3.25-5.2 μm de largo Aspergillus oryzae
- J'. Cabezas conidiales globosas y columnares; conidióforos equinulados, de 586-1288 μm de longitud; vesícula de 40.8-51 μm de largo, uniseriado predominante a biseriado; conidiosporas de 3.9-5.2 μm de largo Aspergillus thomii

8. RESULTADOS

8.1. Determinación.

De las 197 colonias obtenidas, 25 pertenecieron al género Aspergillus, correspondiendo a 15 cepas diferentes; entre ellas, se determinaron 6 grupos, 10 especies y una variedad. En la tabla 1, se aprecia la lista de especies aisladas, con el número de cepa respectiva, el siglo del documento en la que se encontró y el número de colonias aisladas. La especie más abundante fue A. brevipes.

En la tabla 2, se registran los nuevos hallazgos para la micobiota mexicana, así como también aquellos deteriorantes de papel en el mundo y en México. De las diez especies determinadas, nueve fueron nuevos registros para México; todas ellas son un incremento para la micobiota deteriorante de papel en nuestro país y nueve no se conocían a nivel mundial.

Una breve reseña de la posición taxonómica del género y su descripción se trató en el capítulo 5 y en el 6, las descripciones de los grupos y especies del material estudiado (láminas I a la VIII).

8.2. Muestreo, aislamiento y purificación.

Se muestrearon 40 documentos, con un total de 160 muestras y se obtuvieron 197 colonias de hongos. La mayoría de los documentos presentaron como promedio un rango entre 4 a 8 colonias de micronúcleos. Del total de colonias aisladas, 13 (6.60%) se encontraron en documentos del siglo XVI, 39 (19.80%) en los del XVII, 18 (9.23%) en los del XVIII, 50 (25.28%) en el XIX y 77 (39.09%) en el XX; esto se muestra en el diagrama 1, en términos de densidad relativa (%). Por análisis de varianza con un solo criterio de clasificación (Kruskal-wallis), se determinó que sí existen diferencias significativas en el número de colonias por documento de cada siglo.

El género Aspergillus se presentó en un 33% de los documentos muestreados, así como también en el 8.8% de las unidades de muestreo (cuadros de papel).

De las 197 colonias obtenidas en el muestreo, 25 (12.69%) correspondieron a Aspergillus y 172 (87.31%) a otros géneros (tabla 2).

En el diagrama 3, se aprecia la densidad relativa de las colonias del

género Aspergillus por siglo con respecto al total de colonias obtenidas del género (25) en todo el muestreo. El siglo XIX fue en el que se presentó con mayor abundancia (36%).

El diagrama 4, nos muestra la densidad relativa de las colonias del género Aspergillus con relación a otros géneros aislados, con respecto al número total de las colonias aisladas en cada siglo. Los documentos del siglo XIX presentaron mayor densidad relativa de Aspergillus (16%) con respecto a otros géneros (82%).

La densidad relativa, frecuencia relativa y valor de importancia (modificado) de los grupos aislados de Aspergillus en el muestreo general, se aprecia en el diagrama 5; el grupo A. fumigatus fue el que obtuvo el mayor valor de importancia en el muestreo, con un total de 30.20%; el más bajo fue A. versicolor con 4.73%.

La densidad relativa, frecuencia relativa y valor de importancia (modificado) de las especies encontradas en el muestreo global, se esquematiza en el diagrama 6; la especie que obtuvo el mayor valor de importancia fue A. brevipes con un 30.20%.

En el diagrama 7, se puede observar la densidad relativa, frecuencia relativa y valor de importancia (modificado) de las especies de Aspergillus aisladas en los documentos de cada siglo muestreado; los valores de importancia más altos en los del siglo XVI fueron A. pulverulentus y A. nidulans con 20.2%, en los del XVII fue A. nidulans con 10.81%; en el XVIII solamente A. tubingenensis con 8.67%; en los del XIX A. brevipes con 15.25% y los del XX A. flavus con 10.15%.

Por último en la tabla 3, se observan los valores de índice de similitud presentados entre la micobiota de los documentos muestreados de cada siglo, tanto a nivel de grupo como especie; la similitud más alta en la micoflora grupal de Aspergillus, se encontró en los documentos de los siglos XVI y XVIII; XVI y XX, ambos con 0.66; seguido de los siglos XVII y XIX; XVII y XX con 0.57. En lo que respecta a nivel de especie, el valor de similitud más alto, se encontró en los hongos de los documentos del siglo XVII y XX con 0.57, los demás valores fueron inferiores a 0.5.

8.3. Prueba de biodeterioro.

De las 15 cepas probadas, en esta técnica se encontró un rango de pérdida

de peso del papel desde 1% hasta el 10.60%, los valores obtenidos se muestran en la tabla 4. Las especies altamente agresivas fueron A. pulverulentus (10.60%) y A. nidulans 750 (8.8%).

En la tabla 5, se aprecian las alteraciones cromáticas que ocasionaron en el papel filtro, las cepas estudiadas; aquéllas que produjeron el deterioro cromático más evidente fueron, en primer lugar A. tubingensis (lám. IX, fig. 1) ocasionando manchados de color café negro; seguido de A. flavus var. columnaris (lám. IX, fig. 2), provocando alteraciones de color café rojizo, amarillo y rosado; A. speluneus (lám. IX, fig. 3) produjo manchados amarillos, anaranjados y rosados, así como también A. nidulans (lám. IX, fig. 4) con coloraciones amarillas, amarillo-verdoso o color café claro.

Por análisis de varianza simple (ANAVA simple $\alpha = 0.05$) $p < 0.05$ se determinó que las cepas probadas sí causaron pérdidas de peso en el papel significativamente con respecto del testigo.

8.4. Efecto fungicida del propionato de sodio.

8.4.1. Diámetro de la colonia en medio de cultivo sólido. El crecimiento diametral del micelio de las cepas probadas en medio con propionato de sodio con respecto al tiempo, fue variado, no solamente a nivel de especie, sino también a nivel de cada cepa de una misma especie, esto se puede apreciar en las gráficas 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 y 29.

En ninguna de las cepas estudiadas, se presentó crecimiento en la concentración de 150,000 ppm.

En la lámina X, figs. 1, 2 y 3, se puede apreciar el efecto del propionato de sodio en el crecimiento diametral de A. foetidus, A. flavus y A. speluneus. En el primero, se observó crecimiento de micelio hasta 50,000 ppm; en el segundo y tercero hubo crecimiento diametral hasta 100,000 ppm.

8.4.2. Germinación de esporas en medio de cultivo líquido. En esta prueba se observó que el efecto del propionato de sodio en el porcentaje de esporas germinadas fue muy variado, ya que las concentraciones en donde no se observó germinación se encontraron desde 50,000 ppm hasta 150,000 ppm.

El porcentaje de germinación de esporas con respecto al tiempo de cada cepa

probada se estableció en las gráficas 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30.

En la tabla 6, se observan las dosis letales tanto para el crecimiento diametral de micelio como para el porcentaje de germinación de esporas, de las 15 cepas probadas.

8.4.3. Análisis de datos. Por análisis de varianza simple (ANAVA simple $\alpha = 0.05$) $p < 0.05$ se determinó que bajo los diferentes tratamientos experimentales, las 15 cepas sí se ven afectadas tanto en el crecimiento micelial como en la germinación de esporas, siendo tal efecto dosis-dependiente.

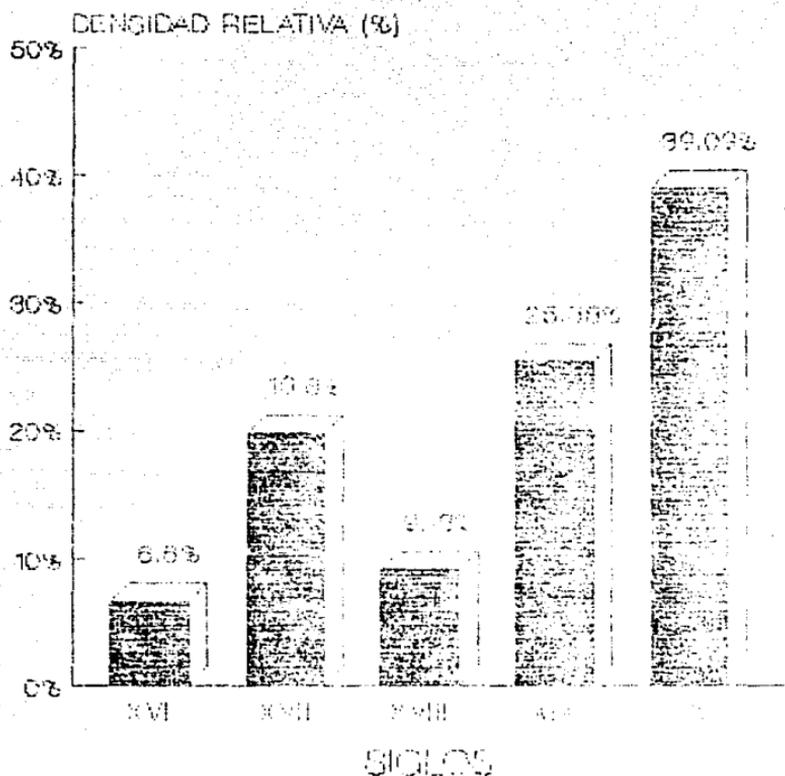


DIAGRAMA 1. Densidad relativa de las colonias de hongos aisladas de documentos deteriorados de diferentes siglos.

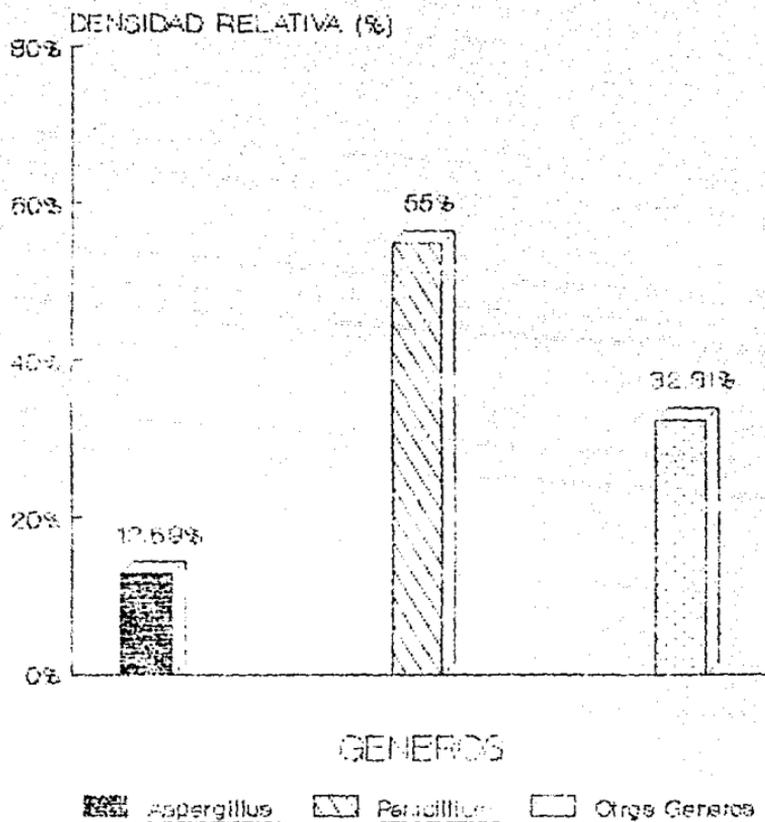


DIAGRAMA 2. Densidad relativa de Aspergillus y otros generos de colonias aisladas de documentos deteriorados.

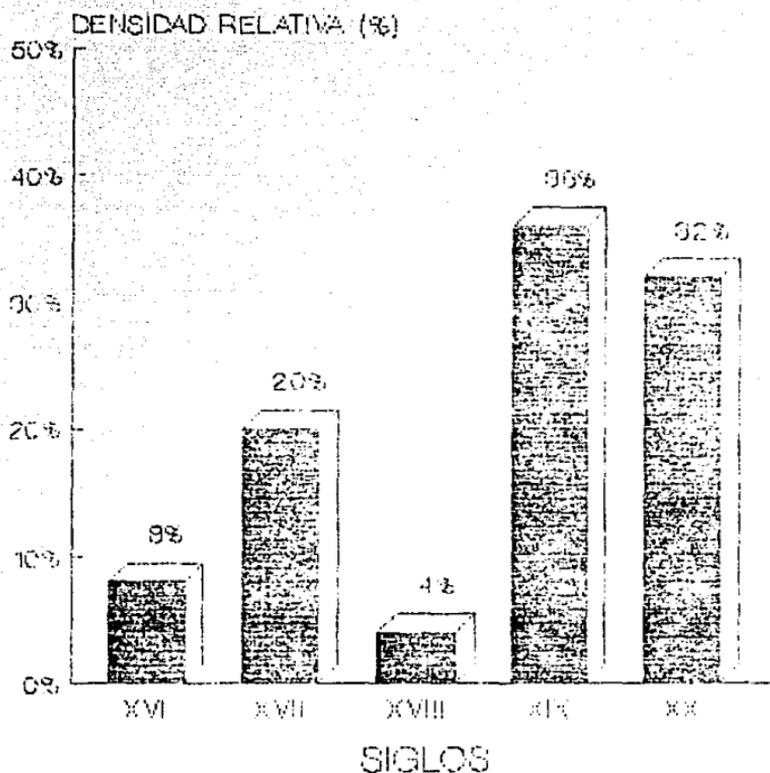


DIAGRAMA 3. Densidad relativa de las colonias aisladas de Aspergillus en documentos deteriorados de diferentes siglos

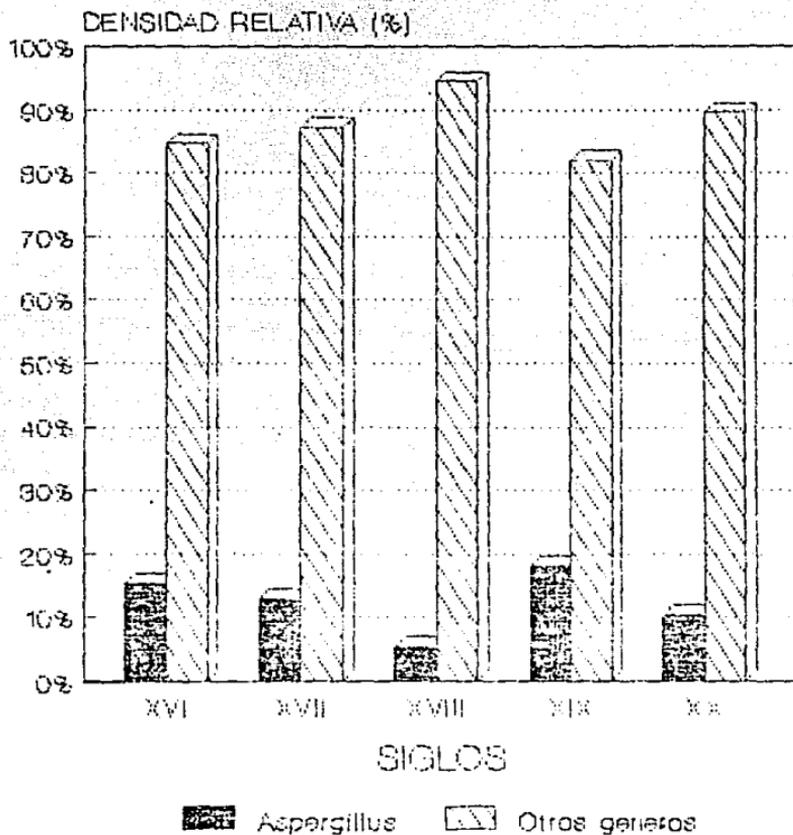
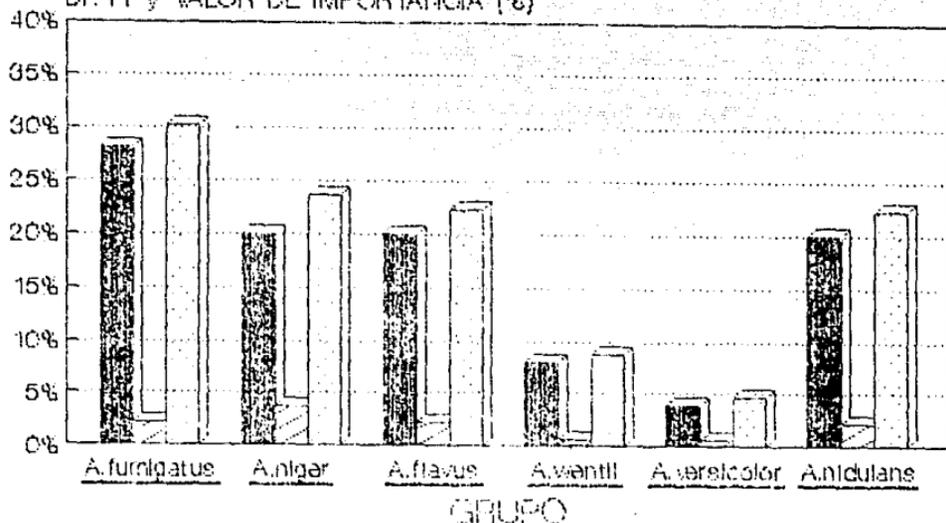


DIAGRAMA 4 Densidad relativa de las colonias de Aspergillus y otros generos aisladas de documentos deteriorados.

Dr. Fr y VALOR DE IMPORTANCIA (%)



■ Dr □ Fr □ VALOR DE IMPORTANCIA

DIAGRAMA 6. Densidad y Frecuencia relativa (Dr y Fr) y Valor de Importancia de los grupos de *Aspergillus* elegánc.

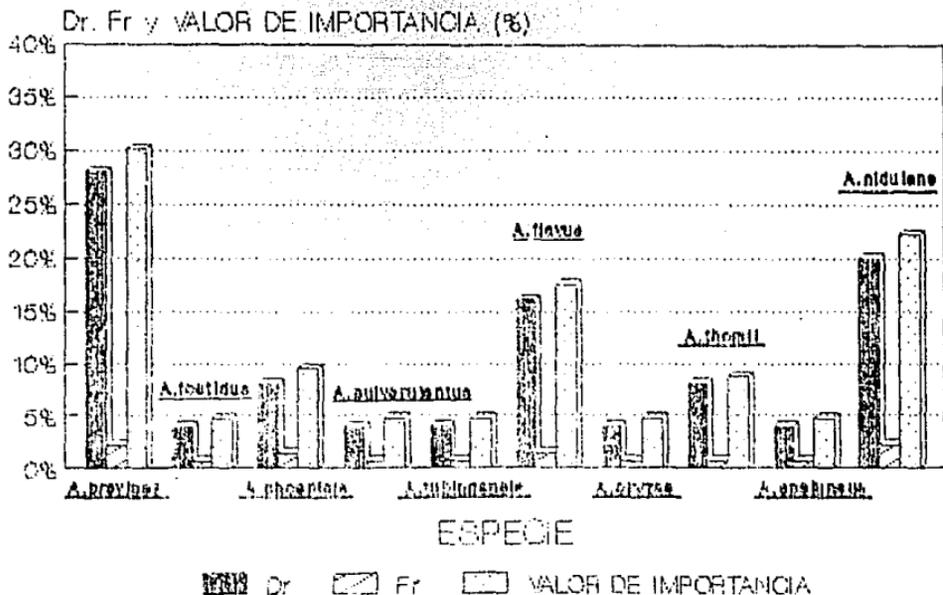


DIAGRAMA 8. Densidad y Frecuencia relativa (Dr y Fr) y Valor de Importancia de *Aspergillus* spp. aisladas.

Dr. Fr y VALOR DE IMPORTANCIA (%)

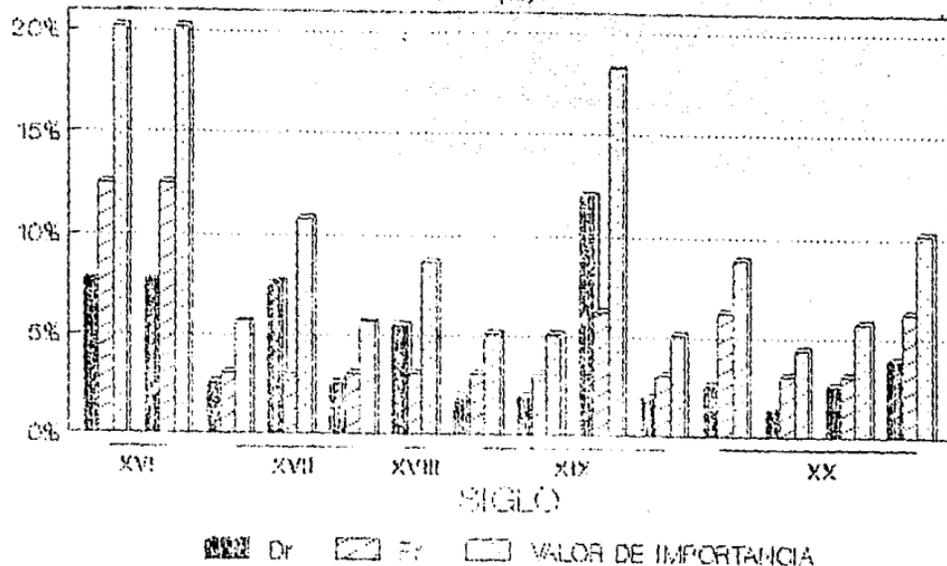
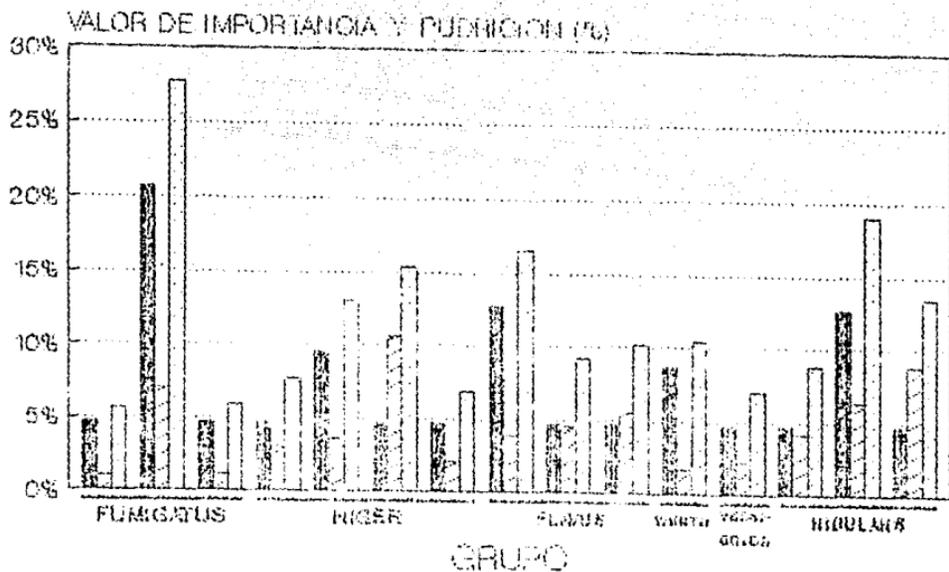


DIAGRAMA 7. Densidad y Frecuencia relativas (Dr y Fr) y valor de importancia de Aspergillus spp. aislados.



VALOR DE IMPORTANCIA
 PUTRIFICION DE SAPEL
 VALOR TOTAL

DIAGRAMA 6. Integración del muestreo y
 putrición de papel de *Aspergillus* spp.

GRUPO Y ESPECIE	# DE COLONIAS	SIGLO	# DE CEPA
<u>Aspergillus fumigatus</u>			
<u>A. brevipes</u>	7	XVII, XIX	270, 450, 570
<u>Aspergillus niger</u>			
<u>A. foetidus</u>	1	XIX	560
<u>A. phoenicis</u>	2	XX	730
<u>A. pulverulentus</u>	1	XVI	300
<u>A. tubingensis</u>	1	XVIII	930
<u>Aspergillus flavus</u>			
<u>A. flavus</u>	3	XX	810
<u>A. flavus</u> var. <u>columnaris</u>	1	XVII	100
<u>A. oryzae</u>	1	XIX	510
<u>Aspergillus wentii</u>			
<u>A. thomii</u>	2	XX	760
<u>Aspergillus versicolor</u>			
<u>A. speluneus</u>	1	XIX	440
<u>Aspergillus nidulans</u>			
<u>A. nidulans</u>	5	XVI, XVII, XX	90, 160, 750

TABLA 1. Lista de especies aisladas y determinadas de Aspergillus de documentos detericrados del AGN, # de colonias, siglo del documento en el que se encontró y # de cepa estudiada.

GRUPO Y ESPECIE	1	2	3
<u>Aspergillus fumigatus</u>			
<u>A. brevipes</u>	X	X	X
<u>Aspergillus niger</u>			
<u>A. foetidus</u>	X	X	X
<u>A. phoenicis</u>	X	X	X
<u>A. pulverulentus</u>	X	X	X
<u>A. tubingenis</u>	X	X	X
<u>Aspergillus flavus</u>			
<u>A. flavus</u>			
<u>A. flavus var. columnaris</u>	X	X	X
<u>A. oryzae</u>		X	X
<u>Aspergillus wentii</u>			
<u>A. thomii</u>	X	X	X
<u>Aspergillus versicolor</u>			
<u>A. speluneus</u>	X	X	X
<u>Aspergillus nidulans</u>			
<u>A. nidulans</u>	X	X	

TABLA 2. Nuevos registros para la micoflora mexicana (1); para la micoflora deteriorante de papel en México (2) y para la micoflora deteriorante de papel en el mundo (3).

S \ G	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX
XVI	1	0.40	0.66	0.33	0.66
XVII	0.40	1	0.0	0.57	0.57
XVIII	0.0	0.0	1	0.40	0.40
XIX	0.0	0.28	0.0	1	0.50
XX	0.33	0.57	0.0	0.0	1

← S

↑ G

TABLA 3. Índice de similaridad en la micobiota de Aspergillus, a nivel de grupo (G) y de especie (S), en los documentos de los diferentes siglos muestreados.

GRUPO, ESPECIE, CEPA	% DE PERDIDA DE PESO	NIVEL DE AGRESIVIDAD
<u>Aspergillus fumigatus</u>		
A. <u>brevipes</u> 270	1.0	ligeramente agresivo
450	7.0	agresivo
570	1.22	ligeramente agresivo
<u>Aspergillus niger</u>		
A. <u>foetidus</u>	3.06	ligeramente agresivo
A. <u>phoenicis</u>	3.60	agresivo
A. <u>pulverulentus</u>	10.60	altamente agresivo
A. <u>tubingensis</u>	2.16	ligeramente agresivo
<u>Aspergillus flavus</u>		
A. <u>flavus</u>	3.85	agresivo
A. <u>flavus</u> var. <u>columnaris</u>	4.56	agresivo
A. <u>oryzae</u>	5.50	agresivo
<u>Aspergillus wentii</u>		
A. <u>thomii</u>	1.73	ligeramente agresivo
<u>Aspergillus versicolor</u>		
A. <u>speluneus</u>	2.29	ligeramente agresivo
<u>Aspergillus nidulans</u>		
A. <u>nidulans</u> 90	4.10	agresivo
160	6.32	agresivo
750	8.8	altamente agresivo
TESTIGO	0.02	

TABLA 4. Niveles de agresividad y % de pérdida de peso que ocasionaron Aspergillus spp. en papeles filtro, con Hr de 96% a 27°C durante 3 semanas, promedios de tres repeticiones.

GRUPO, ESPECIE, CEPA	ALTERACIÓN CROMÁTICA EN PAPEL
<u>Aspergillus fumigatus</u>	
<u>A. brevipes</u> 270	amarillo claro
450	beige, café claro
570	ausente
<u>Aspergillus niger</u>	
<u>A. foetidus</u>	ausente
<u>A. phoenicis</u>	amarillo café
<u>A. pulverulentus</u>	ausente
<u>A. tubingenis</u>	café negro
<u>Aspergillus flavus</u>	
<u>A. flavus</u>	amarillo claro
<u>A. flavus</u> var. <u>columnaris</u>	café rojizo, amarillo y rosado
<u>A. oryzae</u>	café dorado, oro
<u>Aspergillus wentii</u>	
<u>A. thomii</u>	verde limón, café verde, beige
<u>Aspergillus versicolor</u>	
<u>A. speluneae</u>	amarillo, naranja y rosado
<u>Aspergillus nidulans</u>	
<u>A. nidulans</u> 90	amarillo verdoso
141	amarillo
750	café claro
TESTIGO	no hubo cambios

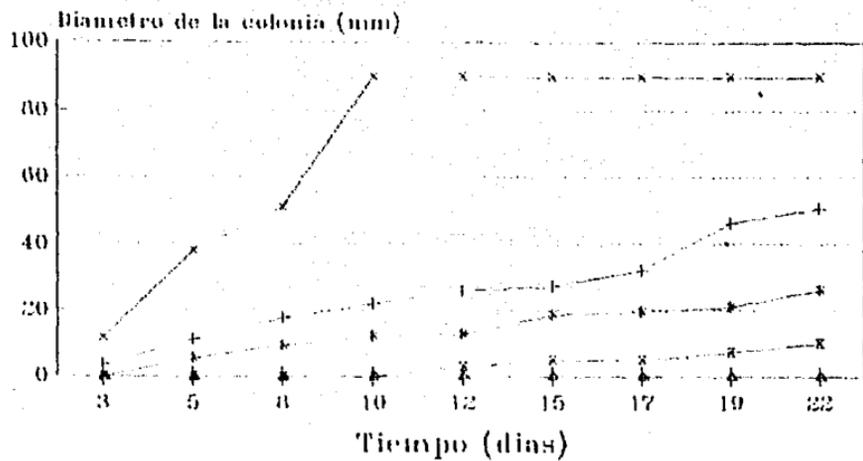
TABLA 5. Alteraciones cromáticas que ocasionan las especies de Aspergillus en papel filtro sometido a deterioro.

GRUPO, ESPECIE, CEPAS	NIVEL DE ATAQUE ECOFISIOLÓGICO AL PAPEL
<u>Aspergillus fumigatus</u>	
A. <u>brevipes</u> 270	tercer nivel
450	primer nivel
570	tercer nivel
<u>Aspergillus niger</u>	
A. <u>foetidus</u>	tercer nivel
A. <u>sphaericus</u>	primer nivel
A. <u>ulverulentus</u>	tercer nivel
A. <u>tubincensis</u>	tercer nivel
<u>Aspergillus flavus</u>	
A. <u>flavus</u>	segundo nivel
A. <u>flavus</u> var. <u>columnaris</u>	segundo nivel
A. <u>criviae</u>	segundo nivel
<u>Aspergillus wentii</u>	
A. <u>thorai</u>	tercer nivel
<u>Aspergillus versicolor</u>	
A. <u>speciatus</u>	tercer nivel
<u>Aspergillus nidulans</u>	
A. <u>nidulans</u> 90	segundo nivel
160	primer nivel
750	segundo nivel

TABLA 6. Niveles ecofisiológicos de ataque al papel que se proponen para cada una de las cepas de Aspergillus estudiadas.

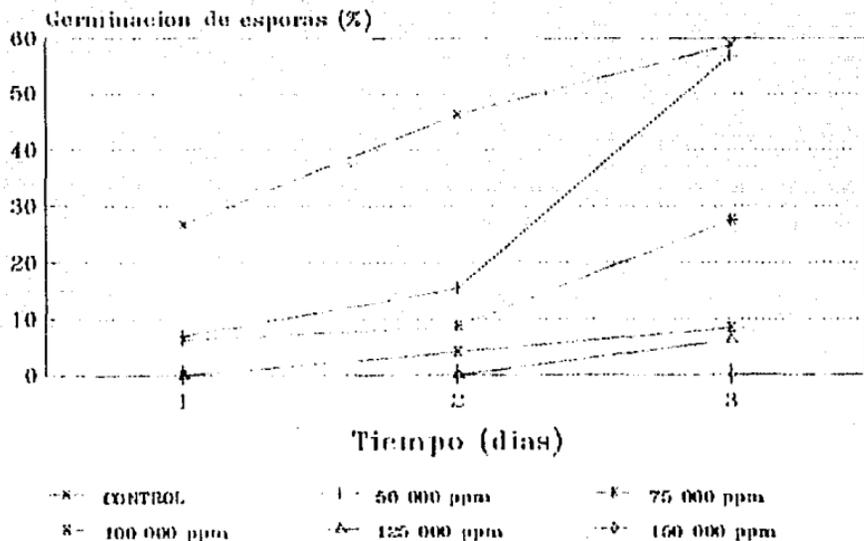
GRUPO, ESPECIE, CEPA	R.D.I.M.	R.D.I.G.E.
<u>Aspergillus fumigatus</u>		
<u>A. brevipes</u> 270	100,000 > 125,000	125,000 > 150,000
450	75,000 > 100,000	75,000 > 100,000
570	100,000 > 125,000	50,000 > 75,000
<u>Aspergillus niger</u>		
<u>A. foetidus</u>	50,000 > 75,000	75,000 > 100,000
<u>A. phoenicis</u>	50,000 > 75,000	75,000 > 100,000
<u>A. pulverulentus</u>	50,000 > 75,000	75,000 > 100,000
<u>A. tubingenis</u>	75,000 > 100,000	75,000 > 100,000
<u>Aspergillus flavus</u>		
<u>A. flavus</u>	100,000 > 125,000	125,000 > 150,000
<u>A. flavus var. columnaris</u>	125,000 > 150,000	150,000 > 175,000
<u>A. oryzae</u>	125,000 > 150,000	150,000 > 175,000
<u>Aspergillus wentii</u>		
<u>A. thomii</u>	100,000 > 125,000	150,000 > 175,000
<u>Aspergillus versicolor</u>		
<u>A. solitarius</u>	125,000 > 150,000	125,000 > 150,000
<u>Aspergillus nidulans</u>		
<u>A. nidulans</u> 90	125,000 > 150,000	125,000 > 150,000
160	125,000 > 150,000	150,000 > 175,000
780	125,000 > 150,000	125,000 > 150,000

TABLA 7. 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.), concentraciones en ppm.

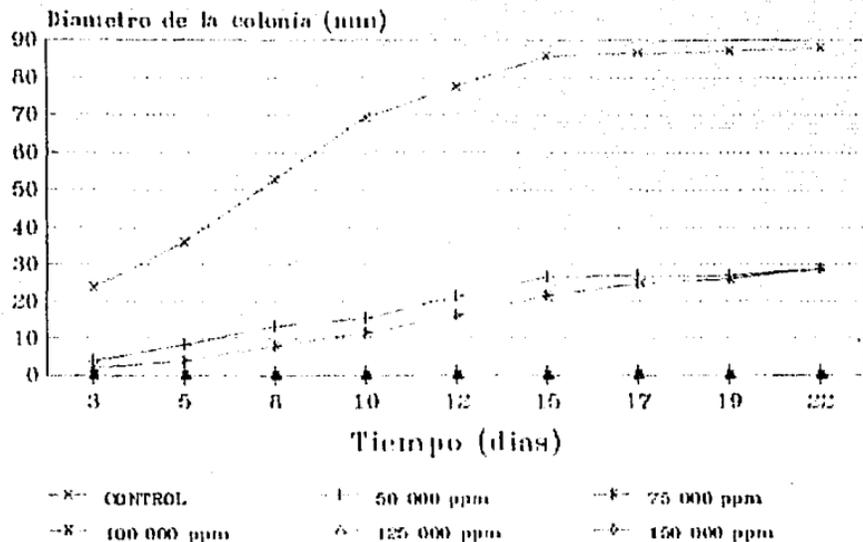


-x- CONTROL, -+ 50 000 ppm, -* 75 000 ppm
 -x- 100 000 ppm, -Δ 125 000 ppm, -◊ 150 000 ppm

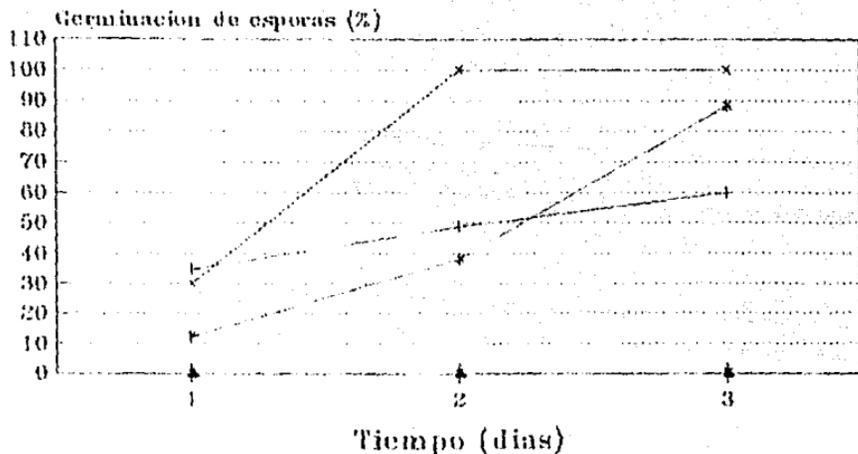
GRAFICA 1. - Crecimiento micelial de A. brevipes (270) a
 Traves del tiempo, ante diferentes concentraciones de
 propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas
 por colonia con tres repeticiones.



GRAFICA 2.- Germinación de esporas de *A. brevipes* (270) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.



GRAFICA 3.- Crecimiento micelial de *A. brevipes* (450) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones.



—x— CONTROL

—+— 50 000 ppm

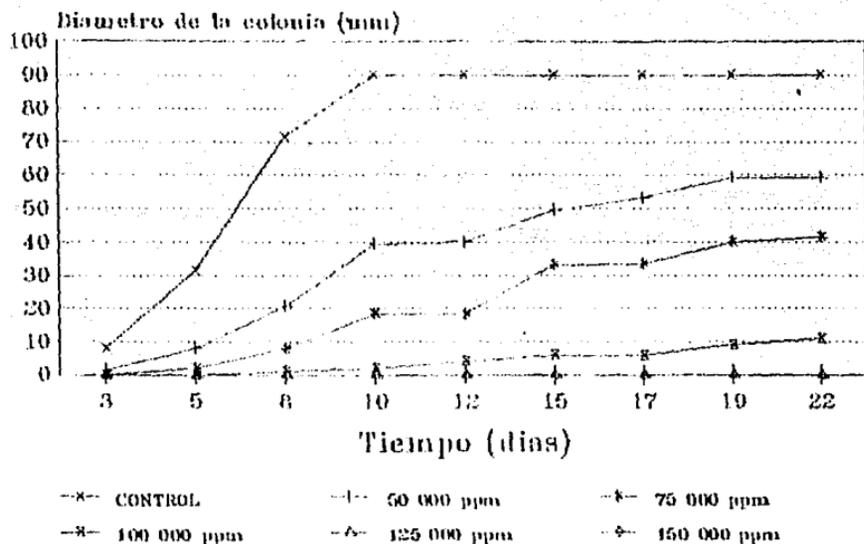
—*— 75 000 ppm

—s— 100 000 ppm

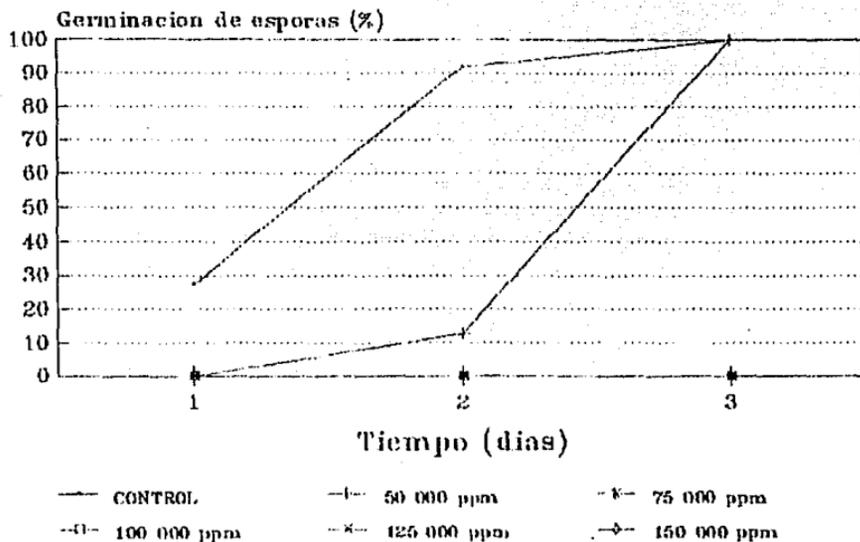
—v— 125 000 ppm

—b— 150 000 ppm

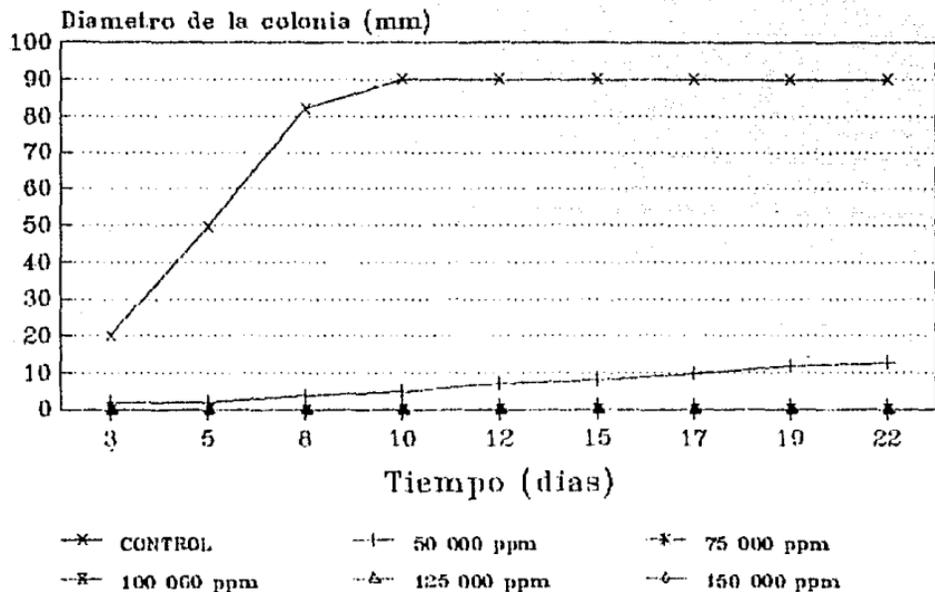
GRAFICA 4.- Germinación de esporas de A. Brevisipes (150) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C: Promedios de tres repeticiones.



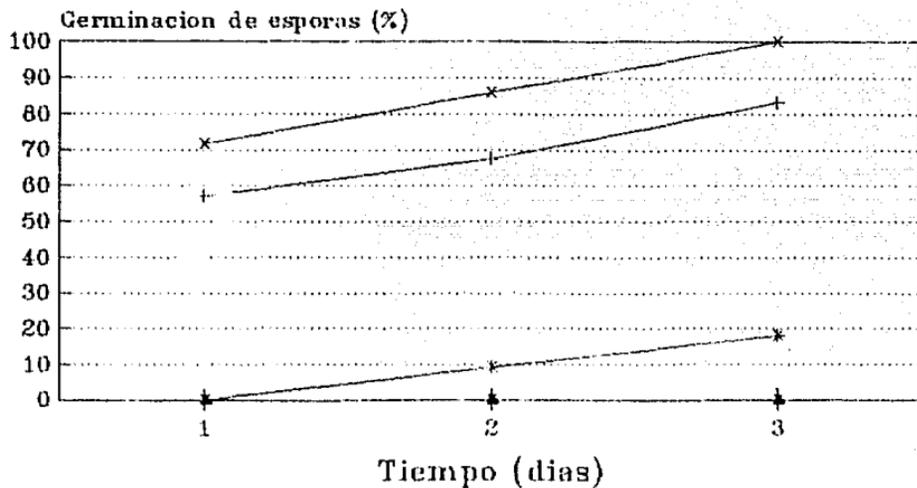
GRAFICA 5.- Crecimiento micelial de *A.brevipes* (570) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones.



GRAFICA 6.- Germinación de esporas de A. brevipes (570) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.



GRAFICA 7.- Crecimiento micelial de *A. foetidus* (500) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones



—x— CONTROL

—+— 50 000 ppm

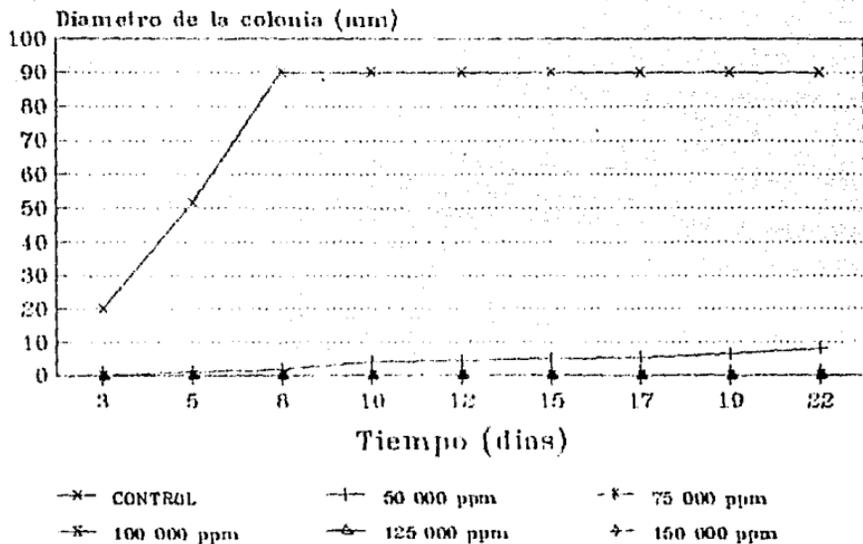
—*— 75 000 ppm

—■— 100 000 ppm

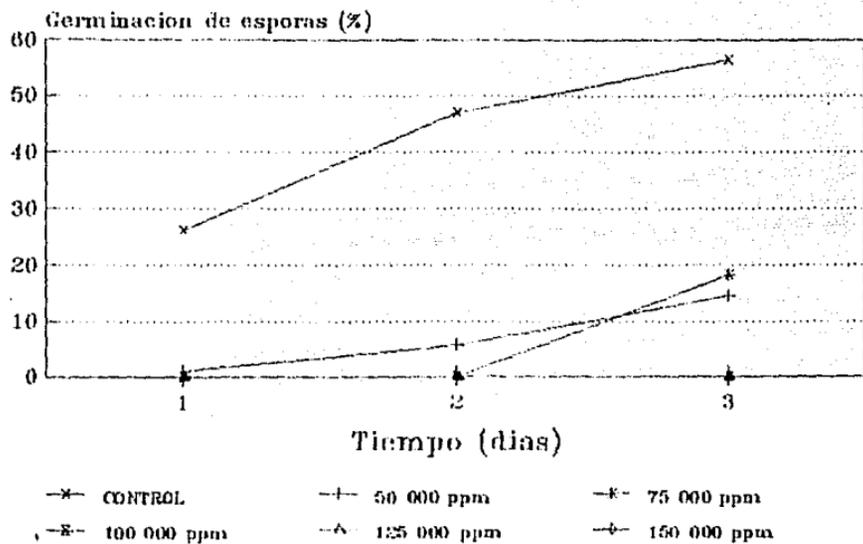
—▲— 125 000 ppm

—◇— 150 000 ppm

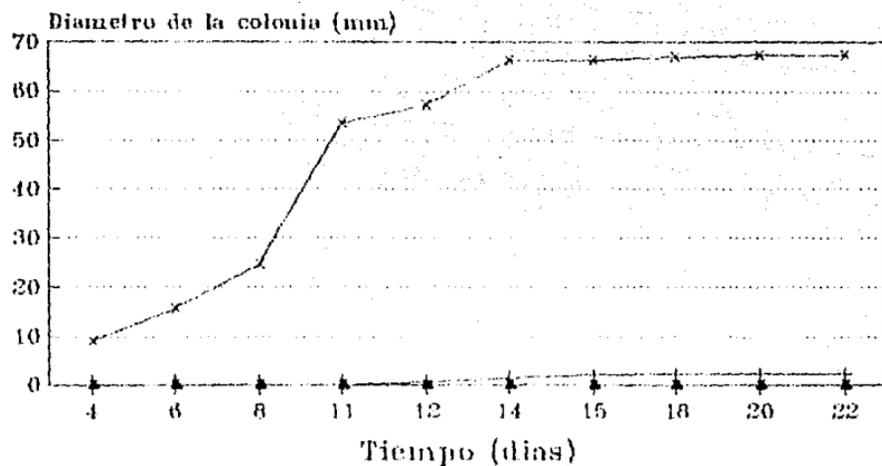
GRAFICA 8.- Germinación de esporas de *A. foetidus* (500) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedio de tres repeticiones.



GRAFICA 9.- Crecimiento micelial de A. phoenicis (730) a
 través del tiempo, ante diferentes concentraciones de
 propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedio de dos lecturas
 por colonia con tres repeticiones.

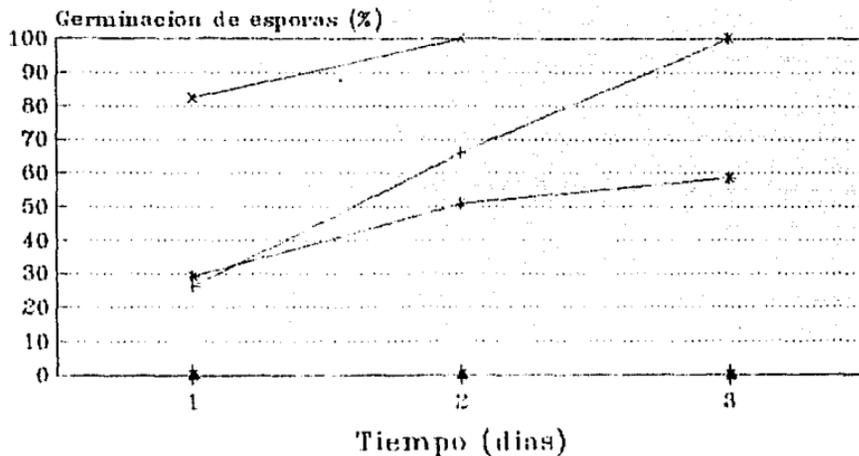


GRAFICA 10.- Germinacion de esporas de A.phoenicis (730) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM liquido a 27 C. Por medio de tres repeticiones.



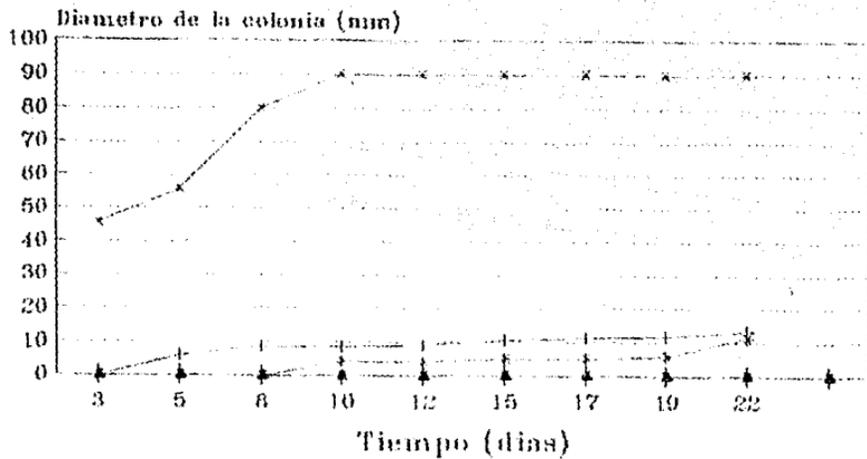
--x-- CONTROL --+-- 50 000 ppm --v-- 75 000 ppm
 --*-- 100 000 ppm --^-- 125 000 ppm --o-- 150 000 ppm

GRAFICA 11.- Crecimiento micelial de A. pulverulentus (300) a
 través del tiempo, ante diferentes concentraciones de
 propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedio de dos lecturas
 por colonia con tres repeticiones.



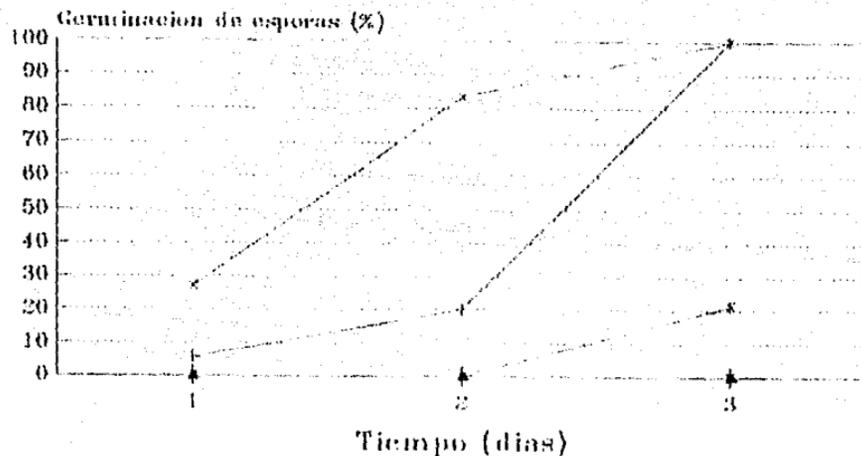
--x-- CONTROL --+-- 50 000 ppm --*-- 75 000 ppm
 --x-- 100 000 ppm --o-- 150 000 ppm

GRAFICA 12.- Germinación de esporas de A. pulverulentus (300) a través del tiempo ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.



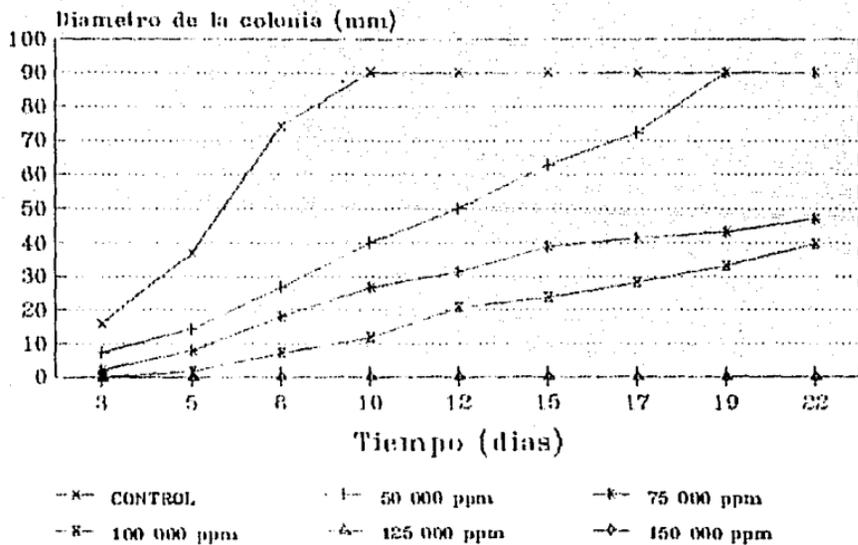
-x- CONTROL + 50 000 ppm x 75 000 ppm
 -x- 100 000 ppm Δ 125 000 ppm ◊ 150 000 ppm

GRAFICA 13.- Crecimiento micelial de *A. tubingenensis* (930) a
 través del tiempo, ante diferentes concentraciones de
 propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedio de dos lecturas
 por colonia con tres repeticiones.

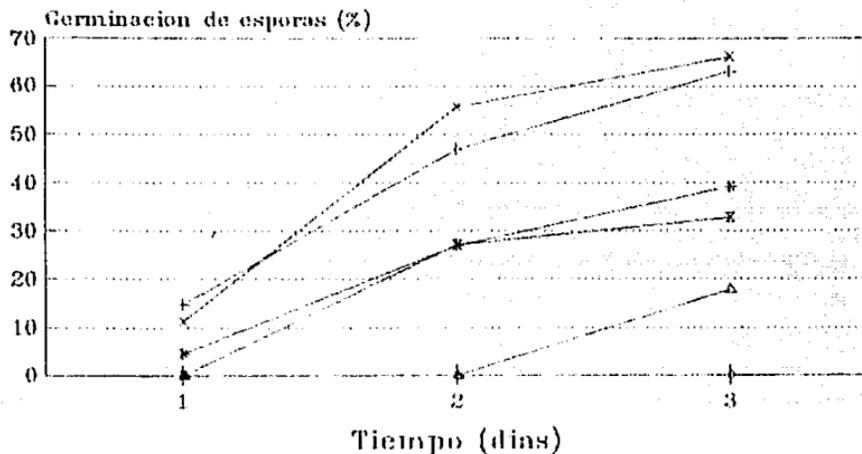


-x- CONTROL -|- 50 000 ppm -*- 75 000 ppm
 -x- 100 000 ppm -Δ- 125 000 ppm -◊- 150 000 ppm

GRAFICA 14.- Germinacion de esporas de *A. Tubingensis* (939)
 a traves del tiempo ante diferentes concentraciones de
 propionato de sodio en EM liquido a 27 C. Promedios de tres
 repeticiones.

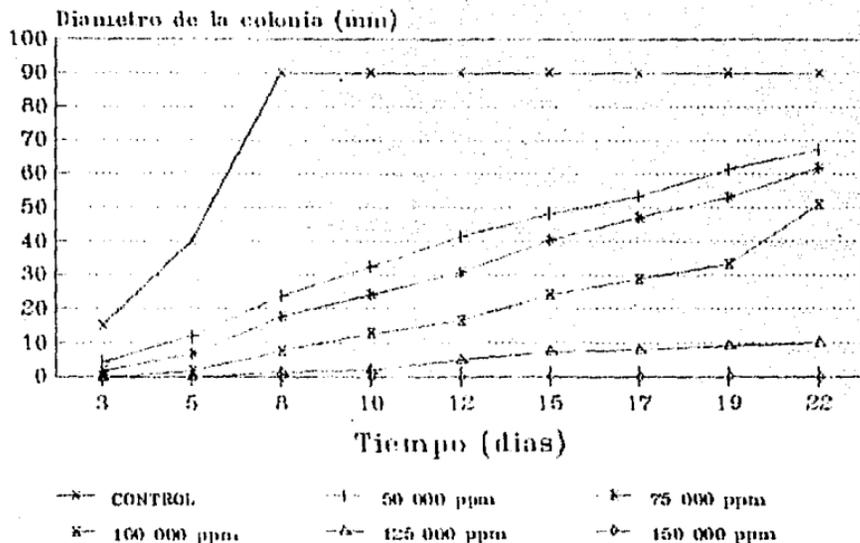


GRAFICA 15.- Crecimiento micelial de A. flavus (010) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones.

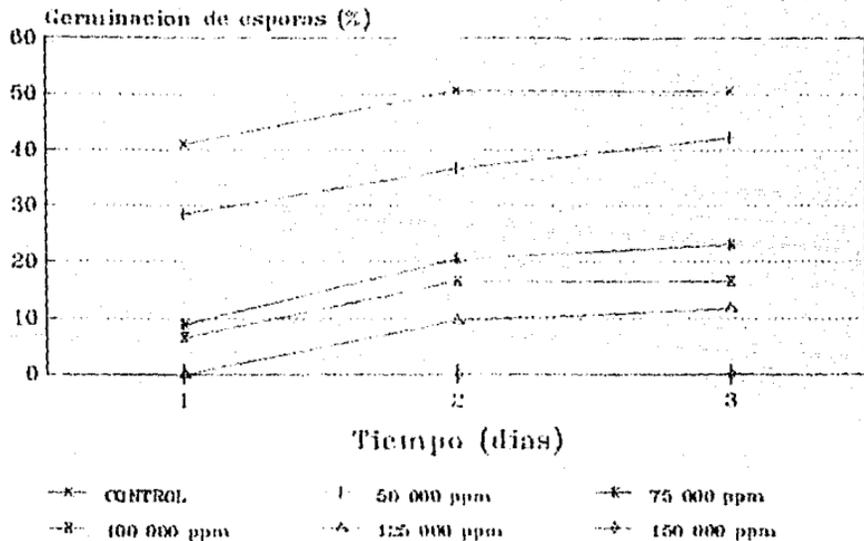


- * - CONTROL - | - 50 000 ppm - x - 75 000 ppm
 - * - 100 000 ppm - △ - 125 000 ppm - ◊ - 150 000 ppm

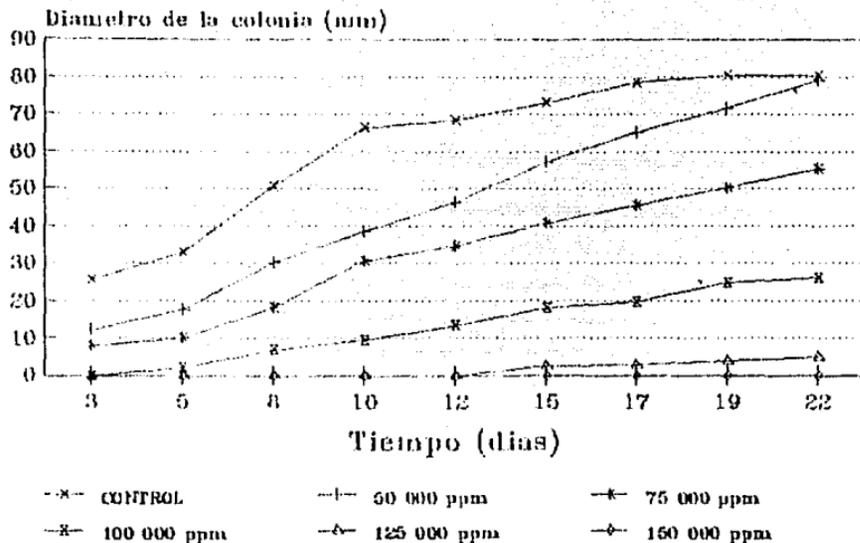
GRAFICA 16.- Germinación de esporas de A.flavus (810) a través del tiempo ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.



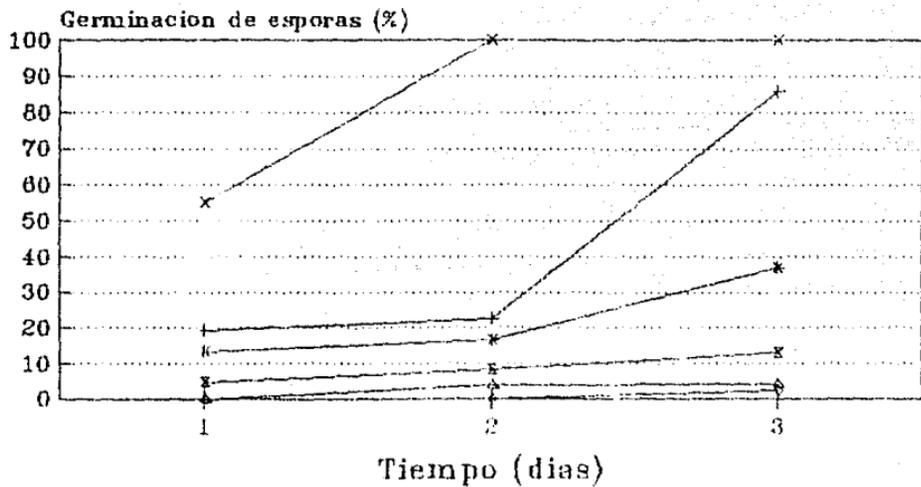
GRAFICA 17. Crecimiento micelial de A.flavus var.columnaris (100) a traves del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones.



GRAFICA 10. Germinación de esporas de A. flavus var. columnaris (100) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.

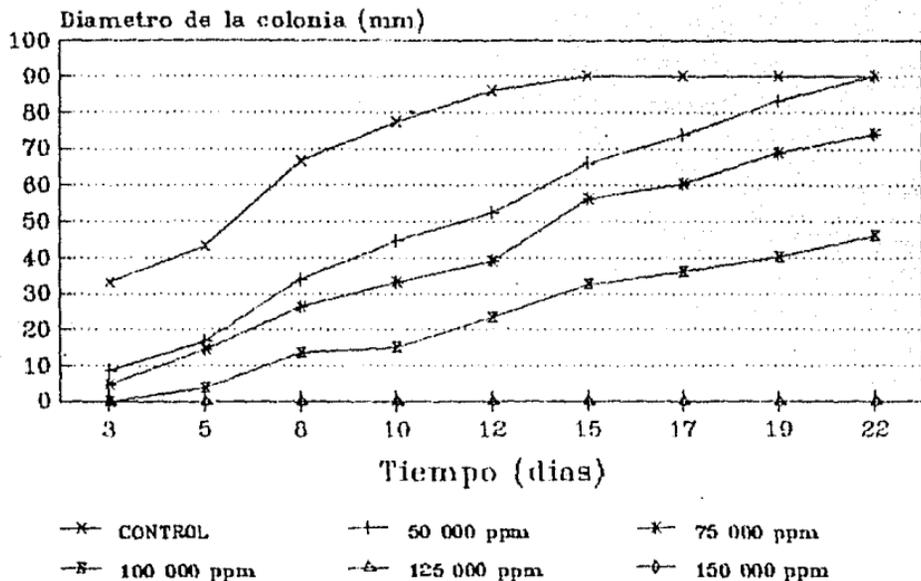


GRAFICA 19.- Crecimiento micelial de *A.oryzae* (510) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones.

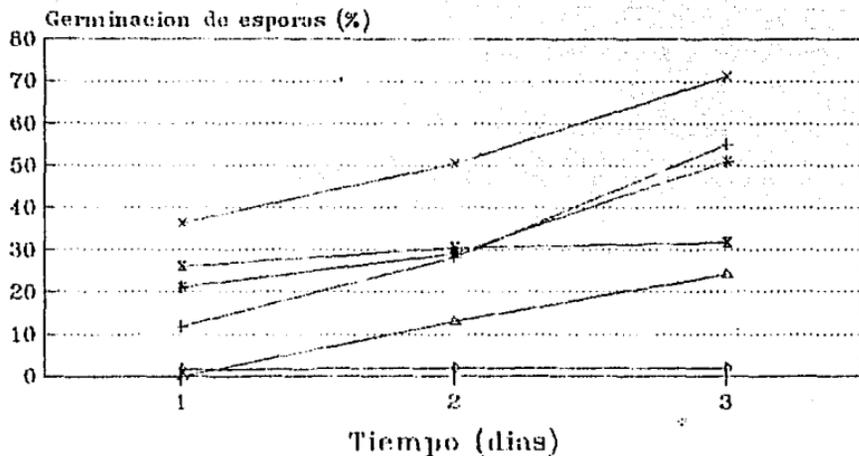


- x- CONTROL
- + 50 000 ppm
- * 75 000 ppm
- x 100 000 ppm
- △ 125 000 ppm
- ◇ 150 000 ppm

GRAFICA 20.- Germinacion de esporas de *A. oryzae* (510) a traves del tiempo ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM liquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.

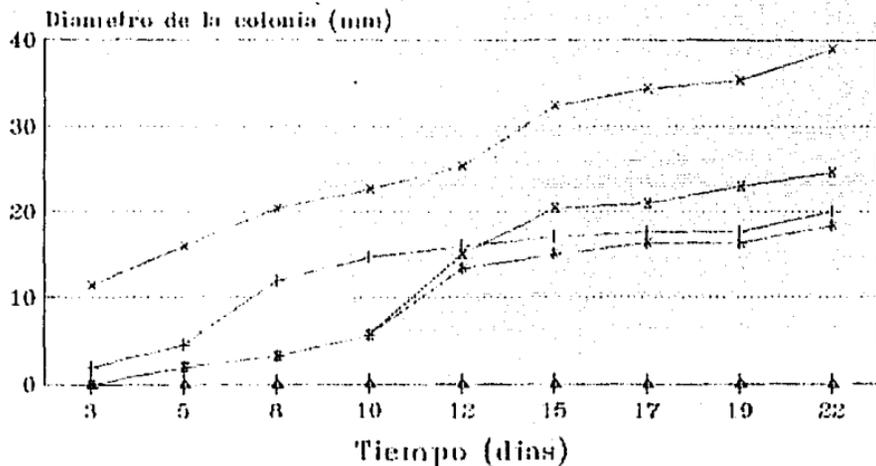


GRAFICA 21.- Crecimiento micelial de *A. thomii* (760) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones.



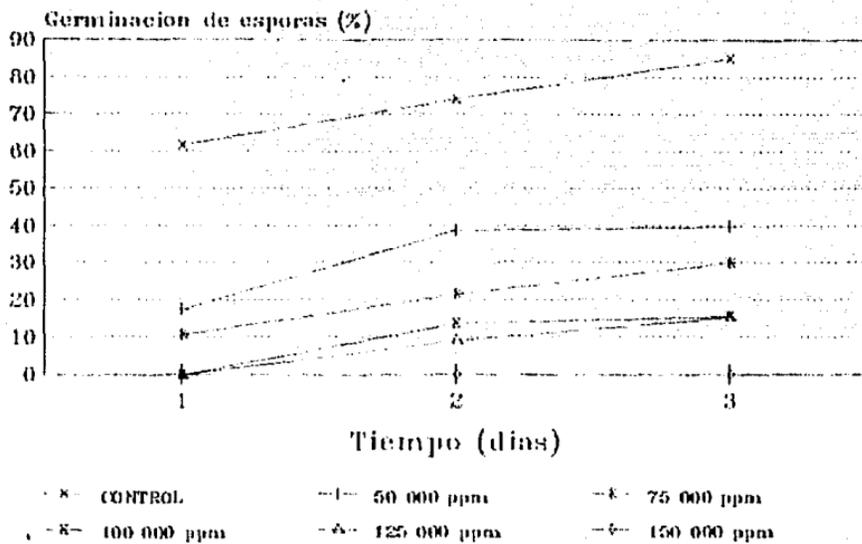
-x- CONTROL -| 50 000 ppm -x- 75 000 ppm
 -x- 100 000 ppm -o- 125 000 ppm -o- 150 000 ppm

GRAFICA 23.- Germinación de esporas de A.thomii (760) a través del tiempo ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.

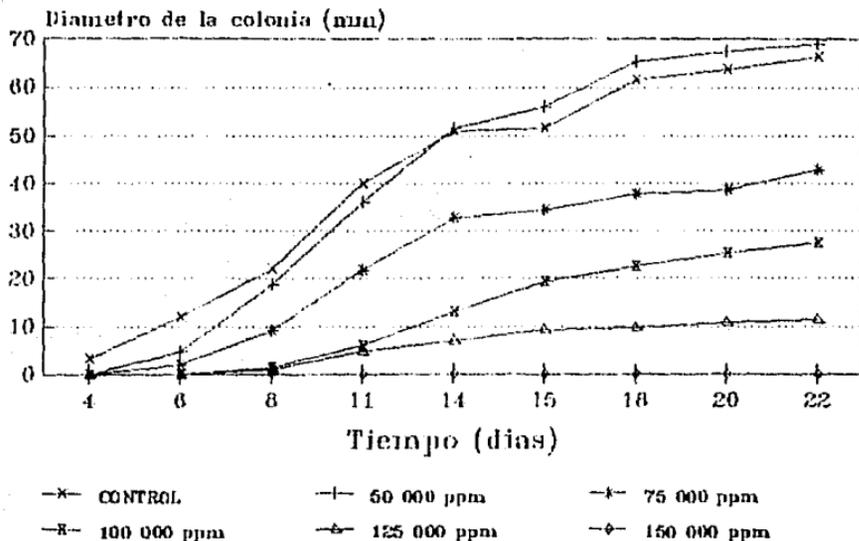


-x- CONTROL -| - 50 000 ppm -k- 75 000 ppm
 -8- 100 000 ppm -^ - 125 000 ppm -d - 150 000 ppm

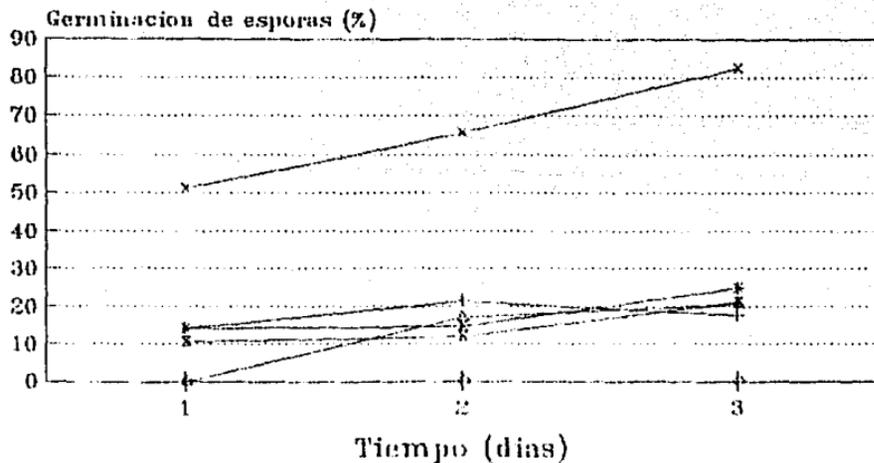
GRAFICA 23.- Crecimiento micelial de *A. spelmensis* (440)
 a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de
 propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas
 por colonia con tres repeticiones.



GRAFICA 24.- Germinación de esporas de Aspelmeus (410) a través del tiempo ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.

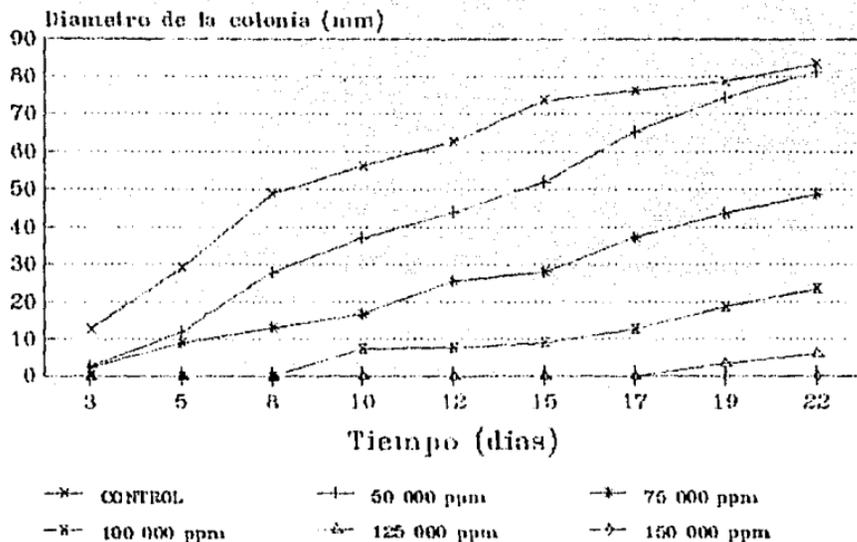


GRAFICA 25.- Crecimiento micelial de A.nidulans (90) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones.

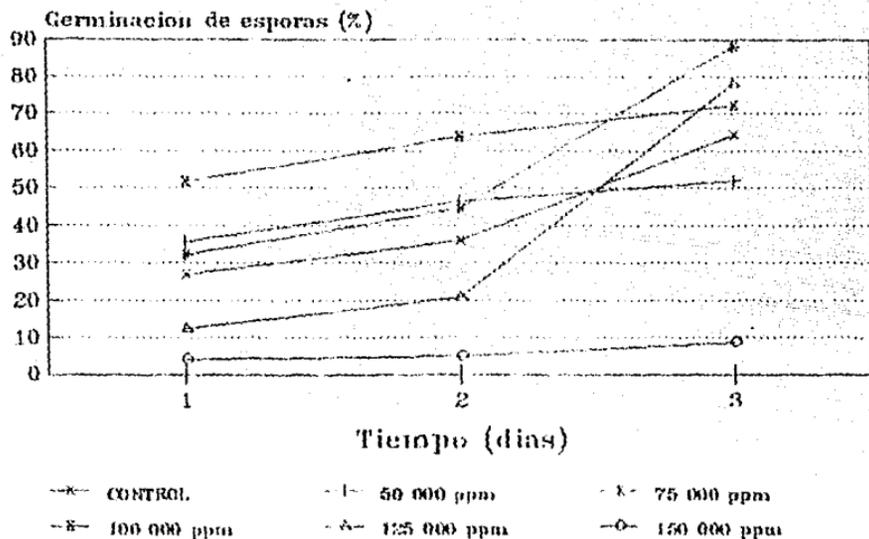


-x- CONTROL -+ 50 000 ppm -* 75 000 ppm
 -k- 100 000 ppm -^ 125 000 ppm -o 150 000 ppm

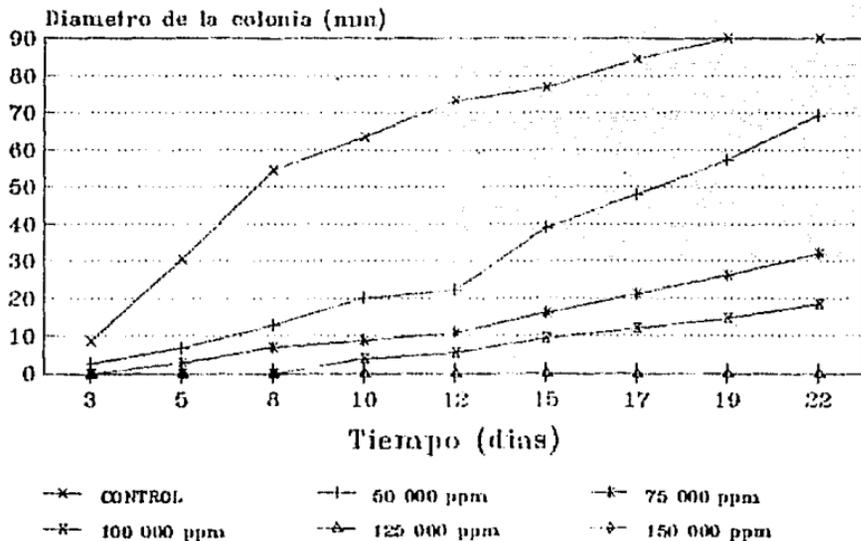
GRAFICA 26.- Germinación de esporas de *A. nidulans* (90)
 a través del tiempo ante diferentes concentraciones de
 propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres
 repeticiones.



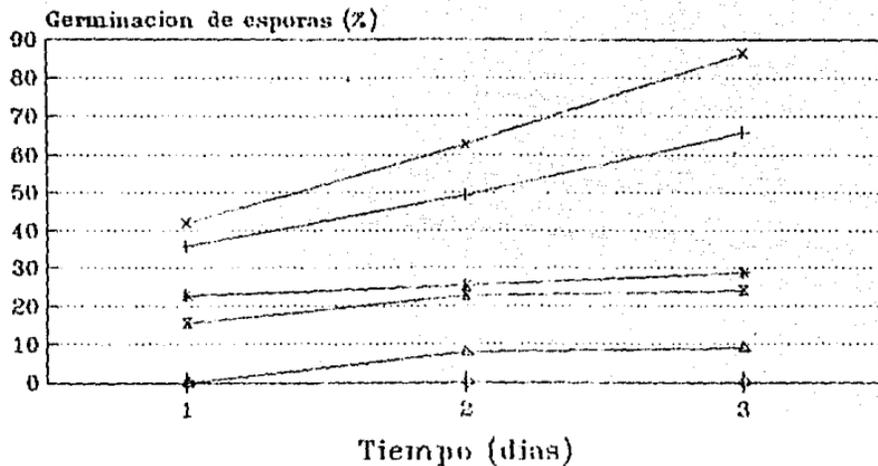
GRAFICA 27.- Crecimiento micelial de A.nidulans (160) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones.



GRAFICA 28.- Germinación de esporas de Aspidulans (160) a través del tiempo ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.



GRAFICA 29.- Crecimiento micelial de A. nidulans (750) a través del tiempo, ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EMA a 27 C. Promedios de dos lecturas por colonia con tres repeticiones.



-x- CONTROL -+ 50 000 ppm -* 75 000 ppm
 -x- 100 000 ppm -^ 125 000 ppm -o 150 000 ppm

GRAFICA 30.- Germinacion de esporas de A.nidulans (750) a través del tiempo ante diferentes concentraciones de propionato de sodio en EM líquido a 27 C. Promedios de tres repeticiones.

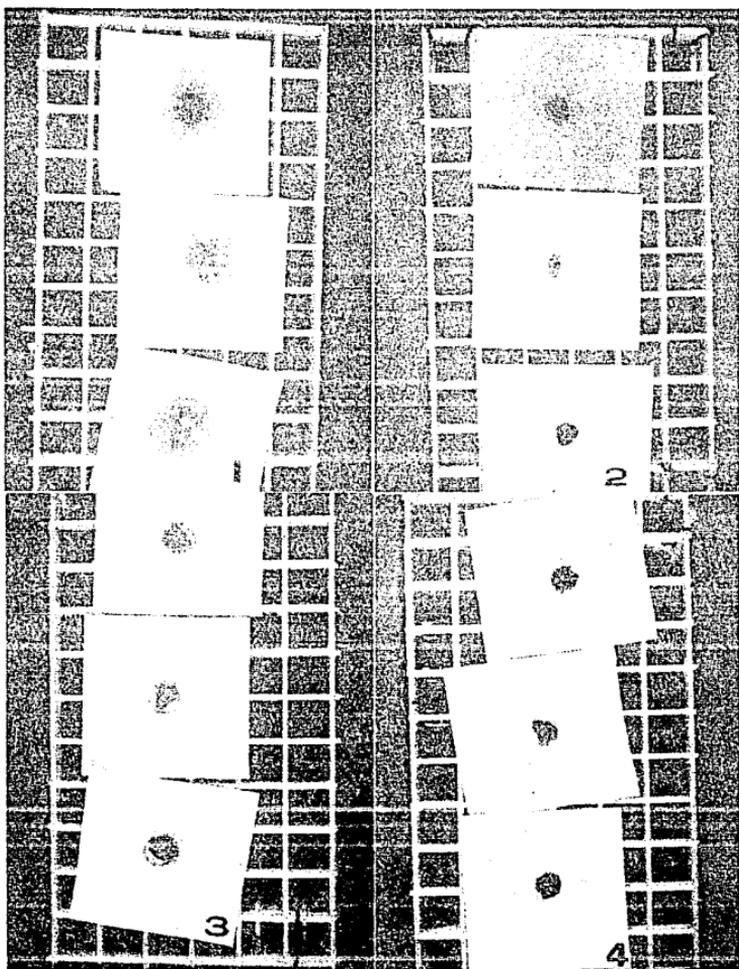


LÁMINA IX. Papel inoculado con: fig. 1: A. tubingensis, fig. 2: A. flavus var. columnaris, fig. 3: A. speluneus, fig. 4: A. nidulans.

9. DISCUSION

9.1. Determinación del material estudiado.

De las 25 colonias de Aspergillus presentes en el aislamiento, se determinaron 6 grupos con 10 especies y una variedad (tabla 1); de ellas, 8 especies y una variedad son nuevos registros para la micoflora mexicana, incrementando el número de especies citadas de Aspergillus para México; como hongos causantes de deterioro en documentos en nuestro país, se encontraron 9 especies y una variedad, y como nuevos registros específicos para la micoflora biodeteriorante de materiales gráficos en el mundo, se encontraron 8 especies y una variedad (tabla 2).

Como se puede notar, casi todas las especies determinadas son registros nuevos, por lo que se comprueba que los estudios en este tema aún son muy escasos y sería de gran importancia incrementarlos.

La determinación a grupo del género Aspergillus es sencilla, pero esto se complica al llegar a nivel específico, principalmente en el grupo A. niger, donde las especies son muy semejantes y es complicado establecer su identidad.

Una arma muy importante y necesaria para la determinación de las mismas, es el uso de diferentes medios de cultivo y de cultivos con diversos estadios de maduración; ya que las cepas son muy variables en cuanto a crecimiento, coloración y en ocasiones también dimensiones. Se recomienda el uso de al menos tres cultivos en EMA y otros tres en CZA, en diversos estados de maduración.

Se observó que las colonias desarrolladas en EMA, crecen más rápidamente, presentaron micelio y fructificaciones más abundantes que en CZA, así como también cabezas conidiales y conidióforos con mayores dimensiones.

Al inicio de la caracterización fisiológica de las cepas, se pensó establecer gráficas de crecimiento radial de la colonia contra el tiempo, desarrolladas en EMA e incubadas a 27°C que fuesen típicas de cada especie, pero esto no se hizo posible, ya que los comportamientos fueron diferentes dependiendo de cada cepa y no de la especie, tal fue el caso de A. brevipes donde la cepa 450 presentó una menor tasa de crecimiento micelial que las cepas 270 y 370 (gráficas 3, 1 y 5 de controles, respectivamente); algo similar,

aunque en menor grado, ocurrió para los ejemplares de A. nidulans, donde la cepa 750 presentó mayor tasa de crecimiento que la de la 160 y 90 (gráficas 29, 27 y 25 de controles, respectivamente); por lo tanto, se piensa que las gráficas de crecimiento de cada especie, bajo condiciones controladas son una herramienta importante para complementar su caracterización taxonómica, pero no son determinantes.

El género Aspergillus mostró una gran plasticidad genética, ya que en muchas ocasiones se presentaron resiembras aberrantes e inclusive en una misma colonia se observaron cabezuelas y conidióforos muy diferentes a los demás de la especie correspondiente, por lo que se debe tener cuidado al valorar significativamente las diferencias que se presentan de una cepa a otra, para evitar errores en la determinación a especie.

Cabe señalar, que la determinación grupal y específica del género Aspergillus, puede ser una herramienta muy importante, para hacer inferencias sobre la historia de los documentos analizados y establecer su grado de deterioro; así por ejemplo, Moreno (1988) menciona que A. flavus y A. versicolor son hongos que se encuentran ocasionando deterioro (en granos) en el almacén, y que la presencia de ambos indica un avanzado estado de deterioro y por lo tanto inadecuadas condiciones de almacenamiento, ya que necesitan de 80 a 85% de Hr para desarrollarse (condiciones muy altas de humedad para que un documento sea almacenado, sin sufrir deterioro por hongos); asimismo A. fumigatus y A. niger, son hongos que se desarrollan en altísimas humedades, de 90 a 100% de Hr (Moreno, 1988) y se encuentran en substratos en un estado avanzado de descomposición ya que requieren casi agua libre para su desarrollo.

Por lo mencionado anteriormente, y observando la tabla 1, de acuerdo con las especies encontradas, se puede concluir que los documentos muestreados, se encuentran en profundo estado de deterioro (sobre todo los del siglo XIX) y que en gran parte se debe a malas condiciones de almacenamiento, en este caso a Hr sumamente alta, a la que debieron estar expuestos los documentos de cada siglo, ya que en todos ellos se presentaron al menos una de las especies mencionadas.

9.2. Muestreo, aislamiento y distribución de las especies determinadas.

Observando el diagrama 1 donde se muestra la densidad relativa de las

colonias de hongos aisladas del muestreo general, en los siglos XVI, XVII, XVIII, XIX y XX, el número de colonias que se presentó es ascendente progresivamente con el tiempo, exceptuando a los documentos del siglo XVIII; esto comprueba lo propuesto por Barrow et al. (1964), Kowalik (1980) y Banks (1983) que establecen que el decremento en la calidad de la manufactura del papel a través de los siglos, hacen más susceptibles al biodeterioro a los documentos.

El hecho de que los materiales gráficos del siglo XVIII presentaron menor número de colonias que los del siglo XVII puede explicarse de acuerdo a diversos factores, quizá el más importante es que en los documentos de ese siglo, se empleó cloro en su fabricación; esta técnica ya conocida, deteriora a los documentos, pero tiene resultados magníficos en la eliminación de esporas en la materia prima (Santucci, 1983), otros factores difíciles de conocer, pero que pueden influir, son las condiciones climáticas en las cuales fueron almacenados estos documentos, que quizá fueron menos accidentadas, de cualquier manera sería interesante hacer un estudio profundo en los documentos del siglo XVIII a este respecto.

Evaluando las diferencias en cuanto al número de colonias por documento en cada siglo, usando para ello la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$), se puso en evidencia que hay diferencias significativas a nivel de cada siglo del muestreo general; por lo tanto, sí existen diferencias en cuanto al número de colonias encontradas en los documentos de acuerdo al siglo en que fueron elaborados.

El número de documentos muestreados que resultaron estar contaminados por el género Aspergillus, fue ligeramente alto (33%), este valor es de gran importancia como una primera referencia al respecto; es muy probable que su aparición frecuente, no se deba solamente a su ubicuidad, sino también a una participación más activa en el biodeterioro, lo cual se discutirá más adelante.

Para el número de colonias, en lo que respecta a la presencia cuantitativa del género en el muestreo, Aspergillus ocupó el segundo lugar con un 12.69% de densidad relativa (diagrama 2); en género Penicillium ocupó el primero con más de un 50%; estos datos concuerdan con lo propuesto por Nyuksha (1974). Algo muy parecido ocurrió en las densidades relativas del género en los documentos de

cada siglo, donde Aspergillus obtuvo valores muy semejantes a los obtenidos en el muestreo general, por lo que se puede establecer ya como un caso frecuente; exceptuando nuevamente a los documentos del siglo XVIII (diagrama 4), donde se encontró una densidad relativa de Aspergillus muy baja con respecto a los otros géneros encontrados, debido probablemente una vez más a la manufactura de los documentos de dicho siglo.

Del total de colonias de Aspergillus obtenidas en el muestreo, la densidad relativa que tuvieron por siglo, fue muy variada, obteniéndose los valores más altos para los documentos de los siglos XIX y XX, con esto se demuestra la preferencia del género por deteriorar estos papeles que, como se mencionó en la introducción, sus materias primas son de baja calidad, lo que favorece que Aspergillus habite más fácilmente en ellos, ya que no es un género fuertemente celulolítico (Reese y Downing, 1951). En esta cuantificación, nuevamente los documentos del siglo XVIII presentaron baja densidad relativa del total de colonias aisladas del género en todo el muestreo.

En el análisis del número de colonias aisladas en el muestreo a nivel de grupo (diagrama 5), A. fumigatus ocupó el primer lugar, seguido por A. niger en segundo; A. flavus y A. nidulans obtuvieron el tercero; el cuarto fue ocupado por A. wentii y el quinto por A. versicolor; con estos datos podemos establecer que los grupos A. fumigatus y A. niger, son los que tienen mayor número de colonias (densidad relativa) y mayor abundancia de muestras (frecuencia relativa) respectivamente. Todos los grupos encontrados, ya han sido citados anteriormente como deteriorantes del papel (Raper y Fennell, 1965; Flieder, 1969; Nyuksha, 1974; Orlita, 1977; Kowalik, 1980), por lo tanto no es muy diferente lo obtenido de los resultados de estudios similares realizados en otros países. Cabe señalar, que el grupo A. nidulans ocupó el tercer lugar del valor de importancia en el muestreo, esto es relevante ya que no concuerda con lo propuesto por algunos restauradores (Flieder, 1969; Paullada-Mena, 1982) que mencionan que no es muy frecuente su hallazgo en documentos deteriorados, otros ni siquiera lo mencionan; este hecho quizá pudiera explicarse con lo propuesto por Nyuksha (1974) y Kowalik (1980), quienes mencionan que la micoflora dominante de un papel deteriorado está determinada no sólo por su manufactura, sino también por los materiales en que es depositado y la atmósfera circundante.

Las especies más abundantes y frecuentes en el muestreo fueron A. brevipes,

A. nidulans, A. flavus, A. phoenicis, A. thomii y en el último lugar tenemos a A. foetidus, A. pulverulentus, A. tubigenensis, A. oryzae y A. speluneus con igual valor (diagrama 6). Es sorprendente otra vez, que la especie A. nidulans hay sido tan abundante en el muestreo (segundo lugar) ya que como se mencionó anteriormente, es citada ocasionalmente.

Cabe hacer notar, que solamente una cepa (A. flavus 810) se encontró en cámara húmeda, todas las demás fueron aisladas en el medio de cultivo de celulosa agar; estos resultados son importantes como indicadores de que Aspergillus y sus especies, no son productoras de la enzima C_1 , que degrada la celulosa nativa, como lo mencionan Reese y Downing (1951).

Los siglos que presentaron mayor diversidad de especies (diagrama 7) fueron el XIX y XX, seguidos por el XVII en segundo lugar, el XVI en tercero y el XVIII en cuarto; aún no se ha establecido si la cantidad de especies presentes en un documento está relacionada con la manufactura del papel; para poder determinarlo, sería necesario realizar más investigaciones al respecto; lo que sí se puede afirmar es que el hecho de que se presentaran más especies de Aspergillus en los documentos pertenecientes a los siglos XIX y XX nuevamente es por la calidad deficiente de su manufactura, que origina que diversas especies del género lo prefieran, pues además todas pertenecen a diferentes grupos en cada caso.

En la similitud entre la micoflora grupal y específica de Aspergillus entre los documentos de cada siglo (tabla 3), se puede observar que los valores obtenidos revelan que los documentos pertenecientes a los siglos XVIII-XVI y XX-XVI, son los que tuvieron una mayor similitud de Aspergillus a nivel grupal, seguidos por los siglos XVII-XIX y XVII-XX, todos ellos fueron bajos (0.66 y 0.57 respectivamente), lo cual demuestra que la similitud que puede existir entre ellos es relativamente poca; pero algo más drástico ocurrió a nivel de especie, donde se nota que no se parecen entre sí los documentos de los diferentes siglos, en cuanto a la micoflora, ya que los valores del índice de similaridad obtenidos fueron inferiores a 0.5 (exceptuando los siglos XX-XVII que fue de 0.57); de esto se desprende que los documentos elaborados en cada siglo, tienen su propia y característica micoflora a nivel específico de Aspergillus, dato que confirma y complementa lo establecido por Nyuksha (1974) quien menciona que los cambios en la estructura genérica de los hongos que

habitan en el papel, están ligados con el desarrollo de la industria papelera y poligráfica, con el incremento del consumo y la implantación de innovaciones en la organización de la conservación y uso del papel.

9.3. Prueba de biodeterioro en papel filtro.

El rango de % de pérdida de peso ocasionada por estas cepas en el papel, se encontró de 1.0 a 10.60%, con lo cual se propone una escala arbitraria para clasificar el comportamiento de los diferentes ejemplares con el fin de caracterizarlos con facilidad:

< de 3.5% ligeramente agresivo

3.5 - 7.0% agresivo

> de 7.0% altamente agresivo

tomando en cuenta la anterior clasificación (tabla 4), A. brevipes cepas 270 y 570 son ligeramente agresivas, por el contrario, la 450 fue agresiva (7%), con ello podemos observar que la capacidad deteriorante depende también de la cepa y no de la especie; el mismo caso ocurrió para A. nidulans.

La abundancia con la que se aisló A. brevipes fue proporcional al grado de destrucción que ocasiona en los documentos, ya que la 450 que fue la más agresiva, también presentó un alto valor de importancia en el muestreo (diagrama 6), estos datos concuerdan con lo propuesto por los autores (Nyuksha, 1974; Kowalik, 1980), que mencionan que el grupo y en particular la especie A. fumigatus, es potente destructora del papel; por el contrario, las cepas 270 y 570 mostraron agresividad ligera y bajos valores de importancia en el muestreo, por lo que sería recomendable hacer con ellas experimentos en altas temperaturas para ver si son cepas termófilas que ocasionen deterioro bajo estas condiciones. Kowalik (1980), registró manchados de colores gris, verde y café en documentos deteriorados originados por A. fumigatus; las alteraciones cromáticas que las cepas de A. brevipes ocasionaron en los documentos fueron diversas, desde la ausencia de coloración (cepa 570) hasta colores amarillo claro, beige a café claro (tabla 5).

Con respecto a la frecuencia y densidad relativa en el aislamiento, aunado al daño que ocasionó en el papel, A. brevipes (450) se ubicaría en el primer nivel ecofisiológico de ataque a los documentos y A. brevipes (270 y 570) en el

tercero.

El grupo A. niger la agresividad de las especies fue variada; siendo la más agresiva A. pulverulentus, agresiva A. phoenicis y ligeramente A. foetidus y A. tubingensis; con esto se aprecia la diversidad que tienen las especies del grupo en cuanto al deterioro que pueden ocasionar; por eso es de suma importancia realizar a nivel específico estas pruebas de caracterización fisiológica; ya que se ha creado confusión en los investigadores cuando se refieren al grupo (Reese y Downing, 1951; Gams, 1960).

En este grupo, el valor de importancia de cada especie en el muestreo, no fue proporcional a su agresividad; así tenemos que A. pulverulentus presentó baja densidad, pero alta agresividad; A. phoenicis fue agresivo y abundante, por lo cual ambos se ubicarían en el primer nivel ecofisiológico de ataque al papel; en lo referente a A. foetidus y A. tubingensis tanto su valor de importancia como su agresividad fueron ligeros, por lo que se proponen en el tercer nivel. Nyuksha (1974) clasificó a A. niger en el segundo nivel.

El manchado que ocasionaron en el papel, varió de acuerdo con la especie (tabla 5); hasta ahora se ha mencionado que A. niger no origina coloración que deteriore a los documentos (Flieder, 1969; UNESCO, 1969; Paullada-Mena, 1982), este fue el caso de A. foetidus y A. pulverulentus; pero A. phoenicis produjo en el papel manchas amarillo café y A. tubingensis de color café negro (lámina IX, fig. 1); es importante señalar esto, porque a pesar de que A. tubingensis sea ligeramente agresivo, es decir, el daño o alteración que causa en la resistencia mecánica de los documentos es baja, su nocividad se ve representada por las alteraciones cromáticas que ocasiona, las cuales son muy evidentes.

Las especies del grupo A. flavus, presentaron un comportamiento muy homogéneo, todas fueron agresivas; algunos autores han citado que A. flavus y A. oryzae son fuertemente celulolíticos (Reese, Downing, 1951; Gallo, 1963); estos datos concuerdan con el muestreo, en lo que respecta a A. flavus ya que fue la única cepa aislada en cámara húmeda. Tomando en cuenta su valor de importancia en el aislamiento y el grado de pudrición que ocasionan las cepas probadas, éstas quedarían incluidas en el segundo nivel ecofisiológico de ataque al papel, este dato es cercano a lo propuesto por Nyuksha (1974) para A. flavus, pero es nuevo para A. oryzae ya que el autor no la menciona.

Las especies del grupo A. flavus, provocaron manchados de color café y

amarillo en diversas tonalidades (lámina IX, figura 2), resultados que no concuerdan con los de Flieder (1969) y Paullada-Mena (1982), donde mencionan que la especie A. flavus, no ocasiona coloración; Eilias et al. (1978), registran que la pigmentación producida por A. oryzae es muy dañina para los documentos, pero no indican la coloración de estos manchados. Referente a los anteriores, se puede concluir, que las especies encontradas de A. flavus en este trabajo, son frecuentes y muy dañinas a los documentos.

Del grupo A. wentii, la especie A. thornii se encontró en un nivel ligero de agresividad y aunado con el valor de importancia que obtuvo en el muestreo general que fue relativamente alto, quedaría ubicado en el tercer nivel ecofisiológico de ataque al papel (tabla 6). De esta especie no se conoce nada acerca de su actividad deteriorante; solamente se registra a A. wentii con capacidad de separar levemente a los documentos y causar coloraciones rosa claro; Nykna (1974) la ubica en el segundo nivel ecofisiológico.

A. speluneus no era conocida como biodeteriorante, de su grupo, A. versicolor, solamente se conocían las especies A. sydowi y A. wentii (Pitt, 1951); la segunda se ubica en el segundo nivel ecofisiológico de ataque al papel (Nykna, 1974) y no se ha indicado qué manchados ocasiona en los documentos.

Debido que A. speluneus tuvo un comportamiento ligeramente agresivo en el deterioro de papel filtro, y a que junto con el valor de importancia que obtuvo en el muestreo (bajo), se ubicaría en el tercer nivel ecofisiológico de ataque a los documentos (tabla 6). Esta especie puede llegar a ser muy nociva en estos materiales, debido a las alteraciones cromáticas que ocasiona, que son de varios colores; naranja, rosado, amarillo (lámina IX, fig. 3).

Por último, las cepas de A. nidularis fueron de agresivas a altamente agresivas; hasta ahora solamente Flieder (1969) y Paullada-Mena (1982) lo registran en papeles antiguos, causando manchados de color café o beige. No se ha encontrado con frecuencia y tampoco se le ha dado ubicación en cuanto a su nivel de ataque. En la cepa 90, su valor de importancia fue proporcional a su agresividad (diagrama 8), por lo que se ubicaría en el segundo nivel (tabla 6); la cepa 160 tuvo un alto valor de importancia y se comportó de manera agresiva (diagrama 8), ubicándose en el primer nivel ecofisiológico de ataque al papel; la cepa 750 fue la más agresiva de las tres, pero su valor de importancia en el muestreo fue bajo, por lo que se ubicaría en el segundo nivel

de ataque. Las alteraciones cromáticas que provocaron fueron de color amarillo verdoso, amarillo y café claro respectivamente (tabla 5; lámina IX, fig. 4).

De este análisis ecofisiológico integrado de cada especie, se observó que el comportamiento es diferente a nivel de cada cepa. Generalmente aquellos hongos que presentaron bajos niveles de importancia en el muestreo, tuvieron capacidad de pudrición alta (A. pulverulentus y A. nidulans 750); por el contrario, aquellos con altos valores de importancia, presentaron ligera agresividad (A. flavus y A. monii); en algunos casos se observó una relación proporcional de ambas características (A. flavus var. columnaris y A. nidulans 90) (diagrama 8).

Por último se vió que existen cepas de Aspergillus que no son potentes destructoras de papel, tal es el caso de A. tubingenensis y A. speluncus, pero sin embargo el manchado que ocasionan en el papel es muy dañino (lámina IX), provocado probablemente por pigmentos secretados como metabolitos secundarios que Paper y Fennell (1965) mencionan que son del tipo de flavinas, quinonas, antraquinonas y xantonas. Por lo tanto, estas especies tienen una participación importante en el deterioro de materiales gráficos; dato que concuerda con Nyuksha (1974) quien menciona que la micoflora del papel, no solamente se compone de rigurosos destructores de la celulosa; Meynell y Newsam (1978), Hudson (1972) y Kowalik (1980) mencionan que las alteraciones cromáticas producidas por los hongos en el papel, no solamente están relacionadas con la actividad celulolítica, sino que también son el resultado de pigmentos secretados por el micelio como producto de su metabolismo.

Sería interesante realizar estudios más amplics, no sólo de un género y sus especies, sino de todas las especies deteriorantes de documentos en un archivo; para sí poder establecer niveles ecofisiológicos de ataque al papel más precisos, con datos cuantitativos y no meramente cualitativos (como los actuales), donde los parámetros a medir, sean los propuestos en este trabajo: valor de importancia de la especie x en el muestreo (%) + pérdida de peso ocasionado en el papel por la especie x (%) + daño cromático causado por la especie x (%) = Nivel ecofisiológico de ataque al papel de la especie x. El parámetro que se debe precisar y sobre el cual se deben hacer investigaciones para establecer cuantificaciones sería el daño cromático. Con esta fórmula el mayor valor obtenido para cada especie sería de 400%.

9.4. Efecto fungicida del propionato de sodio.

9.4.1. Diámetro de la colonia en medio de cultivo sólido. En el grupo A. fumigatus (tabla 7), se observó inhibición en 100,000 y 125,000 ppm de acuerdo con la cepa, resultando más susceptible la 450. Observando las gráficas 1, 3 y 5 del desarrollo micelial en la concentraciones empleadas, la fase exponencial resultó ser la más afectada, comparando con los testigos respectivos, originando así, que las concentraciones experimentales no igualen el diámetro de la colonia que presentó el control, aunado a esto, tuvieron una fase de adaptación muy pronunciada. De manera general, se puede plantear que A. brevipes es una especie ligeramente susceptible a las dosis ensayadas del compuesto.

Las especies del grupo A. niger (tabla 7) presentaron una inhibición entre 75,000 y 100,000 ppm (tabla 7), el primer comportamiento fue el más frecuente, ya que se observó en A. foetidus, A. phoenicis y A. pulverulentus; sin embargo A. tuoiuensis resultó ser la especie más resistente del grupo. En las gráficas 7, 9, 11 y 13, se puede apreciar que el efecto del compuesto empleado en el desarrollo micelial con respecto a los controles, fue muy evidente en todas las especies, ya que el diámetro colonial alcanzado a través del tiempo en los experimentales quedó muy por debajo de los testigos; la fase de adaptación es muy larga y la de aceleración sumamente lenta y muy corta, la exponencial no se presenta. El comportamiento de las especies de este grupo se puede considerar como altamente susceptible.

En las especies del grupo A. flavus, el rango de dosis letal experimental fue entre 125,000 a 150,000 ppm; A. flavus en la primera; A. flavus var. columnaris y A. oryzae en la segunda, por lo que A. flavus fue la especie más afectada. Los comportamientos diametrales con respecto a cada especie variaron ligeramente; en A. flavus (gráfica 15), la fase de aceleración y la fase exponencial de los experimentales se afectó de manera evidente, las colonias sometidas a 50,000 ppm, alcanzan los mismos diámetros que el control, esto no ocurre en 75,000 y 100,000 ppm. En A. flavus var. columnaris (gráfica 17) el comportamiento es similar, pero los experimentales nunca alcanzarán los diámetros coloniales del control. En A. oryzae (gráfica 19) ocurre lo mismo que en A. flavus (gráfica 15), la diferencia es que esta cepa sí se desarrolló a 125,000 ppm. De todo esto, se puede deducir, que las especies del grupo se

comportaron con alta resistencia al compuesto.

En el grupo A. wentii, del que sólo se trabajó con una especie (A. thomii), el rango de dosis letal experimental se encontró entre 100,000 y 125,000 ppm (tabla 6). En esta especie, el comportamiento diametral (gráfica 21), fue muy semejante al de A. flavus; la fase exponencial y la de aceleración fueron afectadas levemente en 50,000 ppm; originando por lo tanto, que a través del tiempo, alcanzara igual diámetro que el testigo. Así se puede considerar a esta especie como resistente a altas concentraciones de propionato de sodio.

En el grupo A. versicolor, la especie que se probó (A. speluneus) mostró un rango de dosis letal experimental entre 125,000 y 150,000 ppm (tabla 7). En cuanto al comportamiento diametral de la colonia (gráfica 23) fue muy variado de acuerdo con cada concentración; en 50,000 ppm, se presenta una fase de adaptación prolongada y la fase exponencial se ve afectada con respecto al tiempo, ya que el diámetro de la colonia queda muy por debajo del control; en la de 75,000 ppm, el crecimiento se inicia dos días después que el control, la fase de adaptación es muy larga, ya que dura alrededor de 5 días, es seguida de una fase exponencial muy corta que origina que la colonia tenga un diámetro inferior a la concentración de 50,000 ppm; por último, en la de 100,000 ppm, el crecimiento se retrasa dos días con respecto al control, pero su fase exponencial es más pronunciada que las colonias sometidas a 50,000 y 75,000 ppm, ocasionando por lo tanto, que tenga un mayor diámetro que las colonias de las concentraciones mencionadas, y quedando por debajo del control. Esta especie, se puede considerar como resistente a altas concentraciones, el crecimiento lento que presenta, probablemente le permite tener más oportunidad de adaptarse al fungicida.

En el grupo A. nidulans (tabla 8), el rango de dosis letal experimental se encontró entre 125,000 y 150,000 ppm. En las cepas 90 y 160, la concentración letal fue de 150,000 ppm; en la 750 (que fue la más susceptible) fue de 125,000 ppm. La respuesta diametral de la colonia fue muy semejante en las tres cepas (gráfica 25, 27 y 29), ya que en los experimentales se ve afectado el tiempo de crecimiento que se inicia de dos a trece días después del control, de acuerdo a cada concentración; la fase de adaptación se alarga y la fase exponencial es lenta; como consecuencia de ello, el diámetro de las colonias experimentales, siempre queda por debajo del control; exceptuando la cepa 90 (gráfica 25),

donde en la concentración de 50,000 ppm la colonia excede en diámetro a la del testigo, esto es ocasionado por una fase de aceleración muy pronunciada. Estas cepas pueden ser consideradas como resistentes al compuesto probado.

9.4.2. Germinación de esporas en medio de cultivo líquido. En esta prueba, se observó también, que el efecto del propionato de sodio en el % de germinación de esporas fue muy variado; en el grupo A. fumigatus (tabla 7), el rango de la dosis letal experimental varió de acuerdo con cada cepa; la más susceptible fue A. brevipes 570 con un rango entre 50,000 - 75,000 ppm; la siguiente A. brevipes 450 se encontró entre 75,000 - 100,000 ppm y la más resistente A. brevipes 270 con 125,000 - 150,000 ppm. En lo que respecta al comportamiento de la germinación de esporas a través del tiempo (gráficas 2, 4 y 6) los experimentales siempre estuvieron por debajo del control, debido principalmente a que se presentó una fase de adaptación de manera evidente; solamente no se cumplió en la cepa 450 en la concentración de 50,000 ppm que en el primer día la germinación fue ligeramente mayor al del control (gráfica 4); en el segundo día fue menor pero mayor que la de 75,000 ppm hasta el tercer día, donde su % de germinación estuvo por debajo del control y de 75,000 ppm; para la cepa 570 (gráfica 6), tampoco se vio afectada de manera evidente; solamente en el tiempo de germinación, ya que a 50,000 ppm germinaron un día después que el control, la fase exponencial fue muy pronunciada y en el tercer día alcanzó igual número de esporas germinadas que el testigo. Comparando estos resultados con los del crecimiento diametral de la colonia observamos una diferencia evidente, ya que a nivel de germinación de esporas la cepa 270 resultó ser la más resistente al compuesto y la 570 la más susceptible.

El comportamiento del grupo A. niger fue muy homogéneo, ya que todas las cepas presentaron un rango de dosis letal experimental entre 75,000 y 100,000 ppm (tabla 7). En la germinación de esporas con respecto al tiempo (gráficas 8, 10, 12 y 14) también la respuesta fue semejante; los experimentales de 75,000 ppm se retrasaron en el inicio de la germinación uno o dos días con respecto al control (gráficas 8, 10 y 14), exceptuando a A. pulverulentus; en las concentraciones de 50,000 ppm la germinación de esporas queda por debajo del control hasta el tercer día A. foetidus (gráfica 8) ó inclusive debajo de 75,000 ppm en

A. phoenicis (gráfica 10); o llega a igualarse con los testigos en el tercer día A. pulverulentus (gráfica 12) y A. turingensis (gráfica 14), esto debido a que a pesar de que el porcentaje de esporas germinadas en el primer día sea mucho menor que el control, la fase exponencial es muy pronunciada y con el tiempo se igualan las esporas germinadas con los controles. En estas especies la respuesta de la germinación de esporas también fue diferente a la del micelio, ya que las cepas más susceptibles fueron A. phoenicis y A. turingensis.

La respuesta de la germinación de esporas en el grupo A. flavus fue muy semejante entre A. flavus var. columnaris y A. oryzae (tabla 7), ya que la dosis inhibitoria se encontró entre 150,000 y 175,000 ppm, en cambio en A. flavus fueron menores las dosis, entre 125,000 y 150,000 ppm; por lo que las primeras fueron más resistentes al compuesto probado tanto en el crecimiento micelial como en la germinación de esporas. En lo que corresponde a la germinación de esporas con respecto al tiempo (gráfica 16, 18 y 20) todos los experimentales quedaron por debajo del control, exceptuando a A. flavus (gráfica 16) que tuvo un % de germinación ligeramente más alto que el control el primer día (esta diferencia no fue significativa); a pesar de ello, el control tiene una fase de aceleración más pronunciada lo que origina que supere a la concentración de 50,000 ppm; en la de 75,000 ppm el porcentaje de germinación fue inferior que los anteriores, la fase exponencial fue la más afectada en A. flavus (gráfica 18) y A. flavus var. columnaris (gráfica 20), sin embargo en A. oryzae se presenta una fase de adaptación muy pronunciada; en la concentración de 100,000 solamente en A. flavus se retrasa un día la germinación y las otras dos especies presentaron un porcentaje inferior a 10, por último, en 125,000 ppm en A. flavus var. columnaris y A. oryzae se retrasa un día la germinación y en A. flavus dos días. Solamente en la especie A. oryzae se presentó una ligera germinación de esporas en 150,000 ppm.

En A. thomii, del grupo A. wentii, también se presentó una inhibición en la germinación de esporas bajo concentraciones mucho más altas que las del micelio (tabla 7). En lo que respecta a la germinación de esporas de acuerdo al tiempo (gráfica 22) se observa que todos los experimentales quedan por debajo del control, y en ninguno ocurre el inicio de la germinación en días posteriores al testigo, inclusive en 150,000 ppm, colocándola como una especie altamente resistente al compuesto.

A diferencia de las especies anteriores, en A. speiuneus del grupo A. versicolor, la inhibición en la germinación de esporas (tabla 7) ocurrió en la misma concentración que la del micelio (125,000 a 150,000 ppm). En lo referente a la germinación con respecto al tiempo, todos los experimentales quedaron por debajo del control, y en 100,000 y 125,000 ppm se retrasó la germinación un día en comparación con el testigo. Las fases exponenciales y de aceleración, nuevamente fueron las más afectadas. Esta especie se puede considerar también como resistente al propionato.

En el grupo A. nidulans, el comportamiento de las cepas 90 y 750 fue similar, ya que inhibieron su germinación en un rango de 125,000 > 150,000 ppm, a diferencia de la 160 que fue aún más resistente 150,000 > 175,000 (tabla 7). En lo referente a su respuesta de acuerdo con el tiempo, varió ligeramente entre las cepas, ya que en A. nidulans 90 (gráfica 26) no se mostraron diferencias evidentes entre las concentraciones de 50,000, 75,000 y 100,000 ppm, quedando todas muy por debajo del control; la de 125,000, solamente se retrasó un día en iniciar la germinación con respecto a las demás. En A. nidulans 160 (gráfica 28), todos los experimentales quedaron por debajo del control al inicio de la germinación, pero en el tercer día las de 75,000; 100,000 y 125,000 superaron al control quedando por debajo de él la de 50,000 y 150,000 ppm. Esta cepa se puede considerar como altamente resistente. En A. nidulans 750, la respuesta fue muy semejante a otros grupos, ya que todos los experimentales quedaron por debajo del control y a 125,000 ppm se retrasó un día. En general, se puede establecer que las cepas probadas de este grupo son resistentes al compuesto.

En esta fase experimental, se observó en general, que las esporas fueron más resistentes al propionato de sodio que el micelio, esto es fácil de explicar tomando en cuenta que son estructuras de resistencia de acuerdo con Byrde (1966), dicho comportamiento podría obedecer a los mecanismos de defensa que presentan las esporas a los fungicidas o quizá al mecanismo de acción del propionato de sodio, donde Heseltine (1952), menciona que la acumulación de este compuesto en las células inhibe las enzimas del metabolismo, compitiendo con la alanina necesaria para el crecimiento.

La respuesta de los hongos tanto en el micelio como en las esporas al propionato de sodio, se puede clasificar en dos tipos; un decaimiento

exponencial, que se presentó en las especies del grupo A. niger, en donde con menores dosis se obtienen decrementos notables en el desarrollo del micelio; y por otra parte, un decaimiento de tipo lineal, que se presentó en los demás grupos, es decir, el efecto del propionato de sodio en estos procesos no es tan acentuado como en el caso anterior.

La dosis recomendable de propionato de sodio para controlar a Aspergillus spp., es de 150,000 ppm aunque algunas esporas sean capaces de germinar es muy probable que mueran. Sería recomendable, realizar experimentos con esta concentración, para establecer cuantas veces y por cuanto tiempo sería efectiva su aplicación en el papel, con el fin de poder proporcionar a los restauradores de documentos una "receta" para la "curación" de sus libros. La aplicación del compuesto probado en los documentos se realizarían en las pilas de aclarado y blanqueado de los mismos, trabajo básico que se realiza en cualquier departamento de restauración de un acervo de materiales gráficos.

Los resultados obtenidos se encuentran muy alejados de los propuestos por Riesgo et al. (1955) que reportan en sus ensayos una concentración de 750 ppm como inhibitoria del crecimiento de Aspergillus niger y Chaetomium sp.; aquellos obtenidos por Vargas et al. (1956) se encuentran un poco más cercanos, ya que mencionan para Chaetomium spp. la concentración adecuada "in vitro" inhibir el crecimiento del micelio fue de 100,000 ppm, lo cual ubica al género Aspergillus como más resistente al compuesto (exceptuando al grupo A. niger).

Para poder considerar la efectividad del propionato de sodio como un agente fungicida de hongos deteriorantes en el papel, deben establecerse aún más pruebas, como aplicarlo en otros géneros y especies de hongos y bacterias; realizar experimentos sobre el grado de afectación que cause en las características físicas y químicas del papel, así como también su efecto en las tintas y otros materiales relacionados con los documentos, hacer bioensayos con la concentración propuesta y aplicándola en el papel para observar su efectividad.

Por último, podemos considerar a las especies de los grupos A. flavus y A. nidulans como las más relevantes en este trabajo, ya que mostraron gran capacidad de destrucción en el papel y alta resistencia al fungicida probado.

10. CONCLUSIONES

1. El género Aspergillus ocupa el segundo lugar a nivel genérico como hongo frecuente y dañino en los documentos.
2. El 33% de los documentos muestreados resultó estar contaminado con Aspergillus.
3. Los documentos presentan una micoflora muy particular dependiendo de la época de su manufactura, los valores de índice de similitud indican esta diferencia.
4. Los documentos de los siglos XIX y XX fueron los que presentaron mayor número de colonias y mayor diversidad de especies del género Aspergillus.
5. Se citan por primera vez para la micobiota mexicana a A. brevipes, A. foetidus, A. phoenicis, A. pulverulentus, A. tubingenis, A. flavus var. columnaris, A. niger, A. speluneus y A. nidulans.
6. Todas las especies determinadas, exceptuando a A. flavus son nuevos registros para la micobiota deteriorante de papel en México.
7. Todas las especies determinadas son nuevos registros para la micobiota de documentos deteriorados a nivel mundial, exceptuando a A. flavus y A. nidulans.
8. Las especies aisladas de Aspergillus y su abundancia, revelan que los documentos de la galería 7 "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación, se encuentran en profundo avance de biodeterioro, probablemente debido a malas condiciones de almacenamiento, así como también tienen un alto grado de contaminación por hongos. Las especies determinadas lo indican.
9. El valor de importancia de las especies aisladas no siempre es directamente proporcional con la pérdida de peso que ocasionan los documentos.
10. Los grupos de mayor relevancia en el deterioro de documentos de la galería "Archivos Incorporados" del Archivo General de la Nación fueron: A. fumigatus, A. flavus y A. nidulans.
11. Existen hongos dentro del género Aspergillus que solamente deterioran documentos ocasionando alteraciones crónicas y no necesariamente degradación de celulosa, como es el caso de A. tubingenis.
12. La velocidad de crecimiento radial del micelio de los hongos probados, es muy variable en cada cepa, por lo cual no puede utilizarse como característica taxonómica determinante.

13. La germinación de las esporas fue inhibida a mayores concentraciones que el crecimiento del micelio.

14. La concentración adecuada para evitar el desarrollo de las especies de Aspergillus in vitro, fue de 150,000 ppm.

15. Las especies más susceptibles al propionato de sodio, fueron las del grupo A. niger, tanto en el crecimiento del micelio como en la germinación de esporas.

11. LITERATURA CITADA

- Aguilar, G. y C. Huitrón, C., 1988. Pectinasas de Aspergillus sp. Efecto de la fuente de carbono y pH sobre la pudrición de la actividad pectinolítica. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 7.
- Aguirre-Acosta, E. y M. Ulloa, 1982. Moños que se desarrollan en el estiércol de algunos ratones silvestres en México. Bol.Soc.Mex.Mic. 17:55-66.
- Alexopoulos, C. y C. Mims, 1979. Introductory Mycology. John Wiley & Sons. 3th. ed. New York, USA. 613 p.
- American Type Culture Collection, 1984. Catalogue of fungi/yeasts. Jong, S. C. & Gantt, M. J. Ed. 16th.
- Bainier, G., 1880. Sterigmatocystis et Nematogonium (3). Bull.Soc.Botan.France 27:27-31, Plate I, Figs. 2-5.
- Eanks, P., 1983. Los enemigos de los acervos. Memoria del I Seminario Internacional de Conservación de Documentos, Libros y Materiales Gráficos. Información de Archivos A.G.N. 20:9-26.
- Barrios, J. y S. Anaya, 1987. Desarrollo de un sistema para el estudio de la germinación de esporas de A. niger. Rev.Mex.Mic. 3:9-18.
- Barrow, W., Parr, E., Robertson, A., Sayiro, B., P. Streatman y P. Turner, 1964. Test data of naturally aged papers. W. J. Barrow, Research Laboratory Richmond. Virginia, USA. 48 pp.
- Basu, S., 1948. Fungal decomposition of jute fibre and cellulose I. A preliminary survey of commonly occurring species II. The effect of some environmental factors. J.Textile.Inst.39: T232-T237, T237-T248.
- Becerril, M., Acosta, G., Casasola, J., Rebora, F., Díaz, M., Velasco, C., Taylor, L. y C. Toriello, 1985. Investigación de la respuesta inmune a antígenos fúngicos en pacientes de un hospital de enfermedades respiratorias. Rev.Mex.Mic. 1: 211-226.
- Bessey, E., 1950. Morphology and Taxonomy of Fungi. Blakiston Philadelphia. 791 p.
- Billai, V., Y., Lizak, G., Novikova y E. Koval, 1978. Cellulolytic properties of fungi affecting works of graphic art. Mikrobiol. Zh. (Kiev) 40 (5) : 577-581.
- Brien, R. y R. Denne, 1945. Investigations into causes and control of moulds in

- state houses. New Zealand J. Sci. Technol 26 B: 174-181.
- Byrde, R., 1966. The vulnerability of fungus spores to fungicides (289-287) in: The Fungus spore. London, 338 pp.
- Cabello A., R. Flores, y M. Delgado, 1986 a. Obtención de biomasa fungica usando camote como sustrato en fermentación sumergida. Resúmenes del II Congreso Nacional de Micología: 8.
- _____, M. Sánchez y L. Popoca, 1986 b. Estudio básico de producción y caracterización del extracto pectinolítico de A. niger C-11. Resúmenes del II Congreso Nacional de Micología: 12.
- Calvini, P. y L. Santucci, 1978-79. Alcuni dati sugli effetti dell'irradiaziones gamma sulla carta. Boletín del ICPL: 35-55.
- Campos-Nieto, E., A. Cruz y J. Leyva, 1980. Dos casos de aborto porcino en una posible asociación con aflatoxina B₁. Bol. Soc. Mex. Mic. 14: 101-105.
- Carvajal, S. e I. Lomelí, 1983. Las escuelas papeleras en México. Información Científica y Tecnológica 5(67): 21-22.
- Corda, A., 1828-1854. Icones fungorum hucusque cognitorum. Vols. I-VI. Prague.
- 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.
- 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 21(4): 156-158.
- Dixon, B., 1985. Decomposition of filter paper cellulose by temophilic fungi acting singly, in combination, and in sequence. Trans. Br. Mycol. Soc. 85(4): 663-669.
- DeBary, A., 1854. Ueber die entwicklung und den zusammenhang von Aspergillus glaucus und Eurotium. Botan. Ztg. 12: 425-434; 441-451; 465-471.
- De la Cruz, R. y M. Robledo, 1986. Aislamiento de algunos hongos que atacan documentos en el Archivo General de la Nación II. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 121.
- Dessarkissian, M. y M. Goodberry, 1980. Experiments with nontoxic antifungal agents. Studies in Conservation 25(1): 26
- Dholakia, J. y H. Chhatpar, 1980. Control of some fungi capable of degrading cellulose and also water based poster colors. Int. Biodeterior. Bull.

- 16 (1): 17-21.
- Domsch, K., W. Gams, y T. Anderson, 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press. London.
- Euzeby, J., 1969. Cours de Mycologie Médicale Comparée. Les mycoses des animaux et leurs relations avec les mycoses de l'homme. Vigot Frères. Ed. Paris. 330 p.
- Fergus, C., 1969. The cellulotic activity of thermophilic fungi and Actinomycetes. Micologia 61: 120-129.
- Fischer, E., 1897. Plectascineae. In: A. Engler and K. Prantl. Die Natürlichen Pflanzenfamilien. Teil 1, Abt. 1, pp. 290-320. Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Flieder, F., 1969. La conservation des documents graphiques. Recherches expérimentales. Editions Eyrolles. Paris. 288 p.
- 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.
- Gams, W., 1960. Winter growth of fungi soil. A study of cellulolytic soil fungi with the cellophane strip method and with carboxymethyl cellulose. Sydowia 14: 288-294.
- García, D. y A. Rodríguez, 1988. Efecto de una benzoquinona (perezona) en el crecimiento de tres hongos con capacidad celulolítica. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 124.
- 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-Flores, 1985. Aspergillus flavus y aflatoxinas en el maíz del Distrito Federal. Rev. Mex. Mic. 1: 189-199.
- _____ y _____, 1988. Ajuste de la binomial negativa a la distribución del género Aspergillus aislado de granos de maíz. Rev. Mex. Mic. 4: 201-204.
- Garret, S., 1980. Colonization of unsterilized filter paper by cereal rot fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 74 (2): 259-263.
- Haines, J. y S. Kohler, 1986. An evaluation of Ortho-phenyl-phenol as a fungicidal fumigant for archives and libraries. JAIC 25: 49-55.
- Heredia, G. y M. Ulloa, 1982. Estudio comparativo de los mohos de la rizosfera

- de espinaca y del suelo adyacente. Resúmenes del I Congreso Nacional de Micología: 36.
- Herr, D., G. Luck y H. Dellweg, 1978. Formation of cellulases and degradation of cellulose by several fungi. J. Ferment. Technol. 56 (4): 273-278.
- Hudson, H., 1972. Fungal Saprophytism. Studies in Biology 32. Arnold Publisher. London.
- Huerta, L., J. Cueva y R. Góñez, 1971. Aspergilosis y asma bronquial. Alegria 19: 25-36.
- Jermyn, M., 1952. Fungal cellulases. I. General properties of unpurified enzyme preparations from Aspergillus oryzae. Australian J. Sci. Research. Ser. B. 5: 409-432, 433-443.
- Jungermann, P. y R. Schwartzman, 1977. Micología Médica Veterinaria. CECSA. 1a. ed. México, D. F. 240 p.
- Jong, S. y M. Gantt (Eds.), 1934. Catalogue of fungi/yeasts. American Type Culture Collection. 16th. Ed.
- Khadzhieva, L. y T. Khristov, 1974. Fungistatic properties of some desinfectants. Abstr. Bull. Inst. Pap. Chem. 45 (6): 599.
- Koiman, P., 1957. Some properties of cellulase of Myrothecium verrucaria and some other fungi II. Enzymologia 18: 371-384.
- Kowalik, R., 1980. Microbiodegradation of library materials II. Restaurator 4 (4): 135-219.
- Krebs, C., 1978, . Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance. Harper & Row. New York. 678 p.
- Lappe, P. y M. Ullica, 1982. Estudios microbiológicos del tesguino tarahumara I. Micoflora del maíz utilizado en su elaboración. Resúmenes del I Congreso Nacional de Micología: 81.
- Link, H., 1809. Observaciones in ordines plantarum naturales. Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin, Magazin 3: 1-42.
- Martínez-Flores, R., R. Alvarez y G. García, 1988. Micoflora y Aflatoxinas en mantequilla de cacahuete. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 112.
- Merck, Index the, 1976. 9th. edition. Merck Co. Inc. Rahway. New York.
- McCallan, A., 1947. Biossay of agricultural fungicides. Contrib. Boyce.

- Thompson. Inst. 2: 23-33.
- Meynell, C. y R. Newsam, 1978. Foxing, a fungal infection of paper. Nature 274: 466-468.
- Micheli, P., 1729. Nova plantarum genera juxta Tournefortii methodum disposita. Florence. 234 p.
- Mikhnovskaya, N., 1979. Methods of evaluating the quality of fungicidal paper. Abstr. Bull. Inst. Pap. Chem. 49 (9): 734.
- Montagne, J., 1856. Syloque generum specierunqae cryptogamarum. Pp. 257-258, 300-301. París.
- Montúfar, C. y M. Jiménez, 1986. Producción de ácido glucónico por A. carbonarius 8740 ATCC y obtención de una mutante sobreproductora. Resúmenes del II Congreso Nacional de Micología: 11.
- Moore-Landecker, E., 1972. Fundamentals of the fungi. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New York. 482 p.
- Moreno, E., 1979. Efecto de los hongos de almacén sobre la viabilidad de las semillas de maíz y soya. Bol. Soc. Mex. Mic. 13: 195-203.
- _____, 1988. Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. UNAM. 1a. ed. México, D. F. 109 p.
- _____, J. Ramírez y C. Márquez, 1985. Almacenamiento hermético de semillas de maíz tratadas con fungicida. Rev. Mex. Mic. 1: 301-308.
- Moretti, C., L. Lelo, M. Prieto y G. Zepeda, 1988. Detección de la micobiota en lienzos del Museo Nacional del Virreinato en Tepotzotlan. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 122.
- _____, y M. Robledo, 1985. Estudio de hongos celulolíticos en el AGN. Memoria del II Seminario de Documentos, Libros y Materiales Gráficos (CODOLMAG). Información de Archivos 26: 75-77.
- _____, y _____, 1988. Aislamiento de hongos del aire en el Archivo General de la Nación en México, D. F. Rev. Mex. Mic. 4: 145-152.
- Nava-Rodríguez, V., G. Vidal-Gaona, C. Pérez-Reyes y M. Robledo, 1983. Efecto de diferentes sustancias en el desarrollo de algunas especies de hongos de granos almacenados. Bol. Soc. Mex. Mic. 16: 85-93.
- Neill, J., 1939. The mould fungi of New Zealand II. The genus Aspergillus. Trans. Proc. Roy. Soc. New Zealand 69: 237-264.

- Myuksha, J., 1974. Paper inhabiting fungi. Mikol. Fitopatol. 8 (4): 306-311.
- _____, L. Kossior y L. Karpenko, 1980. Correlation between cellulase activity of fungi and the method of chemical treatment of fibers in paper. Mikol. Fitopatol. 14 (2): 104-111.
- Olivas-Enriquez, E., O. Alatorre-Hernández, L. Varela y G. Guzmán, 1975. Identificación y control de los hongos que atacan las naranjas almacenadas. Bol. Soc. Mex. Mic. 9: 17-30.
- Orlita, A., 1977. The Occurrence of Fungi on Book Leather bindings from the Baroque Period. Int. Biodeterior. Bull. 13 (2): 45-47.
- Paullada-Mena, M., 1982. La Conservación preventiva de los materiales de archivo (Tesis Profesional). Información de Archivos A.G.N. 15: 1-253.
- Pérez-Morales, J. V., L. M. Pinzón-Picaseño y R. Echenique-Manrique, 1977. Ensayo de laboratorio sobre la resistencia natural de la madera de especies tropicales mexicanas al ataque de los xilófaos. Bol. Soc. Mex. Mic. 11: 99-109.
- Pérez, A. y C. Toriello, 1988. Obtención de antígenos de Aspergillus para el diagnóstico serológico de la aspergilosis. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 81.
- Persoon, C., 1797. Tentamen dispositionis methodica fungorum in clases ordines genera et familias cum supplemento adjecto, 8, IV, 76 p. Leipzig.
- _____, 1801. Synopsis methodica fungorum. Pts. I, II. Pp. 692-694. H. Dieterich, Göttingen.
- Pinzón-Picaseño, L. M., G. López, F. Velaz y J. Martínez, 1978. Métodos para el estudio de los hongos xilófaos como organismos degradadores de la madera.
- Pirogova, L. I., Zimina y L. Zosim, 1975. Fungicidal Activity of food packaging paper. Austr. Bull. Inst. Pap. Chem. 48 (10): 1061.
- Pitt, J., 1981. Food Spoilage and Biodeterioration. In: Biology of conidial fungi II. Academic Press. New York. 659 p.
- Ramírez, R., 1912. Enfermedades de los maqueyes. Bol. Dir. Gen. Agric. 1: 56-60.
- _____, y D. Fennell, 1965. The Genus Aspergillus. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. 666 p.
- Raper, K., 1957. Nomenclature in Aspergillus y Penicillium. Mycologia 49: 644-662.

- Raper, K., y D. Fennell, 1965. The Genus Aspergillus. The Williams & Wilkins Company. Baltimore, 686 p.
- Raper, J. y C. Thom, 1944. New Aspergilli from soil. Mycologia 36: 555-575.
- Raulin, J., 1863. Etudes chimiques sur la végétation des Mucedinées. Compt. Rend. 57: 228.
- Reese, E. y H. Downing, 1951. Activity of the Aspergilli on cellulose derivatives, and wool. Mycologia 43: 16-28.
- _____, H. Levinson, H. Downing y W. White, 1950. Quartermaster Culture Collection. Fariowia 4: 45-86.
- Reyes, J. y J. Castillo, 1981. Micromicetos de la rizosfera del sorgo. Bol. Soc. Mex. Mic. 15: 5-8.
- Riesgo, E., G. Sánchez, A. Weckmann y C. Moretti, 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. Ciencias, UNAM: 4.
- Robinson, P., 1978. Practical Fungal Physiology. John Wiley & Sons. 123 p.
- Robledo, M., 1966. Aislamiento y Descripción de Chaetomium spp. en documentos del Archivo General de la Nación. (Tesis Profesional). Fac. de Ciencias, UNAM. 124 p.
- _____, 1988. Nuevos Registros de Ascomicetos microscópicos en México. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 12.
- _____, y J. Cifuentes, 1966. Nuevos Registros del Género Chaetomium (Chaetomiaceae) en México. Rev. Mex. Mic. 2: 279-296.
- _____, y C. Moretti, 1966. Aislamiento de algunos hongos que atacan documentos en el AGN. Rev. Mex. Mic. 2: 279-296.
- Rosas I. y C. Calderón, 1986. Hongos del aire aislados del agua de lluvia colectada en la Cd. de México. Resúmenes del II Congreso Nacional de Micología: 102.
- 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 I Congreso Nacional de Micología: 55.
- _____, _____, _____ y V. González, 1986. Correlación entre aislamientos de hongos causantes de alergia y presencia de alergias clínicas en pacientes pediátricos. Resúmenes del II Congreso Nacional de Micología: 14.

- Sadurska, I. y R. Kowalik, 1968. Fungi preventive for Archival Papers. Bol. del IPL 27 (1-2): 37.
- Samaniego, J., M. Ulloa y T. Herrera, 1988. Micobiota del suelo en huertas de nogal atacadas por Phymatothicum omnivorum en Cohauila, México. Rev. Mex. Mic. 4: 43-57.
- Santucci, L., 1983. Insecticidas y Fungicidas para Libros y Documentos. Tratamiento y sus efectos.1 Memoria del I Seminario Internacional de Conservación de Documentos, Libros y Materiales gráficos. Información de Archivos 20: 42-57.
- Shah, K. y H. Chhatpar, 1980. Biodegradation of paper bags by Aspergillus y Mucor species. Current Science 40 (2): 65-67.
- Sharp, R., 1978. Investigative Mycology. Heinemann Educational Books. Great Britain. 1th. Ed. 136 p.
- Sharville, G., 1969. Chemical control of Plant Disease. Prestige Press, Texas.
- Simpson, M. y P. Marsn, 1959. The decomposition of cellulose in cotton fibre by the black Aspergilli. Plant Disease Repr. 43: 1042-1047.
- Smith, G., 1938. Ecology and Field Biology. Harper & Row. Nueva York. 535 p.
- Solís, S. y C. Huitrón, 1988. Obtención de mutantes de Aspergillus sp. hiperproductoras de pectinasas extracelulares. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 145.
- Sosa, L., F. Gutiérrez, P. Ramírez, A. Obregón, N. Ramírez, F. Anéquito, V. Rodríguez y D. García, 1988. Utilización de hongos como bioabsorbentes de metales pesados. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 135.
- Steel, R. y J. Torrie, 1981. Biostatística: Principios y Procedimientos. 2a. ed. Mc.Graw-Hill. 622 p.
- Tamiya, H. y S. Morita, 1929-1930-1931. Bibliographic von Aspergillus 1729 bis 1928. Mag. (Tokyo) 43 (1906) - 44 (1924).
- Thakre, R. y B. Jhri, 1980. Degradation of Natural Cellulose by thermophilic and thermotolerant fungi. Acta. Bot. Indica, 8 (1): 45-49.
- Thom, C. y M. Church, 1926. The Aspergilli. Williams & Wilkins. Baltimore. 272 p.
- _____ y K. Raper, 1945. A Manual of the Aspergilli. Williams & Wilkins. Baltimore. 373 p.
- Toriello, C., F. Pébora, M. Días y L. Taylor, 1986. Criterios para el

- diagnóstico de Aspergilosis y Candidosis Sistémica. Rev. Mex. Mic. 2: 217-225.
- Ulloa, M., 1974. Mycofloral Succession in Pozol from Tabasco, México. 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.
- Vargas, G., M. Robledo y R. González, 1968. Efecto del propionato de sodio en Chaetomium spp. que deterioran documentos. Resúmenes del III Congreso Nacional de Micología: 119.
- Velasco, C. y J. Tay, 1975. Micología para estudiantes de Medicina. Fac. de Medicina, Departamento de Ecología Humana, UNAM. México, D. F. 85 p.
- Vidal-Gaona, G., 1982. Aislamiento e Identificación de hongos a partir de cereales industrializados destinados al consumo humano. Resúmenes del I Congreso Nacional de Micología: 42.
- Webster, J., 1980. Introduction to fungi. 2th. ed. Cambridge University Press. London. 669 p.
- Whener, C. y H. Hanover, 1901. Die pilzgattung Aspergillus in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung. Mém. Soc. Phys. Hist. Nat. Gêneve, 33 (2): 1-57.