



PIGMENTOS SINTETIZADOS POR HONGOS NEGROS Y SU IMPACTO EN EL DETERIORO DEL PATRIMONIO DOCUMENTAL EN PAPEL

PIGMENTS SYNTHESIZED BY DARK FUNGI AND THEIR IMPACT ON THE DETERIORATION OF DOCUMENTARY HERITAGE ON PAPER

Daniela S. Nitíu^{1,2*} , Andrea C. Mallo^{1,3}  y Mario C. N. Saparrat^{2,4} 

1. Cátedra de Palinología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. Calle 64 N° 3 CP 1900. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

2. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONICET), Argentina.


3. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, (CIC, PBA) Argentina.


4. Instituto de Fisiología Vegetal, Cátedra de Microbiología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata. Instituto de Botánica Carlos Spegazzini, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina

*danielanitíu@yahoo.com.ar

Citar este artículo

NITÍU, D. S., C. MALLO & M. C. N. SAPARRAT. 2022. Pigmentos sintetizados por hongos negros y su impacto en el deterioro del patrimonio documental en papel. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 57: 169-184.

 DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v57.n2.36580>

Recibido: 10 Feb 2022
Aceptado: 21 May 2022
Publicado impreso: 30 Jun 2022
Editor: Leopoldo Iannone 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: Paper documents stored in libraries may show signs of deterioration caused by the activity of different fungi. The main fungal dyes that aesthetically deteriorate this substrate and affect the cultural heritage on cellulosic support are dark pigments or melanins. The aim of this work is to provide an updated overview of the state of the art of black fungi that colonize paper and the melanins that they synthesize.

M&M: A bibliographic search was carried out on the dark pigments that synthesize different black fungi that deteriorate paper. 74 specialized papers on the subject were analyzed.

Results: Knowledge about the diversity and characteristics of the dark pigments that are synthesized by the black fungi that deteriorate paper is key to developing prevention and remediation strategies to eliminate these pigments from cellulosic supports with heritage value. This work presents information on: black fungi that deteriorate paper, types of melanins that can be synthesized, structures where they accumulate, and their contribution to aesthetic deterioration.

Conclusions: This knowledge serves as the basis for developing new restoration strategies that could be effective and sustainable and that ensure the preventive conservation of historical documents and works of art on paper.

KEY WORDS

Biodeterioration, conservation, melanins, black fungi, paper.

RESUMEN

Introducción y objetivos: Los documentos en papel custodiados en bibliotecas pueden mostrar signos de deterioro causados por la actividad de diferentes hongos. Los principales colorantes fúngico que deterioran estéticamente este sustrato y afectan al patrimonio cultural en soporte celulósico constituyen los pigmentos oscuros o melaninas. El objetivo del presente trabajo es brindar un panorama actualizado del estado de arte de los hongos negros que colonizan papel y las melaninas que sintetizan.

M&M: Se realizó una búsqueda bibliográfica sobre los pigmentos oscuros que sintetizan diferentes hongos negros que deterioran papel. Se analizaron 74 trabajos especializados en el tema.

Resultados: El conocimiento sobre la diversidad y las características de los pigmentos oscuros que son sintetizados por los hongos negros que deterioran papel es clave para desarrollar estrategias de prevención y remediación para eliminar estos pigmentos de soportes celulósicos con valor patrimonial. Este trabajo presenta información sobre: hongos negros que deterioran papel, tipos de melaninas que pueden sintetizar, estructuras donde se acumulan, y su contribución en el deterioro estético.

Conclusiones: Este conocimiento sirve de base para desarrollar nuevas estrategias de restauración que pudieran ser efectivas y sustentables y que aseguren la conservación preventiva de documentos históricos y obras de arte en papel.

PALABRAS CLAVE

Biodeterioro, conservación, melaninas, hongos negros, papel.

INTRODUCCIÓN

La pigmentación de los hongos que deterioran el papel se debe a la síntesis de varios tipos de pigmentos y moléculas cromóforas como carotenoides, melaninas, flavinas, fenazinas, quinonas, monascinas, violaceína e índigo (Melo *et al.*, 2019; Rao *et al.*, 2017). Aunque el rol de la mayoría de estos pigmentos en la biología de sus productores sigue siendo desconocido, se sabe que muchos de ellos pueden acumularse en esporas, micelio y/o difundir al sustrato que colonizan (Gmoser *et al.*, 2017; Mallo *et al.*, 2017). Entre estos pigmentos fúngicos, las melaninas son los más problemáticos para los documentos en papel y las obras de arte, no solo por su coloración oscura, alta frecuencia y estabilidad química, sino también porque son los más difíciles de remover de la superficie del papel sin afectarlo (Melo, 2017).

Las melaninas también son biológicamente más relevantes que otros pigmentos fúngicos porque brindan protección a los hongos contra el estrés térmico, la radiación y la desecación, condiciones ambientales que son características en los repositorios de los museos que resguardan documentos patrimoniales en papel. Es conocido, que las melaninas son importantes para la supervivencia y la viabilidad de los propágulos de muchos hongos negros (Bell & Wheeler, 1986; Saparrat *et al.*, 2009). La naturaleza recalcitrante de las melaninas, su inmovilización en la pared de los hongos negros que colonizan papel, así como su asociación con diferentes componentes de la matriz celulósica del sustrato condujo a considerar a estos pigmentos como posibles agentes etiológicos del deterioro estético de libros y otros documentos en papel. Además, ellas han sido consideradas responsables de la generación de manchas coloreadas en el papel que comúnmente se denominan manchas foxing (https://www.si.edu/mci/english/learn_more/taking_care/mnm.html; Melo, 2017). Por lo tanto, comprender cómo los hongos negros, que sintetizan las melaninas, pueden contribuir al deterioro estético del papel, es clave para mejorar la durabilidad del patrimonio cultural en este tipo de soporte, buscando desarrollar estrategias sustentables de restauración que sean efectivas y/o que puedan minimizar la colonización del papel con hongos pigmentados y así evitar uno de los factores adjudicados al proceso de foxing.

El objetivo de este trabajo es brindar un panorama actualizado del estado de arte de las melaninas sintetizadas por hongos que colonizan papel, su localización en estructuras fúngicas específicas y su posible rol en el deterioro estético del papel o de otros materiales fabricados a base de papel que forman parte de varios bienes patrimoniales. Esta información es fundamental para establecer estrategias de manejo para la preservación y conservación de documentos históricos en papel que están expuestos a hongos negros celulolíticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda bibliográfica de la información actualizada y disponible sobre los pigmentos oscuros que sintetizan diferentes hongos negros que deterioran soporte celulósico, en especial documentos en papel. Para ello, se consultaron las bases de datos “Google académico” (<https://scholar.google.com>), “Scopus” (<https://www.scopus.com>) y “Scielo” (<https://scielo.org/es>) en busca de publicaciones referidas a estudios micológicos en obras antiguas de interés patrimonial en soporte papel, que han sido atacadas por hongos melanizantes. Se ha indagado acerca de los tipos de melaninas encontrados en dichos estudios y su localización en las estructuras fúngicas.

Por otro lado, se consultó <http://www.mycobank.org/> con el objeto de verificar la nomenclatura de los principales hongos que sintetizan melaninas. Se analizaron los resultados obtenidos a partir del relevamiento en 74 trabajos, siendo, la mayoría de ellos de reciente publicación en revistas nacionales e internacionales.

RESULTADOS

Hongos negros asociados al deterioro del patrimonio cultural del papel

De acuerdo con el concepto ecológico de Boddy e Hiscox (2016), la composición y la estructura de la microbiota que deteriora el papel está condicionada por los factores ambientales locales a los que está expuesto este sustrato susceptible al ataque de hongos celulolíticos, incluidas sus variaciones estacionales, y el conjunto de diásporas disponibles. Específicamente, las especies que

potencialmente pueden colonizar al papel, llegan del ambiente inmediato como esporas u otros propágulos y se establecen inicialmente sobre su superficie y en muchos casos colonizan la matriz compleja de su estructura. El éxito de la colonización que cada hongo tiene en este tipo de sustrato biodegradable depende también de la capacidad fúngica para persistir en dicho sustrato y poder desarrollar estructuras de reproducción y/o dispersión. Asimismo, ello está condicionado por el espectro de compuestos carbonados que puede utilizar cada hongo, así como por la tasa de crecimiento y su habilidad para aprovechar compuestos integrantes del sustrato a través de la síntesis de diferentes clases de enzimas, lo que a la vez depende del tipo de estrategia que cada hongo utiliza para hacer frente al entorno que habita (Boddy e Hiscox, 2016).

Varios hongos negros deterioran el patrimonio cultural en soporte papel a través de su actividad metabólica sobre la celulosa y otros componentes no celulósicos del papel, como aglutinantes, rellenos, aprestos y adhesivos (Bhardwaj & Bhatnagar, 2002). Estos hongos generan alteraciones en la matriz del papel debido a su capacidad para atacar los componentes del papel y/o generar efectos estéticos deletéreos en el soporte debido a la síntesis de pigmentos oscuros. Sin embargo, la característica distintiva y común a todos estos hongos negros es la presencia de melanina en sus paredes celulares y/o en su entorno inmediato, que le proporciona el color oscuro a sus esporas e hifas (Bárcena *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2018). Se cree que esta característica fenotípica convergente de estos hongos está relacionada principalmente con adaptaciones a condiciones ambientales adversas, ya que, como se mencionó anteriormente, la producción de melanina se considera necesaria para la protección contra el estrés ambiental. De hecho, se sabe que, al crecer en condiciones de estrés, muchos hongos sintetizan varios metabolitos secundarios, entre ellos la melanina (Calvo *et al.*, 2002), cuya producción se favorece en un crecimiento poco óptimo. Es probable que este pigmento oscuro confiera una ventaja de supervivencia al proteger a los hongos contra diferentes factores limitantes como los rayos UV, la radiación solar y el bajo potencial hídrico (deseccación) (Dadachova *et al.*, 2007; Toledo *et al.*, 2017).

Asimismo, varios hongos negros que colonizan papel pueden ser agentes etiológicos de enfermedades en humanos como feohifomicosis, infecciones cutáneas, alergias y otras enfermedades respiratorias graves (Ferrandez-Pulido *et al.*, 2019), hecho que aumenta el impacto negativo que pueden tener estos hongos. Además, la manipulación de objetos de papel contaminados con estos hongos puede constituir un grave riesgo para la salud, porque muchos de ellos pueden ser patógenos y/o toxicogénicos, incluso si ya están muertos (Pinheiro *et al.*, 2011). En concreto, muchos hongos disponibles como esporas oscuras en el aire, como los pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Scopulariopsis* y *Rhizopus*, han sido registrados en altas concentraciones en varias instituciones que conservan documentos patrimoniales y, por tanto, son una posible causa de enfermedades respiratorias y alergias (Lacey & West, 2006; Mesquita *et al.*, 2009).

Algunas estructuras pigmentadas que están asociadas con el micofilm desarrollado en papel corresponden a esporas y otras diásporas que contribuyen a la dispersión de los hongos que las diferencian. Asimismo, varias estructuras de coloración oscura de origen vegetativo, como hifas monilioides y esclerocios, así como también estructuras de reproducción sexual, como ascomas, cleistotecios, o peritecios, se inmovilizan sobre el papel (Fig. 1.), sin embargo, varios de estos hongos no se han reportado ampliamente en este tipo de soporte debido a la dificultad para detectarlos o aislarlos en cultivo (Quan *et al.*, 2019). Por lo tanto, el grupo denominado “hongos pigmentados oscuros o melanizados” es un ensamble amplio que incluye a representantes filamentosos negros, levaduras negras, hongos meristemáticos y hongos pigmentados microcoloniales (Staley *et al.*, 1982). Todos estos hongos comparten características macro y / o micromorfológicas relacionadas con su pigmentación oscura típica y también se denominan hongos dematiáceos (Ellis, 1971, 1976). Las coloraciones de estos hongos pueden variar porque las melaninas fúngicas pueden ser de color marrón, verde, púrpura o negra, lo que es dependiente de su estructura química (Frandsen *et al.*, 2016; Toledo *et al.*, 2017). Además, este grupo fenotípico incluye representantes de diferentes clados filogenéticos (Ruibal *et al.*,

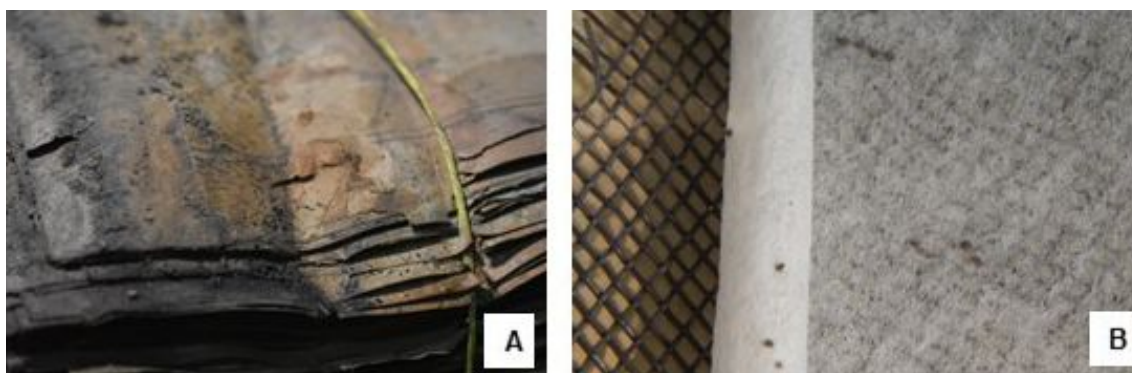


Fig. 1. Presencia y desarrollo de hongos que sintetizan melaninas en papel. **A:** Deterioro estético causado por la actividad de hongos pigmentados. **B:** Observación directa de desarrollo de *Chaetomium* sp. en papel de abacá.

2008). Los hongos negros que colonizan papel pertenecen en su mayoría al phylum Ascomycota, incluyendo específicamente los ubicados en los órdenes Capnodiales (Cladosporiaceae), Dothideales (Dothioraceae), Eurotiales (Aspergillaceae), Hypocreales (Hypocreaceae, Nectriaceae, Stachybotryaceae), Microascales (Micropoascaceae), Pleosporales (Pleosporaceae, Didymellaceae y otros insertae sedis) y Sordariales (Chaetomiaceae). Estos, presentan una baja tasa de crecimiento, un comportamiento de tipo xerofílico y una estrategia ecológica de vida condicionada por el estrés. Sin embargo, también existen otros hongos que colonizan el papel que producen esporas oscuras, pero son menos frecuentes, como algunas especies de crecimiento rápido del phylum Mucoromycota (Mucorales) y algunas de Basidiomycota (Polyporales). El conocimiento actual de los hongos negros y de otros hongos que sintetizan melaninas asociadas con papel, ha sido documentado en diversos trabajos de investigación nacionales e internacionales sobre patrimonio cultural que se resume en la Tabla 1.

Los hongos colonizan el papel ya sea penetrando la matriz de microfibrillas o creciendo superficialmente para obtener los nutrientes disponibles. Pueden ser incluso utilizados como vector/soporte para la diferenciación de estructuras reproductivas y como vehículo de dispersión de sus propágulos (Pinzari & Montanari, 2011; Szczepanowska & Cavaliere, 2012). Varios de

estos hongos negros que crecen lentamente sobre el papel se caracterizan por una baja capacidad competitiva y una naturaleza oligotrófica. Esto se ha relacionado con la conservación de energía y la limitación de ciertos nutrientes, necesarios para la supervivencia en este tipo de sustrato, que tiene escaso aporte de nutrientes y bajo nivel de nitrógeno. Sin embargo, algunos hongos tienen la capacidad de reciclar nitrógeno (Franco *et al.*, 2018). Algunos otros, como *Aureobasidium pullulans* y especies de *Cladosporium*, pueden obtener nutrientes del polvo, de gases atmosféricos y compuestos volátiles, prevalecen donde la humedad relativa excede el 75%, y no necesariamente utilizan al papel que están colonizando como sustrato (Wainwright *et al.*, 1993).

Las hifas de hongos celulolíticos que colonizan papel ejercen un efecto mecánico y generan un microambiente en la trama del papel que facilita el acceso de otros microorganismos que no son celulolíticos. Entre ellos, los hongos mucoráceos y diferentes bacterias pueden a la vez ser formadores de biopelículas (Calvo *et al.*, 2017). Este proceso secuencial se ve favorecido por la disponibilidad extracelular de compuestos orgánicos solubles generados principalmente por la actividad metabólica de los hongos celulolíticos y por una mayor retención de humedad en el soporte atacado (Mallo *et al.*, 2017). Sin embargo, cuando los factores ambientales a los

Tabla 1. Hongos que sintetizan melaninas, antecedentes de sustrato y fuente de aislamiento en los que han sido registrados por la bibliografía, tipos de melaninas, localización y referencia bibliográfica. Referencias: * a, phylum Ascomycota; b, phylum Basidiomycota; c, phylum Mucoromycota.

Nombre válido del hongo, sinónimo o nombre no válido y familia de acuerdo a Mycobank web site: http://www.mycobank.org/ *	Sustrato, fuente de aislamiento y referencias	Tipo de melanina	Localización	Bibliografía (melaninas y localización)
<i>Alternaria alternata</i> ^a (Pleosporaceae)	Documentos del Archivo de la Universidad de Coimbra, Siglo VII. Mesquita et al. 2009	Melanina DHN. Probablemente feomelaninas.	Conidios y micelio (DHN-melanina). Medio extracelular (phaeomelaninas).	Hu <i>et al.</i> , 2012
<i>Alternaria atra</i> ^a (<i>Ulocladium atrum</i> , Pleosporaceae)	Cinco tipos de papel en libros del siglo XIX. Rakotonirainy et al, 2007	Melanina (con bajo grado de condensación y aromaticidad).	Biomasa (micelio) de cultivos líquidos.	Almendros <i>et al.</i> , 1985
<i>Alternaria atra</i> ^a (<i>Ulocladium atrum</i> , Pleosporaceae)	Pinturas y barnices, papel y papiros, papel perjurado y papel de pulpa de madera. Falkiewicz-Dulik et al, 2015			
<i>Alternaria infectoria</i> ^a (<i>Pleospora infectoria</i> , Pleosporaceae)	Manuscritos del siglo XIX y XX almacenados en el Archivo General Estatal Helénico. Karakasidou et al 2017	Melanina DHN	Principalmente en la pared celular del conidio. Además, en la capa más externa de la pared de hifas.	Fernandes <i>et al.</i> , 2015
<i>Aspergillus fumigatus</i> ^a (<i>Neosartorya fumigata</i> , Aspergillaceae)	Tres grabados del siglo 18 representando mapas topográficos. Zotti & Ferroni, 2008.	DHN melanina y piomelanina	DHN-melanina adherida a la pared celular de los conidios y piomelanina extracelular soluble en agua.	Perez-Cuesta <i>et al.</i> , 2019.
<i>Aspergillus niger</i> ^a (Aspergillaceae)	Papel perjurado y papel de pulpa de madera y textiles celulósicos (algodón y lino). Datos obtenidos de estudios realizados en museos de Austria. Michaelisen et al. 2006; Sterflinger 2010	Melanina heterogénea, utilizándose como precursores fenoles derivados de la ruta acetato-malonato, que por oxidación enzimática reacciona con proteínas y / o péptidos. Se han informado tipos de DHN y DOPA. Pigmentos de color rojo ocre, probablemente feomelaninas, secretados en placas de agar cuando se cultivan conjuntamente con <i>Bacillus subtilis</i> DOPA-melanina.	Filtrado de cultivo y biomasa	Pal <i>et al.</i> 2014
<i>Aspergillus tamaris</i> ^a (Aspergillaceae)	Sellos postales del Servicio Filatélico de Israel. Nol et al. 2001		Sólo en Biomasa, ausente en filtrado de cultivo	Pal <i>et al.</i> 2014
<i>Aspergillus terreus</i> ^a (Aspergillaceae)	Papel perjurado y papel de pulpa de madera y textiles celulósicos (algodón y lino). Unpublished data Sterflinger/ACBR, Meier and Peterssen, 2006, Pangallo, 2009.	Asp-melanina. DHN-melanina.	Asp- melanina en conidios. DHN-melanina en caldos de cultivo. Localización de la melanina DHN sugerida para conidióforos en condiciones sumergidas y agitadas bajo biogénesis mejorada de butirrolactona.	Palonen <i>et al.</i> , 2017

Nombre válido del hongo, sinónimo o nombre no válido y familia de acuerdo a Mycobank web site; http://www.mycobank.org/ *	Sustrato, fuente de aislamiento y referencias	Tipo de melanina	Localización	Bibliografía (melaninas y localización)
<i>Aureobasidium pullulans</i> ^s (Dothioraceae)	Tres grabados del siglo XVIII que representan mapas topográficos pertenecen a la 'Colección Topográfica del Municipio de Génova', que actualmente se encuentra en el 'Museo di Sant'Agostino' de Génova. Zotti & Ferroni, 2008	Melanina DHN, indol-melanina	Pared celular de las clamidosporas y filamentos (material electrodensos presente en pared externa y paredes transversales). También presente en medio extracelular en gránulos negros.	Zheng et al., 2008
<i>Aureobasidium pullulans</i> ^s (Dothioraceae)	Manuscrito datados antes de 1293 procedente de Italia. Michaelisen et al, 2010;			
<i>Bipolaris sorokiniana</i> ^a (Pleosporaceae)	Muestreo del aire de siete edificios históricos de La Habana y tres edificios utilizados para almacenar colecciones. Este local alberga importantes documentos, libros, pinturas, fotografías y elementos de la cultura precolombina. Rojas et al, 2012	DHN-melanina.	Pared celular, hifas y conidios	Toledo et al., 2017
<i>Cladosporium cladosporioides</i> ^a (Cladosporiaceae)	Tres grabados del siglo XVIII que representan mapas topográficos pertenecen a la "Collezione Topografica del Comune di Genova", que actualmente se encuentra en el "Museo di Sant'Agostino". Zotti et al, 2008 en Génova.	DHN-melanina y compuestos similares	Pared, hifas y conidios.	Llorente et al., 2012
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> ^a (Cladosporiaceae)	Documentos históricos en papel, libros e impresiones. Zotti et al, 2008.	DHN-melanina y compuestos similares	Pared, hifas y conidios.	Ng et al., 2012.
<i>Chaetomium globosum</i> ^a (Chaetomiaceae)	Muestras del libro del Dr. Eduard Zeller titulado "Philosophie der Griechen, eine untersuchung", impreso y publicado en Alemania en 1852. Rakotonirainy et al, 2007, Sterlinger, 2010	Ruta metabólica DHN	Peritocio y pared de esporas	Hu et al., 2012
<i>Epicoccum nigrum</i> ^a (<i>Epicoccum purpurascens</i> , Didymellaceae)	Papel deteriorado de libro del siglo 16. Michaelisen et al. 2006; Eveleigh, 1970	Tentativamente DOPA- (indol melanina) y / o de tipo heterogéneo, utilizándose como precursores fenoles derivados de la ruta acetato-malonato, que tras la oxidación enzimática reaccionaban con proteínas y / o péptidos.	Paredes celulares de conidios (específicamente acumulación de gránulos de melanina en una capa externa gruesa).	Pombeiro-Sponchiado et al., 2017

D. S. Nitiu *et al.* - Pigmentos oscuros fúngicos asociados al deterioro de papel

Nombre válido del hongo, sinónimo o nombre no válido y familia de acuerdo a Mycobank web site; http://www.mycobank.org .*	Sustrato, fuente de aislamiento y referencias	Tipo de melanina	Localización	Bibliografía (melaninas y localización)
<i>Eurotium echinulatum</i> a (Aspergillaceae)		Melanina heterogénea, utilizándose como precursores fenoles derivados de la ruta acetato-malonato, que por oxidación enzimática reacciona con proteínas y / o péptidos.	Medio de cultivo y biomasa	Coelho <i>et al.</i> , 1997
<i>Eurotium herbariorum</i> ^a (<i>Aspergillus glaucus</i> , Aspergillaceae)	Muestras realizadas en un depósito de la Biblioteca de Humanidades, llamado Biblioteca di Area UManistica (BAUM), en la Universidad Ca 'Foscari en el Palacio Malcanton Marcora, Venecia (Italia), Arai, 2000.	Melanoidinas (producto de la reacción de Maillard entre celuloooligosacáridos y -ácido aminobutírico y otros aminoácidos que son producidos por el crecimiento de hongos tonofílicos absolutos en papel).	Manchas de foxing en papel, asociadas a colonias fúngicas y partículas de polvo.	Melo, 2017
<i>Microascus paisi</i> ^a (<i>Scopulariopsis brumptii</i> , Microasaceae)	Identificación de las especies <i>Scopulariopsis</i> y similares ambientes interiores. Woudenberg <i>et al.</i> 2017	Melanina no especificada	Hifas en tejido humano	Chiewchanvit <i>et al.</i> , 2017
<i>Mucor circinelloides</i> ^c (Mucoraceae)	Muestreo aerobiológico de siete edificios históricos de La Habana: la Biblioteca Central de la Universidad de La Habana, el Museo Montané, el Museo Tomás Roig, el Museo Felipe Poey y tres edificios destinados a almacenar colecciones. Rojas <i>et al.</i> , 2012	Melanina	Pared esporal	Lecointe <i>et al.</i> , 2019
<i>Paecilomyces varioti</i> ^a (Trichocomaceae)	Papel perforado y papel de pulpa de madera y textiles celulósicos (algodón y lino). Sterfingler, 2010.	DHN-melanin	Micelio	Babitskaya <i>et al.</i> , 2000
<i>Phoma glomerata</i> ^a (<i>insertae sedis</i> in Pleosporales)	Paper arts, paper paintings, manuscripts. Shrivastava, 2015	Melanina	Clamidosporas multicelulares oscuras	Sari <i>et al.</i> , 2015
<i>Phoma herbarum</i> ^a (<i>insertae sedis</i> in Pleosporales)	Nueve pergaminos y cinco documentos históricos en papel conservados en el depósito de la Biblioteca Nacional de Eslovaquia, Martín, Eslovaquia. Kraková <i>et al.</i> 2012.	Pigmento marrón, probablemente melanina.	Cultivos fúngicos en agar sin localización precisa.	Ruisi <i>et al.</i> 2007.

Nombre válido del hongo, sinónimo o nombre no válido y familia de acuerdo a Mycobank web site; http://www.mycobank.org .*	Sustrato, fuente de aislamiento y referencias	Tipo de melanina	Localización	Bibliografía (melaninas y localización)
<i>Polyporus brumalis</i> ^s (Polyporaceae)	Muestras del libro del Dr. Eduard Zeller titulado "Philosophie der Griechen, eine untersuchung", impreso y publicado en Alemania en 1852. Rakotonirainy et al.	Pigmentación externa negra, que no es de tipo DHN.	Cultivos de hongos sin especificación de localización	Tudor, 2013
<i>Taeniocella</i> ^a (<i>Torula</i> sp., Mytiliniaceae)	Muestras de papel con depósitos de hongos, una sola hoja de papel fabricada hacia el siglo XVII. Aguafuerte de 1920 obtenido de la colección del Archivo de Medina, Malta. Aguafuerte de 1920. Szczepanowska y Cavaliere, 2012	Melaninas negras	Micelios y conidios pigmentados de paredes gruesas	Szczepanowska and Cavaliere, 2012
<i>Trichoderma harzianum</i> ^a (Hypocreaceae)	Muestras del libro del Dr. Eduard Zeller titulado "Philosophie der Griechen, eine untersuchung", impreso y publicado en Alemania en 1852. Rakotonirainy et al. 2007, Reis-Meneses, 2011.	Melanina verde	Biomasa, mycelio de líquidos de cultivo.	Piccolo, 1996
<i>Trichoderma viride</i> , T. <i>harzianum</i> ^a (Hypocreaceae)	Papel perjurado y papel de pulpa de madera y textiles celulósicos (algodón y lino). Sterfingler, 2010.	Melanina verde; polifenol no indólico similar a melanina.	Pared conidial (en capa externa).	Piccolo, 1996

que está expuesto el papel no son apropiados, varios hongos que lo deterioran pueden reducir su actividad metabólica y activar la diferenciación de estructuras reproductivas, generando estructuras de reposo pigmentadas, o eventualmente morir. Si las condiciones vuelven a ser favorables, se puede reactivar el metabolismo de los hongos activando la germinación de las esporas existentes u otras estructuras disponibles en el sustrato, y seguir deteriorando al papel. Sin embargo, algunos hongos, como los xerotolerantes, pueden vivir bajo estrés mediante la activación de varios mecanismos que les permiten crecer en tales condiciones. En este sentido, la desecación, la disminución en la actividad agua asociada al papel o los altos niveles de luz a los que puede estar expuesto durante el almacenamiento, consiguen provocar que algunos hongos que lo están colonizando sintetizen pigmentos. Este cambio en la coloración de las colonias fúngicas que deterioran papel puede ser también desencadenado como respuesta a los tratamientos utilizados para controlar el deterioro del papel y/o a la aplicación de radiación gamma o agentes químicos blanqueadores (Pavón Flores, 1976; Toledo *et al.*, 2017). Llorente *et al.* (2012) reportaron que la pigmentación asociada a *Cladosporium cladosporioides*, un hongo que habitualmente deteriora papel, es debida a una 1,8-dihidroxi-naftaleno (DHN)-melanina, la que incrementa su intensidad bajo el estrés impuesto por fungicidas. Dado que estos hongos deterioran con frecuencia el papel y son representantes típicos en el aire interior de bibliotecas, archivos y museos (Nitiu *et al.*, 2020; Borrego & Herrera Barrios, 2021), el conocimiento sobre los procesos de melanización resulta clave a la hora de tomar decisiones en base a su erradicación, e identificar si pueden ser eliminados mediante el control de las condiciones ambientales o si es necesario utilizar otras estrategias sustentables de conservación.

Las melaninas son un grupo de polímeros aromáticos responsables de la coloración oscura de varias manchas en el papel, incluyendo (entre otros factores) aquellas relativas al foxing. Debido a su insolubilidad en una variedad de disolventes polares y orgánicos y a su naturaleza recalcitrante, las melaninas se encuentran entre los pigmentos más difíciles de eliminar del papel (Toledo *et al.*, 2017). Además, algunos hongos como las especies del género *Aspergillus*, (incluido *A. fumigatus*, un típico representante con hifas hialinas que deteriora

papel), también pueden sintetizar melaninas solubles (piomelanina). Específicamente, *A. fumigatus* es capaz de sintetizar varios tipos de melaninas, incluida una melanina tipo DHN insoluble en agua, que está presente predominantemente en conidios (Fig. 2), y una melanina alternativa sintetizada extracelularmente, que puede generar la pigmentación del micelio a causa de su acumulación en la superficie de las hifas (Schmaler-Ripcke *et al.*, 2009). Por lo tanto, la coloración fúngica del papel puede ser un factor relevante en el deterioro, donde la naturaleza del pigmento responsable condiciona la elección de estrategias adecuadas de restauración, debido a que los mismos hongos pueden producir melaninas solubles e insolubles en agua. Esto es compatible con los resultados reportados en experimentos con agentes blanqueadores para reducir la coloración de diferentes papeles deteriorados y sus manchas asociadas (Mesquita *et al.*, 2009). Aunque la mayoría de los hongos que tienen estructuras oscuras asociadas con el papel son generalmente tolerantes al estrés, los hongos ruderales que también tienen melaninas en sus esporas, como las especies del género *Rhizopus*, muestran una colonización secundaria del sustrato y también lo deterioran.

Melaninas: los pigmentos oscuros comunes de los hongos negros

Las melaninas están compuestas de estructuras alifáticas y aromáticas de tipo indol o fenol y son sintetizadas por una amplia gama de organismos (Toledo *et al.*, 2017). Estos pigmentos, que son metabolitos secundarios, pueden tener diferente coloración y también pueden ser heterogéneos en cuanto a su organización estructural, composición y función (Nitiu *et al.*, 2020). Sin embargo, todos estos pigmentos tienen propiedades fisicoquímicas similares, que incluyen resistencia a la hidrólisis ácida, estructura amorfa y polidispersa, naturaleza polimérica, carga neta negativa y una estructura radicalaria estable (Lee *et al.*, 2019; Smith & Casadevall, 2019). Todas las melaninas, excepto la piomelanina, son insolubles en agua y disolventes orgánicos, siendo solo solubilizadas en solventes alcalinos. Estas propiedades fisicoquímicas explican los roles multifuncionales de los pigmentos oscuros que les permiten a los hongos negros adaptarse a diversas condiciones ambientales.

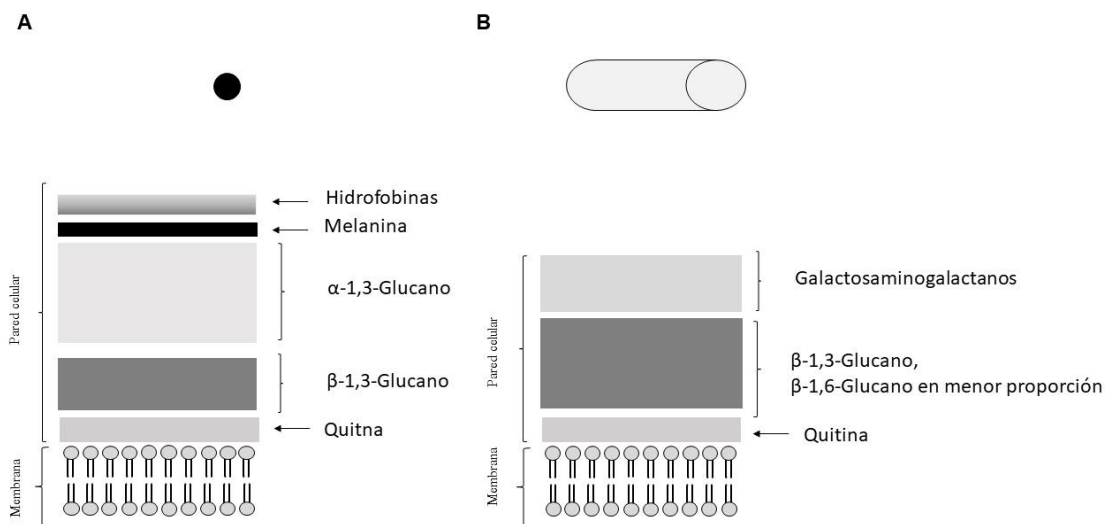


Fig. 2. Modelos que representan la arquitectura de la envoltura celular y la organización y composición de la pared celular en el conidio **A:** de diferentes especies de *Aspergillus* incluyendo la estructura de la hifa. **B:** estructura de la hifa de *Aspergillus fumigatus* (adaptado de Erwig & Gow, 2016).

La melanina podría proporcionar a los hongos negros un escudo físico y químico extracelular contra factores estresantes o factores dentro del papel o su entorno. Esta localización podría ayudarlos a prevenir la degradación física, química y biológica (Gessler *et al.*, 2014), así como a prevenir la desecación del micelio, esporas u otros propágulos y por lo tanto promover la supervivencia fúngica en condiciones limitantes (Tudor *et al.*, 2012). Aunque la melanina se localiza mayoritariamente en la pared celular, también se ha detectado en estructuras intracelulares de varios hongos negros, así como en ambientes libres de hongos. Por lo tanto, la síntesis de estos pigmentos se puede desencadenar tanto a nivel intracelular como extracelular. Algunas melaninas heterogéneas se sintetizan estrictamente en el entorno extracelular del hongo, por polimerización de fenoles de origen fúngico como otros de distinta procedencia. Éstos se encuentran disponibles en el medio, por la formación de complejos involucrando productos de oxidación de sustancias aromáticas con proteínas, o por la vía de degradación de tirosina como en el caso de la piomelanina (Bell & Wheeler, 1986; Smith & Casadevall, 2019). Por otro lado, existe también evidencia de la generación de gránulos

de melaninas en vesículas tipo melanosomas o cuerpos multivesiculares. Hongos como *Cryptococcus neoformans* y *Fonsecaea pedrosoi* sintetizan melanina en melanosomas dentro de su citoplasma y luego la exportan a la pared celular dentro de vesículas y cuerpos multivesiculares. La externalización de esta melanina conduce a su acumulación en la trama de las paredes celulares de estos hongos o a su entorno, interaccionando a través de varias reacciones con la quitina y el quitosano u otra molécula componente de pared, lo que lleva a su anclaje. En este sentido, se ha reportado la presencia de melanina, polisacáridos y enzimas involucradas en la síntesis de melanina como las lacasas (enzimas que oxidan estructuras químicas que contienen grupos fenólicos) en vesículas extracelulares o exosomas de hongos.

Éstas son secretadas y capaces de generar melaninas con un mayor grado de polimerización formando gránulos de melanina más grandes que sus fuentes de partida. Así mismo pueden también, facilitar su inmovilización en la pared celular, formando densas capas concéntricas de melanina depositada, que se ha correlacionado con la extensión de la melanización de las estructuras.

Dado que los exosomas también pueden estar

representados por estructuras con dos unidades de membrana, los constituyentes lipídicos de sus membranas internas parecen ser la fuente de los componentes alifáticos detectados en la melanina depositada en la pared celular. Además, se ha informado sobre la reestructuración de la melanina en la pared celular fúngica, incluida la reconfiguración de los gránulos de melanina, aunque aún dicho proceso no ha sido caracterizado en su totalidad (Camacho *et al.*, 2019). Chrissian *et al.*, (2020) reportaron que la composición y arquitectura molecular de la pared celular de los hongos negros del género *Cryptococcus* son características críticas para el anclaje y disposición de sus melaninas. Dado que los gránulos de melanina en la pared celular parecen ser dinámicos, reorganizables y reestructurados, se espera que futuras estrategias sean desarrolladas a fin lograr la remoción de estos pigmentos del papel que contenga hifas melanizadas. Sin embargo, hasta donde se sabe, no existen datos disponibles sobre la eliminación de estas hifas de matrices celulósicas sin afectar notoriamente la estructura del papel. Por lo tanto, la síntesis de melaninas en hongos que colonizan papel puede minimizarse controlando las condiciones ambientales y sus procesos metabólicos. Además, dado que la acumulación de las melaninas en la pared celular de muchos hongos negros también se puede prevenir por condiciones fisiológicas (Walker *et al.*, 2010), se debe priorizar la optimización de los procedimientos para eliminar los gránulos de melanina sin causar efectos severos a nivel de la trama y estructura del papel antes que alguna intervención sea aplicada. Dado que a la vez la mayoría de las melaninas fúngicas se ubican en las paredes celulares de los hongos que deterioran el papel, esto dificulta aún más el éxito del procedimiento de restauración (Bárcena *et al.*, 2018). Tampoco, en la mayoría de los casos, se conoce la estructura exacta de las melaninas que estos hongos sintetizan. No obstante, las tecnologías avanzadas de resonancia magnética nuclear (RMN) y microscopía electrónica pueden proporcionar información sobre la estructura de las melaninas (Nosanchuk *et al.*, 2015). Mediante espectroscopia 1D-RMN y correlaciones HSQC 1H-13C, Sun *et al.*, (2016) identificaron regiones de naturaleza alifática y aromática en la melanina extracelular de *Auricularia auricula*, siendo estimada su fórmula molecular condensada como [C18 (OR)3H7O4N2]_n. Aunque la estructura de

las melaninas aumenta en complejidad a lo largo de la ontogenia fúngica, las mismas cuentan con enlaces covalentes que contienen carbono entre pirroles y N-acetilglucosaminas derivadas de quitina o glicéridos provenientes de los lípidos de membrana. Los datos de RMN en estado sólido respaldan un apilamiento de unidades aromáticas basadas en unas de tipo-indol mediante enlaces covalentes, que genera un material estructurado en ciertas regiones pero que globalmente es amorfo (Nosanchuk *et al.*, 2015). Desafortunadamente, estos datos se obtuvieron solo para las melaninas de *Cryptococcus neoformans*. Beltrán-García *et al.*, (2014) informaron también, que la melanina asociada al micelio de *Mycosphaerella fijiensis* está constituida por 50 unidades de 1,8-DHN. Por todo lo expuesto se desprende que un análisis más detallado mediante metodologías de punta como RMN en estado sólido y técnicas físicas y de imágenes deberían llevarse a cabo utilizando las melaninas de los hongos que deterioran papel con mayor frecuencia, ya que proporcionará las bases para caracterizar la estructura de sus melaninas tanto si están asociadas a la pared celular fúngica y/o a la matriz del papel que están colonizando. Dicha información será útil para contribuir al desarrollo de estrategias para eliminar los pigmentos oscuros que deterioran estéticamente al papel.

CONCLUSIONES

Este análisis bibliográfico intenta brindar un panorama actualizado del estado de arte de las melaninas sintetizadas por hongos que colonizan y deterioran papel, su localización en las estructuras fúngicas, y su contribución en el deterioro de matrices celulósicas.

Puesto que las melaninas sintetizadas por hongos pueden deteriorar invaluable obras de patrimonio cultural, el conocimiento de estos pigmentos oscuros es fundamental para mejorar las estrategias de conservación de documentos históricos basados en soportes celulósicos. Las propiedades fisicoquímicas de las melaninas son la base para desarrollar tácticas promisorias para la conservación óptima de colecciones documentales y su restauración.

Es conocido que las melaninas mejoran la tolerancia de los hongos que colonizan papel a

las condiciones ambientales establecidas en los reservorios de conservación. Ellas funcionan a modo de un escudo protector contra una amplia variedad de agentes estresantes del ambiente, como la exposición a agentes químicos que se utilizan para eliminar manchas en papel. El conocimiento de estos pigmentos oscuros es fundamental para mejorar las estrategias de conservación de documentos históricos y obras de arte en papel. Dadas las características de las melaninas y su susceptibilidad a solubilizarse en condiciones alcalinas, éste podría ser su talón de Aquiles y la base para el diseño de procedimientos de restauración considerando tratamientos alcalinos.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores han realizado conjuntamente y a partes iguales la colecta de datos, su interpretación y redacción del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Esta contribución forma parte de la información presentada en la exposición “Melaninas fúngicas que deterioran el patrimonio cultural del papel” realizada en el marco del Simposio “HACIA LA LUZ DEL CONOCIMIENTO DE LOS HONGOS NEGROS” llevado a cabo en las XXXVIII Jornadas Argentinas de Botánica, organizadas por la Sociedad Argentina de Botánica y la FCA-UNER, entre el 6 y el 8 de septiembre de 2021 con modalidad virtual. Se agradece a la Lic. Elida Alcaraz por su colaboración en la elaboración de imágenes. Datos inéditos presentados en este manuscrito se obtuvieron con recursos financieros derivados de los subsidios correspondientes al Proyecto de Incentivos a la Investigación (N897) y (A344) de la Universidad Nacional de La Plata; CONICET (PIP 11220200100527CO) y FONCyT (PICT 2019-0207).

BIBLIOGRAFÍA

ALMENDROS, M. G., A. T. MARTINEZ, M. F. MARTÍNEZ & F. J. GONZÁLEZ-VILA. 1985. Degradative oxidation products of the melanin of

Ulocladium atrum. *Soil Biol. Biochem.* 17: 723-726. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(85\)90052-5](https://doi.org/10.1016/0038-0717(85)90052-5)

ARAI, H. 2000. Foxing caused by Fungi: twenty-ve years of study. *Inter. Biodet. Biodegradation* 46: 181-188. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(00\)00063-9](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(00)00063-9)

BABITSKAYA, V. G., V. V. SHCHERBA, T. V. FILIMONOVA, & E. A. GRIGORCHUK. 2000. Melanin pigments from the fungi *Paecilomyces variotii* and *Aspergillus carbonarius*. *Appl. Biochem. Microbiol.* 36: 128-133. <https://doi.org/10.1007/BF02737906>

BÁRCENA, A., G. PETROSELLI, S. M. VELASQUEZ, J. M. ESTÉVEZ, R. ERRA-BALSELLS, P. A. BALATTI & M. C. N. SAPARRAT. 2015. Response of the fungus *Pseudocercospora griseola* f. *mesoamericana* to Tricyclazole. *Mycol. Prog.* 14:76. <https://doi.org/10.1007/s11557-015-1102-7>

BELTRÁN-GARCÍA, M. J., F. M. PRADO, M. S. OLIVEIRA, D. ORTIZ-MENDOZA, A. C. SCALFO, A. PESSOA, M. H. G. MEDEIROS, J. F. WHITE & P. DI MASCIO. 2014. Singlet molecular oxygen generation by light-activated DHN-melanin of the fungal pathogen *Mycosphaerella fijiensis* in black Sigatoka disease of bananas. *PLoS ONE* 9:e91616. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091616>

BHARDWAJ, N. & I. K. BHATNAGAR. 2002. Microbial deterioration of paper paintings. *Biodeterioration of Materials* 2: 132-135.

BODDY, L. & J. HISCOX. 2016. Fungal ecology: principles and mechanisms of colonization and competition by saprotrophic fungi. *Microbiology Spectrum* 4: FUNK-0019-2016. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0019-2016>

BORREGO ALONSO, S. F., & O. HERRERA BARRIOS. 2021. Calidad micológica ambiental en archivos cubanos y su impacto en la salud del personal. *An. Acad. Cienc. Cuba* 11.

CALVO, A. M., R. A. WILSON, J. W. BOK & N. P. KELLER. 2002. Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66: 447-459. <https://doi.org/10.1128/MMBR.66.3.447-459.2002>

CALVO, A. M. C., A. DOCTERS, M. V. MIRANDA & M. C. N. SAPARRAT. 2017. The use of gamma radiation for the treatment of cultural heritage in the Argentine National Atomic Energy Commission: past, present, and future. *Top Curr Chem* 375: 227-248. <https://doi.org/10.1007/s41061-016-0087-2>

D. S. Nitiu *et al.* - Pigmentos oscuros fúngicos asociados al deterioro de papel

- CAMACHO, E., R. VIJ, C. CHRISSIAN, R. PRADOS-ROSALES, D. GIL, R. N. O'MEALLY, R. J. B. CORDERO, R. N. COLE, J. M. McCAFFERY, R. E. STARK & A. CASADEVALL. 2019. The structural unit of melanin in the cell wall of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *J. Biol. Chem* 294: 10471-10489. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.008684>
- CHIEWCHANVIT, S., S. CHONGKAE, P. MAHANUPAB, J. D. NOSANCHUK, S. PORNSUWAN, N. VANITTANAKOM & S. YOUNGCHIM. 2017. Melanization of *Fusarium keratoplasticum* (*F. solani* Species Complex) during disseminated fusariosis in a patient with acute leukemia. *Mycopathologia* 182: 879-885. <https://doi.org/10.1007/s11046-017-0156-2>
- CHRISSIAN, C., E. CAMACHO, M. S. FU, R. PRADOS-ROSALES, S. CHATTERJEE, R. J. B. CORDERO, J. K. LODGE, A. CASADEVALL & R. E. STARK. 2020. Melanin deposition in two *Cryptococcus* species depends on cell-wall composition and flexibility. *J. Biol. Chem* 295: 1815-1828. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011949>
- DADACHOVA, E., R. A. BRYAN, X. HUANG, T. MOADEL, A. D. SCHWEITZER, P. AISEN, J. D. NOSANCHUK & A. CASADEVALL. 2007. Ionizing radiation changes the electronic properties of melanin and enhances the growth of melanized fungi. *PLoS ONE* 5: e457. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000457>
- EVELEIGH, D. E. 1970. Fungal disfigurement of paper, and soft rot of cedar shingles. *Applied Microbiology* 19: 872-874. <https://doi.org/10.1128/am.19.5.872-874.1970>
- ELLIS, M. B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, London.
- ELLIS, M. B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, London.
- FERNANDES, C., R. PRADOS-ROSALES, B. M. SILVA, A. NAKOUZI-NARANJO, M., ZUZARTE, S. CHATTERJEE, R. E. STARK, A. CASADEVALL & T. GONÇALVES. 2015. Activation of melanin synthesis in *Alternaria infectoria* by antifungal drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 60 :1646-55. <https://doi.org/10.1128/AAC.02190-15>
- FERRÁNDIZ-PULIDO, C., M. T. MARTIN-GOMEZ, T. REPISO, C. JUÁREZ-DOBJANSCHI, B. FERRER, I. LÓPEZ-LERMA, G. APARICIO, C. GONZÁLEZ-CRUZ, F. MORESO, A. ROMAN & V. GARCÍA-PATOS. 2019. Cutaneous infections by dematiaceous opportunistic fungi: Diagnosis and management in 11 solid organ transplant recipients. *Mycoses* 62: 121-127. <https://doi.org/10.1111/myc.12853>
- FRANCO, E., M. I. TRONCOZO, M. BAEZ, M. V. MIRÍFICO, G. L. ROBLEDO, P. A. BALATTI & M. C. N. SAPARRAT. 2018. *Fusarium equiseti* LPSC 1166 and its in vitro role in the decay of *Heterostachys ritteriana* leaf litter. *Folia Microbiologica* 63: 169-179. <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0541-8>
- FRANSEN, R. J. N., S. A. RASMUSSEN, P. B. KNUDSEN, S. UHLIG, D. PETERSEN, E. LYSØE, C. H. H. H. GIESE & T. O. LARSEN. 2016. Black perithecial pigmentation in *Fusarium* species is due to the accumulation of 5-deoxybostrycoidin-based melanin. *Scientific Reports* 6: 26206. <https://doi.org/10.1038/srep26206>
- GESSLER, N. N., A. C. EGOROVA & T. A. BELOZERSKAYA. 2014. Melanin pigments of fungi under extreme environmental conditions. *Appl. Biochem. Microbiol.* 50: 105-113. <https://doi.org/10.1134/S0003683814020094>
- GMOSER, R, J. A. FERREIRA, P. R. LENNARTSSON & M. J. TAHERZADEH. 2017. Filamentous ascomycetes fungi as a source of natural pigments. *Fungal Biol. Biotechnol.* 4:4. <https://doi.org/10.1186/s40694-017-0033-2>
- HU, Y., X. HAO, J. LOU, P. ZHANG, J. PAN & X. ZHU. 2012. A PKS gene, pks-1, is involved in chaetoglobosin biosynthesis, pigmentation and sporulation in *Chaetomium globosum*. *Sci. China Life Sci.* 55: 1100-1108. <https://doi.org/10.1007/s11427-012-4409-5>
- KARAKASIDOU, K., K. NIKOLOULI., G. D. AMOUTZIAS, A. PORNOU, CH. MANASSIS, G. TSIAMIS & D. MOSSIALOS. 2017. Microbial diversity in biodeteriorated Greek historical documents dating back to the 19th and 20th century: a case study. *Microbiology Open* 1: 11. <https://doi.org/10.1002/mbo3.596>
- KRAKOVÁ, L., K. CHOVANOVÁ, S. A. SELIM, A. ŠIMONOVICHOVÁ, A. PUŠKAROVÁ, A. D. MAKOVÁ & A. PANGALLO. 2012. Multiphasic approach for investigation of the microbial diversity and its biodegradative abilities in historical paper and parchment documents. *Inter. Biodet. Biodegradation* 70: 117-125. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.01.011>

- LACEY, M. E. & J. S. WEST. 2006. *The Air Spore*. Springer. Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-30253-9>
- LECOINTE, K., M. CORNU, J. LEROY, P. COULON & B. SENDID. 2019. Polysaccharides cell wall architecture of Mucorales. *Front. Microbiol.* 10: 469. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00469>
- LEED, E.-H. JANG, M. LEE, S.-W. KIM, Y. LEE, K.-T. LEE & Y.-S. BAHN. 2019. Unraveling melanin biosynthesis and signaling networks in *Cryptococcus neoformans*. <https://doi.org/10.1128/mBio.02267-19>
- LLORENTE, C, A. BÁRCENA, J. VERA BAHIMA, M. C. N. SAPARRAT, A. M. ARAMBARRI, M., F. ROZAS, M. V. MIRÍFICO & P. A. BALATTI. 2012. *Cladosporium cladosporioides* LPSC 1088 produces the 1,8-dihydroxynaphthalene-melanin-like compound and carries a putative pks gene. *Mycopathologia* 174: 397-408. <https://doi.org/10.1007/s11046-012-9558-3>
- MALLO, A. C., D. S. NITIU, L. A. ELÍADES & M. C. N. SAPARRAT. 2017. Fungal degradation of cellulosic materials used as support for cultural heritage. *Int. J. Conserv. Sci.* 8: 619-632.
- MEDINA, R., C. G. LUCENTINI, M. E. E. FRANCO, G. PETROSELLI, J. A. ROSSO, R. ERRA-BALSELLS, P. A. BALATTI & M. C. N. SAPARRAT. 2018. Identification of an intermediate for 1,8- dihydroxynaphthalene-melanin synthesis in a race-2 isolate of *Fulvia fulva* (syn. *Cladosporium fulvum*). *Heliyon*. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e01036>
- MELO, D., S. O. SEQUEIRA, J. A. LOPES & M. F. MACEDO. 2019. Stains versus colourants produced by fungi colonising paper cultural heritage: A review. *J. Cult. Herit* 35: 161-182. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2018.05.013>
- MELO, D. C. 2017. *Fungal Stains on Paper: Melanins produced by fungi. Thesis for the Master degree in Conservation and Restoration*. Monte de Caparica, Lisboa: Departamento de Conservação e Restauro, Mestrado em Conservação e Restauro, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. 57 p.
- MESQUITA, N., A. PORTUGAL, S. VIDEIRA, S. RODRÍGUEZ-ECHEVERRÍA, A. M. L. BANDEIRA, M. J. A. SANTOS & H. FREITAS. 2009. Fungal diversity in ancient documents. A case study on the Archive of the University of Coimbra. *Int. Biodeterior. Biodegradation*. 63: 626-629. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.03.010>
- MICHAELSEN, A., F. PINZARI, K. RIPKA, W. LUBITZ & G. PIÑAR. 2006. Application of molecular techniques for identification of fungal communities colonizing paper material. *Inter. Biodet. Biodegradation* 58:133-141. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.06.019>
- MICHAELSEN, A., G. PIÑAR & F. PINZARI. 2010. Molecular and microscopical investigation of the microflora inhabiting a deteriorated Italian manuscript dated from the thirteenth century. *Microbial Ecology* 60: 69-80. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9667-9>
- NOL, L., Y. HENIS & R. G. KENNETH. 2001. Biological factors of foxing in postage stamp paper. *Inter. Biodet. Biodegradation* 48: 98-104. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(01\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(01)00072-5)
- NG, K.P., S. M. YEW, CH. L. CHAN, T. S. SOO-HOO, S. L. NA, H. HASSAN, Y. F. NGEOW, CH. CH. HOH, K. W. LEE & W. Y. YEE. 2012. Sequencing of *Cladosporium sphaerospermum*, a dematiaceous fungus isolated from blood culture. *Eukaryotic Cell* 11: 705-706. <https://doi.org/10.1128/EC.00081-12>
- NITIU, D. S., A. C. MALLO & M. C. N. SAPARRAT. 2020. Fungal melanins that deteriorate paper cultural heritage: an overview. *Mycologia*. 112: 859-870. <https://doi.org/10.1080/00275514.2020.1788846>
- NOSANCHUK, J. D., R. E. STARK & A. CASADEVALL. 2015. Fungal melanin: what do we know about structure? *Front. Microbiol.* 6: 1463. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01463>
- PAL, A. K., D. H. GAJJAR & A. R. VASAVADA. 2014. DOPA and DHN pathway orchestrate melanin synthesis in *Aspergillus* species. *Medical Mycology* 52: 10-18. <https://doi.org/10.3109/13693786.2013.826879>
- PALONEN, E. K., S. RAINA, A. BRANDT, J. MERILUOTO, T. KESHAVARZ & J. T. SOINI. 2017. Melanisation of *Aspergillus terreus*-Is butyrolactone I involved in the regulation of both DOPA and DHN types of pigments in submerged culture? *Microorganisms* 5: 22. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5020022>
- PANGALLO, D., K. CHOVANOVA, A. ŠIMONVIČOVÁ & P. FERIANIC. 2009. Investigation of microbial community isolated from indoor artworks and air environment: identification, biodegradative abilities, and DNA typing. *Can. J. Microbiol.* 55: 277-287. <https://doi.org/10.1139/w08-136>

- PAVON FLORES, S. C. 1976. Gamma radiation as fungicide and its effects on paper. *Bulletin of the American Institute for Conservation of Historic and Artistic Works* 16: 15-44. <https://doi.org/10.1179/019713676806029384>
- PEREZ-CUESTA, U., L. APARICIO-FERNANDEZ, X. GURUCEAGA, L. MARTIN-SOUTO, A. ABAD-DIAZ-DE-CERIO, A. ANTORAN, I. BULDAIN, F. L. HERNANDO, A. RAMIREZ-GARCIA & A. REMENTERIA. 2019. Melanin and pyomelanin in *Aspergillus fumigatus*: from its genetics to host interaction. *Int. Microbiol.* <https://doi.org/10.1007/s10123-019-00078-0>
- PICCOLO, A. 1996. *Humic substances in terrestrial ecosystems*. 1st ed. Elsevier, Amsterdam,
- PINHEIRO, A. C, M. F. MACEDO, V. JURADO, C. SAINZ JIMENEZ, C. VIEGAS, J. BRANDÃO & L. ROSADO. 2011. Mould and yeast identification in archival settings: Preliminary results on the use of traditional methods and molecular biology options in Portuguese archives. *Int. Biodeterior. Biodegradation*. 65: 619-627. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.02.008>
- PINZARI, F. & M. MONTANARI. 2011. Mould growth on library materials stored compactus-type shelving units. In: ABDUL-WAHAB SA, ed. *Sick Building Syndrome in Public Buildings and Workplaces*, p. 196-203. Springer, Berlin. https://doi.org/10.1007/978-3-642-17919-8_11
- POMBEIRO-SPONCHIADO, S. R., G. S. SOUSA, J. C. ANDRADE, H. F. LISBOA & R. C. GONÇALVES. 2017. Production of melanin pigment by fungi and its biotechnological applications. In BLUMENBERG, M. (ed.), *Melanin*, p: 45-75. InTechOpen, London. <https://doi.org/10.5772/67375>
- QUAN, Y., B. G. VAN DEN ENDE, D. SHI, F. X. PRENAFETA-BOLDÚ, Z. LIU, A. M. S. AL-HATMI, S. A. AHMED, P. E. VERWEIJ, Y. KANG & S. DE HOOG. 2019. A comparison of isolation methods for black fungi degrading aromatic toxins. *Mycopathologia* 184: 653-660. <https://doi.org/10.1007/s11046-019-00382-3>
- RAKOTONIRAINY, M. S., E HEUDE & B. LAVÉDRINE. 2007. Isolation and attempts of biomolecular characterization of fungal strains associated to foxing on a 19th century book. *Journal of Cultural Heritage* 8 : 126-133. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2007.01.003>
- RAO, M. P. N., M. XIAO & W. J. LI. 2017. Fungal and bacterial pigments: Secondary metabolites with wide application. *Front. Microbiol.* 8 :1113. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01113>
- REIS-MENESES, A. A., W. GAMBALE, M. C. GIUDICE & M. A. SHIRAKAWA. 2011. Accelerated testing of mold growth on traditional and recycled book paper. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 65: 423-428. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.01.006>
- ROJAS, T. I., M. J. AIRA, A. BATISTA, I. L. CRUZ & S. GONZÁLEZ. 2012. Fungal biodeterioration in historic buildings of Havana (Cuba). *Grana* 51 (1): 44-51. <https://doi.org/10.1080/00173134.2011.643920>
- RUIBAL, C., G. PLATAS & G. F. BILLS. 2008. High diversity and morphological convergence among melanised fungi from rock formations in the Central Mountain System of Spain. *Persoonia* 21: 93-110. <https://doi.org/10.3767/003158508X371379>
- RUISI, S., D. BARRECA, L. SELBMANN, L. ZUCCONI & S. ONOFRI. 2007. Fungi in Antarctica. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 6: 127-141. <https://doi.org/10.1007/s11157-006-9107-y>
- SAPARRAT, M. C. N., G. FERMOSELLE, S. STENGLEIN, M. AULICINO & P. A. BALATTI. 2009. *Pseudocercospora griseola* causing angular leaf spot on *Phaseolus vulgaris* produces 1,8-dihydroxynaphthalene-melanin. *Mycopathologia* 168: 41-47. <https://doi.org/10.1007/s11046-009-9194-8>
- SARI, E., L. ISERI, M. KOÇAK & D. YILDIZ. 2015. Is it Subungual Melanoma? Fungal melanonychia due to *Phoma glomerata*. *Cukurova Medical Journal* 40: 162-165. <https://doi.org/10.17826/cutf.44511>
- SCHMALER-RIPCKE, J., V. SUGAREVA, P. GEBHARDT, R. WINKLER, O. KNIEMEYER, T. HEINEKAMP & A. A. BRAKHAG. 2009. Production of pyomelanin, a second type of melanin, via the tyrosine degradation pathway in *Aspergillus fumigatus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 493-503. <https://doi.org/10.1128/AEM.02077-08>
- SMITH, D. F. Q. & A. CASADEVALL. 2019. The role of melanin in fungal pathogenesis for animal hosts. In: RODRIGUES M. (ed.), *Fungal Physiology and Immunopathogenesis. Curr. Top. Microbiol. Immunol.* Vol. 422, pp. 1-30. Springer, Cham, Switzerland. https://doi.org/10.1007/82_2019_173
- STALEY, J. T., F. E. PALMER & J. B. ADAMS. 1982. Microcolonial fungi: Common inhabitants on desert rocks? *Science* 215: 1093-1095. <https://doi.org/10.1126/science.215.4536.1093>

- STERFLIGER, K. 2010. Fungi: Their role in deterioration of cultural heritage. *Fungal Biology Reviews* 24: 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2010.03.003>
- SUN, S., X. ZHANG, S. SUN, L. ZHANG, S. SHAN & H. ZHU. 2016. Production of natural melanin by *Auricularia auricula* and study on its molecular structure. *Food Chemistry* 190:801-807. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.042>
- SZCZEPANOWSKA, H. & A. R. CAVALIERE. 2012. Conserving our cultural heritage: The role of fungi in biodeterioration. In: JOHANNING E, MOREY P, AUGER P. (eds.), *Bioaerosols Fungi, Bacteria, Mycotoxins in Indoor and Outdoor Environments and Human Health*, pp. 293-309. Fungal Research Group, Albany
- TOLEDO, A. V, M. E. E. FRANCO, S. M. Y. LÓPEZ, M. I. TRONCOZO, M. C. N. SAPARRAT & P. A. BALATTI. 2017. Melanins in fungi: Types, localization and putative biological roles. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 99: 2-6. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.04.004>
- TUDOR, D., S. C. ROBINSON & P. A. COOPER. 2012. The influence of moisture content variation on fungal pigment formation in spalted wood. *AMB Express* 2:69. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-2-69>
- TUDOR, D. 2013. Fungal pigment formation in wood substrate. Ph.D. Thesis, University of Toronto, Toronto, ON, Canada, 2013.
- WAINWRIGHT, M., T. A. ALI & F. BARAKAH. 1993. A review of the role of oligotrophic micro-organisms in biodeterioration. *Int. Biodet. Biodegradation* 31: 1-13. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(93\)90010-Y](https://doi.org/10.1016/0964-8305(93)90010-Y)
- WOUDENBERG, J. H. C., M. MEIJER, J. HOUBRAKEN, & R. A. SAMSON. 2017. *Scopulariopsis* and scopulariopsis-like species from indoor environments. *Studies in Mycology* 1-35. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.03.001>
- WALKER, C. A., B. L. GÓMEZ, H. M. MORA-MONTES, K. S. MACKENZIE, C. A. MUNRO, A. J. BROWN, N. A. GOW, C. C. KIBBLER & F. C. ODDS. 2010. Melanin externalization in *Candida albicans* depends on cell wall chitin structures. *Eukaryotic Cell* 9: 1329-1342. <https://doi.org/10.1128/EC.00051-10>
- ZHENG, W., B. S. CAMPBELL, B. M. MCDUGALL & R. J. SEVIOUR. 2008. Effects of melanin on the accumulation of exopolysaccharides by *Aureobasidium pullulans* grown on nitrate. *Bioresource Technology* 16: 7480-6. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.016>
- ZOTTI, M, A. FERRONI & P. CALVINI. 2008. Microfungal biodeterioration of historic paper: Preliminary FTIR and microbiological analyses. *Int. Biodet. Biodegradation.* 62: 186-194. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.01.005>