



003815
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**ESTUDIO AEROBIOLOGICO DE PROPAGULOS FUNGICOS EN LA
ATMOSFERA DE UNA REGION TROPICAL DE ALTURA:
CIUDAD DE MEXICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS (BIOLOGIA)**

P R E S E N T A:

**MARIA DEL CARMEN LETICIA CALDERON
EZQUERRO**

**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. IRMA ROSAS PEREZ**

**CO-DIRECTOR:
DR. MIGUEL ULLOA SOSA**

MEXICO, D. F.,

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

DEDICATORIA

A Migue (Águila Pluma Roja), por su ilimitado amor e incondicional apoyo durante este largo caminar, y a Jonathan y Danny por su infinita paciencia y amor de cada día.

A Irma por su cariño, confianza, ejemplo de tenacidad, espíritu de lucha, superación y amor a la vida.

A Ella por su ejemplo de integridad, nobleza de alma y por estar siempre conmigo como mi segunda madre.

A Enrique Sotelo Inclán por brindarme, cuando más lo he necesitado, sus sabios y acertados consejos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ciencias, por permitirme explorar, descubrir y conocer, el maravilloso mundo de la ciencia.

Al Centro de Ciencias de la Atmósfera por brindarme la oportunidad de desarrollar el presente trabajo de investigación.

En forma especial agradezco a los Miembros del Jurado integrado por Dr. Téofilo Herrera, M. en Ing. Nuc. Armando Báez, Dr. Miguel Ulloa, Dra. Irma Rosas, Dr. Erensto Jáuregui, Dr. Joaquín Cifuentes y Méd. Cir. Rocío Chapela por su participación en la evaluación de este trabajo así como por sus consejos y acertadas sugerencias para mejorarlo.

Con profunda gratitud y cariño a mi directora de tesis, la Dra. Irma Rosas, por sus enseñanzas y apoyo, así como por su confianza en mí y su exigencia para mi superación académica.

A mi Codirector, el Dr. Miguel Ulloa, por su valiosa asesoría y apoyo, así como por su constante motivación durante el desarrollo de este trabajo.

Al M. en Ing. Armando Báez, miembro del Comité Tutorial, por sus valiosas sugerencias y su notable interés y estímulo durante el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. Ernesto Jáuregui por su inapreciable asesoría a través de amenas charlas, por su confianza en mi trabajo y por su amistad.

A los doctores John Lacey y Alastair McCartney por su invaluable asesoría y participación en el presente trabajo, así como por promover mi interés en la aerobiología, por compartir conmigo su gran experiencia académica y por su amistad.

Agradezco muy especialmente el apoyo, para llevar a cabo esta investigación, otorgado por las siguientes instituciones: Centro de Ciencias de la Atmósfera e Instituto de Biología de la UNAM, Consejo Británico, Rothamsted Experimental Station (Inglaterra), Instituto Mexicano del Petróleo, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Dirección General de Asuntos del Personal Académico (proyecto IN200893) y Programa Universitario de Investigación en Salud.

A la Dra. Sandra Gómez y al Dr. Rafael Villalobos por su constante estímulo y amistad.

Mi más profunda gratitud al M. en Fís. Raúl Montañez y al Quím. Raúl Belmont por su asesoría en computación y en estadística y por su invaluable amistad.

A la Dra. Cecilia Vanegas por sus excelentes dibujos, su estímulo y amistad.

Mi agradecimiento y amor a los amigos y compañeros de ayer, hoy y siempre por brindarme su apoyo y estímulo para continuar y concluir el presente trabajo: Alma Yela, Eva Salinas, Socorro Rocha, Reyna Fósil, Lety Martínez, Irene Silva, Irene Brounillet, Paty Romano, Lidia León, Rocío García, Ma. Carmen Torres, Miguel Meneses, Juan Cervantes, Hugo Padilla, Calixto Cuevas, Don Panchito y a todas aquellas personas que de alguna forma participaron en mi desarrollo académico y personal.

El amor es como el agua y la luz

El amor nace, se expande, desnuda al corazón e inunda el alma,
escapa por cada poro de la piel, entonces fluye, se desborda,
se regala y de noche sobre las calles y avenidas de la ciudad
forma un río de agua transparente, un río de luz blanca.

Río, no te extingas, permanece, no dejes nunca de existir porque
tú río; espacio de amor, de agua, de luz, te llamas OJOS-AQUA-HOMBRE
y eres la fuerza que me da energía, fe, alegría, empeño y entusiasmo
para realizar los pequeños y los más grandes logros de mi vida.

Mu. Carmen C.

MARZO 97

CONTENIDO

	PAG.
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
CAPÍTULO 1. GENERALIDADES:	4
1.1 ASPECTOS DE AEROBIOLOGÍA	4
1.2 COMPORTAMIENTO AEROBIOLÓGICO DE LAS ESPORAS DE HONGOS	5
CAPÍTULO 2. ÁREAS DE ESTUDIO	23
CAPÍTULO 3. MÉTODOS	30
3.1 TÉCNICAS DE MUESTREO Y ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE PROPÁGULOS FÚNGICOS CULTIVABLES	30
3.2 TÉCNICAS DE MUESTREO Y ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE ESPORAS DE HONGOS EN AMBIENTES EXTRAMUROS	34
3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	37
CAPÍTULO 4. RESULTADOS	40
Ambientes extramuros :	
"Abundance of airborne <i>Penicillium</i> CFU in relation to urbanization in Mexico City"	42
"Seasonal and diurnal variation of airborne basidiomycete spore concentrations in Mexico City"	47
"Influence of urban climate upon distribution of airborne deuteromycete spore concentration in Mexico City"	56

Ambientes intramuros :

"Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentrations in Mexico City"	66
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN GENERAL	74
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES GENERALES	86
LITERATURA CITADA	90

RESUMEN

Se llevaron a cabo investigaciones aerobiológicas para determinar el comportamiento de propágulos fúngicos tanto en ambientes extramuros como intramuros de dos zonas de la Ciudad de México con diferente índice de urbanización. Para ello, se utilizaron muestreadores volumétricos para aeropartículas viables "Andersen" y muestreadores o trampas de aerosporas "Burkard". También se recolectó el polvo del suelo (con una aspiradora adaptada para retenerlo en papel filtro) de los ambientes intramuros evaluados (casas-habitación), con el fin de determinar la relación entre la micobiota del polvo y la del aire de estos ambientes. Los parámetros meteorológicos fueron registrados en ambientes extramuros a través de la red automática de monitoreo ambiental (RAMA, Depto. D.F.), mientras que para el registro de temperatura y humedad en el interior de las casas se utilizaron psicrómetros de onda.

Ambientes extramuros

Los resultados de los muestreos de aeropropágulos fúngicos, tanto cultivables como de esporas impactadas, mostraron gran heterogeneidad de hongos, siendo los más abundantes los deuteromicetes, seguidos por los basidiomicetes y los ascomicetes. Los diversos propágulos fúngicos presentaron marcadas variaciones en sus patrones diarios y estacionales, dependiendo de las características biológicas de cada género de hongo colectado, y de las condiciones ambientales prevalecientes, por lo que fue posible observar la relación que existe entre los parámetros meteorológicos (temperatura, humedad, velocidad del viento) y la producción, liberación y dispersión de los hongos en el aire del área urbana en estudio.

Asimismo, se determinó el efecto del clima urbano y de las diferencias locales entre los sitios de muestreo (índice de urbanización entre las zonas evaluadas del sur y centro de la ciudad) en las concentraciones de hongos dispersos en cada área de estudio. La vegetación presente en la zona sur provee el sustrato necesario para el desarrollo de diversos hongos, mientras que la zona centro, con un alto índice de urbanización (0.97), cuenta con menor cantidad de propágulos fúngicos producidos en la propia localidad, por lo que la mayoría de ellos (principalmente basidiomicetes y ascomicetes comunes de áreas rurales o de bosques) son probablemente acarreados por el viento desde lugares distantes. Se determinó que la heterogeneidad fue similar en ambas zonas de estudio, debido probablemente a los patrones de dispersión de los vientos sobre la Zona Metropolitana de la Ciudad de México, que dispersan las esporas de hongos de una zona a otra, ya sea del norte hacia el sur, y/o del norte y del sur hacia el centro, dependiendo de la hora del día y la época del año.

Del grupo de los deuteromicetes, 31 géneros fueron recolectados en ambientes extramuros, siendo los más frecuentes y abundantes: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Penicillium* y *Aspergillus*. De los basidiomicetes, las esporas de *Coprinus*, seguidas por otras basidiosporas (*Inocybe*, *Agrocybe*, *Boletus*, *Russula*, *Bovista*, *Panacolus*), fueron las más abundantes durante la época de lluvias, predominando en la de secas las esporas (teliosporas) de carbonos como *Ustilago nuda*, *Ustilago* spp. y *Tilletia* spp. Las concentraciones registradas en los ambientes extramuros mostraron valores promedio de alrededor de 300 a 500 esporas/m³, con concentraciones máximas de deuteromicetes > 4500 esporas/m³ y de basidiomicetes > 2000 esporas/m³, recolectadas en diversas épocas del año y horas del día.

Ambientes intramuros

La evaluación de los propágulos fúngicos presentes en el aire y en el polvo de ambientes intramuros indicó que, en general, las concentraciones en el aire fueron menores de 10^3 ufc/m³, y solamente en cinco de las casas muestreadas se alcanzaron concentraciones > 500 ufc/m³ de un solo género de hongo, con más de 1493 ufc/m³ de *Cladosporium* y/o 2549 ufc/m³ de *Penicillium*; mientras que en el polvo las concentraciones de hongos fluctuaron entre 10^2 y 10^6 ufc/g, con una media geométrica de 10^3 ufc/g. Esto sugiere un riesgo potencial para la salud de individuos sensibilizados, principalmente para los asmáticos habitantes de estos ambientes, ya que la exposición a concentraciones de hongos $>$ de 500 esporas/m³ en ambientes intramuros ha sido reportada como posible causante de enfermedades alérgicas.

Las correlaciones significativas encontradas entre las concentraciones de intra y extramuros, con proporciones de $< 3:1$, sugieren que el flujo de esporas de hongos se lleva a cabo del exterior hacia el interior, debido probablemente a la ventilación pasiva que es muy común en una región tropical como la Ciudad de México.

La proporción registrada entre las concentraciones de hongos intramuros y extramuros fue $>$ de 3 en 18% de las casas muestreadas, lo que indica posibles fuentes productoras de hongos en algunas de las casas estudiadas.

Frecuentemente se registró mismo tipo de géneros, tanto en el aire como en el polvo de ambientes intramuros, lo que significa que las esporas presentes en el polvo son dispersadas en el aire, con concentraciones que varían dependiendo de la actividad en el interior de la casa. Debido a que los propágulos fúngicos fueron recolectados en períodos de inactividad, es posible que las concentraciones estén subvaloradas en comparación con aquéllas que se registren en períodos de actividad.

Las especies predominantes en estos ambientes fueron *Cladosporium herbarum*, *Penicillium aurantiogriseum* y *P. chrysogenum*, las cuales son potencialmente alérgicas, e inhaladas en altas concentraciones pueden causar asma.

El presente trabajo ha permitido conocer y evaluar espacial y temporalmente los aeropropágulos fúngicos característicos de una zona urbana como la Ciudad de México, ya que en estudios previos sólo se habían reportado datos cualitativos, limitados con respecto al grupo de hongos capaces de ser colectados y desarrollados sobre medios de cultivo. Asimismo, fue posible observar la influencia del clima urbano con respecto al tipo de hongos presentes en el aire. Una vez caracterizada la aeromicrobiota de diversos ambientes de esta ciudad, ha sido posible llevar a cabo investigaciones conjuntas con los alergólogos e inmunólogos del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, proporcionándoles algunos extractos de los aeroalergenos fúngicos más frecuentes y abundantes, e informándoles sobre su comportamiento aerobiológico y los posibles niveles de exposición, lo cual contribuirá a comprender los estudios realizados sobre las enfermedades alérgicas respiratorias que se presentan en la Ciudad de México.

ABSTRACT

Aerobiological investigations were carried out to determine the behavior of fungal propagules in both outdoor and indoor environments of two zones of Mexico City with different urbanization indexes. To do this, Andersen volumetric samplers for viable aeroparticles and Burkard aerospores samplers were used. Also, domestic floor dust was collected in filter paper discs (by means of a vacuum cleaner that was adapted for this purpose) from indoor environments (homes) in order to determine the relationship between the dust mycobiota and the air mycobiota of these environments. The meteorological parameters of outdoor environments were registered by means of the automatic net of environmental monitoring (RAMA, Depto., D. F.), whereas the temperature and humidity inside the homes sampled were recorded with wave psychrometers.

Outdoor environments

The sampled fungal aeropropagules, of both culturable and impinged spores, showed a great heterogeneity of species, with the deuteromycetes being the most abundant, followed by the basidiomycetes and ascomycetes. The various fungal propagules presented marked variations in their daily and seasonal patterns, depending on the biological characteristics of each fungal genus being collected and the prevalent environmental conditions. A relationship between meteorological parameters (temperature, humidity, and wind velocity) and production, liberation and dispersion of airborne fungi was observed in the urban studied areas.

The effect of urban climate and local differences among the sites of sampling (urbanization index of the southern and central zones of the city) upon the airborne fungal concentrations was determined for each zone. The vegetation present in the southern zone provides the necessary substrates for the development of various fungi, whereas in the central zone, with a high urbanization index (0.97), a lower quantity of fungal propagules is generated there, and most of them are probably brought by the wind from other places, mainly basidiomycetes and ascomycetes which are common in rural areas or forests). Fungal heterogeneity was similar in both studied areas, probably due to the wind dispersion patterns that prevail in the Metropolitan Area of Mexico City, which disperse the fungal spores from one area to another, either from north to south, and/or from north and south toward the center, depending on the hour of the day and the season of the year.

Thirty one genera of deuteromycetes were collected from outdoor environments, being the most frequent and abundant *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Penicillium* and *Aspergillus*. During the rainy season, the most abundant basidiospores belonged to *Coprinus*, followed by those of *Inocybe*, *Agrocybe*, *Boletus*, *Russula*, *Bovista* and *Panacolus*, whereas in the dry season the most common spores were the teliospores of smuts, such as *Ustilago nuda*, *Ustilago* spp., and *Tilletia* spp.

The fungal concentrations registered in outdoor environments through different seasons of the year and hours of the day showed average values of 300 to 500 spores/m³, with maximum concentrations of deuteromycetes > 4500 spores/m³, and of basidiomycetes > 2000 spores/m³.

Indoor environments

The evaluation of the fungal propagules present in the air and dust of indoor environments showed that, in general, air concentrations were lower than 10^3 ufc/m³, and that in only five of the sampled homes fungal concentrations reached figures above 500 ufc/m³ of one single genus, with more than 1493 ufc/m³ of *Cladosporium* and/or 2549 ufc/m³ of *Penicillium*, whereas in dust the concentrations of fungal propagules fluctuated between 10^2 and 10^6 ufc/g, with a geometric mean of 10^3 ufc/g. This suggests a potential risk for the asthmatic inhabitants of these environments, since exposure to concentrations > 500 spores / m³ in indoor environments has been reported as a possible cause of allergic diseases.

The significant correlations found between indoor and outdoor fungal concentrations, with rates of $< 3 : 1$, suggest that the inflow of spores from the outside is probably due to the passive ventilation that is very common in a tropical region such as Mexico City.

The registered rate between fungal concentrations in indoor and outdoor environments was larger than 3 in 18% of the sampled homes, which indicates the existence of possible sources of fungi in some of these homes.

The same genera of fungi were registered in both air and floor dust of indoor environments, which means that the spores present in the dust are dispersed in the air, with concentrations varying according to the activity inside the homes. Since fungal propagules were collected during periods of inactivity it is possible that their concentrations are underestimated as compared to those that could be found during periods of activity.

The predominant species found in these environments were *Cladosporium herbarum*, *Penicillium aurantiogriseum* and *P. chrysogenum*, which are potentially allergenic and may cause asthma when their spores are inhaled.

This investigation has permitted to know and evaluate, both spatial and temporarily, the fungal aeropropagules that are characteristic of an urban area such as Mexico City, since previous studies had reported only qualitative data, which are limited with respect to the groups of fungi that are liable of being collected and grown on culture media. Also, it was possible to observe the influence of the urban climate upon the kind of fungal propagules that can be present in the air. Once the aeromycobiota of different environments of Mexico City has been characterized, joint investigations with allergologists and immunologists of the National Institute of Respiratory Diseases will be performed, providing them with some extracts of the most common and abundant fungal aeroallergens, and giving information about their aerobiological behavior and possible exposure levels. It is hoped that this will contribute to the studies done on the allergic respiratory diseases that are present in the city.

INTRODUCCIÓN

Las condiciones climáticas prevalecientes en una región tropical de altura como la Ciudad de México, así como la vegetación típica de estas regiones y las características particulares de cada localidad, favorecen el desarrollo de diversos tipos de hongos (Lacey 1996b).

En general, los hongos se desarrollan en hábitats determinados, como son bosques, praderas, zonas agrícolas, zonas áridas, zonas costeras, etc. Asimismo, un gran número de ellos crece dentro de zonas urbanas, principalmente en lugares que son abonados con tierra de bosque mezclada con estiércol de animales (como ocurre en áreas verdes de la ciudad, camellones, parques, jardines botánicos o de casas particulares, entre otros), por lo que es frecuente encontrar gran cantidad de propágulos fúngicos dispersos en la atmósfera de zonas urbanas de distintas regiones del mundo (Bhatti 1976; Al-Doory *et al.* 1980; Lacey 1981, 1996a, b; Atluri *et al.* 1988; Verhooff *et al.* 1988, 1990; Hunter *et al.* 1988; Pasanen *et al.* 1992; Hunter & Lea 1994; Mouilleseaux & Squinazi 1994; Nevalainen *et al.* 1994; Li & Kendrick 1994, 1995; Munuera & Carrión 1995; Cadman 1991).

El estudio de los hongos que se desarrollan dentro del Valle de México ha permitido reconocer a una gran diversidad de ellos (Guzmán 1977; Pérez-Silva & Aguirre-Acosta 1986; Zarco 1986; Chio *et al.* 1988, 1989, 1990; Pérez-Silva 1989; Reygadas *et al.* 1995), algunos de los cuales también crecen y dispersan sus esporas en la atmósfera de la Ciudad de México. Sin embargo, han sido relativamente pocos los estudios aerobiológicos realizados en una zona como la Ciudad de México, cuyas condiciones ambientales le dan un sello peculiar y característico de una área urbana con un alto grado de contaminación química y abundancia de partículas, además de que dichos estudios sólo se han realizado durante cortos períodos de tiempo (González Ochoa 1943; López Martínez *et al.* 1983, 1986; Robledo & Moretti 1986; Rosas *et al.* 1990, 1992, 1993), lo que no ha permitido llevar a cabo una evaluación correcta, tanto de la concentración/m³ de los diversos

tipos de propágulos fúngicos presentes en el aire, como la determinación de su variación espacial y temporal en ambientes extramuros e intramuros de la ciudad. La mayoría de los aeropropágulos fúngicos son reconocidos como fitopatógenos, patógenos del hombre y de los animales o como alérgenos. Las reacciones alérgicas de las vías respiratorias pueden ser inducidas por partículas presentes en el aire, por lo que las esporas de hongos pueden ser responsables de ocasionar enfermedades respiratorias como asma, rinitis y alveolitis alérgica extrínseca. La exposición a este tipo de partículas de origen biológico puede producir reacciones alérgicas tanto en personas atópicas (sensibilizadas), como en no atópicas, dependiendo de las concentraciones y el tipo de hongos a los que se esté expuesto (IEHO 1985). Por lo tanto, la evaluación aerobiológica de los propágulos fúngicos presentes en el aire de una zona urbana como la Ciudad de México aportará conocimientos para la aeromicrología, y otros campos de gran interés en la ciencia, como la salud, la biometereología y la ecología, entre otros.

OBJETIVOS

- **Determinar el comportamiento aerobiológico de los propágulos fúngicos dispersos tanto en la atmósfera de dos zonas de la Ciudad de México con diferente índice de urbanización, como en el aire intramuros, de 30 casas de pacientes asmáticos.**
- **Determinar las principales especies de alergenofúngicos presentes en el aire de la Ciudad de México.**
- **Establecer la posible influencia del clima urbano (factores meteorológicos, como temperatura, humedad, velocidad y dirección del viento, así como índice de urbanización, vegetación, sobrecalentamiento del aire urbano, etc.) sobre la heterogeneidad y concentración de las esporas y propágulos fúngicos viables presentes en el aire de ambientes extra e intramuros localizados en el sur y en el centro de la Ciudad de México.**

CAPÍTULO 1. GENERALIDADES

1.1 ASPECTOS DE AEROBIOLOGÍA

La aerobiología se define como una disciplina que estudia las aeropartículas de origen biológico. Éstas incluyen virus, hongos, actinobacterias y otras bacterias, esporas de briofitas y pteridofitas, pólenes, fragmentos de plantas y pequeñas semillas, protozoarios, ácaros e insectos, incluyendo sus fragmentos y material fecal (aunque los insectos son considerados dentro del campo de la aerobiología sólo si son incapaces de controlar la dirección de su vuelo), así como metabolitos asociados, por ej, endotoxinas, β 1-3 glucan de los hongos y micotoxinas, proteínas del suero de las excretas de pájaros, proteínas de orina de los animales de granjas y laboratorios, proteínas liberadas de las células de plantas y animales durante procesos industriales; y productos de procesos biotecnológicos, principalmente enzimas (Lacey 1996 b).

Los propágulos fúngicos son por lo tanto sólo una parte de la totalidad de los bioaerosoles suspendidos en el aire, aunque son considerados como una parte muy importante de dichos bioaerosoles.

La aerobiología se desarrolló rápidamente durante el siglo 20, aunque ya Leeuwenhoek en sus cartas a la Royal Society en 1680 especulaba sobre la presencia de microorganismos en el aire (Dobell 1932). La palabra aerobiología fue inventada por el americano Fred C. Meier, en los años 30's, para describir un proyecto sobre la vida microbiana en el aire. Sin embargo, esta disciplina fue establecida formalmente en un simposio sobre aerobiología extra e intramuros, organizado por la American Association for the Advancement of Science (Moulton 1942). Asimismo, como un resultado de la contribución para el International Biological Programme, Edmonds (1979) estableció el concepto del "aerobiology pathway". Éste describe la acción de la aerobiología como el proceso que ocurre desde la fuente de una partícula biológica, hasta la liberación, dispersión,

deposición, y su impacto en otros organismos, así como el efecto de los factores ambientales sobre dicha partícula.

1.2. COMPORTAMIENTO AEROBIOLÓGICO DE LAS ESPORAS DE HONGOS

Ambientes extramuros

Los propágulos fúngicos, incluyendo conidios, ascosporas, basidiosporas, levaduras y teliosporas de royas y carbones que se encuentran dispersos en la atmósfera, se originan principalmente de vegetación viva o muerta, y las especies y concentraciones de estos propágulos en el aire varían dependiendo de la hora del día, la estación del año, las condiciones ambientales, la localización geográfica y la proximidad de sus fuentes productoras. Gran cantidad de propágulos permanecen viables (suspendidas en el aire) y son responsables de algunas enfermedades en plantas, en animales y en el hombre (Adams 1964; Auger-Barreau 1971; Lacey 1981).

El estudio de las poblaciones de propágulos fúngicos en el aire se ha venido realizando en diversas partes del mundo, y aunque el significado general de los hallazgos es difícil de evaluar debido a las diferencias en métodos de muestreo (diferentes clases de muestreadores utilizados y diferencias en tiempos y épocas de muestreo) y tipos de análisis aplicados a los resultados, es claro que se ha incrementado el conocimiento sobre su comportamiento aerobiológico y sobre la epidemiología de las enfermedades causadas por dichos propágulos.

Existen numerosas investigaciones aeromicológicas realizadas en diversas partes del mundo, principalmente en regiones templadas y frías: Meier 1936, Hirst 1952, 1953; Davies 1957; Pady 1957; Kramer *et al.* 1959; Pady & Kramer 1960; Lacey 1962; Rich & Waggoner 1962; Davies *et al.* 1963; Adams 1964; Pathak & Pady 1965; Wright *et al.* 1969; Auge-Barreau 1971; Bhati 1976; Sheridan & Stevenson 1976; Al-Doory *et al.* 1980; Pennycook 1980; Lacey 1981; Wiley *et al.* 1982; Jones & Cookson

1983; Beaumont *et al.* 1984, 1985 a, b; Burge 1986; Aylor 1986; Eversmeyer & Kramer 1987; Hawkey & Medous 1989; Lacey 1990; Levetin 1990, 1991; Stephen *et al.* 1990; Shaheen 1992; Hjelmroos 1993; Li & Kendrick 1994; Munuera & Carrión 1995; Lacey 1996b).

En las regiones tropicales, estas investigaciones han sido menos numerosas, aunque no por ello menos importantes, ya que las condiciones climáticas (temperatura, humedad, precipitación, etc.) que se registran en estas zonas y su abundante vegetación son factores que favorecen la producción de una gran diversidad de hongos que se desarrollan en diferentes clases de sustratos (González Ochoa 1943; Cammack 1955; Sreeramulu & Ramalingam 1962, 1964; Dransfield 1966; Turner 1966; Upsher & Griffiths 1973; Ogunlana 1975; Al-Tikriti *et al.* 1980; Vital & Krishnammoorthi 1981; Jones & Cookson 1983; López Martínez *et al.* 1986; Agashe & Charterjee 1987; Joy-Royes 1987; Atluri *et al.* 1988; Yousseff & Karam El-Dim 1988; Halwary 1989, 1994; Hawke & Meadows 1989; Abdel-Hafez *et al.* 1989, 1993; Rosas *et al.* 1990, 1992, 1993; Cadman 1991; Calderón *et al.* 1995).

Tanto en las regiones templadas como en las tropicales se ha encontrado un número mayor de hongos que en latitudes altas y áreas desérticas. Se ha observado que con las diferencias regionales existe una tendencia a incrementarse la variedad de hongos atrapados, al pasar de zonas climáticas frías a cálidas. Los hongos conidiales comprenden una gran proporción de esporas en las regiones desérticas y son también los componentes más grandes de las esporas del aire de zonas cálidas húmedas, estepas y sabanas trópico-húmedas.

Las investigaciones realizadas en diversas regiones del mundo han reportado de 200 esporas a 2 millones de esporas/m³ de aire, aunque el número promedio diario según la zona de estudio (urbana, agrícola, forestal) puede variar entre 5000 y 20 000 esporas/m³, con concentraciones máximas que rara vez exceden por arriba de los 200, 000 esporas/m³ durante períodos breves de tiempo. Esas concentraciones son generalmente la consecuencia de condiciones que favorecen la formación y liberación de muchas ascosporas, balistosporas y basidiosporas. Los hongos conidiales, en cambio, rara vez registran concentraciones tan grandes en

condiciones normales (Lacey 1981).

Dentro del grupo de hongos de los deuteromicetes, *Cladosporium* es el principal representante, ya que además de ser predominante en diferentes regiones climáticas, su número determina la cantidad total de esporas del aire durante el día. Esto depende en gran parte tanto de la cobertura vegetal de la región, como de la humedad del ambiente, o de si se trata de zonas rurales o urbanas. *Cladosporium* puede presentarse por arriba de 100 000 esporas/m³ de aire en algunos días, quizá representando más del 90% del total de esporas diarias, aunque usualmente son menores en número. La concentración promedio diaria generalmente va de 3 a 6.5 x 10³ esporas/m³, algunas veces por arriba de 1.7 x 10⁴ esporas/m³ (Davies *et al.* 1963; Lacey 1981). En las noches, especialmente en regiones más frías, este hongo es reemplazado por ascomicetes, basidiomicetes y *Sporobolomyces* (Lacey 1981, 1996 b; Edmonds 1979).

Los propágulos de *Cladosporium* que están en el aire frecuentemente se presentan en promedios de agregados de 1.3 a 3.6 propágulos por unidad de dispersión (Hyde & Williams 1949; Davies 1957; Harvey 1967). Los muestreos realizados con trampas de esporas, como el Burkard-Hirst, reportan mayores concentraciones, debido a que es posible cuantificar individualmente las esporas, aunque éstas se encuentren en agregados. En contraste, los muestreos con medios de cultivo en cajas de Petri abiertas, o con el muestreador para partículas viables Andersen, con los que se cuenta el número de colonias desarrolladas, reportan concentraciones más bajas de *Cladosporium*, porque estas colonias pueden provenir ya sea de una sola espora o de agregados de esporas. Debido a esto se presentan diferencias en la expresión de los resultados y los estudios no son fácilmente comparables. Sin embargo, se ha observado que generalmente este tipo de hongos es el que más comúnmente se registra.

Alternaria es el hongo conidial reportado como el segundo más abundante, pero éste solamente presenta concentraciones promedio diarias arriba de 150 esporas/m³ y generalmente sólo 50 esporas/m³. Otro tipos de conidiosporas

representan muy bajas proporciones (menos del 1%) con respecto al total de esporas del aire (Lacey 1981, 1996). En áreas tropicales, *Curvularia* y algunas veces *Nigrospora* contribuyen grandemente en el número de esporas del aire, con concentraciones pico de 4000-9000 esporas/m³, aunque las concentraciones promedio, al igual que las de *Alternaria*, son frecuentemente de 50 esporas/m³ o menos (Sreeramulu & Ramalingam 1966).

Las esporas de *Aspergillus* y *Penicillium* son ampliamente dispersadas en el aire. Los estudios en los que se emplean técnicas para captar partículas viables (utilizando como base medios de cultivo) permiten determinar a estos hongos hasta nivel de especie, mientras que los estudios realizados con métodos para atrapar partículas no viables (impactación en placas con el muestreador Burkard) frecuentemente no mencionan este tipo de esporas debido a su tamaño (1-5 µm) y a la dificultad para reconocerlas, o en algunos casos estas esporas de *Aspergillus* y *Penicillium* son cuantificadas y colocadas dentro de un mismo grupo (*Asp/Pen*), como "pequeñas esporas redondas" (Beaumont 1985).

Diversas especies del género *Penicillium* predominan en muchas regiones, pero son reemplazadas por las de *Aspergillus* en los trópicos húmedos. Por ejemplo, en El Reino Unido, el porcentaje de esporas de *Penicillium* recolectadas fluctúa entre 2.5 y 13%, y las de *Aspergillus* solamente entre 0.9 y 3.0% (Hyde & Williams 1949; Richards 1954; Hudson 1969). En contraste, en la India se obtuvo un porcentaje de 5.6% de colonias de *Aspergillus* con 37 especies diferentes, mientras que solamente se obtuvo 1.7% de *Penicillium* (Rati & Ramalingam 1976). En la Cd. de México, con un clima tropical de altura, los estudios aerobiológicos han reportado porcentajes de colonias de *Penicillium* que fluctúan entre el 13.8 y 25% (concentraciones similares al 25% fueron reportadas en Australia (Upsher & Griffiths 1973)), y entre el 1.7 y el 6.0% de *Aspergillus* con respecto al total de hongos desarrollados (Rosas *et al.* 1990, 1992 y 1993).

Las esporas de basidiomicetes y ascomicetes también son muy comunes en el aire. Su contribución al total de esporas contenidas en el aire de diferentes regiones del

mundo es considerable (Adams 1964; Levetin 1990,1991; Hasnain 1993; Li & Kendrick 1994). Estas clases de hongos producen gran cantidad de esporas, las cuales son dispersadas por el viento a grandes distancias. En Inglaterra ocupan de 25 a 30% del total de esporas atrapadas y en otras regiones del mundo se ha reportado que se encuentran entre 5 y 30% de la totalidad de esporas en el aire (Beaumont 1985). En México se han reportado de 28 a 32% de basidiomicetes y de 7 a 16% de esporas de ascomicetes con respecto al total de esporas fúngicas que ocurren en el área urbana (Calderón 1995). Este tipo de hongos solamente puede ser muestreado con técnicas para captar partículas no viables (aunque los basidiomicetes pueden desarrollar colonias rudimentarias sobre medios de cultivo) y representan un gran número de géneros y especies. Ambos grupos de hongos frecuentemente se presentan durante y después de la lluvia.

Una pequeña proporción de basidiosporas atrapadas de la atmósfera es generalmente pasado por alto debido a que ni por forma ni color pueden diferenciarse de esporas de otros grupos (Adams 1964), excepto las esporas muy características y comunes, como las de *Ganoderma*, entre otras esporas coloreadas o hialinas características, a las que es posible observarles su apéndice hilar. En general, las esporas de los ascomicetes son morfológica y taxonómicamente muy diversas; Alrededor de la mitad de las ascosporas coloreadas pueden identificarse como pertenecientes a géneros particulares de ascomicetes (Adams 1964).

Esporas de hongos y condiciones ambientales

Los factores climáticos tienen una clara y profunda influencia sobre la producción, liberación, dispersión y deposición de las esporas de hongos. La humedad, temperatura, precipitación, y velocidad y dirección del viento, así como la flora y fauna presentes en las diferentes regiones del mundo, son los principales factores que afectan las concentraciones y el tipo de esporas presentes en el aire (Al-Doory *et al.* 1980).

Fuentes productoras de hongos

Para que las esporas se desarrollen necesitan conjuntarse diversos factores, comenzando por la presencia de fuentes adecuadas que permitan su crecimiento. Estas fuentes son consideradas en dos niveles, la producción del cuerpo fructífero individual o la producción de una unidad en el sustrato. Similarmente, la producción de las esporas puede considerarse como un total o como una estimación de la producción sobre un tiempo dado.

La mayoría de los estudios de sustratos individuales como una fuente de esporas del aire se refieren a cultivos agrícolas, bosques, áreas con vegetación, etc., como ocurre, por ejemplo, para diversos hongos conidiales, como *Torula*, *Periconia*, *Nigrospora* y *Alternaria*, los cuales son saprobios o son parásitos de plantas; o para muchas ascosporas que dependen de la cantidad de restos de hojas, tanto de cultivos como de otro tipo de vegetación, ya que ésta es el principal sustrato para los hongos (Lyon *et al.* 1984; Li & Kendric 1994).

La influencia de las fuentes sobre la concentración de esporas presentes en el aire es un factor determinante ya que ésta determina su potencial, y dependiendo de la altura a la cual se coloque el muestreador es posible determinar los efectos de las fuentes locales sobre la cantidad y el tipo de esporas colectadas. En un momento dado las esporas son captadas ya sea cerca o lejos de sus fuentes productoras. Sin embargo, las esporas liberadas a larga distancia del muestreador se van diluyendo durante el transporte de un lugar a otro y son depositadas continuamente para ser reemplazadas por aquéllas nuevamente liberadas. Por lo tanto, es muy importante tomar en cuenta que el tiempo en que se registra la máxima concentración de esporas en el aire no necesariamente es el mismo en el que fueron producidas y liberadas; esto dependerá de la cercanía de los muestreadores a las fuentes, de la hora del día y, por lo tanto, de las condiciones atmosféricas que permitan la liberación y dispersión de las esporas.

Humedad y temperatura

La humedad relativa y la temperatura, las cuales por definición se correlacionan inversamente (la humedad relativa correlaciona negativamente con la

temperatura) (Lyon *et al.* 1984), influyen en el comportamiento diurno y estacional de los hongos. Las concentraciones máximas de conidiosporas en la atmósfera están asociadas a temperaturas altas y humedades bajas. Se ha reportado que las bajas temperaturas disminuyen la liberación de conidios, como los de *Cladosporium* y *Alternaria* (Halwagy 1989), mientras que las esporas de los ascomicetes presentan sus valores máximos cuando la humedad relativa aumenta y la temperatura disminuye (Leach 1975; Beaumont *et al.* 1985; Davies & Main 1986).

También se ha encontrado que la humedad relativa correlaciona positivamente con los basidiomicetes (Beaumont *et al.* 1985). Concentraciones altas de basidiosporas resultan de humedad relativa elevada (70 y 80%) y pocas horas de sol (McDonald & O'Driscoll 1980; Li & Kendrick 1994).

Así como la humedad óptima es necesaria para la producción de las esporas, los cambios en la temperatura a lo largo del día influyen en la liberación y dispersión de las aerosporas, debido a que en un intervalo de tiempo corto y en un espacio vertical los cambios de temperatura afectan el grado de turbulencia convectiva, el cual puede simultáneamente diluir las concentraciones de esporas desde el nivel del suelo, e inducir la liberación de las partículas por disturbio mecánico (Stephen *et al.* 1990). Esto sugiere que el principal mecanismo para producir la liberación de los propágulos puede deberse a los cambios de temperatura. Asimismo, las inversiones superficiales de temperatura juegan un papel importante en el transporte de las esporas (Davies & Main 1986).

Es claro que para la esporulación de los hongos, la humedad relativa y la temperatura influyen directamente en su liberación y en el transporte; sin embargo, ya que los factores meteorológicos siempre están relacionados con otros factores del mismo tipo, casi en el mismo grado, ninguno de ellos puede evaluarse de manera independiente (Munk 1981; Li & Kendrick 1994).

Viento

El viento es uno de los agentes más impredecibles en la dispersión de las esporas. Muchos hongos están adaptados para el transporte aéreo (Tilak 1984). El

incremento en la velocidad del viento expande la capa límite turbulenta de la atmósfera (Gregory 1973), la cual levanta y redispersa eficientemente las esporas de hongos que previamente se depositaron sobre la superficie del suelo, edificios, plantas, etc. Estudios aerobiológicos han demostrado que la velocidad del viento es un factor muy significativo para las esporas de hongos que se encuentran en el aire. Esto se ha comprobado principalmente para esporas grandes, como las de *Helminthosporium*, *Drechslera*, *Pithomyces*, *Epicoccum* y *Nigrospora* (Li & Kendrik 1994; Tilak 1984).

La liberación de las esporas de algunos hongos conidiales, como las de *Cladosporium* y *Alternaria*, son inducidas por el viento (Lyon *et al.* 1984), incrementando sus concentración cuando disminuye la humedad relativa y aumenta el flujo de aire (Salvaggio & Aukrust 1981). Sin embargo, no sólo las velocidades altas de los vientos son responsables de la liberación de las esporas; algunas especies de basidiomicetes, y de hongos conidiales, como *Periconia*, *Nigrospora*, *Torula* y *Alternaria*, dependen de velocidades medianas a bajas del viento para su liberación. Esto se ha observado principalmente en áreas cultivadas, lo que sugiere que probablemente estas taxa provienen de fuentes locales.

La dirección del viento es un factor fundamental que hay que tomar en cuenta para el control de epidemias en los cultivos, debido a la elevada producción y liberación de esporas fitopatógenas que pueden dispersarse de un cultivo a otro. Es claro, por lo tanto, que la velocidad y dirección del viento tienen un papel fundamental en la liberación y dispersión y transporte de los propágulos fúngicos.

Precipitación

La lluvia tiene un efecto directo sobre el contenido de esporas en el aire; dependiendo de su intensidad y duración, este efecto puede ser positivo o negativo, y está más relacionado con el tamaño de la gota y la frecuencia que con el volumen de la precipitación (Stephen *et al.* 1990).

Las primeras gotas que caen sobre la vegetación seca incrementan las concentraciones de ciertos tipos de hongos, como los conidiales, especialmente

Cladosporium, *Alternaria* y *Erysiphe*. Cuando la lluvia se prolonga, ésta hace un efecto de lavado de las esporas del aire, particularmente de las conidiosporas. Posteriormente, después de que la lluvia ha cesado y el follaje se comienza a secar, gran cantidad de ascosporas son liberadas, como las de *Leptosphaeria* (100 000/m³ de aire) (Harries *et al.* 1985; Burge 1986). El alto valor de humedad relativa que permanece en la atmósfera después de la lluvia estimula la liberación de una gran cantidad de balistosporas de *Sporobolomyces* y de basidiosporas (Lacey 1981), ya que la dispersión de éstas es dependiente de procesos especializados de descarga activa que requieren la presencia de agua libre, incrementándose su número durante los períodos de lluvia y alta humedad (Salvggio & Aukrust 1981, Lyon *et al.* 1984). Lyon ha reportado que la precipitación se correlaciona más con la liberación y dispersión de las esporas de basidiomicetes que la alta humedad (Lyon *et al.* 1984; Palmás & Cosentino 1990). Li & Kendrick (1994) reportaron que las esporas de basidiomicetes recolectadas son más numerosas en condiciones de humedad relativa media (50 a 65%) y de precipitación. En cambio, las esporas de los hifomicetes (hongos conidiales) responden negativamente a la precipitación (Palmás & Cosentino 1990; Li & Kendrick 1994).

Distribución temporal de los aeropropágulos fúngicos

Periodicidad estacional

Diversos estudios sobre las esporas del aire han reportado algunos patrones estacionales definidos (Gregory 1973; Lacey 1981, 1996 b; Atluri 1988). Se ha observado que en regiones templadas frías la estación del verano es la más importante para el desarrollo de los hongos, principalmente para los basidiomicetes y ascomicetes, aunque muchos hongos conidiales son frecuentes durante todo el año, tales como *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus* y *Penicillium*. Es durante el verano cuando se determinan principalmente los patrones a seguir para todo el año y sus relaciones con los factores meteorológicos. La estación de

invierno en este tipo de regiones es, en cambio, una estación de latencia para muchos hongos. Las esporas de hongos que están en el aire durante esta estación derivan probablemente de las remanentes de otras estaciones o son transportadas por el viento desde lugares más lejanos. En estas regiones, durante el invierno no hay una fuente local que esté produciendo esporas. La diversidad genérica de las esporas y su número en el aire es mucho más bajo que en cualquier otro mes del año.

En las regiones tropicales o subtropicales en las que el año se divide en dos épocas principalmente (lluvias y secas), los ascomicetes y basidiomicetes predominan en el aire durante la época de lluvias (mayo-octubre), mientras que en la época de secas (noviembre a abril), en este ambiente existe gran cantidad de representantes del grupo de los deuteromicetes, así como de algunos heterobasidiomicetes como royas y carbonos. Los hongos conidiales como *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus* y *Penicillium* se registran durante todo el año (Lacey 1981, 1996 b).

Independientemente de la región geográfica de que se trate, y de que sea en zonas forestales, rurales, urbanas, etc., los hongos generalmente se comportan de manera similar bajo ciertas condiciones ambientales, es decir, los ascomicetes y basidiomicetes responden a una humedad relativa mediana o alta (50% a 90%), mientras que los hifomicetes lo hacen a una humedad relativa mediana o baja (30% a 40%). Sin embargo, no todos los patrones estacionales de los hongos han podido ser definidos, ya que la concentración y composición de las esporas del aire en ambientes extramuros son determinados, además de los factores meteorológicos, por la interacción de muchas variables, como son entre otros factores ambientales los factores biológicos, las variaciones geográficas, las actividades humanas y las características biológicas de cada grupo de los hongos (Salvaggio 1986). Por otro lado, en muchas regiones del mundo hay carencia de estudios aerobiológicos.

Periodicidad diurna

El ciclo biológico de los hongos, los diferentes mecanismos de liberación de las esporas y los cambios en las condiciones meteorológicas dan, de manera combinada, variaciones diurnas en las concentraciones de esporas (Lacey 1981, 1996 b). Los picos máximos de esporas que se presentan a lo largo del día están generalmente relacionados con las condiciones necesarias para la liberación de esporas, la turbulencia, la velocidad del viento, la convección y la estabilidad atmosférica que afecten el grado de dilución de las nubes de esporas liberadas, y por lo tanto sus concentraciones en el aire. Se han determinado las periodicidades diurnas y estacionales de una gran cantidad de esporas, generalmente mediante estimaciones bhorarias usando muestreadores continuos (Gregory 1973; Lacey 1981; Atluri 1988).

Se ha observado que el punto de rocío, la humedad relativa, la temperatura y la dirección y velocidad del viento tienen un efecto sobre diversos procesos de los hongos. Por lo menos se han reconocido 5 patrones diurnos (Hirst 1953; Cammak 1955; Meredith 1962; Sreeramulu & Ramalingam 1962, 1966; Sreeramulu & Vittal 1966; Pady *et al.* 1967; Shenoj & Ramalingam 1975; Gregory 1973; Lacey 1981, 1996 b).

Algunas especies dependen de condiciones secas para liberar sus esporas, dando concentraciones mayores en las primeras horas de la mañana, como ocurre con las esporas de *Epicoccium* y *Nigrospora* (patrón antes del amanecer). Otros hongos tienen métodos de liberación de tipo mecánico, como ocurre con *Cladosporium* y *Alternaria*, cuyas esporas tienden a ser más numerosas durante el medio día, con un solo pico entre las 10:00 y las 16:00 horas, o un doble pico, entre las 8:00 y 10:00 y las 14:00 y 18:00 horas (patrones de medio día y de doble pico).

Las especies que requieren de agua o de condiciones muy húmedas para su desarrollo y liberación (ascomicetes y basidiomicetes principalmente) llegan a ser más numerosas durante la noche, debido posiblemente a una respuesta al incremento en la humedad acompañado de una disminución de temperatura (Burge 1986), aunque el tiempo de liberación puede ocurrir desde antes de la

media noche hasta las primeras horas de la mañana, dependiendo de las especies (patrón después del crepúsculo y patrón nocturno).

Por lo que se sabe, quizá resulte más apropiado definir la periodicidad diurna en términos de los mecanismos de liberación de las esporas y de las condiciones meteorológicas que con respecto a la hora del día.

Ambientes intramuros

Variación cuantitativa y cualitativa de las aerosporas en ambientes intramuros

Los ambientes intramuros difieren de los extramuros tanto en los patrones de movimiento del aire, como en su composición, humedad y temperatura. Los movimientos del aire resultan de la ventilación, convección y flotación; sin embargo, el aire no se mueve continuamente sobre una superficie como ocurre en extramuros. En lugar de esto, el aire fresco se mezcla con el del interior desplazándose en el ambiente, por lo que las partículas son diluidas pero no completamente removidas por la ventilación. Los ocupantes de los ambientes intramuros también contribuyen a la turbulencia del aire, tanto por sus movimientos, como por las corrientes de convección que crean sobre la superficie del cuerpo, barriendo el aire desde el nivel del suelo.

En ambientes intramuros ha sido posible distinguir entre dos tipos de fuentes proveedoras de hongos, las llamadas fuentes exógenas y las endógenas. Las primeras se originan en el ambiente extramuros y se introducen a las casas durante la ventilación, especialmente durante el verano en las zonas templadas y frías, o a lo largo de casi todo el año en las regiones tropicales y subtropicales. Las fuentes endógenas, en cambio, representan la producción de fuentes interiores y están sujetas a una gran variación de una casa a otra, dependiendo principalmente de la presencia previa de algún daño causado por agua (inundación, goteras, humedad en las paredes etc.). En regiones que van de templadas a frías el impacto de las fuentes endógenas resulta más aparente durante los períodos de nieve del invierno, cuando las cuentas de esporas de hongos en extramuros nunca exceden a 230 esporas/m³.

Diversas investigaciones realizadas en ambientes intramuros han mostrado que existe una gran variación temporal en el número de propágulos fúngicos dispersos en el aire de estos ambientes (Pasanen *et al.* 1992). La variabilidad de nubes de esporas viables encontradas en un ambiente intramuros con un desarrollo activo de hongos es considerablemente mayor que en ambientes sin fuentes visibles, en las que sólo se encuentra un cierto nivel de fondo en la concentración de hongos (Hunter *et al.* 1988; Verhoeff *et al.* 1988, 1990; Stanevich & Petersen 1990; Mouilleseaux & Squinazi 1994).

Las concentraciones de esporas en los ambientes intramuros cambian de acuerdo a ciertos factores relacionados con las mismas esporas y con las condiciones que prevalezcan en dichos ambientes. Tanto el flujo de aire como la humedad relativa afectan la dispersión de las esporas desde una colonia, la cual varía de acuerdo a las especies de hongos desarrollados. Las variaciones de flujo/humedad relativa pueden por lo tanto inducir la variabilidad en la concentración de esporas (Pasanen *et al.* 1992).

Se sabe que los hongos requieren de agua para su desarrollo. En ambientes intramuros los hongos pueden proveerse de agua al incrementarse la humedad del ambiente, la cual resulta de una insuficiente ventilación y por la condensación sobre superficies frías, siendo esta última la principal fuente de humedad para el desarrollo de hongos sobre las superficies internas de las viviendas. Además de la condensación superficial, la condensación intersticial ocurre dentro de los poros del material de las casas, como en el concreto, los tabiques y el yeso, induciéndose el desarrollo de diversas clases de hongos. Humedades relativas mayores de 70% pueden permitir el desarrollo de algunas especies xerófilas. Asimismo, al incrementarse más la humedad se puede desarrollar un mayor número de especies. Los nutrimentos necesarios para el desarrollo de los hongos pueden provenir de la pintura o el papel tapiz, del algodón y de otros materiales de celulosa o de fragmentos de alimento y otros materiales orgánicos del polvo de las casas. Los tipos de esporas en el aire de ambientes intra y extramuros son frecuentemente muy diferentes. En ausencia de fuentes intramuros, los tipos de

esporas en este ambiente son similares a los encontrados en extramuros, pero en menor concentración.

Existe un acuerdo general con respecto a los tipos de esporas de hongos predominantes en el aire de ambientes intramuros de viviendas en Europa y Norte América, los cuales corresponden a especies de *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus* (Nilsby 1949; Hirst 1952; Schaffer *et al.* 1953; Oren & Beker 1970; Gravesen 1972, 1979; Kozak *et al.* 1979; Hocking & Pitt 1980; Beaumont *et al.* 1984; Holmberg 1984; Hunter *et al.* 1988; Verhoeff *et al.* 1990 van Reenen-Hoekstra *et al.* 1992), aunque también se encuentran abundantemente muchos otros géneros, incluyendo a *Alternaria*, que se obtiene tanto sobre placas como con muestreadores con medios de cultivo. Se ha observado que *Alternaria* es menos abundante en invierno que *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*.

Las especies de *Penicillium* son comunes en ambientes intramuros, y se consideran como unos de los colonizadores primarios sobre diversos sustratos, ya que requieren de bajo contenido de agua para desarrollarse. En un estudio hecho por Pasanen *et al.* (1992), en el que se muestrearon la sala y la recámara de casas-habitación, así como el ambiente extramuros que rodea las casas, se encontró que el 96% de los hongos aislados correspondió a *Penicillium* spp., y de este porcentaje 50% provino de las salas, 63 % de las recámaras, y 14% del exterior. Por otro lado, las levaduras comprendieron un 13% del total de hongos colectados.

Diversos estudios han mostrado que en ausencia de hongos visibles dentro de los ambientes intramuros, el 44% de las cuentas están dentro del intervalo de $< 12-200$ ufc/m³ de aire, mientras que en las casas donde se encuentran hongos visibles sobre las paredes, papel tapiz, muebles, etc., las esporas del aire son más numerosas (>400 ufc/m³). Esto ocurre, por ejemplo, en casas construidas principalmente de madera, en donde con ciertas condiciones de humedad se desarrollan hongos característicos que pudren la madera, como *Serpula lacrymans*, que produce millones de esporas. Es en los sótanos donde más frecuentemente se desarrollan los cuerpos fructíferos de estos hongos, y donde se registran

concentraciones muy elevadas de esporas, cerca de 80 mil esporas/m³ de aire, mientras que en el resto de la casa, donde no hay cuerpos fructíferos las concentraciones son entre 16 mil y 26 mil esporas/m³. Se ha estimado que los cuerpos fructíferos producen alrededor de 3 mil esporas/cm³ por día. Se ha reportado que las esporas de este hongo son causantes de alveolitis alérgica extrínseca (Garfield *et al.* 1984).

Otro factor que juega un papel importante en la contaminación del aire de estos ambientes es el tamaño de las esporas y la consecuente velocidad de sedimentación una vez que éstas están en el aire, por lo que las esporas grandes, como las de *Ulocladium*, se sedimentan más rápidamente que otras, y pueden estar menos representadas durante períodos con poca actividad que durante tiempos cortos de mayor actividad (Hunter 1988; Flannigan 1993).

Entre los hongos que han sido aislados de las paredes están *Cladosporium herbarum*, *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus versicolor* y *Penicillium glabrum*, siendo *P. crysogenum* y *P. aurantiogriseum* los más comunes en baños y otros cuartos húmedos. Los hongos encontrados en superficies pintadas incluyen diversas especies de *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, además de *Acremonium*, *Gliomastix*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Rhodotorula* y *Ulocladium* (Springle 1981).

Entre los hongos que crecen sobre pedazos de alimentos y otros materiales orgánicos se encuentran principalmente *Aspergillus*, *Eurotium* y *Penicillium*, los cuales producen miles de esporas que fácilmente se introducen en el aire por cualquier actividad mecánica. *Eurotium* spp. y *Wallemia sebi* son hongos xerófilos que pueden crecer con bajas humedades y son importantes componentes de las esporas del aire de ambientes intramuros.

Las plantas también son una fuente importante de hongos, como muchas especies de *Aspergillus* y algunos hongos fitopatógenos, por ejemplo las de royas y los carbones.

Los hongos de los ambientes intramuros generalmente no presentan mecanismos de liberación activa de esporas y su desprendimiento e incorporación al aire

depende en gran parte de los disturbios que ocurran en el lugar, por lo que las concentraciones de esporas en el aire frecuentemente reflejan el nivel de actividad de los ambiente intramuros. Altas concentraciones se encuentran en obras en construcción o en reparación o durante la limpieza de las viviendas, oficinas, escuelas, etc. En cambio, cuando hay baja actividad dentro de estos ambientes las concentraciones de hongos en el aire disminuyen. La limpieza con aspiradora puede elevar inmediatamente el número de esporas en el aire y mantenerlo así aun después de una hora. El disturbio mecánico de una superficie con hongos puede incrementar los números de esporas en el aire 3,300 veces en una área de 0.3 m desde la fuente.

Los sistemas de aire acondicionado son importantes fuentes de esporas, las cuales pueden dispersarse por toda la vivienda. Estos sistemas pueden disminuir las concentraciones de *Cladosporium*, comparadas con las viviendas sin aire acondicionado. Los hongos aislados de los sistemas de aire acondicionado pueden incluir *Aureobasidium pullulans*, *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium*, *Phialophora* y *Phoma*, todos ellos típicos de ambientes húmedos. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Acremonium* y *Wallemia* probablemente crecen en partes secas del sistema, en el material de los filtros o en el polvo acumulado. Al funcionar el sistema de aire acondicionado se pueden incrementar las concentraciones de hongos en el aire, de 7,000/esporas m³ en condiciones sin disturbio, hasta 10⁷ esporas/m³. La liberación de esas fuentes estará afectada por el grado de infiltración del aire y las presiones diferenciales, las cuales están afectadas por el clima. Por lo tanto, su diseño, construcción, operación y mantenimiento son factores adicionales que contribuyen a la variabilidad de las esporas de hongos dentro de estos ambientes.

Los humidificadores son una fuente productora de esporas ; los filtros sucios y la basura acumulada en los ductos están sujetos a condensación o goteras lo que facilita el desarrollo de hongos. Se ha observado un aumento en la carga de células/esporas de 100 a 240 hasta > 14,000/m³ de aire. *Acremonium* sp. y

Paecilomyces lilacinus, *Penicillium chrysogenum* y *P. aurantiogriseum* son hongos frecuentes en humificadores.

Las alfombras son otra fuente importante de esporas, pues constituyen un reservorio de polvo. Hay plena evidencia de que el polvo casero, además de contener partículas inorgánicas, restos de epidermis de humanos y animales domésticos, fragmentos de polilla, coleópteros, granos de polen y ácaros, incluye una gran cantidad de esporas de hongos. Se han reportado concentraciones de hongos entre 10 000 ufc/m³ y 1x10⁶ o hasta 3x10⁶ ufc/g, registrándose principalmente *Penicillium*, *Aspergillus* y *Cladosporium*, seguidos por *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Rhizopus* (Hoffma 1980; Hunter *et al.* 1988; Lowenstein *et al.* 1986; Hjelmroos 1993; Lacey 1996 b). La mayoría de estos hongos que se encuentran en el polvo se han reportado también de ambientes extramuros (Hyde 1973).

La distribución de los hongos en las alfombras o la contaminación superficial es afectada por la actividad en los cuartos, lo cual tiene una importante relación sobre la variabilidad en la naturaleza y concentración de las esporas en el aire (Hunter *et al.* 1988). Estudios recientes (Buttner y Stetzenbach 1993) confirman que el tránsito sobre alfombras o tapetes ocasiona un incremento notable en el número de esporas (las cuales son potencialmente alergénicas) presentes en el aire de ambientes intramuros.

Existen evidencias de la asociación que existe entre la exposición a aeroalérgenos fúngicos de ambientes intramuros y el asma (Chakraverty & Sinha 1985). El muestreo de hongos del aire no proporciona datos suficientes para estimar la exposición a los hongos en ambientes intramuros no industriales (Kozak *et al.* 1979). En cambio, la evaluación de las partículas de hongos viables en el polvo puede utilizarse para medir el potencial de exposición a hongos.

En diversos ambientes intramuros ocupacionales, como pueden ser industriales, comerciales, hospitalarios, de almacenamiento (granos y semillas u otros alimentos), textiles, etc., las investigaciones aerobiológicas han reportado, además

de los géneros más comunes mencionados anteriormente, otros tipos de hongos característicos del material que predomina en cada lugar, registrándose en algunos de estos ambientes concentraciones muy elevadas capaces de ocasionar problemas en la salud.

Aunque las relaciones entre los microorganismos del aire y los efectos adversos hacia la salud no han sido totalmente determinadas, se han propuesto algunos estándares para evaluar la presencia de bioaerosoles en ambientes intramuros. basados en las evaluaciones sobre riesgo hacia la salud realizados por el National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), sugiriéndose que más de 1000 ufc de microorganismos indica que el ambiente intramuros necesita de investigación y mejoramiento. En 1986 la American Conference Government of Industrial Hygienists (ACGIH) propuso que "exceder las cuentas totales de 10,000 ufc/m³ indicaba una necesidad de proceder a remediar con acciones inmediatas".

La presencia de cualquier hongo en niveles que excedieran 500 ufc/m³ puede suponer un ambiente relacionado con alguna fuente, lo que indica una condición anormal dentro del lugar. La ACGIH recomienda el uso común de comparaciones del aire de ambientes intra y extramuros de la misma población, más que especificar concentraciones umbrales. Las fuentes de esporas en ambientes intramuros son indicadoras de diferencias significativas entre las concentraciones de ambientes extra e intramuros (Hunter & Lea 1994).

CAPÍTULO 2. ÁREAS DE ESTUDIO

Características climáticas de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México

Por su latitud entre 19° y 21°, así como por su altitud superior a 2000 m, el Valle de México se caracteriza por un clima tropical de altura. Posee algunos rasgos propios, entre los que destacan las marcadas diferencias de temperatura que ocurren durante el día.

El Valle de México se encuentra limitado hacia el norte por las Sierras de Tezontlalpan, Tepozotlán y Pachuca, que se caracterizan por ser las menos elevadas, ya que sólo alcanzan una altura máxima de 3 000 m. Al sur de la cuenca se levantan las Sierras del Ajusco y de Chichinautzin, que alcanzan una altitud de 3800 a 3900 m. En el oriente, el límite está constituido por la Sierra Nevada, en donde sobresalen por su altitud los picos nevados del Popocatepetl y del Iztaccíhuatl, con 5747 y 5286 m de altura, respectivamente. Por último, hacia el poniente se localizan las Sierras de las Cruces, Monte Alto y Monte Bajo, hasta de 3600 m. Todas estas sierras tienen en común su origen volcánico (Fig. 1A).

La Ciudad de México, ubicada dentro del Valle de México, se encuentra a 19°07'58" de longitud oeste, a una altura de 2240 msnm. Colinda al norte, oriente y poniente con el Estado de México, y al sur por el estado de Morelos. Las Sierras de Guadalupe y de Santa Catarina son algunas de las montañas más altas dentro del Valle, la primera localizada al norte del Distrito Federal y la segunda, en la parte sudoriental de esta misma entidad (Fig. 1B). Por su altitud, el clima que presenta la Ciudad de México es esencialmente tropical de montaña, aunque el calor característico de los trópicos está atemperado por la elevada altura de la cuenca de México. Durante la época de secas la zona se encuentra bajo las influencias de masas de aire polar características de las regiones templadas, por lo que el clima de la Cd. de México está determinado por los sistemas atmosféricos tropicales y templados, pudiéndose distinguir dos estaciones climáticas bien definidas: la época de secas, de noviembre a abril, y la de lluvias, de mayo a octubre (Jáuregui & Luyando 1992).

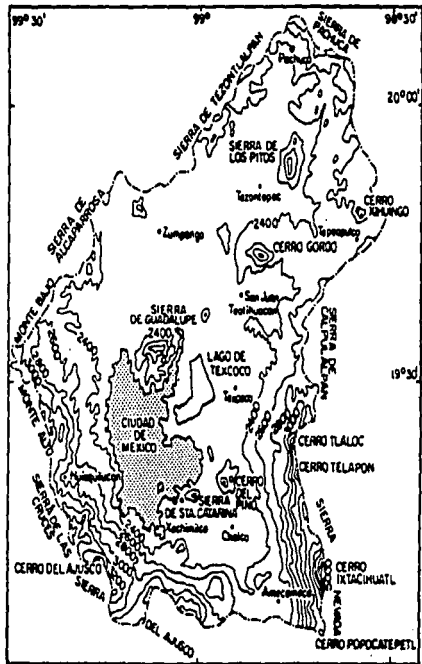


Fig. 1A- Croquis altimétrico del Valle de México.

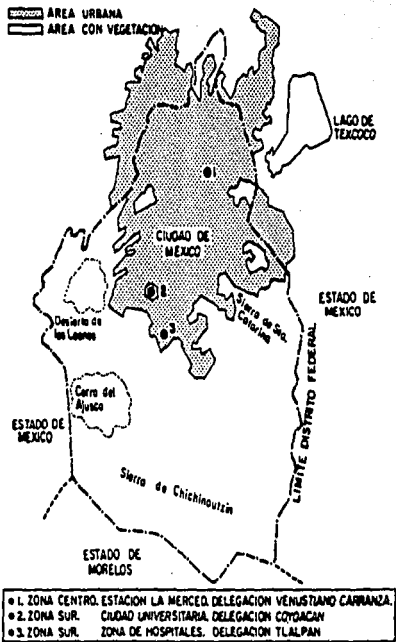


Fig. 1B- Ubicación de las estaciones de muestreo en la Ciudad de México.

Durante la época de secas se presenta una alta incidencia de cielos despejados y periodos de aire en calma en los niveles inferiores, especialmente por la noche y la mañana. Las perturbaciones que en forma de ondulaciones o vaguadas viajan en el seno de la corriente aérea del oeste intensifican el viento a su paso por la cuenca de México y levantan altas y densas cortinas de polvo llamadas "tormentas secas", especialmente en la segunda mitad del período de secas (febrero a abril) (Jáuregui 1971, 1989). Los vientos que circulan en la ciudad, y que vienen de diversas zonas aledañas a ésta, transportan nubes de polvo y contaminantes atmosféricos (O_3 , NO_x , etc.), incrementando los niveles de contaminación en la ciudad durante varias horas. Al final de la estación, lo más frecuente es que las masas de aire polar continental que invaden la cuenca de México, sean lo bastante secas para ocasionar frío y viento.

En la estación de lluvias cambia la circulación atmosférica de invierno. Como resultado del calentamiento gradual del Continente Norteamericano se debilitan los vientos del oeste sobre la cuenca ; comienza a disminuir la influencia del flujo anticiclónico de invierno, al mismo tiempo que aumenta el predominio de la corriente húmeda de los alisios. Esta situación propicia la formación de nubes convectivas que originan las lluvias torrenciales de verano, especialmente hacia el sur y el poniente de la ciudad (Jáuregui 1974).

Dentro del área de unos 1200 Km² que ocupa la Cd. de México se delimitan cinco zonas climáticas: centro, perimetral de transición, oriente, sur y poniente.

Vegetación del Valle de México

La vegetación que se encuentra en el Valle de México comprende diferentes tipos de bosques dentro del estrato arbóreo , mientras que en los estratos restantes la vegetación se compone fundamentalmente de matorrales. Se encuentran también algunas comunidades vegetales artificiales que comprenden plantas exóticas y cultivos agrícolas (Rezedowski & Rezedowski 1979) (Fig. 1B).

Los bosques de pinos (*Pinus hartwegii*) son la comunidad que forma el piso superior de la vegetación arbórea. Se desarrollan entre altitudes de 3 300 a 4 100 m, y esta comunidad puede catalogarse como la mejor adaptada al clima tropical de montaña. Estos bosques se circunscriben a las cumbres más elevadas de las sierras. Los manchones se localizan en los volcanes Popocatepetl, Iztaccíhuatl, Ajusco, Papayo y Telapón, principalmente.

Los bosques de oyameles (*Abies religiosa*) presentan su óptimo crecimiento entre los 2 700 y 3 200 m, situación común dominante en las sierras de Pachuca, las Cruces, la Sierra Nevada y la de Chichinautzin. El estrato herbáceo es rico en cantidad y número de especies pertenecientes a géneros como *Senecio*, *Baccharis*, *Salvia*, *Eupatorium*, etc. En el estrato arbustivo disminuye la riqueza florística, y sus principales géneros son *Senecio*, *Arctostaphylos*, *Arbutus* y *Salix*. El estrato superior es la masa arbórea conformada por densos bosques de oyameles, en los cuales se mezclan algunos árboles de encino (*Quercus mexicana*), el aile (*Alnus firmifolia*) y el ciprés (*Cupressus lindleyi*). El bosque de oyameles se encuentra también en parques nacionales (Desierto de los Leones y Cumbres del Ajusco), en el sistema Iztaccíhuatl-Popocatepetl, la Sierra Nevada y el Mineral del Chico en la sierra de Pachuca.

Bosques de pináceas, enebros, bosques mixtos de latifoliadas y de coníferas se encuentran también (en diferente proporciones) en las sierras de Patlachique, Tepozán, Chichicauatla, Pachuca, Monte Bajo y la Sierras Nevada y de las Cruces, las cuales circundan la Ciudad de México.

La distribución de los matorrales, conformados por diversas especies (*Quercus microphylla*, *Senecio praecox*, *Lebesina*, *Opuntia*, *Zaluzania* y *Mimosa*, entre otros) es inferior a la extensión que tuvo en el pasado en la porción baja septentrional de la cuenca y, actualmente, debido a las actividades agropecuarias se ha limitado a las laderas cerriles y montuosas de las sierras de Pitos, Patlachique, Ztezontlalpan, Tepozán y Cerro Gordo.

Las agrupaciones halófilas se desarrollan en condiciones de salinidad y presencia de sodio, privativas de los antiguos vasos lacustres de Zumpango, Xaltocan, San

Cristóbal, Texcoco, y, en menor escala, Xochimilco. La comunidad está constituida por zacahuiste (*Distichlis spicata*) y romerillo (*Suaeda diffusa*), destacando numerosas compuestas y algunas gramíneas.

Las comunidades vegetales artificiales (plantas exóticas) están constituidas por elementos arbóreos de plantación reciente y tienen por objeto reforestar áreas cerriles. Las especies seleccionadas (eucaliptos, casuarinas, pirules, estoraques, álamos y sauces) poseen alto grado de adaptabilidad. Estos bosques artificiales se localizan en pequeñas elevaciones y en sitios planos adaptados para jardines públicos, como son los parques nacionales del Tepeyac y del cerro de la Estrella, situados respectivamente al norte y centro del D. F.; en el cerro Zacatépétl, al pie del Pedregal de San Ángel; en las laderas de las sierra de Guadalupe y de Las Cruces, y en la segunda y tercera secciones de Chapultepec. Las plantaciones en zona llana se encuentran en los bosques de San Juan de Aragón y de Chapultepec en su porción antigua.

Con respecto a las comunidades vegetales artificiales (cultivos agrícolas), éstas comprenden la mayor área del Valle de México; ocupando terrenos propios para la agricultura y en sitios montañosos forestales no aptos para ella.

Áreas evaluadas en la Ciudad de México

Las áreas de estudio seleccionadas en este trabajo comprendieron principalmente dos zonas de la ciudad: la zona sur (Delegaciones Coyoacán y Tlalpan) y la zona centro (Delegación Venustiano Carranza) (Fig.1B).

La zona sur comprende los suburbios del suroeste y sur principalmente, los cuales cuentan con baja densidad de fábricas, predominando las construcciones con gran proporción de espacios abiertos y zonas verdes. El índice de urbanización (IU) que es el cociente de espacios construidos entre áreas abiertas sin construcción) que representan en conjunto las delegaciones del suroeste, sur y sureste corresponde a 0.25 (Guevara & Moreno 1987).

Delegación de Coyoacán.- Está situada en el sector centro-sur del D. F. Tiene una superficie total de 54.4 Km². De éstos, solamente 7.4 Km² están sin urbanizar o se hallan semiurbanizadas; 6 Km² son tipificados como zona de reserva. La vegetación que se localiza dentro de esta delegación (además de la de los camellones y jardines) alberga distintos tipos de vegetación, como los de los Viveros de Coyoacán, algunos parques nacionales del Coyoacán Histórico y, en la parte centro y poniente de esta zona se localiza la Ciudad Universitaria (UNAM) con una extensa área verde y un amplio bosque de recreación (Bosque del Pedregal). Los niveles de contaminación son los más bajos de la ciudad, excluyendo los niveles de ozono, los cuales se registran en concentraciones muy altas (Jáuregui y Luyando 1992). Es una región húmeda y con mayor frecuencia de nublados en la estación de lluvias. La precipitación alcanza un promedio anual 900 a 1100 mm, y las tormentas eléctricas son intensas. La amplitud de la oscilación térmica diurna, aunque es considerable, está atemperada por una mayor humedad del aire. En sí puede decirse que las condiciones climáticas de esta región son las más favorables (desde el punto de vista de confort) del área de la Ciudad de México (Ramírez Sáiz & Morelos 1987).

Delegación de Tlalpan. Tlalpan se encuentra en el sur del D. F., con una superficie de 305.5 Km², lo que la convierte en la delegación más extensa. Esta delegación cuenta en total con 276 Km² de bosques y de uso agrícola, localizándose en ella la Cumbre del Ajusco y Las Fuentes Brotantes.

Debido a su extensión, y a las diferencias de altitud, el régimen térmico es muy variado. Así, en la parte baja, que coincide con la más urbanizada, se registra una temperatura mínima entre 4 y 6°C, mientras que en las inmediaciones del Ajusco la temperatura fluctúa entre 0 y 2°C. La temperatura media máxima anual es de 25°C en las zona bajas. El patrón de precipitación media anual oscila entre un mínimo de 800 mm³ en la parte septentrional de la delegación y un máximo de 1500 mm³ en las faldas del Ajusco. Las características climáticas la hacen una zona muy húmeda y con vegetación considerable (Ibarra 1987).

Delegación Venustiano Carranza. Esta delegación se localiza al este del área central del D.F.; ocupa una extensión de 34.4 Km², superficie que representa el 3.1% del área urbanizada del total del territorio de la zona metropolitana de la Cd. de México. Las áreas verdes representan sólo 1.5% de la superficie de la delegación, por lo que no funciona como zona de oxigenación y recarga acuífera. A ello se suman las tolveneras provenientes del antiguo lago de Texcoco, aunque en esta zona actualmente se encuentra un área de reserva ecológica, aproximadamente de 80 Km² (Jáuregui 1989). Al mismo tiempo, las propias actividades económicas desarrolladas en su territorio constituyen una constante fuente de contaminación ambiental. Es una zona altamente comercial (los mercados de la Merced, Sonora, Jamaica y La Viga), la gran carga de transporte vehicular debida al comercio y las terminales y estaciones del metro contribuyen a contaminar la atmósfera mediante la emisión de humos, gases, partículas y ruido. El Aeropuerto Internacional de la Cd. de México es otro factor que genera condiciones ambientales desfavorables para la población; la contaminación acústica excede el nivel máximo para proteger la salud de la población. La propia orografía favorece que los gases (ozono, óxidos de nitrógeno, hidrocarburos, monóxidos de carbono, etc) en lugar de dispersarse queden en el interior de la cuenca. Debido al alto índice de urbanización que se registra en esta zona (0.97), la falta de áreas verdes y la gran cantidad de materiales de construcción, con sus propiedades físicas (cemento, pavimento, construcciones y avenidas) ocasionan la formación del fenómeno conocido como "isla de calor" (Jáuregui 1993), el cual eleva las temperaturas mínimas, por lo que las condiciones normales de temperatura y humedad se ven alteradas en gran medida, especialmente durante las épocas de secas (Ziccardi 1987).

CAPÍTULO 3. MÉTODOS

3.1 TÉCNICAS DE MUESTREO Y ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE PROPÁGULOS FÚNGICOS CULTIVABLES

Muestreo de propágulos fúngicos cultivables del aire de ambientes extra e intramuros

Muestreadores secuenciales de partículas cultivables "Andersen"

Los muestreos realizados con este tipo de muestreador fueron llevados a cabo tanto en los estudios realizados en ambientes extramuros como en los de intramuros. Los muestreadores fueron colocados sobre torres portátiles a una altura de 2 m. La hora aproximada de muestreo fue a las 10:00 am, tanto durante las épocas de secas como en la de lluvias. Todos los muestreos fueron realizados por duplicado, para cada medio de cultivo utilizado (Fig. 2).

Los muestreadores Andersen utilizados constan de 2 etapas (Andersen Graseby Inc.), que consisten en dos placas metálicas con 200 orificios, a través de los cuales el aire muestreado es arrastrado consecutivamente por medio de una bomba de vacío, que es ajustada para obtener un flujo de aire de 28.3 L/min. El diámetro de los orificios es constante para cada etapa, aunque estos van disminuyendo en las subsiguientes etapas; como consecuencia, la velocidad de flujo es uniforme para cada etapa, pero va incrementándose sucesivamente en las siguientes etapas. Este muestreador simula el aparato respiratorio humano; la primera etapa corresponde a la fracción no respirable y la segunda a la respirable, cuyas aberturas de orificio son de 1.5 y 0.4 mm, respectivamente. En la primera etapa pueden impactarse partículas $> 4.7 \mu\text{m}$, y en la segunda las menores de $4.7 \mu\text{m}$.

La impactación de los aeropropágulos fúngicos se llevó a cabo sobre una caja de Petri con 27 ml de extracto de malta agar (EMA), como medio general para la recolección de una primera muestra, y diclorán glicerol al 18% (DG18) como

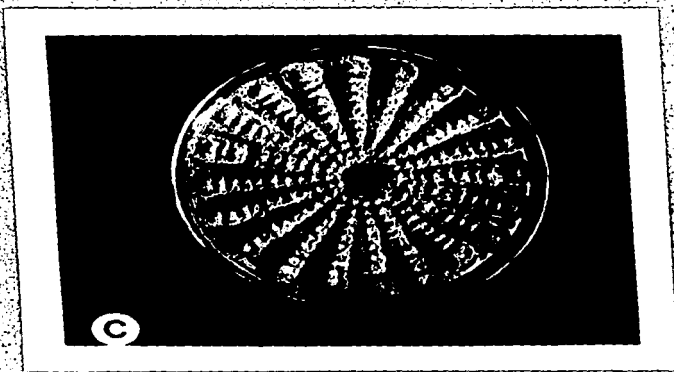
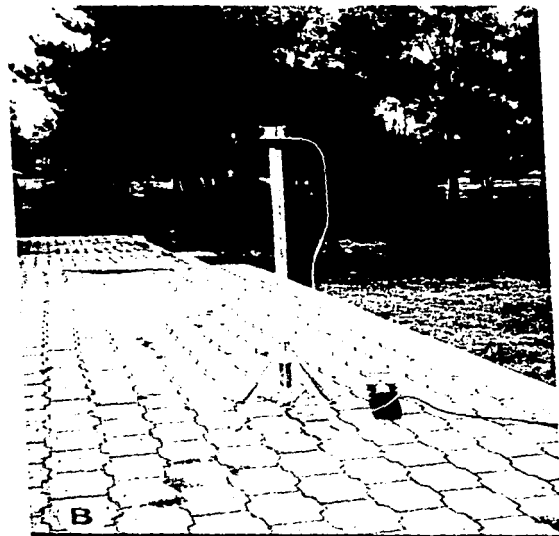
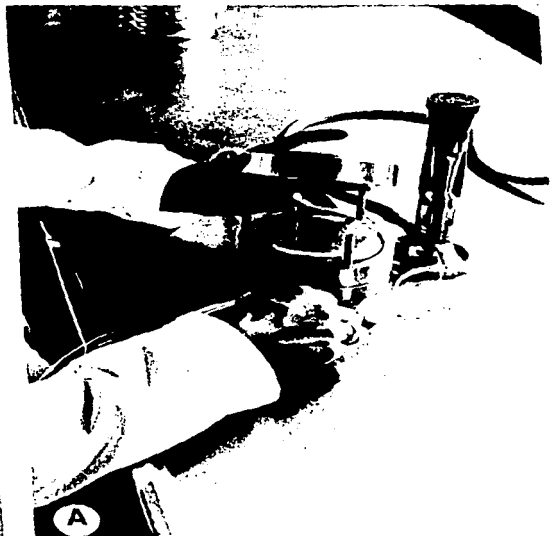


Fig. 2. A) Muestreador secuencial de partículas Andersen con medio de cultivo (EMA).
B) Andersen sobre la torre de muestreo. C) *Penicillium* sp. aislado del aire.

medio selectivo para aislar hongos xerófilos en una segunda muestra (Hocking & Pitt 1980).

Ventajas y desventajas del muestreador Andersen

Ventajas:

1. Es posible separar las partículas por tamaño, pudiéndose establecer el lugar de la depositación de las partículas y su penetración, ya sea en las vías aéreas superiores o inferiores del tracto respiratorio. La etapa uno colecta esporas hasta de 10 μm o más grandes, mientras que en la segunda etapa se pueden coleccionar propágulos tan pequeños como un micrómetro.
2. Al desarrollarse las esporas viables sobre el medio de cultivo forman una colonia que puede aislarse y determinarse hasta nivel de especie, además de que su número por m^3 se puede calcular fácilmente.
3. Las colonias se pueden subcultivar para obtener cultivos axénicos, necesarios para preparar extractos para pruebas cutáneas y estudios de reto por inhalación en la diagnosis de alergias.

Desventajas:

1. No es posible detectar esporas que no germinen (de latencia) o que no sean viables, y ambas pueden tener propiedades alergénicas.
2. Hay limitación en el tipo de hongos que se desarrollan en medios de cultivo. Los más comunes pertenecen a los grupos de los deuteromicetes y zigomicetes solamente. Algunas especies de basidiomicetes pueden desarrollar colonias muy rudimentarias y sin producción de esporas.
3. El crecimiento rápido de algunos hongos puede ocasionar la sobreposición de las colonias, impidiendo la determinación y cuantificación de las de lento crecimiento.
4. Los muestreos con este tipo de muestreador sólo se pueden hacer de manera secuencial, es decir, por un tiempo limitado (minutos), lo que no representa el proceso a evaluar.

Registro de parámetros meteorológicos

Simultáneamente a los muestreos realizados con estos muestreadores, se llevó a cabo el registro de parámetros meteorológicos, tanto en ambientes extramuros (temperatura, humedad y velocidad del viento) como en intramuros (temperatura y humedad), mediante instrumentos meteorológicos portátiles, como un psicrómetro de onda (Imperial Eastman de México) para el registro de temperatura de bulbo húmedo y bulbo seco, y anemómetro para medir la dirección y velocidad del viento (Teledyne Geofech). Durante cada muestreo (15 min) se tomaron dos registros (inicial y final) de cada parámetro meteorológico.

Análisis microbiológico de las muestras

Análisis de propágulos fúngicos viables:

Una vez terminado cada muestreo, las cajas de Petri impactadas se incubaron a una temperatura de 25-27°C durante un período de una semana . Las colonias de hongos desarrolladas fueron contadas diariamente durante la incubación con un contador y un esteromicroscopio. Posteriormente se procedió a la identificación microscópica de los hongos, con ayuda de diversas claves taxonómicas (Barron 1968; Ellis 1971, 1976; Barnet & Hunter 1972 ; Raper & Fennell 1977; Pitt 1979, 1985 ; Domsch *et al.* 1980; von Arx 1981; Kuraishi *et al.* 1990).

Procesamiento de datos

El número de partículas viables se expresó como ufc/m³. Para su cálculo se consideró un factor de corrección (Niemela *et al.* 1985) definido como error de sobreposición en la cuenta microbiana aérea, basado en la probabilidad de que más de una partícula viable pase a través de un mismo orificio y se impacte en la superficie del medio. La fórmula utilizada para calcular las cuentas fue :

$$C=N \ln [N/ (N-P)]$$

donde C = cuenta corregida de colonias por etapa,

N = número de hoyos en la placa perforada (200)

P = número de hoyos positivos (colonias de hongos desarrolladas)

Una vez corregida la cuenta de aerosporas se obtuvo el número de ufc para cada etapa del muestreador Andersen. Posteriormente se aplicó la siguiente fórmula para obtener la concentración de ufc por m^3 de aire en cada una de las etapas:

$$\frac{\text{Número de ufc de cada etapa}}{\text{Tiempo total de muestreo}} \times K = \text{ufc } m^3 \text{ de aire muestreado}$$

donde: ufc/m^3 = concentración de esporas

ufc = unidades formadoras de colonias

t = tiempo total de muestreo

K = factor de conversión de pies cúbicos a metros cúbicos ($K= 35$)

Para obtener la concentración total de esporas por muestreo (de las etapas) se sumaron las ufc/m^3 de cada una de ellas:

$$\text{ufc}/m^3 \text{ (etapa uno)} + \text{ufc}/m^3 \text{ (etapa dos)} = \text{ufc}/m^3 \text{ totales/ muestreo}$$

Muestreo de propágulos fúngicos depositados en polvo de ambientes intramuros (viviendas):

Recolección de polvo con aspiradora

Las muestras de polvo se obtuvieron simultáneamente a las muestras del aire en cada uno de los ambiente intramuros (casas) evaluados. Para la recolección del polvo se utilizaron aspiradoras (Vorwerk VK 121) modificadas, en las que el polvo se captó dentro de un papel filtro (Verhoeff *et al.* 1994). Durante 4 min se muestrearon dos áreas de $1 m^2$ cada una, con el fin de obtener al menos 100 mg de polvo. El polvo fue tamizado (tamiz #100, $0.149 \mu m$ de abertura de malla) y almacenado a $4^\circ C$ (Fig. 3).

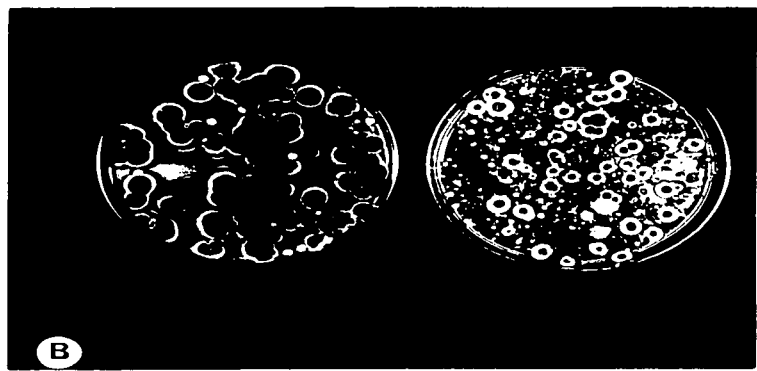


Fig. 3. A) Muestreo de polvo en ambientes intramuros. B) Hongos desarrollados en medio de cultivo (DG18) mediante la técnica de dilución en placa (1:100) del polvo muestreado.

Análisis microbiológico de las muestras

El análisis del polvo obtenido en los ambientes intramuros se realizó mediante el método de dilución de placa (FAO 1967; Cavender & Raper 1965; Vandavakis 1990). Las suspensiones patrón fueron preparadas con 100 mg del polvo tamizado en 10 ml de agua estéril (American Public Health Association 1985) adicionado con un detergente (0.05%), como polisorbitán 80 (Twin 80); estas suspensiones patrón fueron usadas para preparar 10 series de diluciones por debajo de 10^{-4} . Después de agitar cada suspensión vigorosamente durante 2 min, se tomaron alícuotas de 300 μ l y se esparcieron (por duplicado) sobre las cajas de Petri con EMA como medio general, y con DG18 como medio selectivo (Hocking y Pitt 1980). Las cajas se incubaron en oscuridad durante 4 días a 25°C antes de que las colonias fueran contadas y clasificadas. Se hicieron resiembras de las colonias representativas a medios apropiados para su identificación a nivel de especie (Raper & Fennel 1977; Pitt 1979; Domsch *et al.* 1980; Samson & Pitt 1990).

Procesamiento de datos

Los resultados se reportaron como ufc/gramo de polvo muestreado.

3.2 TÉCNICAS DE MUESTREO Y ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE ESPORAS DE HONGOS EN AMBIENTES EXTRAMUROS

Muestreador continuo, trampa de esporas "Burkard"

Los muestreos de esporas se llevaron a cabo de manera continua (24 horas) en ambientes extramuros, del 7 de enero al 31 de diciembre de 1991. Los muestreadores se colocaron sobre edificios a 6 y 8 m de altura, en las zonas sur y centro de la Ciudad de México.

El muestreador Burkard (Burkard Manufacturing Co. Ltd., Inglaterra) consta de una bomba que succiona aire con flujo continuo de 10 L/min (correspondiente a 2 mm/hora del área de la muestra); el aire pasa a través de un orificio de 2 x 14 mm

y las partículas se impactación sobre una cinta de celofán cubierta con una capa delgada de vaselina con hexano (1:5) (Brithish Aerobiology Federation 1995), la cinta se coloca sobre un tambor que gira a una velocidad de 2 mm por hora, completando un ciclo semanal (Fig. 4).

El tambor de cada muestreador se transportó del sitio de muestreo al laboratorio en una caja para evitar cualquier contaminación de la cinta. Una vez en el laboratorio, la cinta fue retirada del tambor y cortada en 7 fragmentos (cada uno de 48 mm, que representan 24 horas), cada uno de los cuales se puso sobre un portaobjetos. Cada fragmento se leyó en el densitómetro (cuantificación de partículas totales) para posteriormente ser montado permanentemente con una solución a base de Gelvatol.

Ventajas y desventajas del muestreador Burkard

Ventajas:

1. Las esporas colectadas pueden pertenecer a diferentes grupos de hongos, como deuteromicetes, zigomicetes, basidiomicetes, ascomicetes y mixomicetes, algunas de las cuales no pueden desarrollarse sobre medios de cultivo (como las teliosporas de royas y carbones, y la mayoría de las basidiosporas). Con este muestreador se puede hacer una evaluación más completa de todos los tipos de esporas que pueden estar presentes en la atmósfera.
2. El muestreador funciona durante una semana completa sin ningún tipo de servicio, muestreando continuamente las 24 horas del día, lo que permite hacer una evaluación diaria (horaria) y estacional, totalmente apegada a lo que se presenta en el aire a lo largo de todo el año.
3. El orificio de entrada de aire del muestreador se encuentra a favor del viento (ya que tiene una veleta integrada) lo que lo hace más eficiente para la captura de aerosporas.
4. El número de esporas se puede expresar por unidad de volumen.
5. Las placas impactadas se pueden guardar por tiempo indefinido para su evaluación.

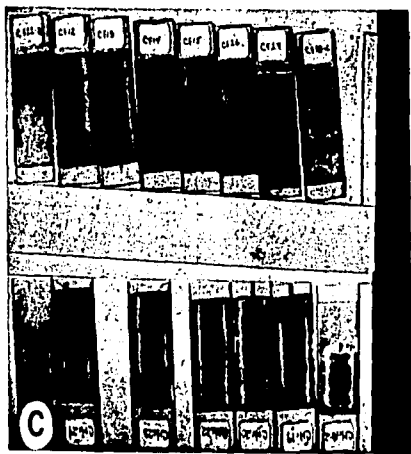
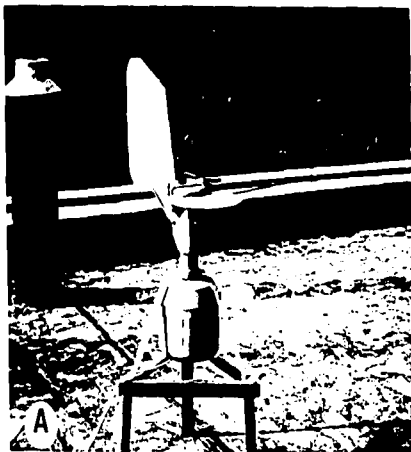


Fig. 4. A) Muestreador continuo, trampa de esporas Burkard. B) Tambor con cinta de celofán al término del muestreo. C) Placas impactadas. D) Esporas de hongos observadas al microscopio.

Desventajas:

1. La determinación de las esporas colectadas sólo se puede realizar a nivel de grupo, familia o género, ya que no es posible cultivarlas, y tampoco se puede obtener información sobre la viabilidad de los géneros o especies aislados.
2. La cuantificación y determinación de esporas muy pequeñas (<5-6 μm), como las de *Aspergillus* y *Penicillium*, así como algunas basidiosporas, frecuentemente no pueden hacerse correctamente, debido a que en ambientes muy contaminados (como ocurre en la Cd. de México) se impactan gran diversidad de aeropartículas que se sobreponen a las esporas pequeñas impidiendo su observación clara. Asimismo, cuando las esporas además de ser pequeñas también son hialinas se dificulta su reconocimiento, aun cuando las placas muestreadas se tiñan con azul de algodón o con azul de tripano.

Registro de parámetros meteorológicos

Ya que los muestreos realizados con estos muestreadores fueron continuos es decir, durante todo el día, los registros de temperatura, humedad relativa y velocidad del viento, también se obtuvieron de manera continua de la red de monitoreo automático de RAMA (Depto. del D. F.).

Análisis microbiológico de las muestras

Las esporas obtenidas con el Burkard, y mantenidas en preparaciones permanentes, fueron cuantificadas e identificadas utilizando un microscopio de luz Olympus modelo BH-2, con un aumento de 400x.

Las esporas de hongos se identificaron hasta nivel de género en la mayoría de los casos; en otros, se identificó el grupo, principalmente de los basidiomicetes (carbones, royas y basidiosporas) y de los ascomicetes (ascosporas coloreadas o hialinas, etc.), tomando en consideración características morfológicas (tamaño, forma, color, características de la pared), y rasgos específicos y típicos de las diferentes esporas. Para lograr esto se utilizaron diversas claves y/o monografías

(Ellis 1971,1976; Domsch *et al.* 1980; Nilsson 1983; Smith 1984; Vánky 1987 y Cummins & Hiratsuka 1991; entre otras).

Procesamiento de datos

A partir de los datos obtenidos (registros diarios y horarios del número de esporas de hongos cuantificadas), se procedió a determinar su concentración, según lo propuesto por Kääpyla & Penttinen (1981):

$$Y_t = (l \cdot y) / (dt \cdot v) \text{ Concentración bihoraria}$$

donde:

Y_t = total de esporas colectadas por m^3 cada dos horas

l = longitud de la cinta de celofán correspondiente a 1 h (2mm)

y = número estimado de esporas en un transecto

dt = ancho del campo observado (0.14 mm)

v = volumen de aire succionado en dos horas ($1.2 m^3$)

$$Y_p = (l \cdot Y_t) / (dt \cdot v) \text{ Concentración promedio diario}$$

donde:

Y_p = esporas de hongos promedio por m^3 por día

Y_t = número estimado de esporas de hongos de los 12 transectos dividido entre 12.

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para el manejo de datos y los análisis estadísticos se usaron los programas de Excel y Statgraphics.

Métodos estadísticos aplicados en los análisis de propágulos fúngicos cultivables colectados de ambientes extramuros

El análisis de resultados (ufc/m^3) obtenidos de los muestreos realizados en las zonas sur y centro de la ciudad con muestreadores Andersen no presentó una distribución de frecuencia normal, ni log normal, aunque los datos obtenidos fueron parecidos a una distribución de Poisson, por lo que se aplicó una transformación de raíz cuadrada ($\sqrt{n + 0.05}$) a todas las cuentas antes de hacer el análisis estadístico. Para llevar a cabo la comparación entre las concentraciones, tanto de hongos totales como de *Penicillium* entre las áreas de estudio, se aplicó un análisis de varianza y la prueba de t de Students. Asimismo, a través del coeficiente de correlación de Pearson se correlacionaron las cuentas totales y las de *Penicillium* con diferentes factores ambientales.

Métodos estadísticos aplicados en los análisis de propágulos fúngicos cultivables colectados de ambientes intramuros

En el análisis de los resultados (ufc/m^3) obtenidos en el estudio de ambientes intramuros se encontró que la distribución de frecuencia de los datos no presentó una distribución normal, por lo que se aplicaron pruebas no paramétricas. Se aplicó la prueba de signos-rangos de Wilcoxon para determinar diferencias entre las concentraciones de intra y extramuros y entre las épocas del año. También se aplicó la prueba de coeficientes de correlación de Spearman para determinar correlaciones entre las concentraciones de hongos colectados del aire intra y extramuros, y entre los hongos registrados del aire y del polvo. Las asociaciones entre las características de las casas y las concentraciones de hongos fueron investigadas usando la prueba de Mann-Whitney.

Métodos estadísticos aplicados en los análisis de aerosporas de deuteromicetes y basidiomicetes colectadas de ambientes extramuros

Se probaron diferentes pruebas de distribución a los datos diarios y horarios de esporas/ m^3 generados con los muestreadores Burkard. Debido a que los datos no presentaron una distribución normal, fue necesario aplicar métodos no

paramétricos. Para comparar los resultados obtenidos entre las épocas del año y las zonas de muestreo se aplicó la prueba de Mann-Whitney. Para obtener los coeficientes de correlación entre las concentraciones de esporas y los parámetros meteorológicos registrados (temperatura, humedad relativa, velocidad del viento) se utilizó la prueba de coeficientes de correlación de Spearman. Asimismo, se llevó a cabo un análisis de regresión múltiple entre las concentraciones promedio de esporas de cada una de las zonas evaluadas y los diferentes parámetros meteorológicos. Para las basidiosporas se estimaron las percentilas de las concentraciones, relacionándolas con cada uno de los parámetros meteorológicos registrados. En algunos análisis, también se correlacionaron con las variables ambientales desfasadas de uno a cuatro días.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos a través de esta investigación, fueron comunicados en 4 artículos de publicación :

Ambientes extramuros:

"Abundance of Airborne Penicillium CFU in Relation to Urbanization in Mexico City" (publicado).

"Seasonal and diurnal variation of airborne basidiomycete spore concentrations in Mexico City" (publicado).

"Influence of urban climate upon distribution of airborne deuteromycete spore concentrations in Mexico City" (en prensa).

Ambientes intramuros:

"Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentrations in Mexico City" (en prensa).

Abundance of Airborne *Penicillium* CFU in Relation to Urbanization in Mexico City

I. ROSAS,^{1*} C. CALDERÓN,¹ M. ULLOA,² AND J. LACEY³

Centro de Ciencias de la Atmósfera¹ and Departamento de Botánica, Instituto de Biología,² Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., México, and Agriculture and Food Research Council Institute of Arable Crops Research, Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Hertfordshire AL5 2JQ, United Kingdom³

Received 7 December 1992/Accepted 8 June 1993

Air was sampled simultaneously at three localities in Mexico City differing in urbanization index and air pollution level on 22 days during a period covering both dry and rainy seasons. An Andersen two-stage microbial sampler was used for 15 min at 28 liters min^{-1} to isolate culturable fungi on malt extract agar. After exposure, plates were incubated at 25°C for 48 to 72 h before colonies were counted and identified to give concentrations of total fungal spores and of *Penicillium* spp., expressed as CFU per cubic meter of air. Total fungi numbered 91 to 602 CFU m^{-3} in Tlalpan Borough (southern area), 40 to 264 CFU m^{-3} in Cuauhtémoc Borough (downtown), and 26 to 495 CFU m^{-3} in Gustavo A. Madero Borough (northern area). Although *Penicillium* spp. were the second most frequently isolated fungal genus, concentrations were small, with a maximum of only 133 CFU m^{-3} . Twice as many colonies were isolated in the southern area, with an urbanization index of 0.25 (arithmetic mean, 41 CFU m^{-3}), as at other sampling stations with greater urbanization indices (arithmetic means, 19 and 20 CFU m^{-3}). In the downtown area, with an urbanization index of 1.0, *Penicillium* spp. were more numerous than any other genus and formed 25% of the total fungal count compared with 14 and 17% in the other areas. Concentrations of airborne *Penicillium* spp. did not differ significantly between rainy and dry seasons. However, their concentration was weakly negatively correlated with temperature ($r = 0.36$, $P < 0.01$), vapor pressure ($r = -0.47$, $P < 0.001$), and relative humidity ($r = -0.36$, $P < 0.001$). On average, 70% of *Penicillium* propagules were collected in the small-particle fraction (considered to be respirable on inhalation, $<5\text{-}\mu\text{m}$ aerodynamic diameter). Of the eight *Penicillium* species identified, *P. aurantiogriseum*, *P. crustosum*, *P. chrysogenum*, and *P. spinulosum* were the most common. Their small numbers suggest that *Penicillium* spp. are not important outdoor aeroallergens in Mexico City, but total exposure cannot be assessed until indoor environments have been sampled.

Outdoors, airborne spores originate chiefly from vegetation and from soil (15). Consequently, in densely built-up and polluted urban areas, total numbers of fungal spores and the frequency of occurrence of some types are less than in rural areas (1, 13). By contrast, *Penicillium* spp. are often more numerous in city air (22, 23). *Penicillium* spp. are ubiquitous saprobes, able to colonize all types of organic materials common in urban environments (12). *Penicillium* spp. may form 2 to 15% of the culturable fungal spores in outdoor air in Britain, but they can account for 90% of the total in house dust (11). The degree of urbanization, as expressed by the percentage of constructed space, in different parts of Mexico City ranges from 100% in the city center (urbanization index [UI], 1.0) to only 25% in the south (UI, 0.25) (21). How different degrees of urbanization and air pollution might affect the occurrence of airborne fungal spores, especially *Penicillium* spp., is unknown, and we have therefore investigated their relationship in Mexico City.

MATERIALS AND METHODS

Sampling methods. A two-stage Andersen sampler (Andersen Sampler Inc., Atlanta, Ga.) was used to isolate culturable fungal propagules from the air. Each stage includes a plate with 200 holes of uniform diameter (1.5 mm in the first stage and 0.4 mm in the second stage) through which

air is drawn at 28 liters min^{-1} to impact on petri dishes containing agar media immediately below. Airborne particles are separated into two fractions: a large-particle fraction which is retained in the upper airways on inhalation and is considered nonrespirable and a small-particle fraction which can penetrate to the gas exchange tissue of the lung and which is considered respirable. At each site, the sampler was mounted on a tower 2 m above ground level with the orifices facing into the wind. Duplicate 15-min samples were collected simultaneously at three sites at 10:00 a.m. at weekly intervals on 11 days during the dry season (February to May 1990) and on a further 11 days during the rainy season (June to October 1990). For each sample, the sampler was loaded with dishes containing malt-extract agar (MEA; Difco) and was operated for 15 min before plates were changed. After exposure, plates were incubated for 48 to 72 h at 25°C.

After incubation, fungal colonies growing on each plate were counted and examined microscopically to determine their morphological characteristics. Counts of each morphological type were transformed, by tables provided by the sampler manufacturer, to account for multiple deposition of particles at individual impaction sites. Results were then expressed as CFU per cubic meter of air. *Penicillium* colonies were coded and subcultured for identification according to the methods, keys, and descriptions of Pitt (20) and Bridge (6).

Meteorological and pollution measurements. Wind speed and wet and dry bulb temperatures were measured at the time of sampling. The Mexican Air Quality Index (IMECA)

* Corresponding author.

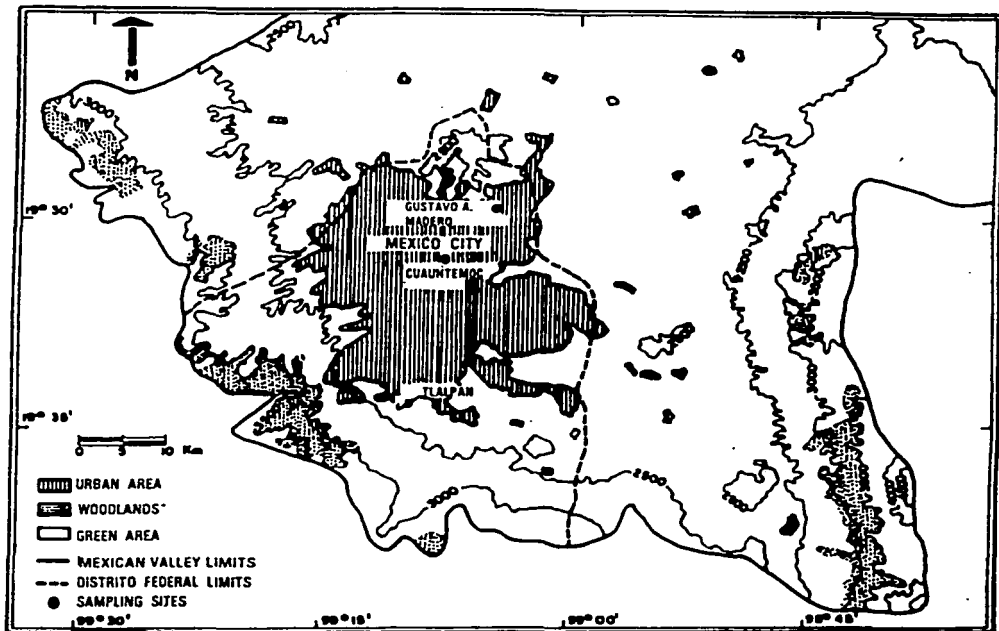


FIG. 1. Location of the sampling sites.

is determined daily by the Mexican Secretariat of Urban Development and Ecology Secretariat (SEDUE) Air Quality Network for the concentrations of different pollutants, especially carbon monoxide, sulfur dioxide, nitrogen oxides, ozone, total suspended particulates, and particles smaller than $10 \mu\text{m}$ (4). IMECA values are reported daily, with the pollutant, usually ozone, present in the highest concentration indicated (10). IMECA values during the period of the study were obtained from SEDUE for each area and were compared with an acceptable IMECA value based on the Mexican air quality standards (7). The frequency (percent) by which the standard was exceeded was calculated for each sampling site.

Sampling areas. Three localities were selected for study (Fig. 1): (i) Tlalpan Borough, a residential area in the southern part of the city, 20 km from the city center, with a UI of 0.25 (21). The IMECA for this area was better than the standard IMECA for only 20% of the year (3). (ii) Cuauhtémoc Borough, a commercial-urban area situated in the city center, with a UI of 1.0 and an IMECA acceptable for 35% of the year. (iii) Gustavo A. Madero Borough, an industrial-

urban area located in the northern part of the city, 40 km from the city center, with a UI of 0.64, and with an IMECA acceptable for 45% of the year.

Statistical methods. Because the raw data fitted neither a normal nor a log normal frequency distribution, but appeared closest to a Poisson distribution, a square root transformation ($\sqrt{n + 0.5}$) was applied to all counts before statistical analysis. Analysis of variance and Student's *t* test were applied to the transformed data to compare both total and *Penicillium* concentrations at the different sampling sites. Pearson's correlation coefficients were calculated to test for correlations between total or *Penicillium* counts and different environmental factors.

RESULTS

Geometric and arithmetic mean concentrations of total fungi and *Penicillium* spp., UI, and level of air pollution are given for each sampling site in Table 1, and changes in colony counts between sampling sites at dry and rainy seasons are given in Fig. 2. Table 2 shows the relative

TABLE 1. Concentrations of viable airborne fungi, UI, and air pollution level at sampling sites in Mexico City

Sampling site	No. of samples	Total fungi (CFU m ⁻³)			<i>Penicillium</i> spp. (CFU m ⁻³)			UI	% Days with acceptable IMECA
		Geometric mean	Arithmetic mean	Range	Geometric mean	Arithmetic mean	Range		
Tlalpan	22	254	293	41-602	24	41	0-133	0.25	20
Cuauhtémoc	22	85	96	40-264	16	19	2-39	1.0	35
G. A. Madero	22	93	108	26-495	14	20	2-62	0.64	45

abundance of the different fungal genera isolated at the three sites. Mycelia sterilia were isolated most frequently, usually followed in sequence by *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, and *Fusarium* spp. However, *Penicillium* spp. were the most common in the city center. Together, *Cladosporium* and *Penicillium* colonies accounted for about 45% of the total colonies isolated. The greatest mean concentrations of total fungi and *Penicillium* spp., 293 and 41 CFU m⁻³, respectively, were both found in Tlalpan Borough, the site with the heaviest pollution and lowest UI. Fungal concentrations were greatest during the dry season, with peaks of 602, 264, and 495 CFU m⁻³ in southern, city center, and northern areas, respectively. In general, *Penicillium* spp. formed 14 to 25% of the total fungal count (Table 2). Thus, *Penicillium* spp. formed 17% of the 495 fungal CFU m⁻³ isolated in the city center. More than 70% of *Penicillium* colonies, especially in the city center, occurred in the

small-particle fraction, isolated on the second stage of the Andersen sampler, and could be considered respirable (Fig. 3).

Unexpectedly, there were no significant differences in the concentrations of total fungi and *Penicillium* spp. between rainy and dry seasons. However, concentrations of both categories in the southern area (Tlalpan Borough) were significantly greater than in both northern (G. A. Madero Borough) and city center (Cuauhtémoc Borough) areas ($P < 0.001$). Concentrations of *Penicillium* CFU were weakly negatively correlated with temperature ($r = -0.36$, $P < 0.01$), vapor pressure ($r = 0.47$, $P < 0.001$), and relative humidity ($r = -0.36$, $P < 0.01$). The largest concentrations of *Penicillium* spp. usually occurred at low temperatures (15 to 20°C) (Fig. 4), especially in the southern area.

Eight *Penicillium* species were identified (Table 3). *P. aurantiogriseum*, *P. crustosum*, *P. chrysogenum*, and *P. spinulosum* were most often present in samples, especially in March and August. *P. aurantiogriseum* was the most frequently isolated species in Tlalpan and Cuauhtémoc Boroughs, and *P. chrysogenum* and *P. minioluteum* were the most frequently isolated species in Gustavo A. Madero Borough. However, although *P. chrysogenum* was isolated from few samples in the Tlalpan and Gustavo A. Madero Boroughs, it could occur in concentrations exceeding 50 CFU m⁻³.

DISCUSSION

Airborne fungi can differ both quantitatively and qualitatively within urban areas, depending on population and building densities (2, 8). In the air of Mexico City, the *Penicillium* genus was the second most abundant fungal genus that could be cultured, with concentrations up to 133 CFU m⁻³ and forming 13.8 to 25% of the total fungi isolated. Their predominance is similar to that found previously in Mexico City (18). *Penicillium* spp. are ubiquitous in the air throughout the world, although mean concentrations of culturable propagules are usually small, within the range 3 to 56 CFU m⁻³ (2, 5, 16), although occasionally larger concentrations have been found, such as the 5,791 CFU m⁻³ found in California by Licorish et al. (17).

There was no clear relationship between the concentration of airborne *Penicillium* spp. and UI in our study, perhaps because the sampling sites were not widely separated. The prevailing northeast wind could possibly have blurred distinctions between areas, but this seems unlikely because the largest concentrations of both total fungi and *Penicillium* CFU were found in the southern area with the smallest UI and the largest green area. This appears to contradict earlier reports of larger numbers of airborne *Penicillium* spp. in urban than in rural areas (8). Concentrations of airborne *Penicillium* spp. have been reported to be independent of seasonal changes (1, 16), but we found a very weak but

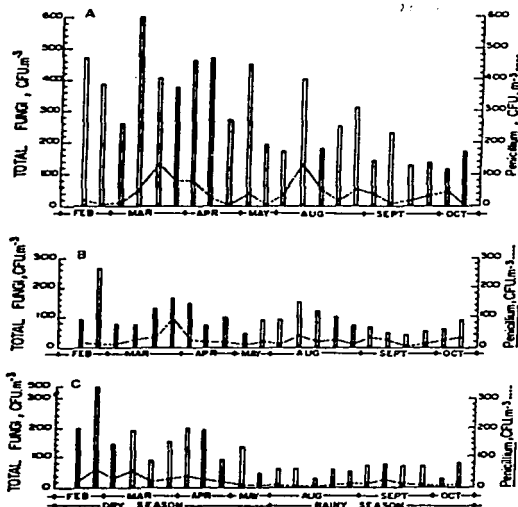


FIG. 2. Concentrations of total airborne fungi and *Penicillium* spp. at each sampling station. (A) Tlalpan Borough; (B) Cuauhtémoc Borough; (C) Gustavo A. Madero Borough.

TABLE 2. Abundance of fungi identified in air samples from Mexico City

Genus or stage	Tlalpan Borough		Cuauhtémoc Borough		G. A. Madero Borough	
	Arithmetic mean (CFU m ⁻³)	Occurrence (%)	Arithmetic mean (CFU m ⁻³)	Occurrence (%)	Arithmetic mean (CFU m ⁻³)	Occurrence (%)
<i>Alternaria</i>	26.0	8.7	2.8	2.9	5.0	4.2
<i>Aspergillus</i>	5.0	1.7	6.0	6.3	4.0	3.3
<i>Aureobasidium</i>	8.0	2.7	3.8	4.0	2.6	2.2
<i>Cladosporium</i>	99.0	33.3	16.0	16.7	34.9	29.3
<i>Epicoccum</i>	0.7	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2
<i>Fusarium</i>	8.0	2.7	1.5	1.6	2.6	2.2
<i>Helminthosporium</i>	3.0	1.0	1.0	1.0	0.7	0.6
<i>Monilia</i>	0.2	0.1	0.5	0.5	0.7	0.6
<i>Peciliomyces</i>	0.4	0.1	1.0	1.0	0.5	0.4
<i>Penicillium</i>	41.0	13.8	24.0	25.0	19.7	16.6
<i>Phoma</i>	0.7	0.2	0.3	0.3	0.5	0.4
<i>Sclerotinia</i>	0.5	0.1	0.8	0.8	0.5	0.4
<i>Sclerotinia</i>	2.0	0.7	0.0	0.0	0.1	0.1
<i>Mycelia sterilia</i>	102.5	34.6	38.0	39.6	47.0	39.5
Total fungi	297	100	96	100	119	100

significant negative correlation between concentration and temperature ($r = -0.36$, $P < 0.01$), as did Dransfield (9).

Penicillium propagules collected out-of-doors with the two-stage Andersen sampler were almost entirely (80%) in the small-particle fraction and should be considered respirable. Flannigan et al. (11) found a similar size distribution in indoor air. Fewer colonies occurred in the small-particle fraction in the southern area than in other areas, perhaps because the humidity at this sampling site was greater than that at the others, allowing some of the 3- μ m-diameter spores to be dispersed in aggregates that would be impacted on the first stage of the sampler.

The most common *Penicillium* species were *P. aurantiogriseum*, *P. crustosum*, *P. chrysogenum*, and *P. spinulosum*. Of these, *P. chrysogenum* was also found to be most abundant outdoors in Scotland (11). Comparison of the incidences of *Penicillium* spp. in different studies is difficult because changes in the taxonomy of *Penicillium* spp. have produced many name changes and have reduced some previously accepted species to synonymy (20).

Earlier studies have shown that asthma can be provoked by the inhalation of both intact *Penicillium* spores and spore extracts (17, 24). Challenge with at least 6×10^6 *Penicillium*

spores may be necessary to provoke asthma. To achieve this dose within 1 day would require uniform exposure to 6×10^6 CFU m⁻³, assuming that an adult man inspires 10 m³ of air in this period. This concentration is far greater than any concentration that we found. However, the total number of *Penicillium* spores, culturable and nonculturable but still allergenic, may be much greater, but assessment of their number is difficult because of their small size, the relatively inefficient collection by volumetric spore traps assessed microscopically, and because of the difficulty of separating

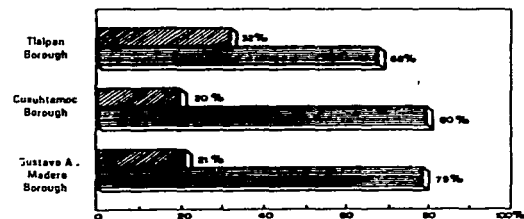


FIG. 3. Distribution of *Penicillium* propagules at each sampling site between the two stages of the Andersen sampler. □, first stage, large-particle fraction; ■, second stage, small-particle fraction.

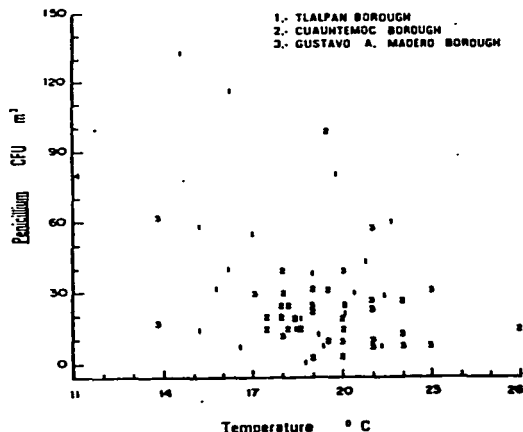


FIG. 4. Concentrations of airborne *Penicillium* propagules in relation to temperature at the time of sampling.

TABLE 3. Frequency of isolation of different *Penicillium* spp. at different sites in Mexico City

Species	Frequency of isolation at sampling site ^a :		
	Tlalpa	Cuauhtémoc	Gustavo A. Madero
<i>P. aurantiogriseum</i>	f	f	f
<i>P. chrysogenum</i>	o	—	f
<i>P. citreoginum</i>	—	—	o
<i>P. claviforme</i>	o	o	o
<i>P. crustosum</i>	o	f	o
<i>P. minioluteum</i>	—	o	f
<i>P. purpurogenum</i>	—	o	o
<i>P. spinulosum</i>	f	o	o

^a Key: —, absent; o, isolated occasionally; f, isolated frequently.

spores from the many inorganic particles present in the air of Mexico City. Nevertheless, our results suggest that *Penicillium* spp. are unlikely to be important allergens in Mexico City unless subjects are exposed to locally intense sources at home or at work.

Penicillium spp. often dominate the indoor air spora in concentrations often greatly exceeding those outdoors. They grow on damp surfaces, on food particles, house dust, or other organic matter and in stored products (14, 17, 19). Assessment of the total exposure of the general population thus requires simultaneous measurement of concentrations both indoors and outdoors.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was partially supported by the Programa Universitario de Investigación en Salud and The British Council. We thank S. Nabb and P. A. M. Williamson (Rothamsted Experimental Station) for their cooperation and technical assistance.

REFERENCES

- Adams, K. I. 1964. Year to year variation in the fungus spore content of the atmosphere. *Acta Allergol.* 19:11-50.
- Al-Doory, Y., F. J. Domson, and J. Best. 1982. Further studies of the airborne fungi and pollens of the Washington, D.C. Metropolitan area. *Ann. Allergy* 49:265-269.
- Anonymous. 1990. Programa integral contra la contaminación atmosférica, documento criterio. Secretariat of Urban Development and Ecology Secretariat, Mexico City.
- Anonymous. 1992. Boletín informativo de la calidad del aire (1986-1992). Secretaría de Desarrollo Social, Instituto Nacional de Ecología, Mexico City.
- Beaumont, F., H. F. Kaufman, T. H. van der Mark, H. J. Sluiter, and K. de Vries. 1985. Volumetric aerobiological survey of conidial fungi in the north-east Netherlands. *Allergy* 40:173-180.
- Bridge, P. D. 1985. An evaluation of some physiological and biochemical methods as an aid to the characterization of species of *Penicillium* Subsection Fasciculata. *J. Gen. Microbiol.* 131:1887-1895.
- Cicero-Fernández, P. 1991. Prioritizing air pollutant controls for urban centers in developing countries: Mexico City as a case study. *Air Waste Management Association Paper* 91-115.10.
- Davies, R. R., M. Denny, and L. Newton. 1963. A comparison between the summer and autumn airsporas at London and Liverpool. *Acta Allergol.* 18:131-147.
- Drausfeld, M. 1966. The fungal air-spores at Samaru, northern Nigeria. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 49:121-132.
- Ecurra, E. 1991. Qué mide el IMECA? *Ciencias* 22:41-44.
- Flannigan, B., E. M. McCabe, and F. McGarry. 1991. Allergenic and toxicogenic micro-organisms in houses. *J. Appl. Bacteriol.* 70(Suppl.):61S-73S.
- Gravesen, S. 1978. Identification and prevalence of culturable mesophilic microfungi in house dust from 100 Danish homes. *Allergy* 33:268-272.
- Hamilton, E. D. 1959. Studies on the air spora. *Acta Allergol.* 13:143-175.
- Hyde, H. A. 1973. Atmospheric pollen grains and spores in relation to allergy. *II. Clin. Allergy* 3:109-126.
- Lacey, J. 1987. Airborne fungus spores in outdoor air, p. 125-128. In D. W. Griffiths (ed.), *Aerosols, their generation, behaviour and application*. The Aerosol Society, Loughborough, United Kingdom.
- Larsen, L. S. 1981. A three-year survey of microfungi in the air of Copenhagen 1977-79. *Allergy* 39:15-22.
- Licorish, K., H. S. Novey, P. Kozak, R. D. Fairshier, and A. F. Wilson. 1985. Role of *Alternaria* and *Penicillium* spores in the pathogenesis of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 76:819-825.
- López Martínez, R., D. Ruiz Sánchez, J. G. Huerta, A. Esquivel, and M. Álvarez. 1986. Variación estacional de hongos productores de alergia en el sur de la Ciudad de México. *Allergol. Immunopathol.* 14:43-48.
- Lumpkins, E. D., S. L. Corbit, and G. M. Tiedeman. 1973. Airborne fungi survey. Culture plate method of the home environment. *Ann. Allergy* 31:361-370.
- Plitt, J. I. 1979. The genus *Penicillium* and its telomorphous states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London.
- Rapoport, H. E., E. M. Diaz-Betancourt, and R. I. López-Moreno. 1983. Aspectos de la ecología urbana de la Ciudad de México. Editorial Limusa, Mexico City.
- Richards, M. 1954. Seasonal periodicity in atmospheric mould spore concentrations. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 37:357-366.
- Richards, M. 1956. A census of mould spores in the air over Britain in 1952. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 30:431-441.
- Salvaggio, J., and I. Aukrust. 1981. Mold induced asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 68:327-346.

Seasonal and diurnal variation of airborne basidiomycete spore concentrations in Mexico City

C. CALDERON, J. LACEY, H.A. MCCARTNEY, and I. ROSAS

Calderon, C., Lacey, J., McCartney, H.A. & Rosas, I. 1995. Seasonal and diurnal variation of airborne basidiomycete spore concentrations in Mexico City. – Grana 34: 260–268. ISSN 0017–3134

Seasonal and diurnal changes in concentrations of airborne basidiomycete spores (basidiospores, rusts, smuts) were studied, using Burkard volumetric spore traps, in two areas of Mexico City with different degrees of urbanization and related to changes in climatic variables through 1991. Basidiomycete spores formed a large component of the total airborne fungal spore load in the atmosphere of Mexico City. They were the second most abundant spore type after Deuteromycotina (Hyphomycetes), forming 32% of the total fungal spores trapped in an urban-residential area and 28% in an urban-commercial area. The most abundant basidiomycete spores were basidiospores although smut-type spores were trapped on more days than basidiospores and rusts on fewer. Basidiospores occurred in concentrations up to 2,000 spores m⁻³ in the urban-residential area. Basidiospores showed a marked seasonal distribution, especially in the southern area, with their greatest abundance during the wet season. The correlation coefficients associated with regressions between basidiospore concentration and some environmental factors were increased when a lag period of 2 to 4 days was used between environmental measurements and the day of spore collection. Basidiospore concentrations exceeded the 75 percentile concentration (>400 spores m⁻³) most often when rainfall was up to 6 mm and relative humidity was >70%. Basidiospores showed a diurnal periodicity with greatest concentrations in the early morning. The most common basidiospore type was *Coprinus* which formed 67% of basidiospores trapped in the southern area and 63% in the central area. Smut spores were trapped on 87% of days through the year while rust spores occurred in only 35%. Both rusts and smuts were present in only small concentrations.

Carmen Calderon and Irma Rosas, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, México D.F., México; John Lacey and H. Alastair McCartney, IACR-Rothamsted, Harpenden, Heris AL5 2JQ., U.K.
(Manuscript accepted 15 May 1995)

The Basidiomycotina (basidiomycetes) comprise approximately 16,000 species and include many of the conspicuous larger fungi such as mushrooms, bracket-fungi, puff-balls and earth-stars as well as the plant pathogenic smuts and rusts (Hawksworth et al. 1983). They produce abundant spores which can be dispersed over long distances by the wind (Lacey 1981, Govi 1992) and have been reported to form an important component of the air spora in urban areas in many different parts of the world (Levetin 1990, 1991, Hasnain 1993, Li & Kendrick 1994). Even though basidiospores are known to be allergenic (Herxheimer et al. 1969, Lopez et al. 1976, Santilli et al. 1985, Lehrer & Horner 1990, O'Neil et al. 1990, Vijay et al. 1991, Hasnain 1993) and may be one of the principal causes of seasonal respiratory allergy (Lehrer et al. 1986, Lopez et al. 1976), their numbers and types in the air of urban areas and their diurnal and seasonal periodicities have seldom been studied.

Previous aerobiological studies in Mexico City have demonstrated the presence of fungal propagules, especially of Deuteromycotina (Hyphomycetes) and Zygomycotina, in the air (González Ochoa Orozco 1943, López-Martínez & García-Maynez 1983, Rosas et al. 1986, 1990, 1992, 1993) but basidiomycete spores (basidiospores, rusts, smuts) have

never been counted and identified. The principal objective of the present study was to determine diurnal and seasonal changes in the concentrations of airborne basidiomycete spores in two areas of Mexico City with different degrees of urbanization and to determine how these were affected by climatic factors.

METHODS

Sampling areas

Samplers were placed in two different parts of Mexico City, a commercial-urban area in the city centre, and a residential-urban area 10 km away in the south of the city. Urbanization Indices (U.I.), based on the percentage of built area (Guevara & Moreno 1987), in the two areas were, respectively, 0.97 and 0.25.

Sampling methods

Concentrations of airborne fungal spores were measured from 7 January to 31 December, 1991 using two identical recording volumetric seven-day spore traps (Burkard Manufacturing Co. Ltd., England). The spore traps were placed on the roofs of single storey buildings, about 6 m above ground level. The flow rate through each spore trap was adjusted to 10 l min⁻¹ and checked weekly. Spores were collected on Melinex tape (Burkard) coated with a thin film of

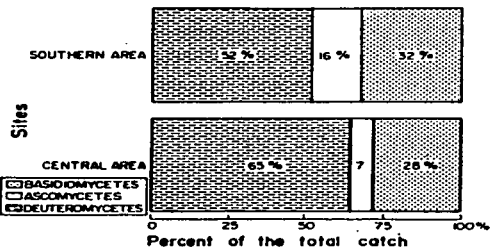


Fig. 1. Contributions of different classes of fungi to the total air spora in southern residential and central commercial urban areas of Mexico City.

petroleum jelly dissolved in hexane (1:5) (British Aerobiology Federation 1994). At both localities, tapes were changed weekly at 13.00 h (local time). The tapes were cut into strips 48 mm long, each representing 24 h exposure, and were mounted on microscope slides in gelvatol containing basic fuchsin and protected with a cover glass. Spores were counted in five fields along traverses 4 mm apart, with an optical microscope at 400 times magnification. Traverses represented the deposits collected in alternate hours. The counts were used to calculate daily mean concentrations of spores m^{-3} (Käpylä & Penttinen 1981, British Aerobiology Federation 1994). Fungal spores were classified by appearance and morphological characteristics (colour, size, and shape) and identified by comparison with published keys and monographs (e.g., Nilsson 1983, Smith 1984, Vánky 1987, Cummins & Hiratsuka 1991).

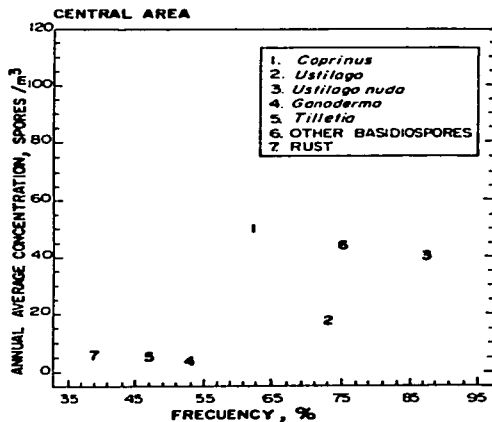
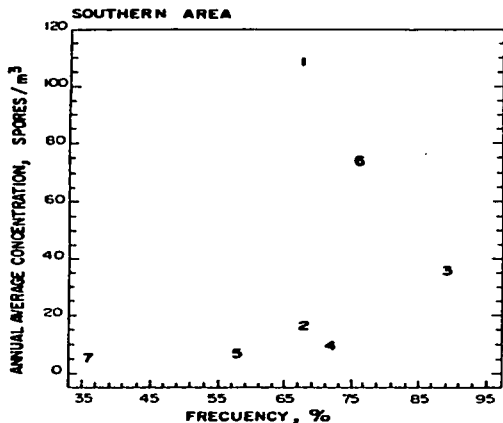


Fig. 2. Annual mean concentrations of basidiospores and spores of smuts and rusts and their frequencies of occurrence in air samples from southern residential and central commercial urban areas of Mexico City.

Meteorological measurements

Records of daily maximum and minimum temperatures and daily average and maximum wind speeds and relative humidity (RH) were obtained from the National Meteorological Observatory (for the central area) and from the College of Geography of the National University of Mexico (for the southern area). The meteorological stations were, respectively, 8 and 1 km from the sampling sites.

Statistical methods.

The Statgraph statistical package was used for data management and statistical analysis. Different types of distribution were tested but, because the data were not fitted by a normal distribution, it was necessary to apply nonparametric methods. Spearman's coefficient of rank correlation was applied to determine the relationship between fungal spore concentrations and environmental parameters. These correlations were also estimated with the environmental variables lagged by one to four days. The Mann-Whitney test was applied for comparing samples between seasons and sampling areas.

RESULTS

When averaged over a whole year, Deuteromycotina provided the largest proportion of the total airborne fungal spores in both the southern and central areas of Mexico City (respectively, 52% and 65% of the total). Basidiomycete spores were the second most abundant spore group after Deuteromycotina, forming 32% of all spores in the southern urban-residential area and 28% in the central urban-commercial area (Fig. 1). Among the basidiomycete spores, basi-

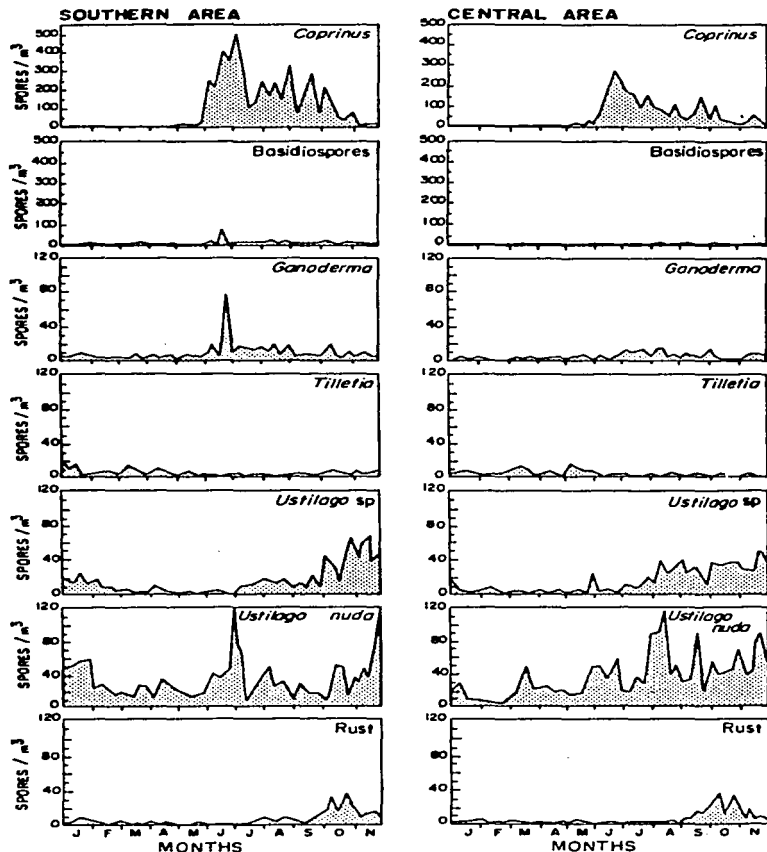


Fig. 3. Seasonal occurrence of basidiospores and spores of smuts and rusts in southern residential and central commercial urban areas of Mexico City.

diostepores were the most abundant class, giving concentrations up to 2150 spores m^{-3} .

The percentage of days on which spores were trapped and the abundance of the most common genera in 1991 are shown in Fig. 2. *Coprinus* spores were the most abundant type, followed by a group of other basidiospore genera (*In-*

ocybe, *Agrocybe*, *Boletus*, *Russula*, *Bovista*, *Panaeolus*) and by other hyaline or lightly coloured basidiospores. The annual mean concentration of *Coprinus* spores in the southern area was 103 spores m^{-3} with spores trapped on 67% of days while the corresponding figures for the central area were, respectively, 50 spores m^{-3} and 63%. *Ganoderma* was less

Table I. Daily mean concentrations of airborne basidiomycete spores (spores m^{-3} air) in southern residential and central commercial urban areas in dry and wet seasons.

	Mexico City					
	Annual		Southern Area		Central Area	
	Southern Area	Central Area	Dry season	Wet Season	Dry Season	Wet Season
Basidiospores						
Range	0-2150	0-772	0-605	0-2150	0-37	0-772
Median	59	39	16	232	12	129
Smuts						
Range	0-472	0-374	0-472	0-293	0-226	0-374
Median	47	47	55	35	41	51
Rust						
Range	0-90	0-109	0-90	0-74	0-51	0-109
Median	0	0	0	0	0	0

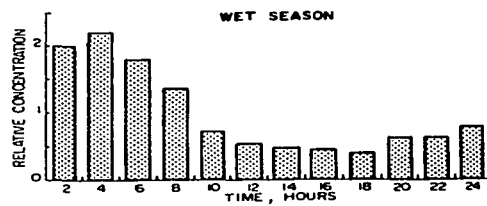
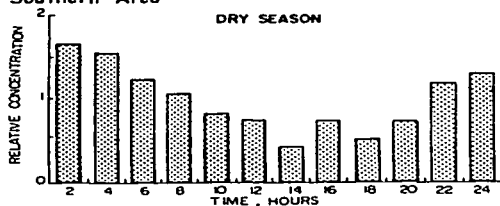
abundant than *Coprinus* and less frequently trapped although it was present throughout the year.

Smut spores were generally more numerous than rust spores (Fig. 3) but their concentrations were small (up to 472 smut spores m^{-3} and 109 rust spores m^{-3}). Concentrations of smut and rust spores usually did not differ greatly between sampling stations except during the dry season when concentrations in the southern area, especially of smuts, were larger than in the wet season and larger than at the other site, although no differences were significant. Although spores

resembling *Ustilago nuda* were the most abundant of the smut spores and were the most frequently trapped basidiomycete spore (87% of days), their concentrations rarely exceeded 100 spores m^{-3} . Other types of smut spores, such as *Tilletia* spp. and *Ustilago* spp., were also frequently found. Rust spores were the least frequently trapped basidiomycete spores (35% of days) and gave annual mean concentrations of only 6 spores m^{-3} at both sampling sites.

The seasonal distributions of basidiospores, smut and rust spores in the southern and central areas of Mexico City are

Southern Area



Central Area

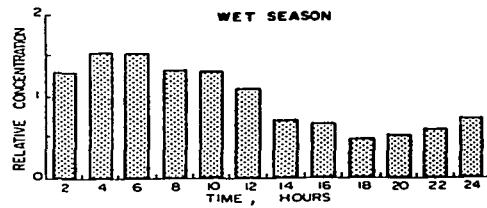
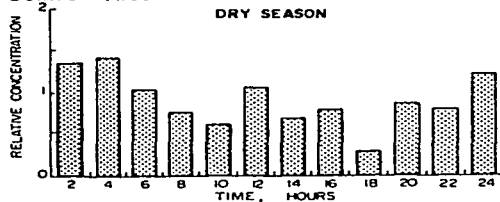


Fig. 4. Diurnal periodicities in basidiospore concentration in dry and wet seasons in southern residential and central commercial urban areas of Mexico City. Results are the means of normalized distributions over each season in 1991.

Table II. Correlation coefficients between airborne basidiospores and environmental factors in Mexico City

Environmental factors	Southern Area **UI 0.25				Central Area ***UI 0.97			
	Dry Season n = 166		Wet Season n = 184		Dry Season n = 166		Wet Season n = 184	
	lag (days)	r	lag (days)	r	lag (days)	r	lag (days)	r
Maximum Temperature (°C)	0	-0.57*	0	-0.46*	0	-0.61*	0	-0.37*
			2	-0.53*			4	-0.50*
Minimum Temperature (°C)	0	-0.32*	0	-0.12	0	-0.34*	0	-0.20*
Relative Humidity (%)	0	0.68*	0	0.31*	0	0.58*	0	0.33*
			4	0.43*			4	0.58*
Mean Wind Speed (m s ⁻¹)	0	-0.15*	0	0.25*	0	-0.32*	0	-0.16*
							2	-0.19*
Maximum Wind Speed (m s ⁻¹)	0	-0.18*	0	0.35*	0	-0.45*	0	-0.20*
Rainfall (mm)	0	0.16*	0	0.15*	0	0.01	0	0.09
			2	0.23*			3	0.29*

*P≤0.05

**UI: Urbanization Index

shown in Table I and Fig. 3. Basidiospore concentrations were highly dependent on season with very few spores being caught during the dry season (October-May). During the wet season, daily mean basidiospore concentrations tended to be larger in the southern sampling site than in the central site (p≤0.05). *Coprinus* and other basidiospores were mainly responsible for the marked seasonal variation found, with concentrations increasing from June and then decreasing from near the end of October.

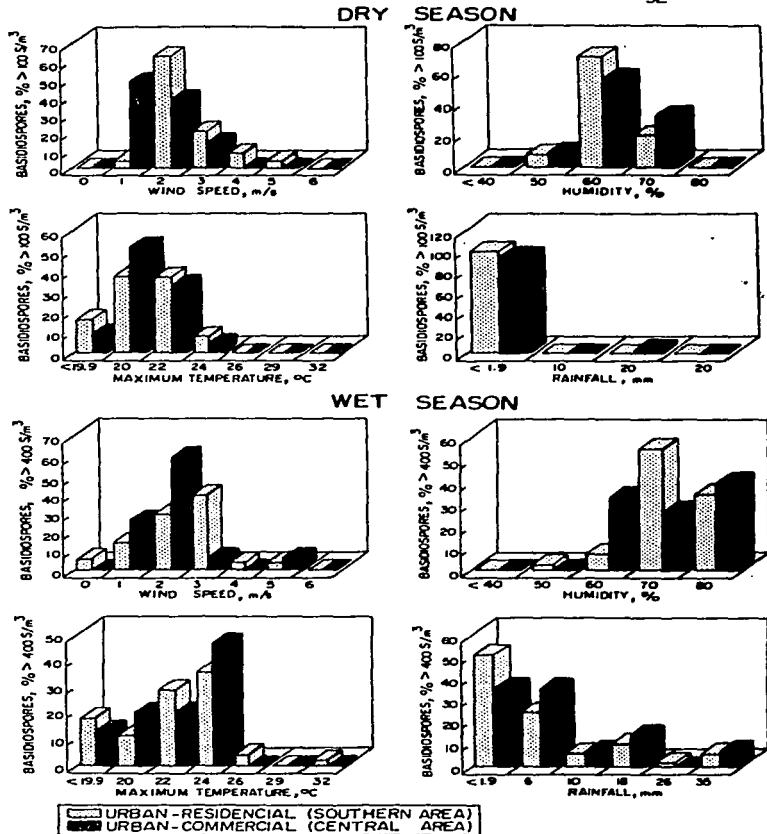
Concentrations of both smut and rust spores differed little between sites during the wet season. Smut spore concentrations showed little seasonal variation but rust spore concentrations had a marked seasonal pattern, with the largest concentrations (southern site, 90 spores m⁻³; central site, 109 spores m⁻³) towards the end of the wet season and the beginning of the dry season (September-October; Fig. 3). Mean smut spore concentrations during the dry season were larger than those of basidiospores at both sites. *Ustilago nuda* spore concentrations showed a slight increase in June but it was not possible to define a clear seasonal pattern.

Basidiospore concentrations showed a characteristic diurnal periodicity. The diurnal distribution of normalized hourly mean concentrations of airborne basidiospores for wet and dry seasons are shown in Fig. 4. In both the dry and wet seasons, concentration were greatest in the early morning (02.00-06.00 h), and were smallest during the afternoon (minimum at about 18.00 h). In the southern area during the wet season, the mean maximum hourly concentration of basidiospores (1520 spores m⁻³) occurred at 04.00 h. The largest concentration recorded was 4630 spores m⁻³, also at 04.00 h on 10 July. A similar pattern was observed in the

central area although concentrations were usually smaller (maximum 1420 spores m⁻³ on 4 July). Smut and rust spores showed no marked diurnal periodicity. Spearman's correlation coefficients between total airborne basidiospores and some environmental parameters are shown in Table II. During both dry and wet seasons there were significant negative correlations (p≤0.05) between airborne basidiospores and maximum temperatures (r>0.5 at both southern and central sites). Minimum temperature and mean and maximum wind speed were also weakly but significantly negatively correlated with basidiospore concentrations. Basidiospore concentration was positively correlated (r>0.5) with relative humidity at both sites for both seasons and weakly correlated with rainfall for the wet season. The values of the correlation coefficients between basidiospores and maximum temperature, relative humidity and rainfall were increased (Table II) when these environmental factors during the wet season were correlated with spore concentrations 2 to 4 days later.

The relationship between the incidence of large basidiospore concentrations and weather conditions in the dry and wet seasons is show in Fig. 5. Basidiospore concentrations exceeding the wet season 75 percentile concentration (>400 spores m⁻³) occurred most often when daily rainfall was up to 6 mm, relative humidities (RH) were >70%, daily maximum temperatures were between 24 and 26°C, and wind speeds were 2-3 m s⁻¹ in the commercial area and 3-4 m s⁻¹ in the residential area. In the dry season, the 75 percentile concentration (100 spores m⁻³) was exceeded most often when the temperature was 20-24°C, RH was 60-70% and wind speed was 1-2 m s⁻¹ in the commercial area and 2-3 m s⁻¹ in the residential area.

Fig. 5. Effects of weather conditions on the frequency of occurrence high basidiospore concentrations in dry and wet seasons in southern residential and central commercial urban areas of Mexico City.



DISCUSSION

Basidiospores are numerous in the environment worldwide but were seldom detected before the introduction of volumetric spore traps, such as the Burkard trap, because the spores were not trapped efficiently on sedimentation slides, as used in the Durham trap. The use of volumetric traps

revealed their large numbers in the environment and recent studies have shown their importance as allergens. The volumetric spore trap was designed for large spored plant pathogens and its trapping efficiency may decline with spores as small as basidiospores. However, Hirst (1952) showed that 95% of *Ustilago avenae* (*U. perennans*) spores were retained on trap slides in winds of 1–10 m s⁻¹. Similar retention of

Ustilago spores and basidiospores, which are of similar size, might be expected in Mexico. Rust spores are larger (18–90 μm) and, like pollen, should be retained almost completely. However, concentrations of basidiospores, especially hyaline types, may be underestimated because of the large amounts of particulate matter in the Mexico City atmosphere.

Basidiomycete spores were the second most abundant group of fungal spores in the atmosphere of Mexico City and comprised not only basidiospores, which contributed the largest concentrations but also spores of rusts and smuts (Uredinales and Ustilaginales). Concentrations of basidiomycete spores were larger in the southern residential area of Mexico City (maximum daily mean 2150 spores m^{-3}) than in the central commercial area. The southern area has a low urbanization index (UI = 0.25) and also the largest green area in the city, while the soil is frequently enriched with dung or forest soil. Basidiomycetes have previously been reported to develop on soil and vegetation in parks and gardens in the metropolitan area of Mexico City which may have been enriched with decaying vegetation and soil from forest areas and with dung from different animals (Guzmán 1977, Pérez-Silva & Aguirre-Acosta 1986). Altogether, 46 species were identified from these sources. From the genera which they collected, we have trapped airborne spores of *Coprinus*, *Agaricus*, *Panecolus*, and *Agrocybe* spp. during the present investigation.

Coprinus-type spores formed the most abundant airborne basidiospores in Mexico City with the highest frequency of occurrence, as found by Levetin (1991) in Tulsa, Oklahoma. Pérez-Silva and Aguirre-Acosta (1986) considered that this genus was one of the most common basidiomycetes in the metropolitan area of the city. *Ganoderma* spores occurred with greater frequency in the southern area of the city than in the central area (frequencies of collection of 72 and 53%, respectively) and they were present in low concentrations in both dry and wet seasons. In New Zealand, Hasnain et al. (1985) found *Ganoderma* to be more abundant than *Coprinus*, probably reflecting the greater forested area in this country. The group containing other basidiospores gave a large total concentration in the air but represented a range of different genera. Concentrations of basidiospores in urban areas rarely exceed a daily mean concentration of 2000 spores m^{-3} (Levetin 1990, 1991), comparable with those found in this study, while much larger concentrations can be found in the air of forested or rural areas where hourly mean concentrations can exceed 100000 spores m^{-3} (Hasnain et al. 1985). In forested areas of Finland, basidiospores could form more than 70% of the total air spora (Rantio-Lehtimäki 1977) and in New Zealand up to 62% (Hasnain et al. 1985). Concentrations of airborne basidiospores of all types showed a diurnal periodicity typical of this fungal spore type, with maximum concentrations at night, between 02.00 and 04.00 h, when dew is sufficient for spore liberation (Lacey 1981).

Basidiospore concentrations showed marked seasonal differences with the highest numbers during the wet season, when weather conditions favour the development of spo-

rophores and the release of spores (Hasnain 1993). In the present study, concentrations of airborne basidiospores were directly correlated with RH and, in the wet season only, with rainfall but correlation coefficients were increased when correlated with RH up to four days before. This may reflect the time taken for maturation of fungal fruiting bodies. Concentrations of basidiospores were largest when relative humidities were 70 to 80%. It is well known that high humidities and rain favour the production and liberation of basidiospores (Buller 1958, Ingold 1971, Lacey 1981, Harries 1985) even though prolonged rain can wash many spores out of the air. Also, water films on vegetation surfaces temporarily inhibit spore dissemination (Sreeramulu 1963, Hasnain 1993).

Some studies have suggested that spores of some basidiomycetes develop slowly under relatively cold conditions (<18°C) and more rapidly under warmer conditions (>18°C) (Buller 1958, Ingold 1971). However, in the present study, maximum concentrations of airborne basidiospores were found when temperatures were 20 to 24°C in the dry season, and 24 to 26°C during the wet season. There was a negative correlation between temperature and basidiospore concentration, suggesting that spore production or fungal growth is decreased at higher temperatures (about >26°C). Large concentrations of basidiospores in both seasons were often associated with daily mean wind speeds of 2 to 3 m s^{-1} . This compares with the reports of Lopez & Salvaggio (1983) and Hasnain (1993), among others, that wind velocities >5 m s^{-1} were associated with decreased concentrations of basidiospores, perhaps because of the diluting effect of high wind speeds on concentrations of airborne particles. In addition, increasing wind speed would also increase water loss and may, in turn, suppress spore production.

Smut spores had the highest frequency of collection (87% of days throughout the year) of all the basidiomycete spores, while rust spores had the lowest (3.5%). However, both were present in such small concentrations that no definite diurnal periodicity could be established although rusts showed a slight seasonal periodicity. There was little difference between concentrations at both sites, suggesting distant sources for the spores such as suburban woodland and rural areas on the outskirts of Mexico City. Additionally, the high urbanization index of the urban-commercial area and the vegetation type found in the urban-residential area (gardens and small woods) is probably not a suitable habitat for rusts and smuts, although some ornamental, fruit and garden crops might be hosts susceptible to infection by certain rusts and smuts and thus become sources of these type of spores. The spores are small enough to have been transported by wind into the urban areas to give the observed background levels.

This would be in accordance with previous reports (O'Rourke et al. 1994) that large concentrations of smut spores are associated with dry weather, high winds and elevated temperatures, and low concentrations with wet weather and high relative humidities. The small concentrations found in the urban area of Mexico City prevented the

effects of different environmental factors on concentrations of rust and smut spores from being more closely defined. There was a marked seasonal periodicity of rust spores which could perhaps be explained by the build up of disease on grasses and other hosts towards the end of the wet season and the beginning of the dry season.

Some basidiospores are known to be strongly allergenic. However, allergic reactions may depend not only on the concentration of basidiospores but also on the allergenic potency of the individual spores and the susceptibility of the subject (Butcher et al. 1987). The spore concentrations found in this study were much smaller than those associated with *Ganoderma* sensitivity in New Zealand (up to 5000 spores m⁻³) (Hasnain et al. 1984). However, they may still represent a potential hazard to sensitive patients in Mexico City. Further studies of the atmosphere of Mexico City are thus essential in order to establish the numbers and types of airborne basidiospores in different years and to assess their allergenicity.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Messrs. R. Belmont, R. Montañez, V. Zarraluqui and Miss Leticia Martínez for their technical assistance.

REFERENCES

- British Aerobiology Federation. 1994. Airborne Pollens and Spores: A Guide to Trapping and Counting. - British Aerobiology Federation Harpenden.
- Buller A. H. R. 1958. Researches on fungi. Vol II and IV. - Hafner Publishing Co., New York.
- Butcher B. T., O'Neil C. E., Reed M. A., Altman L. C., Lopez M. & Lehrer S. B. 1987. Basidiomycete allergy: Measurement of spore-specific IgE antibodies. - *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 80 (6): 803-809.
- Cummins G. B. & Hiratsuka Y. 1991. Illustrated genera of rust fungi, 2nd - ed. The American Phytopathological Society Press, St. Paul.
- Govi G. 1992. Aerial diffusion of phytopathogenic fungi. - *Aerobiologia* 8: 84-93.
- González Ochoa A. & Orozco C. 1943. Los hongos del aire de la Ciudad de México y su relación con los factores atmosféricos. - *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 4: 259-265. (Spanish)
- Guevara, S. S. & Moreno, P. C. 1987. Áreas verdes de la zona metropolitana de la Ciudad de México. In: Atlas de la Ciudad de México (ed. Garza, G. & Programa de Investigación Científica y Capacitación Técnica), pp. 231-236. - Departamento de Publicaciones de el Colegio de México, Mexico D. F. (Spanish)
- Guzmán G. 1977. Identificación de los Hongos Comestibles, Venenosos, Alucinantes y Destruidores de la Madera. Ediciones Limusa México, D. F.
- Harris M. G., Lacey J., Tee R. D. & Cayley G. R. 1985. *Ditysmella exitialis* and late summer asthma. - *Lancet*: 1063-1066.
- Hasnain S. M. 1993. Influence of meteorological factors on the air spora. - *Grana* 32: 184-188.
- Hasnain, S. M., Newhook, F. J., Wilson, J. D. & Corbin, J. B. 1984. First report of *Ganoderma* allergenicity in New Zealand. - *New Zealand Journal of Science* 27: 261-267.
- Hasnain, S. M., Wilson, J. D. & Newhook, F. J. 1985. Fungal allergy and respiratory disease. - *New Zealand Medical Journal* 98: 342-346.
- Hawksworth D. L., Sutton B. C. & Ainsworth G. C. 1983. Dictionary of the fungi, 7th ed. - Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- Hersheimer, H., Hyde, H. A. & Williams, D. A. 1969. Allergic asthma caused by basidiospores. - *Lancet* 11: 131-133.
- Hirst, J. M. 1952. An automatic volumetric spore trap. - *Annals of Applied Biology* 39: 257-265.
- Ingold, C. T. 1971. Fungal Spores: Their Liberation and Dispersal. - Clarendon Press, Oxford.
- Käpylä, M. & Penttinen, A. 1981. An evaluation of the microscopical counting methods of the trap in Hirst-Burkard pollen and spore trap. - *Grana* 20: 131-141.
- Lacey, J. 1981. The Aerobiology of Conidial Fungi. - In: *Biology of Conidial Fungi* Vol. 1 (ed. G. T. Cole & B. Kendrick), pp. 373-416. Academic Press, London.
- Lehrer S. B. & Horner W. E. 1990. Allergic reactions to basidiospores: identification of allergens. *Aerobiologia* 6: 181-186.
- Lehrer S. B., Lopez M., Butcher B. T., Olson J., Reed M. & Salvaggio J. E. 1986. Basidiomycete mycelia and spore allergen extracts: skin test reactivity in adults with symptoms of respiratory allergy. - *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 78: 478-485.
- Levetin E. 1990. Studies on airborne basidiospores. - *Aerobiologia* 6: 177-180
- Levetin E. 1991. Identification and concentration of airborne basidiospores. - *Grana* 30: 123-128.
- Li, D.-W. & Kendrick, B. 1994. Functional relationships between airborne fungal spores and environmental factors in Kitchener-Waterloo, Ontario, as detected by Canonical correspondence analysis. - *Grana* 33: 166-176.
- Lopez, M. & Salvaggio, E. J. 1983. Climate - Weather - Air pollution. - In: *Allergy: Principle and practice*, 2nd. ed. (ed. E. Middleton, C. E. Reed & E. F. Ellis) pp. 1203-1214. - C V Mosby, St. Luis.
- Lopez M. L., Salvaggio J. E. & Butcher, B. T. 1976. Allergenicity and immunogenicity of basidiomycetes. - *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 57: 480-488.
- López-Martínez R. & García-Maynez C. 1983. Aislamiento de hongos productores de alergias en mercados de la Ciudad de México. - *Alergia* 30: 103-108.
- Nilsson, S. (Ed.). 1983. Atlas of airborne fungal spores in Europe. - Springer Berlin.
- O'Neil C. E., Horner W. E., Reed M. A., Lopez M. & Lehrer S. B. 1990. Evaluation of basidiomycete and deuteromycete (fungi imperfecti) extracts for shared allergenic determinants. - *Clinical and Experimental Allergy* 20: 533-538.
- O'Rourke M. K., Gunyan M., Bodour A. & Van de Water P. K. 1994. The prevalence of basidiomycetes in homes, Tucson, Arizona. - 21st Conference on Agricultural and Forest Meteorology and 11th Conference on Biometeorology and Aerobiology. Book of extended abstracts, 7-11 March, 1994, San Diego, California. American Meteorological Society, Boston.
- Pérez-Silva E. & Aguirre-Acosta E. 1986. Macromicetos de zonas urbanas de México. I. Área metropolitana. - *Revista Mexicana Microbiología*. 2: 187-195. (Spanish)
- Rantio-Lehtimäki, A. 1977. Researches on airborne fungus spores in Finland. - *Grana* 16: 163-165.
- Rosas L., Calderón C., Escamilla B. & Ulloa M. 1992. Seasonal distribution of *Aspergillus* in the air of an urban area: Mexico City. - *Grana* 31: 315-319.
- Rosas L., Calderón C., Gutiérrez S. & Mosiño P. 1986. Airborne fungi isolated from rain water collected in Mexico city. - *Contaminación Ambiental* 2: 13-23. (Spanish)
- Rosas L., Calderón C., Ulloa M. & Lacey J. 1993. Abundance of airborne *Penicillium* in relation to urbanization in Mexico City. - *Applied and Environmental Microbiology* 59: 2648-2652.

- Rosas I., Escamilla B., Calderón C., & Mosión P. 1990. The daily variations of airborne fungal spores in Mexico city. - *Aerobiologia* 6:153-158.
- Santilli J., Rockwell W. J. & Collins R. P. 1985. The significance of the spores of the basidiomycetes (mushrooms and their allies) in bronchial asthma and allergic rhinitis. - *Annals of Allergy* 55: 469-471.
- Smith E. G. 1984. Sampling and identifying allergenic pollens and molds. 1st ed. Blewstone Press, San Antonio, Tx.
- Sreeramulu T. 1963. Observations of the periodicity in the air-borne spores of *Ganoderma applanatum*. - *Mycologia* 53: 371-379.
- Ványi K. 1987. Illustrated genera of smut fungi. - G. Fischer, Stuttgart.
- Vijay H. M., Comtois P., Sharma R., & Lencieux R. 1991. Allergenic components of *Ganoderma applanatum*. - *Grana* 30:167-170.

C. Calderón · J. Lacey · A. McCartney · I. Rosas

Influence of urban climate upon distribution of airborne Deuteromycete spore concentrations in Mexico City

Received: 13 August 1996 / Accepted: 4 December 1996

Abstract The effect of an urban climate upon the spatial and temporal distribution of Deuteromycete spores was studied during 1991 using Burkard volumetric spore traps in two areas of Mexico City with different degrees of urbanization. Deuteromycete conidia formed the largest component of the total airborne fungal spore load in the atmosphere of Mexico City, contributing 52% of the spores trapped in an urban-residential area (southern area) and 65% of those in an urban-commercial area (central area). Among the most common spore types, *Cladosporium* and *Alternaria* showed a marked seasonal periodicity with significant differences in concentration ($P < 0.05$) between the dry and wet seasons. Maximum conidial concentrations were found during the end of the wet season and the beginning of the cool, dry season (October–December). Daily mean concentrations of the predominant airborne spore types did not differ significantly between the southern and central areas. Daily mean spore concentrations were significantly correlated ($P < 0.05$) in southern and central areas with maximum temperature (south, $r = -0.35$; central, $r = 0.40$) and relative humidity (south, $r = 0.43$; central, $r = 0.29$) from the previous day. Moreover, multiple regression analysis of spore concentrations with several meteorological factors showed significant interactions between fungal spores, relative humidity and maximum temperature in both areas. The diurnal periodicity of *Cladosporium* conidia characteristically showed two or three peaks in concentration during the day at 0200–0400, ~1400 and 2000–2200 hours, while that of *Alternaria* showed only one peak (1200 to 2000 hours) in both areas. Maximum concentrations of these spores generally occurred 2–4 h earlier in the southern than in the central area. The lag in reaching maximum concentrations in the central area

probably resulted from differences in the local conditions between the study areas, and from spores transported aerially into the city from distant sources. The analysis of maximum hourly concentrations of *Cladosporium* and *Alternaria* spores during 1 month of the dry season (February), and another month of the wet season (September) showed significant differences between the two study areas. Environmental factors and sources (green areas) affected diurnal changes in conidial concentration in the southern area (urbanization index, UI, 0.25), but not in the central area (UI 0.97). In general, spore concentrations were greatest in the southern area when relative humidities were low, and temperatures and wind velocities were high. It was difficult to establish effects of climatic factors on the spore concentration in the city centre. This probably results from the large amounts of air pollution, the heat island phenomenon, and from the distant origin of trapped conidia obviating aerial transport. Nevertheless, the seasonal and diurnal distributions of conidia found were similar to those reported for other tropical regions of the world.

Key words Fungal spores · Acrobiology · Deuteromycetes · Tropical climate

Introduction

Studies have been made of the spatial and temporal distribution of airborne fungal spores in many different parts of the world. Such studies of both cool temperate (Bhatti 1976; Cadman 1991; Li and Kendrick 1994; Munuera and Carrion 1995) and tropical climates (Abdel-Hafez et al. 1993; Rosas et al. 1990, 1992, 1993) show that their numbers and types change with the time of day, weather, geographical location, and presence of local spore sources (Lacey 1981). The most abundant spore types occurring during the wet season in tropical areas are often basidiospores and during the following cool, dry season Deuteromycete conidia (Sreeramulu and Ramalingam 1966). Deuteromycetes provide some of the

C. Calderón (✉) · I. Rosas
Centro de Ciencias de la Atmósfera,
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM),
Circuito Exterior,
Ciudad Universitaria, CP 04510, México, DF

J. Lacey · A. McCartney
IACR-Rothamsted, Harpenden, Herts AL5 2JQ, UK

Ms. No. 389 Author Calderón
Springer-Verlag, Heidelberg / H. Stürtz AG, Würzburg
Provisorische Seitenzahlen / Provisional page numbers

Ms. 19 Pages 1–10

I. Korr:

Date:
6. Feb. 1997

P

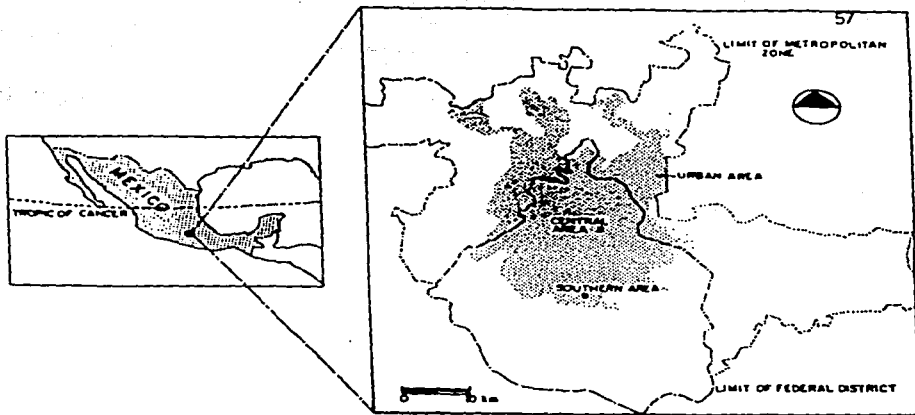


Fig. 1 Location of sampling sites in Mexico City

most abundant airborne fungal spores of which several genera are of ubiquitous occurrence. For instance, *Cladosporium* provides the largest yearly mean spore concentration over most of the world although it may be exceeded by *Alternaria*, the second most abundant overall genus (*Cladosporium*) in some seasons and regions (Lacey 1981).

Airborne Deuteromycete spores have been studied previously in Mexico City. In previous studies, only short sampling periods were used with isolation in culture either by sedimentation onto agar plates (González Ochoa and Orozco 1943; García and Mallen 1970; López Martínez et al. 1986) or using sequential volumetric samplers (Rosas et al. 1990, 1992). These methods have not allowed daily and seasonal patterns or their relationship with meteorological parameters to be determined clearly. Mexico City is a high-altitude tropical city, with few green areas as a result of urbanization; the climate is modified, with increased temperatures and precipitation, compared to other nearby areas and with modified wind patterns as well as other changes (Jáuregui 1986, 1989, 1990/91; Jáuregui and Luyando 1992).

The main objective of the present study was to determine the possible effects of an urban climate upon the seasonal and diurnal distribution of airborne Deuteromycete spores, collected in two areas of Mexico City with different degrees of urbanization.

Methods

Study areas

Mexico City is located at 99°08' W and 19°26' N, at an elevation of 2250 m above sea-level, and surrounded by high mountains particularly in the southeast, south and west, with lower mountains to the north and northeast (Fig. 1). The altitude and latitude of the city confer both tropical and temperate features to the climate, with one rainy season in summer. The mountains surrounding the Valley of Mexico and heavy urbanization of the city centre have large effects on the local climate, especially rainfall, temperature and wind circulation patterns (Jáuregui 1993; Jáuregui and Luyando 1992; Jáuregui and Romales 1996). Yearly mean temperature is 15°C, yearly mean maximum temperature 25°C and yearly mean rainfall is 826 mm. Northeast winds prevail, and mean daily sunshine duration is -6 h. Deuteromycete spores were sampled in two areas of Mexico City each with contrasting urbanization indices (UI; built-up area/total area): a commercial-urban area in the city centre (UI 0.97), and a residential urban area (UI 0.25) located 10 km south of the city centre (Guevara and Moreno 1987).

Sampling methods

Concentrations of airborne fungal spores were measured from 7 January to 31 December, 1991 using two identical 7-day recording volumetric spore traps (Burkard Manufacturing Co. Ltd., UK). Each spore trap was placed on the roof of a single storey building, at -6 m above ground level. The flow rates were adjusted to 10 min and checked weekly. Spores were collected on Melinex tape (Burkard) coated with a thin film of petroleum jelly dissolved in hexane (1:5; British Aerobiology Federation 1995). At both sampling sites, tapes were changed weekly at 1300 hours (local time). The tapes were cut into strips 48 mm long, each representing 24 h exposure, and were mounted on microscope slides in gelvatol containing basic fuchsin and protected with a cover glass. Spores were counted in five fields along traverses 4 mm apart, using an optical microscope at 400 magnification. Traverses repre-

Table 1. Frequency and abundance of Deuteromycete, Basidiomycete and Ascomycete spores in Central and Southern Areas of Mexico City

Species	Central area		Southern area	
	Frequency (% of days)	Abundance (% of total Deuteromycete spores)	Frequency (% of days)	Abundance (% of total Deuteromycete spores)
Deuteromycetes*	100.0	65.0	100.0	52.0
<i>Cladosporium</i>	97.7	70.0	98.0	72.0
<i>Alternaria</i>	89.9	8.0	89.5	5.0
<i>Epicoccum</i>	78.0	4.0	82.8	3.0
<i>Aspergillus/Penicillium</i>	75.0	9.3	64.0	13.0
<i>Drechslera/Helminthosporium</i>	62.9	2.0	63.0	2.0
<i>Torula</i>	67.0	2.7	68.0	1.8
<i>Nigrospora</i>	25.9	0.3	25.8	0.1
<i>Periconia</i>	30.0	1.0	60.0	0.8
<i>Stemphylium</i>	29.0	0.7	24.0	0.7
<i>Pithomyces</i>	24.0	0.2	9.7	0.2
<i>Curvularia</i>	12.9	0.5	14.0	0.2
<i>Spizizenia</i>	9.8	0.1	9.5	0.2
<i>Neohendersonia</i>	6.0	0.2	1.6	0.1
<i>Cercospora</i>	6.0	0.1	3.0	0.1
<i>Tetraploa</i>	4.0	0.2	4.0	0.2
<i>Pestalotia</i>	2.7	0.1	2.5	0.1
<i>Asperisporium</i>	3.0	0.1	2.5	0.1
<i>Beltrania</i>	3.0	0.1	1.0	0.1
<i>Helicoma</i>	1.6	0.1	1.5	0.1
<i>Gliomastix</i>	1.0	0.1	2.0	0.1
<i>Dictyosporium</i>	1.0	0.1	1.0	0.1
<i>Septoria</i>	1.0	0.1	0.0	0.0
<i>Dothidea</i>	+	+	+	+
<i>Chalara</i>	+	+	+	+
<i>Exosporiella</i>	+	+	+	+
<i>Fusariella</i>	+	+	+	+
<i>Fusicladium</i>	+	+	+	+
<i>Geotrichum</i>	+	+	+	+
<i>Polytrichum</i>	+	+	+	+
<i>Sporidestium</i>	+	+	+	+
<i>Ulocladium</i>	+	+	+	+
Basidiomycetes*	99.4	28.0	99.4	32.0
Ascomycetes*	94.9	7.0	98.3	16.0

+, Frequency < 1.0% or abundance < 0.1%

* Abundance: % with respect to total spores

sented the deposits collected in alternate hours. The counts were used to calculate both daily and hourly mean concentrations of spores/m³ (Kääpylä and Penttinen 1991; British Aerobiology Federation 1995). Fungal spores were classified by appearance and morphological characteristics (colour, size and shape) and identified, where possible, by comparison with published keys and monographs (eg. Domsch et al. 1980; Ellis 1971, 1976; Nilsson 1983; Smith 1984).

Meteorological measurements

Hourly records of temperature, relative humidity (RH) and wind velocity were obtained from two automatic meteorological monitoring stations of the air quality network maintained by the municipal authorities (RAMA): Pedregal Station, located at the same place as the spore trap in the southern area, and Merced Station, close to the centrally located spore trap. It was not possible to use the meteorological data from Merced Station, because of many missing values; records from Mexico City Airport Station, also located in the central area but at a distance of 4 km from the central spore trap was used instead. However, comparison of a set of data from both stations showed no statistically significant differences ($P < 0.05$).

Statistical methods

The Statgraph statistical and Excel spreadsheet packages were used for data management and statistical analysis. Different types

of distribution were tested, but because the data did not conform to a normal distribution, it was necessary to apply nonparametric methods. Spearman's rank correlation coefficient was applied to determine the relationship between fungal spore concentrations and environmental parameters. The Mann-Whitney test was used to compare samples between seasons and sampling areas.

Results

Seasonal periodicities of Deuteromycete spores and the effects of weather

The proportions of the total air spora contributed by Deuteromycetes, Basidiomycetes and Ascomycetes and their heterogeneity were similar in the central and southern areas (Table 1). Deuteromycetes contributed 52% of the total airborne fungal spores trapped in the southern area, and 65% in the central area. Mean concentrations of the total airborne Deuteromycete spores were similar in both sampling areas of Mexico City but there were seasonal changes in their abundance which were significantly different ($P < 0.05$) between the central and southern sampling areas (Table 2). *Cladosporium*, *Alternaria*,

Results

Seasonal periodicities of deuteromycete spores and the effects of weather

1
The proportions of the total air spora contributed by Deuteromycetes, Basidiomycetes and Ascomycetes and their heterogeneity were similar in central and southern areas (Table 1). Deuteromycetes contributed 52% of the total airborne fungal spores trapped in the southern area, and 65% in the Central Area. *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum* and *Aspergillus/Penicillium* type spores were trapped most frequently (>70% of days) and in greatest abundance (>10% of total).

Mean concentrations of the total airborne Deuteromycete spores were similar in both sampling areas of Mexico City but there were seasonal changes in their abundance. Two of the most representative Deuteromycete genera found in the atmosphere of Mexico City were selected to determine their seasonal periodicities. *Cladosporium* and *Alternaria* both showed a marked periodicity in their spore concentrations, with the highest mean and maximum concentrations during the wet season in the central area (Table 2). Also the weekly mean concentration of both *Cladosporium* and *Alternaria* was significantly different ($P < 0.05$) between the dry and wet seasons in both study areas, except for *Alternaria* in the southern area. (Fig. 2).

Table 2 Concentrations of Deuteromycete spores in Mexico City

Spore type	Spores/ m ³	Annual		Dry season		Wet season	
		Southern	Central	Southern	Central	Southern	Central
Total Deuteromycetes	Mean	408	407	357	393	453	420
<i>Cladosporium</i>	Max.	2636	3218	2484	3218	2636	3089
	Mean	332	328	278	320	386	371
<i>Alternaria</i>	Max.	2188	4356	2188	2574	2165	4356
	Mean	20	25	17	23	22	29
	Max.	250	281	94	281	250	179

Table 3 Fitted constants for linear models obtained from multiple regression between 24 h average fungal spore concentrations (F, spores/m³), maximum temperature (T, °C), and relative humidity (R, %)Model: $F = A + BT + CR$

Sampling sites	Fitted constants							
	A	SE	B	SE	C	SE	Variance accounted %	
Southern area:								
Unlagged	217.2	344.7	-19.6	7.8	11.0	3.0	13	
Lagged 1 day	78.1	331.3	-21.9	7.6	14.2	2.9	20	
Central area:								
Unlagged	1899	409.7	-54.9	11.0	-2.7	2.9	12	
Lagged 1 day	2067	397.7	-61.4	10.8	-2.9	2.8	16	

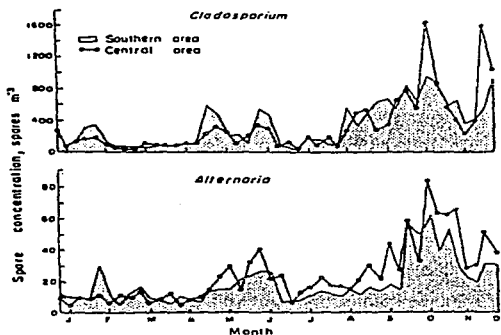


Fig. 2 Changes in weekly mean concentrations of some conidiospores in the Southern and Central Areas of Mexico City during 1991

Epicoaccum and *Aspergillus/Penicillium* type spores were trapped most frequently (>70% of days) and in greatest abundance (>10% of total). Two of the most representative Deuteromycete genera found in the atmosphere of Mexico City were selected to determine their seasonal

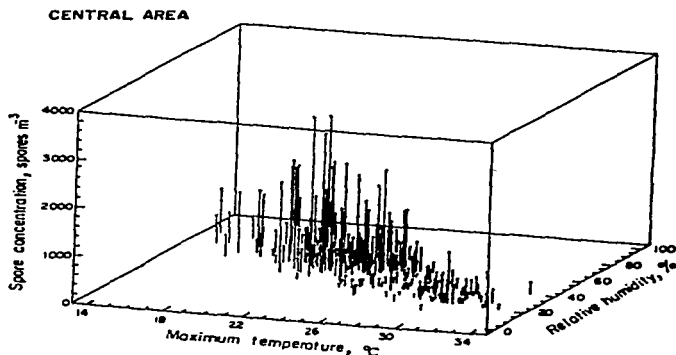
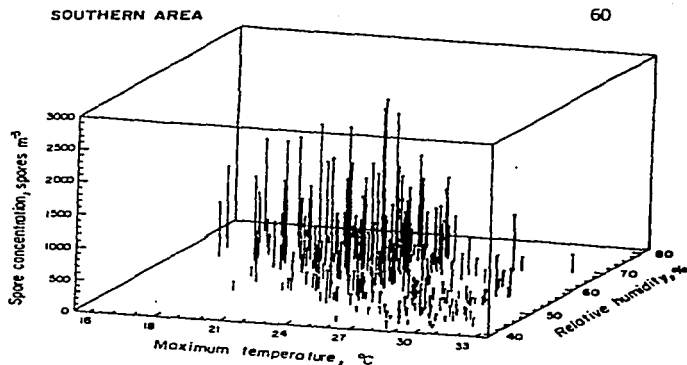
periodicities. *Cladosporium* and *Alternaria* both showed a marked periodicity in their spore concentrations, with significant differences ($P < 0.05$) between the dry and wet seasons in both study areas, except for *Alternaria* in the southern area. (Fig. 2, Table 2).

Spore concentrations were correlated with weather factors for the days on which they were measured (unlagged) and with the same factors measured on the previous day (lagged). The relationship between daily mean spore concentrations in the southern area and central area during 1991 and selected weather variables lagged by 1 day are shown in Fig. 3. In both areas, significant correlations ($P < 0.05$) were found with maximum temperature (south, $r = -0.35$; central, $r = -0.40$) and relative humidity (south, $r = 0.43$; central, $r = 0.29$) measured on the previous day. Multiple regression analysis was done, using spore concentration, rainfall, maximum temperature, relative humidity and daily mean wind speed, for both unlagged and lagged meteorological measurements. The only significant interactions with concentrations of fungal spores were with relative humidity and maximum temperature in both the southern and central areas. Table 3 shows the coefficients from the resulting linear models of the form:

$$\text{Spore concentration} = A + B \text{ maximum temperature} + C \text{ relative humidity}$$

The models using the lagged variables accounted for a greater amount of variance than those using the unlagged variables: 20% for the southern area and 16% for the central area.

Fig. 3 Mean concentrations of deuteromycete spores at different temperatures and relative humidities in the Southern and Central Areas of Mexico City



Diurnal periodicities of Deuteromycete spores and the effects of weather

Diurnal periodicities in concentrations of airborne *Cladosporium* and *Alternaria* spores in the southern and central areas are shown in Fig. 4. *Cladosporium* spores in the southern area showed two to three peaks in concentration during the day, at 0200–0400, ~1400 and 2000–2200 hours. *Alternaria* spore concentrations showed maxima at 1200–2000 hours in both study areas,

although the maxima generally occurred 2–4 h earlier in the southern area than in the central area.

Daily mean concentrations reflect the approximate numbers of spores found during the day, but do not reflect the multiple changes in air spore concentration occurring throughout the day in direct response to meteorological changes and their effects on spore production, liberation and dispersal. Possible relationships were evaluated between concentrations of *Cladosporium* and *Alternaria* spores in the southern and central areas of the

Fig. 4 Daily periodicities of the predominant spor types during the dry season (—), and wet season (---), in the Southern and Central Areas of Mexico City

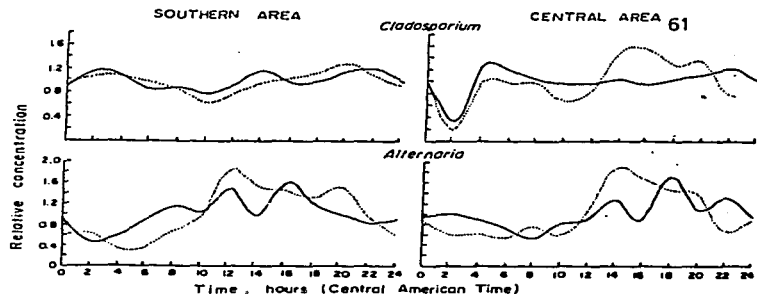


Table 4 Significant Spearman correlations ($P < 0.05$) between hourly fungal concentrations (spores/m³) and meteorological parameters, during the dry season (February) and the wet season (September), at two sampling sites in Mexico City

Fungi	Southern area				Central area			
	Time of day (hours)	RH %	Temp. °C	Wind speed (m/s)	Time of day (hours)	RH %	Temp. °C	Wind speed (m/s)
February								
<u>Alternaria</u>	Morning	—	—	—	Morning	—	—	—
	Midday	—	—	—	Midday	—	—	—
	Afternoon	—	—	—	1200	-0.40	0.51	0.7
					1600	-0.39	0.50	0.60
<u>Cladosporium</u>	Morning	—	—	—	Morning	—	—	—
	0400	0.60	-0.54	—	400	—	-0.61	—
	0600	0.56	—	—	800	—	—	-0.50
	Midday	—	—	—	Midday	—	—	—
					1400	-0.71	0.56	0.60
	Afternoon	—	—	—	Afternoon	—	—	—
	2000	0.55	-0.55	0.60				
	2200	0.50	-0.74	—				
September								
<u>Alternaria</u>	Morning	—	—	—	Morning	—	—	—
	0400	-0.59	—	—	0600	—	-0.60	—
	0600	-0.50	-0.72	—				
	0800	—	-0.66	—				
	Midday	—	—	—	Midday	—	—	—
	1400	-0.50	—	—				
	Afternoon	—	—	—	Afternoon	—	—	—
	1600	-0.53	—	—	2200	—	-0.60	—
					2400	—	-0.53	—
<u>Cladosporium</u>	Morning	—	—	—	Morning	—	—	—
	0200	-0.68	—	0.64	0600	—	-0.54	—
	Midday	—	—	—	Midday	—	—	—
					1400	—	—	-0.56
	Afternoon	—	—	—	Afternoon	—	—	—

city and some meteorological factors. For this purpose, concentrations were analysed 2-hourly during 1 month of the dry season (February) and 1 month of the wet season (September) for both areas in relation to the corresponding meteorological observations. For analysis, the

day was divided into three time-intervals of 0200–1000, 1200–1400 and 1600–2400 hours.

Correlations between 2-hourly spore concentrations and meteorological parameters during the dry season (February) and wet season (September) are shown in Ta-

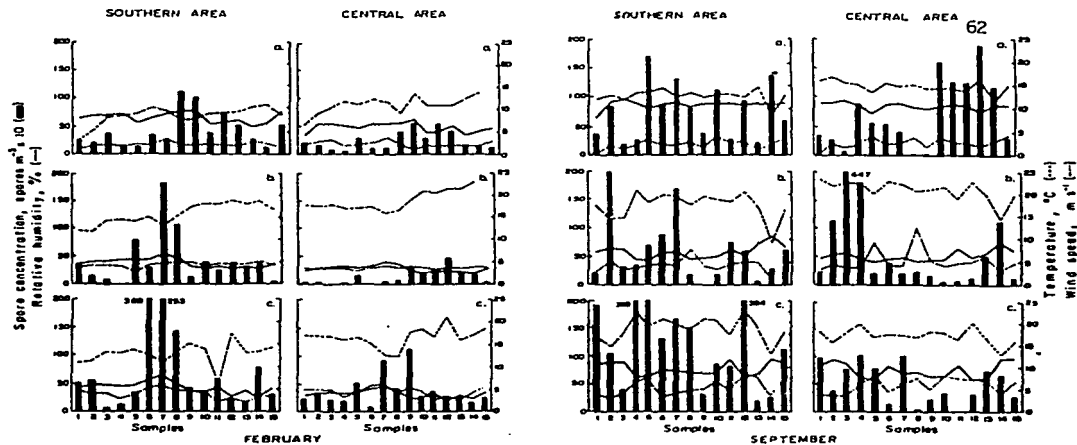


Fig. 5 Changes in the daily maximum concentration of *Cladosporium* in relation to temperature, relative humidity, and wind speed, during three periods for each day: a) 02:00-04:00 (morning), b)

Time-intervals

12:00-14:00 (noon), and c) 16:00-24:00 (afternoon), in the dry season (February) and the wet season (September)

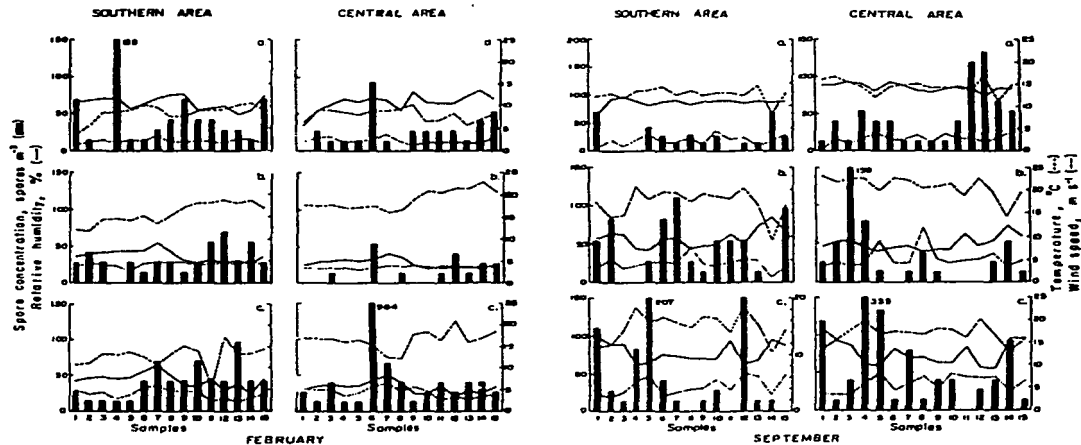


Fig. 6 Changes in the daily maximum concentrations of *Alternaria* in relation to temperature, relative humidity, and wind speed, during three periods for each day: a) 02:00-04:00 (morning), b)

Time-intervals

12:00-14:00 (noon), and c) 16:00-24:00 (afternoon), in the dry season (February) and the wet season (September)

ble 4 and Figs. 5–6. With this diurnal analysis, significant differences ($P < 0.05$) in the spore concentrations of *Cladosporium* and *Alternaria* between the southern and central areas of the city were detected. In February, such differences for *Cladosporium* occurred mainly during the noon interval, and for *Alternaria* during the morning and noon intervals. By contrast in September, significant differences in *Cladosporium* concentrations were found only during the afternoon. The differences in *Cladosporium* and *Alternaria* spore concentrations between the two study areas were probably associated with the characteristics of each locality, such as vegetation, urbanization index, precipitation, relative humidity, minimum and maximum temperature and the heat island effect.

Cladosporium and *Alternaria* conidia occurred in the air mainly during the time of the day when changes of temperature and wind velocity were sufficient to break the conidial chains thus liberating and dispersing conidia into the atmosphere (Figs. 5 and 6, Table 4). The correlation between hourly mean fungal concentrations and meteorological parameters in both seasons of the year in the central area showed that the largest concentrations of *Cladosporium* and *Alternaria* conidia during February (dry season) occurred during the afternoon (*Cladosporium*, 1220 spores/m³; *Alternaria*, 984 spores/m³). *Cladosporium* spore concentrations in the southern area were significantly correlated with wind velocity, low temperatures and high relative humidities during both the morning and afternoon while concentrations of *Alternaria* conidia were not significantly correlated with any meteorological factor. During September (wet season), large concentrations of *Cladosporium* (1750 spores/m³) were found during the morning. The concentrations were correlated negatively with relative humidity and positively with wind velocity during this time-interval. However, the largest concentrations of *Cladosporium* conidia were found during the afternoon (3880 spores/m³). The largest daily peak of *Alternaria* spore concentrations (207 spores/m³) occurred in the afternoon, when there was also a negative correlation with relative humidity ($r = -0.53$; Table 4).

Discussion

The occurrence of airborne conidia in the atmosphere of Mexico City and their seasonal periodicity resemble that in other tropical areas in the Northern Hemisphere, where large spore concentrations have been recorded from May to June and September to November (Halwagy 1989, 1994; Dames and Cadman 1994; Shaheen 1992). The proportion of the total air spora contributed by Deuteromycetes (southern area 52%, central area 65%) fell well within the range recorded for this group of fungi in other parts of the world (40 to 93%; Lacey 1981; Ebner and Haselwandter 1992; Shaheen 1992; Halwagy 1989, 1994; Li and Kendrick 1995). The most frequently trapped genera (*Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum* and *Aspergillus/Penicillium*) are ubiquitous

and can utilize a wide range of substrates for their growth (Li and Kendrick 1994). These genera have often been reported to be common in cool temperate, subtropical and tropical regions (Lacey 1981, 1996; Vital and Krishnamoorthi 1981; Tan et al. 1992; Dames and Cadman 1994).

With only 1 year of sampling data, it was difficult to establish clear seasonal and daily trends in fungal spore concentrations or how these might be affected by meteorological factors in an urban area as unusual as Mexico City – especially in the central area – because of the diverse interacting factors present. The central area has a high urbanization index (UI 0.97) which indirectly produces changes in the local climate via the phenomenon of heat islands, intense heating of urban surfaces (buildings, pavements) causing local differences in the thermal climate (Jáuregui 1993) which possibly affects the release and dispersal of fungal propagules in the air. By contrast, the southern area (UI 0.25) has more green areas within the suburbs (the parks of Talpan, Fuentes Brotantes, Ciudad Universitaria, Viveros de Coyoacan) than the central area while to the south and southwest lie forests (Desierto de los Leones) and arable crops, and further south, mountains. These features all provide extensive vegetation that serves as large local sources of spores.

The heat island phenomenon probably results in maximum and minimum temperatures being higher and relative humidities lower in the central than in the southern area. Yearly mean maximum and minimum temperatures were, respectively, 1 and 2.5°C higher in the central area than in the southern area while the mean thermal amplitude was often greater in the southern area (18°C) than in the central area (15°C), especially during the dry season. On average, relative humidities were higher in the southern area (62 vs 53%) while diurnal variations were greater in the central area (16–93% vs 40–80%). Despite these differences, the present study allowed temporal changes in airborne spore concentrations and some effects of climatic conditions to be identified in Mexico City similar to those reported for other tropical areas (Hyde 1973; Upsher and Griffiths 1973; Atluri et al. 1988; Cadman 1991).

Temperature and relative humidity are well known to affect the production and release of spores (Bhathi 1976; Lacey 1986; Hawke and Meadows 1989; Stephen et al. 1990; Cadman 1991; Li and Kendrick 1994). Liberation of Basidiomycete and Ascomycete spores is favoured by high air humidity and rain while deuteromycete spores, such as those of *Cladosporium* and *Alternaria*, are liberated mechanically by the action of wind on leaves, sometimes aided by water rupture mechanisms activated by drying. Spore dispersal is therefore generally favoured by low relative humidities and increasing temperatures and wind velocities. The occurrence of such conditions at different times in different geographical regions may help to explain differences in the observed diurnal periodicities (Lacey 1981, 1996; Hyde 1973; Atluri et al. 1988; Hasnain 1993; Calderón et al. 1995; Munuera and Carrion 1995).

The results of the present study illustrate the difficulty in relating airborne spore concentrations to environmental variables. Airborne spore concentrations and their seasonal periodicities are determined by a succession of biological factors, including the availability of substrate, growth and development of colonies and fruiting structures, and method of spore liberation and how these are affected by environmental factors. Consequently, the effect of environmental factors may be integrated over time, as is indicated by the better statistical fit when lagged variables were used. Nevertheless it is clear that for Mexico City, high spore concentrations are more likely during periods when the maximum temperature is between 18 and 26°C and the relative humidity is between 55 and 75%.

The diurnal periodicities obtained in the present investigation, with three periods of peak concentration, differ from those previously reported with one or two midday peaks but no early morning peak (Lacey 1981; Vittal and Krishnamoorthi 1981; Atluri et al. 1988; Rich and Waggoner 1962; Ayanru 1983). However, maxima in the central area were consistently 2–4 h later than in the southern area. Diurnal changes in spore concentration are mainly determined by diurnal changes in meteorological conditions and the interaction of these with spore liberation mechanisms to determine the time of spore release, source distance and geographical locality. There are probably more spore producing sources in the southern area such that peak concentrations are coincident with the peak time of local spore liberation. By contrast, many spores trapped in the central area are likely to come from sources outside the city and are carried by wind to the city centre, especially during the dry season. Studies of wind patterns in the Valley of Mexico show that between 1200 and 1800 hours winds come from the northern sector (NE, N, NW) for 56% of the time and from the southern sector (SW, S, SE) for 44%. In the dry season, winds during the day predominantly blow towards the centre of the city from the NW. By contrast, the prevailing winds at night (2000 hours) and at dawn (0600 hours) blow from the mountains and converge towards the central area from the N or NE and from the SW and S (Jáuregui and Luyando 1992). Thus, the delay in reaching peak concentrations in the central area probably represents the time taken for spores to be carried from their sources of occurrence.

In summary, although the air spora of Mexico City and its diurnal and seasonal periodicities resemble those of other tropical cities in the southern area of the city, there are deviations from these patterns in the central area. However, these can be explained in terms of the absence of local spore sources and the unusual microclimate, which is dominated by the heat island phenomenon found only in heavily urbanized areas. Another confounding variable is the winds that converge from surrounding mountains and carry spores released from locally occurring sources.

Acknowledgements The authors thank Drs M. Ulloa and E. Jáuregui for their advice and suggestions for improving this paper, and to Messrs R. Montañez and C. Contreras for their technical assistance. This research was partially supported by The British Council, Instituto Mexicano del Petróleo, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Programa Universitario de Investigaciones en Salud, and Dirección General de Personal Académico, Proyecto IN200893, UNAM.

References

- Abdel-Hafez SII, Moubasher AH, Barakat A (1993) Seasonal variations of fungi of outdoor air and sedimented dust at Assiut region, Upper Egypt. *Grana* 32:115–121
- Atluri J B, Varma KV, Subba-Reddi C (1988) Circadian periodicity in some airborne fungi over a rice crop. *Grana* 27:71–76
- Ayanru DK (1983) Diurnal periodicity of *Cladosporium* in the air of an urban and suburban station in Southern Nigeria. Abstracts 2nd International Conference Aerobiology, 1982, Seattle, Washington, USA
- Bhatti MAR (1976) Diurnal periodicity and the effect of meteorological factors on air-borne fungus-flora. *Physiol J Bot* 8:87–93
- British Aerobiology Federation (1995) Airborne pollen and spores: a guide to trapping and counting. British Aerobiology Federation, Harpenden, UK
- Cadman A (1981) Airspora of Johannesburg and Pretoria, South Africa, 1987/88. II Meteorological relationships. *Grana* 30:181–183
- Calderón C, Lacey J, McCartney HA, Rosas I (1995) Seasonal and diurnal variation of airborne basidiomycete spore concentrations in Mexico City. *Grana* 34:260–268
- Dames JF, Cadman A (1994) Airspora of Durban: a sub-tropical, coastal South African city. II. Fungal spore component. *Grana* 33:346–348
- Domsh KH, Gams W, Anderson TH (1980) Compendium of soil fungi. Academic Press, UK
- Ebner MR, Haselwander K (1992) Indoor and outdoor incidence of airborne fungal allergens at low and high-altitude alpine environments. *Mycol Res* 96:17–24
- Ellis MB (1971) Edymatraceous Hyphomycetes. *International Mycological Institute, Kew, UK*
- Ellis MB (1976) More Edymatraceous Hyphomycetes. *International Mycological Institute, Kew, UK*
- García PE, Mallen MS (1970) Estudio sobre la contaminación atmosférica de la Ciudad de México. *Alergia* 17:149–153 (in Spanish)
- González Ochoa A, Orozco C (1943) Los hongos del aire de la Ciudad de México y su relación con los factores atmosféricos. *Rev Inst Salubr Enferm Trop* 4:259–265 (in Spanish)
- Guevara SS, Moreno PC (1987) Áreas verdes de la zona metropolitana de la Ciudad de México. In: de Garza G, Programa de Investigación Científica y Capacitación Técnica (eds) Departamento de publicaciones del Colegio de México, México, DF, pp 231–236 (in Spanish)
- Halwagy HM (1989) Seasonal airspora at three sites in Kuwait, 1977–1982. *Mycol Res* 93:208–213
- Halwagy HM (1994) Fungal airspora of Kuwait City, Kuwait, 1975–1987. *Grana* 33:340–345
- Hasnain MS (1993) Influence of meteorological factors on the air spora. *Grana* 32:184–188
- Hawke PR, Meadows ME (1989) Winter airspora and meteorological conditions in cape Town, South Africa. *Grana* 28:187–192
- Hyde HA (1973) Atmospheric pollen grains and spores in relation to allergy. II. *Clin Allergy*:109–126
- Jáuregui, E (1986) The urban climate of Mexico City. In: Oke T (ed) *WMO Proceedings Technical Conference on Urban Climate*, No 652, pp 63–86
- Jáuregui, E (1989) The dust storms of Mexico City. *J Climatol* 8:169–180

- Jáuregui, E (1990/91) Influence of a large urban part on temperature and convective precipitation in a Tropical City. *Energy Buildings*: 15-16:457-463
- Jáuregui, E (1993) Mexico city's urban heat island revisited. *Erkunde Band* 47:185-195
- Jáuregui E, Luyando E (1992) Patrones de flujo de aire superficial y su relación con el transporte de contaminantes en el valle de México. *Investigaciones Geográficas. Bol Inst Geogr* 24:51-78 (in Spanish)
- Jáuregui E, Romales E (1996) Urban induced convective precipitation in Mexico City. *Urban Atmosphere* (in press)
- Kääpylä M, Penttinen A (1981) An evaluation of the microscopical counting methods of the trap in Hirst-Burkard pollen and spore trap. *Grana* 20:131-141
- Lacey J (1981) The aerobiology of conidial fungi. In: Cole GT, Kendrick WB (eds), *Biology of conidial fungi*, vol 1. Academic Press, New York, pp 373-415
- Lacey J (1986) Water availability and fungal reproduction: patterns of spore production, liberation and dispersal. In: Ayres PG, Boddy L (eds) *Water, fungi and plants. BMS Symposium 11*, Cambridge University Press, New York, pp 65-85
- Lacey J (1996) Centenary review. Spore dispersal - its role in ecology and disease: the British contribution to fungal aerobiology. *Mycol Res* 6:641-660
- Li DW, Kendrick B (1994) Functional relationships between airborne fungal spores and environmental factors in Kitchener-Waterloo, Ontario, as detected by canonical correspondence analysis. *Grana* 33:166-176
- Li DW, Kendrick B (1995) A year-round outdoor aeromycological study in Waterloo, Ontario, Canada. *Grana* 34:199-207
- Lopez-Martinez R, Ruiz SD, Huerta JG, Esquenaze A, Alvarez MT (1986) Variación estacional de hongos productores de alergia en el sur de la ciudad de México. *Alergol Immunopathol* 14:43-48
- Munuera GM, Carrion GJS (1995) Daily variations of spores in the city of Murcia (semi-arid southeastern Spain). Relationship with weather variables. *Int J Biometeorol* 38:176-179
- Nilsson S (ed) (1983) *Atlas of airborne fungal spores in Europe*. Springer, Berlin
- Rich S, Waggoner PE (1962) Atmospheric concentration of *Cladosporium*. *Science* 137:962-965
- Rosas I, Escamilla B, Calderón C, Mosaño P (1990) The daily variation of airborne fungal spores in Mexico City. *Aerobiología* 6:153-158
- Rosas I, Calderon C, Escamilla B, Ulloa M (1992) Seasonal distribution of *Aspergillus* in the air of an urban area Mexico City. *Grana* 16:163-165
- Rosas I, Calderon C, Ulloa M, Lacey J (1993) Abundance of airborne *Penicillium* in relation to urbanization in Mexico City. *Appl Environ Microbiol* 59:2648-2652
- Shaheen IA (1992) *Aeromycology of Amman area*, Jordan. *Grana* 31:223-228
- Smith EG (1984) Sampling and identifying allergenic pollen and molds, 1st edn. Blewstone Press, San Antonio
- Sreeramulu T, Ramalingam A (1966) A two-year study of the air-spores of a paddy field near Visakhapatnam. *Ind J Agric Sci* 36:111-132
- Stephen E, Raftery AE, Dowding P (1990) Forecasting spore concentrations: a time series approach. *Int J Biometeorol* 34:87-89
- Tan TK, Teo TS, Tan H, Lee BW, Chong A (1992) Variations in tropical airspora in Singapore. *Mycol Res* 96:221-224
- Usher FJ, Griffiths AD (1973) Air spora of a site in tropical Queensland, Australia. *Trans Br Mycol Soc* 6:537-545
- Vittal BPR, Krishnamoorthi K (1981) Air spora of an agricultural farm in Madras, India. *Grana* 20:61-61



Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentrations in Mexico City

Irma Rosas^{a,*}, Carmen Calderón^a, Leticia Martínez^a, Miguel Ulloa^b, John Lacey^c

^aCentro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México, DF, México
^bInstituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México DF, México
^cInstitute of Arable Crops Research, Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts AL5 2JQ, UK

Revised 30 October 1996; accepted 16 December 1996

Abstract

Thirty homes of asthmatic adults located in Mexico City were examined to determine the predominant culturable fungi and the changes in their airborne concentrations. Fungi were cultured and identified microscopically from air samples collected in naturally ventilated homes, during both wet (July–August) and cool dry (November–December) seasons, and from settled dust from the same homes. Airborne dust from indoor yielded 99–4950 cfu m⁻³, and settled dust 10³–10⁶ cfu g⁻¹ on DG18 agar. The indoor geometric mean concentration of airborne fungi during the cool dry season was 460 cfu m⁻³ while in the wet season it was 141 cfu m⁻³. Similarly, numbers of airborne fungal propagules out of doors decreased 60% between the dry and wet season. In general, the total fungal concentrations in indoor air were less than 10³ cfu m⁻³ and a large proportion of them was collected in Stage-2 of the Andersen sampler. Moreover, the ratio between indoor and outdoor concentrations was <3:1. Five of the 30 sampled homes yielded > 500 cfu m⁻³ of one genus, with up to 1493 *Cladosporium* cfu m⁻³ or 2549 *Penicillium* cfu m⁻³. Also, these two genera were predominant in both airborne and settled dust, and their concentrations were greater indoors than out, indicating a possible indoor source of fungal propagules. The predominant species were *Cladosporium herbarum*, *Penicillium aurantogriseum* and *P. chrysogenum*. These results suggest that exposure to large concentrations of fungi occurs indoors and is associated with both seasons of the year and with particular home characteristics. © 1997 Elsevier Science Ireland Ltd.

Keywords: Aerobiology; Fungal propagules; Indoor; Mexico City

1. Introduction

The incidence of respiratory disease and exposure to allergens in indoor environments has been widely recognized (Solomon, 1975; Burge, 1990; Lacey, 1991; Gravesen, 1994), and is particularly important for children and householders who spend more than 70% of the day in these environments. The fungal propagules in tropical cities include major allergens that can cause asthma and allergic rhinitis (Ogunlana, 1975; Bunnag et al., 1982). It has been reported that about 18% of asthmatic patients, both adults and children, living in

Mexico City, have positive skin reactivity to some fungi (Pedroza et al., 1984; Enriquez, 1995), but this needs to be studied using standardized fungal extracts.

Mexico City has a tropical climate and is situated 2240 m above sea level. It has a dry season from November to April and a wet season from May to October (Jáuregui, 1987). Mexico City is also one of the most populous cities in the world, having 18 million inhabitants, a large percentage of whom live in small and badly ventilated dwellings (Ponciano, 1994; Ezcurra and Mazzari-Hiriart, 1996). Qualitative studies (Cueva and Téllez, 1958; Espinoza et al., 1993) and a recent volumetric aeromycological study (Escamilla et al., 1995), have shown that large concentrations of

* Corresponding author.

Table 1
Concentrations of fungi in airborne and settled dust in 30 homes, determined on DG18 culture medium

Fungi	Airborne dust fungi (cfu m ⁻³)				Settled dust fungi (cfu g ⁻¹ × 10 ⁻³) indoor	
	Outdoor		Indoor		Geom. mean	Max.
	Geom. mean	Max.	Geom. mean	Max.		
Total	143	720	264	4950	155	4100
<i>Alternaria</i>	2	24	2	31	0.05	133
<i>Aspergillus</i>	2	14	7	173	0.5	366
<i>Cladosporium</i>	63	416	102	1493	26	2000
<i>Penicillium</i>	17	242	38	2549	1.6	500

fungi can be associated with respiratory diseases. However, little is known of the number and types of airborne allergens nor of factors affecting their occurrence. The present study sought to quantify and identify fungal propagules in air and dust from the homes of asthmatic patients at different seasons of the year.

2. Materials and methods

2.1. Homes

To select asthmatic patients to participate in this study, a time-activity questionnaire, including location of their homes, was completed by 150 asthmatic adults that attended the Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER).

Each patient selected was requested to answer two further questionnaires, about their home characteristics (wall to wall carpet; furred pets, visible mould growth, etc.) and to determine their socio-economic background, during the sampling period.

2.2. Sampling

Thirty asthmatic females, aged 30–45, who spent more than 65% of the day inside their homes and lived in the southern part of Mexico City were selected. Airborne and settled dust were sampled at 10:00 h in undisturbed conditions in the living rooms of 30 homes on successive days, once during the cool dry season (November–December) and, in the same order, once in the wet season (July–August) during 1994. Simultaneously, an air sample was collected outside the house.

Airborne dust was collected at a flow rate of 5 l min⁻¹, using a two-stage Andersen sampler (Graseby Andersen, Atlanta, GA) for 15 min. Samplers were mounted on towers, 2 m above ground level. The samplers were loaded with Petri dishes containing Czapek dichloran-18% glycerol agar (DG18, Hocking and Pitt, 1980). Exposed plates were incubated for 1 week at

25°C. Fungal colonies were counted daily during incubation, before slower growing colonies could become overgrown, and their morphological characteristics were observed microscopically. Using tables provided by the sampler manufacturer, counts were transformed to allow for multiple deposition of particles at individual impaction sites. Results for each stage were then expressed as colony forming units (cfu) per cubic meter (m³) of air. Total concentrations were obtained by totalling the cfu m⁻³ from both stages.

Settled dust samples were obtained using a vacuum cleaner (Vorwerk VK 121), modified to collect dust onto a filter paper (Verhoeff et al., 1994). A floor area of 2 m² from each livingroom was sampled for 4 min. Stock suspensions were prepared with 100 mg of sieved dust in 10 ml sterile distilled-water (American Public Health Association, 1985) adding polysorbitan 80 (Tween 80) as a detergent (0.05%); these were then used to prepare 10-fold dilution series down to 10⁻⁴. After

Table 2
Percentage of air samples indoor and outdoor (N = 60) and settled dust samples yielding viable fungi on DG18

Fungi	Air		Dust indoor
	Outdoor	Indoor	
<i>Cladosporium</i>	100.0	100.0	100.0
<i>Penicillium</i>	95.0	100.0	79.0
<i>Alternaria</i>	76.0	67.0	59.0
<i>Aureobasidium</i>	48.0	47.0	41.0
Non-sporulating mycelia	38.0	69.0	53.0
<i>Aspergillus</i>	33.0	48.0	48.0
<i>Fusarium</i>	30.0	18.5	5.0
<i>Monilia</i>	28.0	19.0	5.0
<i>Epicoccum</i>	21.0	19.0	5.0
<i>Eurotium</i>	17.0	52.0	38.0
<i>Helminthosporium</i>	17.0	33.0	5.0
<i>Phoma</i>	13.0	10.0	3.0
<i>Paecilomyces</i>	10.0	0.0	0.0
<i>Rhizopus</i>	9.0	25.0	25.0
<i>Mucor</i>	7.0	30.0	3.0
<i>Botrytis</i>	7.0	11.0	3.0
<i>Trichoderma</i>	7.0	9.0	3.0

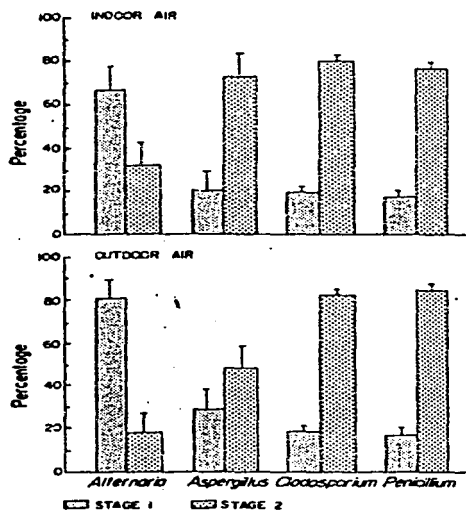


Fig. 1. Distribution of airborne fungal propagules between the two stages of an Andersen sampler in indoor and outdoor environments.

shaking each suspension for 2 min, 300 μ l were spread on duplicate plates of DG18. Plates were incubated in darkness for 1 week at 25°C and the colonies growing were counted and classified. The results were expressed as colony forming units (cfu) per g of dust. Representative colonies from both airborne and settled dust were then transferred to appropriate media for identification to species level, using standard mycological procedures.

Wet and dry bulb temperatures were measured inside and outside each house at the time of sampling, and used to calculate relative humidity and vapour pressure.

2.3. Statistical methods

Because the frequency distribution of the raw data failed to correspond to a normal distribution, the non-parametric Wilcoxon's signed-ranks test was applied to test the differences between fungal concentrations from different seasons. Spearman's rank correlation coefficients were also calculated between airborne fungal concentrations indoors and outdoors, and between indoor airborne and settled dust. Associations between home characteristics and airborne fungal concentrations were investigated using the Mann-Whitney test.

3. Results

The sampled homes were naturally ventilated and windows and doors were opened at their discretion. On the other hand, 90% of these patients belonged to middle-class and only 10% were lower class (Bronfman et al., 1988).

In general, the total fungal counts obtained from indoor environments were similar to those from outdoors, with geometric means, respectively, of 264 cfu m^{-3} and 143 cfu m^{-3} . However in 18% of the samples, airborne fungal concentrations showed an indoor/outdoor ratio > 3:1; the largest count was 4950 cfu m^{-3} indoors, and 720 cfu m^{-3} outdoors, during the dry season (Table 1).

The fungi most frequently isolated from indoor air and present in all samples was *Cladosporium* spp. Non-sporulating mycelia were isolated from 69% of the samples, *Alternaria* spp. from 67%, and *Eurotium herbariorum* from 52%. *Aspergillus* spp., *Aureobasidium pullulans* and *Helminthosporium* spp. were present in about 30% of the samples (Table 2).

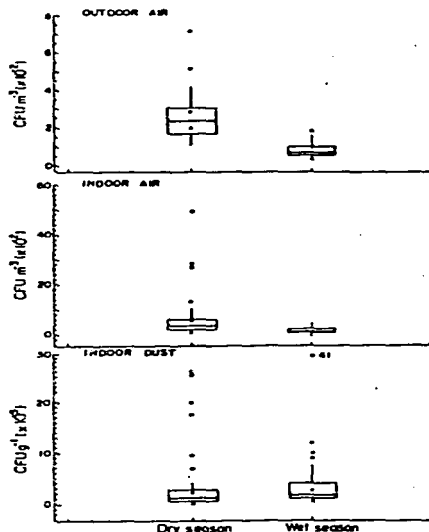


Fig. 2. Seasonal variation of fungal propagules from dust samples in indoor and outdoor environments.

Table 3

Geometric mean (GM), maximum (Max) airborne fungal concentrations, in/out (I/O) ratio range, and Spearman correlation (r) between airborne fungal concentrations from indoors and outdoors during the dry and wet seasons

Genera	Indoor		Outdoor		r^*	I/O ratio range
	GM (cfu m ⁻³)	Max	GM (cfu m ⁻³)	Max		
Dry season						
<i>Cladosporium</i>	181	1493	121	416	0.63*	0.5-7
<i>Penicillium</i>	79	2549	41	242	0.10	0.0-18
<i>Aspergillus</i>	6	54	2	14	0.08	0.0-10
<i>Alternaria</i>	3	31	3	22	0.05	0.0-3
Wet season						
<i>Cladosporium</i>	55	147	33	163	0.40*	0.5-10
<i>Penicillium</i>	23	104	7	54	0.41*	0.0-18
<i>Aspergillus</i>	4	173	1	12	0.08	0.0-13
<i>Alternaria</i>	4	17	3	24	0.34	0.0-2

* $P < 0.05$.

The distribution of airborne fungal propagules between the two stages of the Andersen sampler is shown in Fig. 1. Except for *Alternaria*, most colonies grew on plates from Stage 2 of the sampler ($\leq 4.5 \mu\text{m}$ aerodynamic size). However, 12% more *Alternaria* were recovered on Stage 2 from indoor air than from outdoor air.

Concentration of total fungal propagules in settled dust samples ranged from 10^2 to 10^6 cfu g⁻¹, with a geometric mean concentration of 10^3 (Table 1). The mean coefficient of variation between duplicate samples was $20 \pm 17\%$.

Species of *Cladosporium* and *Penicillium*, and in smaller numbers, of *Aspergillus*, *Fusarium* and *Aureob-*

idium, were among the predominant fungi isolated. *Eurotium herbariorum* was also present in more than half of the indoor samples (Table 2).

The effect of season on total fungal concentrations in indoor and outdoor environments is shown in Fig. 2. Differences between total airborne propagules in wet and dry seasons were statistically significant ($z = 4.2$ and 4.7 respectively, $P < 0.01$) in both in- and outdoor environments, with largest concentrations occurring during the dry season. By contrast, the fungal content of settled dust did not differ significantly between seasons ($z = 1.4$ in indoor and $z = 0.4$ in outdoor, $P > 0.05$).

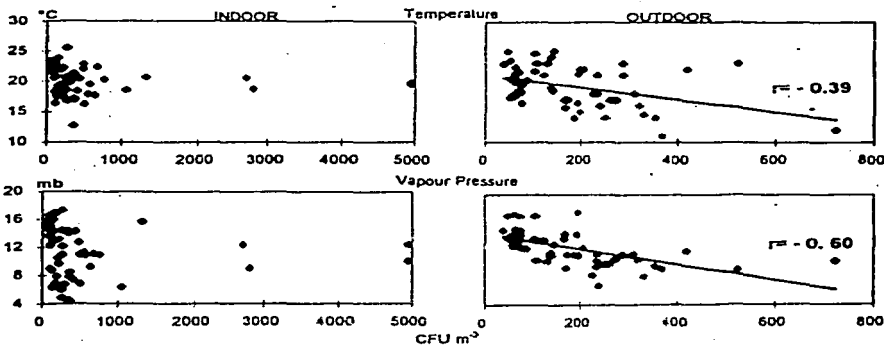


Fig. 3. Correlations between airborne fungal concentrations and some weather variables in indoor and outdoor environments.

The occurrence of the most common fungal genera in outdoor and indoor air in each season is shown in Table 3. *Cladosporium* represented 50% of the total fungi in both environments, with concentrations indoors ranging from 17 to 1493 cfu m⁻³ in the dry season. Concentrations in and out of doors were significantly correlated in both seasons ($r = 0.63$ dry, 0.40 wet season). *Penicillium* constituted about 20% of the total indoor, with concentrations in the dry season ranging from 7 to 2549 cfu m⁻³. However, concentrations in indoor and outdoor are only correlated significantly in the wet season. *Alternaria* and *Aspergillus* were only isolated in small concentrations and showed no differences between seasons. The greatest differences in the dry season between concentrations indoors and those out of doors were with *Penicillium* (in/out ratio 18:1) (Table 3).

Temperature ranged from 12.7–25.5°C indoors and 11–25°C outdoors. Vapour pressures ranged from 4.3–17.3 mb indoors and 6.7–17.4 mb outdoors. Correla-

tions between airborne fungal concentrations and both air temperature and vapour pressure were statistically significant only in outdoor environments (Fig. 3).

Associations between some home characteristics and total fungal concentrations are shown in Table 4. During the dry season, concentrations of airborne fungal correlated significantly ($P < 0.05$) with the presence of pets ($\alpha = 1.97$) and concentrations in settled dust with wall to wall carpeting ($\alpha = 1.98$). In 5 of the 30 homes, visible mould growth was observed on the walls and airborne *Cladosporium* or *Penicillium* exceeded 500 cfu m⁻³.

Altogether 6 *Penicillium*, 8 *Aspergillus*, 3 *Alternaria*, and 2 *Cladosporium* species were isolated (Table 5).

4. Discussion

Although conidiospores can be present in the air all the year round in tropical regions, a seasonal variability is usually evident (Halgwegy, 1989; Tan et al., 1992; Abdalla, 1988). In Mexico City larger conidiospore concentrations have been found at the end of the wet season (October) and during the cool dry season (November and December) (Calderón, personal communication). There is only one previous report of fungal concentrations in homes located in Mexico City which showed similar concentrations to those found in this study at the start of the cool dry season (Escamilla et al., 1995). An important factor in the present study, was that the maximum concentration thresholds of the two-stage Andersen sampler were exceeded in 6% of the samples in the dry season during the 15 min sampling period. This suggests that some concentrations were consequently underestimated. However, to avoid sample variability, the sampling period should not be decreased but the two-stage sampler should be substituted by a six-stage Andersen sampler.

During the wet season, concentrations of airborne *Cladosporium* and *Penicillium* in outdoor air decreased to about half that found in the dry season. These smaller fungal concentrations could have resulted from unfavorable environmental conditions for their release and dispersal or from the washout of their propagules from the atmosphere (Rosas et al., 1986). Concentrations of fungal propagules decreased similarly indoors, perhaps because few spores came from out of doors or because the increased air humidity hindered their liberation. However, moist conditions might also be expected to encourage fungal growth and, perhaps to change the balance of species.

The prevalent fungal genera isolated on DG18, from the homes sampled, were *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* and *Alternaria*, all of which have been reported as the most common indoor fungi in other studies (Solomon, 1976; Wickman et al., 1992; Ebner

Table 4
Comparison of total fungal concentrations according to some home characteristics

Home characteristics	Dry Airborne dust		Wet	
	N	Median (cfu m ⁻³)	N	Median (cfu m ⁻³)
Wall to wall carpet				
Yes	15	343	15	145
No	15	381	15	111
Z*	0.76		0.76	
P ^b	>0.05		>0.05	
Furred pets				
Yes	22	425	22	132
No	8	247	8	170
Z*	1.97		0.60	
P ^b	<0.05		>0.05	
	Settled dust			
	N	(cfu g ⁻¹ × 10 ⁻³)	N	(cfu g ⁻¹ × 10 ⁻³)
Wall to wall carpet				
Yes	15	166	15	149
No	15	70	15	156
Z*	1.98		0.99	
P ^b	<0.05		>0.05	
Furred pets				
Yes	15	145	15	176
No	15	97	15	143
Z*	0.84		0.50	
P ^b	>0.05		>0.05	

*Mann-Whitney, Z test.

^bSignificance level, two-tailed test.

Table 5
Frequency of isolation and abundance of fungal species in both in- and outdoors

Species	Frequency (% of samples)			Abundance (% of total genus)		
	Air		Dust	Air		Dust
	Out	In	In	Out	In	In
<i>Alternaria</i>	75.8	67.4	59.3	3.8	1.4	0.02
<i>A. alternata</i>						
<i>A. tenuissima</i>						
<i>A. raphani</i>						
<i>Aspergillus</i> *						
Subgenus <i>Aspergillus</i>						
Section <i>Aspergillus</i>	23.9	62.8	37.5	29.5	32.6	31.3
<i>A. glaucus</i> (<i>Eurotium herbariorum</i>)						
Subgenus <i>Nidulantes</i>						
Section <i>Versicolores</i>	41.6	55.7	48.2	25.1	44.8	54.1
<i>A. versicolor</i>						
<i>A. sydowii</i>						
Subgenus <i>Circumdati</i>						
Section <i>Fluvi</i>	22.8	10.4	8.9	20.7	7.6	1.3
<i>A. flavus</i>						
<i>A. flavo-fulvatus</i>						
Section <i>Circumdati</i>	11.6	27.3	14.3	12.8	10.9	13.8
<i>A. melleus</i>						
<i>A. petrakii</i>						
Section <i>Nigri</i>	10.8	15.8	10.7	7.2	4.3	2.8
<i>A. niger</i>						
<i>Cladosporium</i>						
<i>C. herbarum</i>	100.0	100.0	100.0	96.0	94.4	99.8
<i>C. cladosporioides</i>	30.0	20.0	1.0	4.0	3.6	0.2
<i>Penicillium</i>						
<i>P. aurantiogriseum</i>	57.1	88.4	41.2	26.0	46.4	13.3
<i>P. chrysogenum</i>	53.6	78.6	48.2	35.3	44.2	76.1
<i>P. spinulosum</i>	39.4	41.1	3.5	22.8	7.9	8.0
<i>P. purpurogenum</i>	3.6	7.1	1.8	1.3	0.2	0.1
<i>P. minutum</i>	1.8	1.8	5.3	2.1	0.2	0.02
<i>P. crustosum</i>	8.9	1.0	0.0	1.6	0.1	0.0
<i>Penicillium</i> spp.	62.5	4.2	30.3	7.2	1.8	8.0

*Taxonomy according to Kurishi et al., 1990.

and Haselwandter, 1992; Beguin, 1995). However, the culture medium permitted the isolation of some xerophilic species of *Aspergillus* and *Penicillium* which have been reported as potentially allergenic moulds (Morring et al., 1983; Verhoeff et al., 1988; Hamada and Morita, 1990).

During the dry season, the large concentrations of airborne fungi inside homes were associated with the presence of furred pets, which give off skin scales, fecal particles and hair that could form good substrates for fungal growth (Hoffman, 1980; Su et al., 1992). Also, homes with wall to wall carpet had large concentrations of fungi in settled dust, which shows that dust can accumulate in carpets despite cleaning.

It was not possible to observe the effect of temperature or vapour pressure on indoor airborne fungal concentrations, even in mouldy homes. It could be associated with the short time of the sampling that does not represent the indoor climatic conditions and proba-

bly a weather parameter that represents the additive effect of temperature and vapour pressure must be included. Also, it has been reported that the water contents of indoor air may be a poor indicator of the moisture penetration and condensation on cold walls and ceilings that favour the growth of fungi (Strachan et al., 1990; Becker, 1994; Nevalainen et al., 1994).

The size distribution of fungal propagules collected outdoors was similar to that found indoors, with a large proportion collected in the stage-2 ($\leq 4.5 \mu\text{m}$ in aerodynamic size) of the sampler, indicating that they could be deposited in the lower respiratory tract (Licorish et al., 1985; Rantio-Lehtimäki, 1989; Reponen et al., 1993).

There are inadequate dose/response data to permit accurate risk analyses. Therefore, an alternative approach is to characterize the kind of environment and to define the normal concentrations, based on the mean concentrations of fungal propagules. In north temper-

ate areas, Reponen et al. (1993) suggested 500 cfu m⁻³ of airborne fungi as a 'normal level' for indoor environments in winter, and Passanen et al. (1992) suggested 10 000 cfu m⁻³ as an indicator of likely mould problems.

In the present study, concentrations of airborne propagules of one genus (*Cladosporium* or *Penicillium*) were > 500 cfu m⁻³, and large indoor/outdoor ratios could be good indicators of some indoor fungal source. The measurement of airborne fungal propagules during undisturbed periods does not provide an accurate estimation of the exposure of the residents to fungi in indoor environments because large concentrations may be created by disturbing previously settled dust (Holmberg, 1984; Passanen et al., 1992). In this study, no correlation could be observed between concentrations of fungal propagules in airborne and settled dust, probably because the homes were sampled during periods of inactivity or because such propagules derived from other sources.

Recognition of the factors that lead to elevated indoor mould counts is important in the control and treatment of respiratory disease and could lead to the development of corrective environmental measures and educational programmes.

Acknowledgements

The authors thank Misses Eva Salinas, Alma Yela Messrs. A. Rodríguez, R. Montañez and S. Aguilar for their technical assistance and Dr. Chapela. This work was partially supported by the British Council, Dirección General del Personal Académico, Proyecto IN200893, Programa Universitario de Investigación en Salud, UNAM and CONACYT.

References

- Abdalla, M.H. (1988) Prevalence of airborne *Aspergillus flavus* in Khartoum (Sudan) airspora with reference to dusty weather and inoculum survival in simulated summer conditions. *Mycopathology* 104, 137.
- American Public Health Association. (1985) Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th. ed. Washington, DC, American Public Health Association.
- Becker, R. (1994) Fungal disfigurements of construction analysis of the effects of various factors. In: R.A. Samson, B. Flannigan, M.E. Flannigan, A.P. Verhoef, O.C.G. Adan and E.S. Hoekstra (Eds.), *Health Implications of Fungi in Indoor Environments*. Amsterdam, Elsevier, pp. 361-380.
- Beguín, H. (1995) Mould biodiversity in homes II. Analysis of mattress dust. *Aerobiologia* 11, 3-10.
- Bronfman, M., Guisafre, H., Castro, V., Castro, R. and Gutiérrez, G. (1988) II. La medicina de la desigualdad: una estrategia metodológica, análisis de las características socioeconómicas de la muestra. *Arch. Invest. Méd. (México)* 19, 351-360.
- Bunhag, C., Dhorraintra, B. and Plangpatanapanichya, A. (1982) A comparative study of the incidence of indoor and outdoor mould spore in Bangkok, Thailand. *Ann. Allergy* 48, 333-339.
- Burge, H.A. (1990) The future, biological contaminants in indoor environments, ASTM STP 1071. In: P.R. Morcy, J.C. Feeley and J.A. Otten (Eds.), Philadelphia, American Society for Testing and Materials, pp. 215-220.
- Cueva, V.J. and Téllez, G. (1958) Hongos del interior de la habitación de la Ciudad de México. *Alergia* 6, 243.
- Ebner, M.R. and Haselwandter, K. (1992) Indoor and outdoor incidence of airborne fungal allergens at low and high-altitude alpine environments. *Mycol. Res.* 96, 117-124.
- Enriquez, P.O. (1993) Aeroalergenos, pruebas cutáneas y enfermedad alérgica en 1091 pacientes. Tesis de Posgrado. Fac. Medicina, UNAM, México, D.F., 25 p.
- Escamilla, G.B., Comtois, P. and Corré, B.P. (1995) Fungal content of air samples from some asthmatic children's homes in Mexico City. *Aerobiologia* 11, 95-100.
- Ezcurra, E. and Mazari-Hiriart, M. (1996) Are megacities viable? *Environment* 38, 6-35.
- Espinoza, M.S., Bolaños, A.J. and Miranda, F.A. (1993) Hipersensibilidad a aeroalergenos y relación con residencia. Estudio de hipersensibilidad cutánea intradérmica a extractos alérgicos y residencia. *Rev. Alergia México* 40, 13-15.
- Gravesen, S. (1994) Allergic and nonallergic manifestations related to indoor fungal exposure — management of cases. In: R.A. Samson, B. Flannigan, M.E. Flannigan, A.P. Verhoef, O.C.G. Adan and E.S. Hoekstra (Eds.), *Health Implications of Fungi in Indoor Environments*. Amsterdam, Elsevier.
- Halgway, M. (1989) Seasonal airspora at three sites in Kuwait 1977-1982. *Mycol. Res.* 93, 208.
- Hamada, N. and Morita, S. (1990) Fungal flora in the house dust of dwellings. *Trans. Mycol. Soc. Jpn.* 31, 237-247.
- Hocking, A. and Pitt, J.L. (1980) Dichloran glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low moisture foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 39, 488-492.
- Hoffman, D. (1980) Dog and cat allergens: urinary proteins or dander proteins? *Ann. Allergy* 45, 205-206.
- Holmberg, K. (1984) Mould growth inside buildings. In: B. Berglund, T. Linvall and J. Sundell (Eds.), *Sensory and Hyperreactivity Reactions to Sick Buildings*. Indoor Air, vol. 3. Stockholm, Swedish Council for Building Research, pp. 253-256.
- Jáuregui, E. (1987) Climas. In: Atlas de la Ciudad de México. México, El Colegio de México, pp. 37-40.
- Kuraishi, H., Ito, M., Tuzaki, N., Kusayama, Y., Yokoyama, T. and Sugiyama, J. (1990) The ubiquinone system as a taxonomic aid in *Aspergillus* and its teleomorphs. In: R.A. Samson and J.L. Pitt (Eds.), *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*. New York, Plenum Press, pp. 407-421.
- Lacey, J. (1991) Aerobiology and health: the role of airborne fungal spores in respiratory disease. In: D.L. Hawksworth (Ed.), *Frontiers in Mycology*. Kew, UK, C.A.B. International.
- Licorish, K., Novey, H.S. and Kozak, P. (1985) Role of *Alternaria* and *Penicillium* spores in the pathogenesis of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 76, 819-825.
- Mörning, K., Sorenson, W. and Attfield, M. (1983) Sampling for airborne fungi: a statistical comparison of media. *Ann. Int. Hyg. Assoc. J.* 44, 160-166.
- Nevalainen, A., Hyvärinen, A., Passanen, A. and Reponen, T. (1994) Fungi and bacteria in normal and mouldy dwellings. In: R.A. Samson, B. Flannigan, M.E. Flannigan, A.P. Verhoef, O.C.G. Adan and E.S. Hoekstra (Eds.), *Health Implications of Fungi in Indoor Environments*. Amsterdam, Elsevier, pp. 155-162.
- Ogunlana, E.O. (1975) Fungal air spora at Ibadan, Nigeria. *Appl. Microbiol.* 29, 458-463.
- Passanen, A.L., Niininen, M., Kalliooksa, P., Nevalaine, A. and Jantunen, M.J. (1992) Airborne *Cladosporium* and other fungi in

- damp versus reference residences. *Atmosph. Environ.* 26B, 121-124.
- Pedroza, A., Báez, C., Medina, C. and Sacre, J. (1984) Asma infantil, experiencia del Instituto Nacional de Pediatría. *INTERASMA A10*, 107 p.
- Ponciano, R.L. (1994) Vivienda y Salud. In: *Vivienda. INFONAVIT 5. México, D.F.* pp. 31-73.
- Rantio-Lehtimäki, A. (1989) Evaluating the penetration of *Cladospodium* spores into the human respiratory system on the basis of aerobiological sampling results. *Allergy* 44, 18-24.
- Reponen, T., Hyvärinen, A., Juhani, R., Raunemaa, T. and Nevalainen, A. (1993) Size distribution of fungal spores in houses with mold problems. *Proceedings of the 6th International Conference on Indoor Air Quality and Climate* 4, 243-248.
- Rosas, I., Calderón, C., Gutiérrez, S. and Mosiño, P. (1986) Airborne fungi isolated from rain water collected in Mexico City. *Contam. Ambient.* 2, 13-23.
- Solomon, W.R. (1975) Assessing fungus prevalence in domestic interiors. *J. Allergy Clin. Immunol.* 56, 235-242.
- Solomon, W.R. (1976) A volumetric study of winter fungus prevalence in the air of midwestern homes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 57, 46.
- Strachan, D., Flannigan, B., McCabe, E.M. and McGarry, F. (1990) Quantification of airborne moulds in the homes of children with and without wheeze. *Thorax* 45, 382-387.
- Su, H., Rotnitzky, A., Burge, H. and Spengler, J. (1992) Examination of fungi in domestic interiors by using factor analysis: correlations and associations with home factors. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 181-186.
- Tan, T.K., Teo, T.S., Tan, H., Lee, B.W. and Chong, A. (1992) Variations in tropical airspora in Singapore. *Mycol. Res.* 96, 221.
- Verhoeff, A., Van Wijnen, J., Attwood, P., Boleij, J., Brunekreef, B., van Reenen-Hoekstra, E.S. and Samson, R.A. (1988) Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in houses: a comparison of selected measurement techniques. Amsterdam, Municipal Health Service, Public Health and Environmental Section.
- Verhoeff, A., van Wijnen, J.H., Hoekstra, E.S., Samson, R.A., van Strien, R.T. and Brunekreef, B. (1994) Fungal propagules in house dust: relation with home characteristics. In: R.A. Samson, B. Flannigan, M.E. Flannigan, A.P. Verhoeff, O.C.G. Adaa and E.S. Hoekstra (Eds.), *Health Implications of Fungi in Indoor Environments*. Amsterdam, Elsevier, pp. 129-140.
- Wickman, M., Gravesen, S., Nordvall, S.L., Pershagen, G. and Sundell, J. (1992) Indoor viable dust-bound microfungi in relation to residential characteristics, living habits, and symptoms in atopic and control children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 98, 752.

CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN GENERAL

Aeromicobiota de la Ciudad de México

El conocimiento del tipo y la concentración de propágulos de hongos en el aire ha resultado de gran interés en la epidemiología de las enfermedades de plantas, animales y del hombre (Lacey 1996 b), de ahí la importancia de conocer la heterogeneidad de los hongos que se encuentran en la atmósfera del Valle de México, y cuyos aeropropágulos, potencialmente patógenos de plantas y/o alérgenos del hombre son capaces de introducirse y dispersarse en una zona urbana como la Cd. de México. Por lo anterior el objetivo central de este trabajo de investigación fue determinar la variación espacial y temporal de estos propágulos fúngicos en dos zonas con diferente índice de urbanización y la posible influencia de las condiciones ambientales sobre su desarrollo y dispersión en el aire.

El Valle de México cuenta con un clima tropical de altura, el cual no es característico en su totalidad del clima de las regiones tropicales, pues se asemeja también al de los climas templados y fríos, además de presentar características propias, entre las que destacan las marcadas diferencias de temperatura durante el día. Por sus condiciones climáticas y edafológicas, el Valle de México cuenta con diversos tipos de vegetación (Rzedowski 1979), como bosques de *Abies*, *Pinus* y *Juniperus*, pastizales, y matorrales xerófilos, que favorecen el desarrollo de diferentes macromicetes, los cuales fueron recolectados desde el siglo pasado (1890) por Mauray (Pérez-Silva 1989).

Las aerosporas colectadas durante este estudio pertenecen a tres de los grupos de hongos más comúnmente aislados del aire, los deuteromicetes, ascomicetes y basidiomicetes (Sheridan & Stevenson 1976; Lacey 1981; Halwagy 1989, 1994; Li & Kendrick 1995). Los primeros (cuyas conidiosporas corresponden a la fase asexual de muchos ascomicetes) estuvieron representados por 31 géneros, y de éstos, los más frecuentes y abundantes fueron *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum* y el grupo *Aspergillus/Penicillium*. A este grupo le siguieron los basidiomicetes, los cuales

ocuparon el segundo lugar en abundancia, siendo las basidiosporas las más frecuentes, seguidas por los carbones y las royas (Ustilaginales y Uredinales, respectivamente). Las esporas de los ascomicetes fueron las menos abundantes en el aire de la Ciudad de México.

Los deuteromicetes colectados están reportados como ubicuos y capaces de utilizar la más amplia gama de sustratos para su desarrollo (Li-Kendrick 1994), y son registrados comúnmente en zonas templadas y tropicales (Lacey 1981; Vittal & Krishnamoorthi 1981; Tan *et al.* 1992), y algunas veces en zonas subtropicales (Dames & Cadman 1994). Los basidiomicetes, en cambio, se desarrollan principalmente en zonas boscosas, sobre madera y plantas, así como en áreas agrícolas, en las cuales las teliosporas de los cultivos son comúnmente afectados por diversos tipos de royas y/o carbones (Smith 1984; Cummins & Hiratsuka 1991). Basados en estudios sobre ecología y distribución de diversos macromicetes desarrollados en el Valle de México (; 1989, 1990; Zarco *et al.* 1986; Pérez-Silva 1989; Reygadas *et al.* 1995) se encontró que 86.5% correspondió a basidiomicetes, mientras que 13.5% a ascomicetes. El bajo porcentaje de estos últimos posiblemente se debe a que muchos ascomicetes aún no son bien conocidos, sin embargo, sus estructuras asexuales (conidiosporas) han sido reportadas frecuentemente, desarrollándose sobre vegetación viva o muerta o sobre otros tipos de sustratos, así como dispersas en el aire. Del total de basidiomicetes y ascomicetes que se han reportado para el Valle de México, en este estudio se encontró que sólo 10% y 5%, respectivamente, estuvieron presentes en el aire.

En general, estos resultados coinciden con diversas investigaciones en las cuales las concentraciones de hongos en el aire varían según las áreas evaluadas, es decir, en zonas agrícolas o con densa vegetación (bosques) los mayores porcentajes obtenidos fueron de basidiomicetes y ascomicetes principalmente, mientras que en zonas urbanas, con un bajo índice de vegetación, predominaron las conidiosporas (Dransfield 1966; Ogunlana 1975; Halwagy 1989; Abdel-Hafez & El Said 1989). Asimismo, se ha observado que las concentraciones de los propágulos fúngicos en el aire de una zona agrícola se incrementan hasta un 50% en comparación a una

zona urbana (Lacey 1981), por lo tanto, las concentraciones de hongos obtenidas dentro de la Ciudad de México (altamente urbanizada) fueron mucho menores a las que han sido reportadas para zonas rurales o con abundante vegetación (Lacey 1962; Lacey 1981; Atluri 1988) y probablemente a las que se registrarían si este estudio aerobiológico se realizara en áreas boscosas y/o rurales del Valle de México.

Periodicidad estacional

La periodicidad estacional observada en los diferentes grupos de hongos mostró que éstos tienen una clara dependencia de las condiciones ambientales prevalentes durante todo el año. Tanto los propágulos fúngicos de deuteromicetes como de basidiomicetes mostraron periodicidad estacional.

Las conidiosporas, aunque están presentes durante todo el año, registraron concentraciones mayores durante 2 períodos, de mayo a junio (lluvias), y a finales de la época de lluvias y principios de la época fría de secas (septiembre a diciembre). *Cladosporium* y *Alternaria* mostraron este tipo de patrón estacional, con diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la época de secas y la de lluvias. Esta distribución es muy similar a la registrada para otras zonas tropicales (Halwagy 1989; Shaheen 1992), lo que contrasta con lo reportado para las regiones templadas, en donde las concentraciones máximas de este tipo de esporas generalmente ocurren en la estación de verano, entre junio y agosto (Hyde & Adams 1960; Lacey 1981, 1996 b; Hjelmroos 1993, Li & Kendrick 1994), que es cuando la producción, desarrollo y liberación de esporas de estos hongos se ve favorecida por las condiciones cálidas, además de que hay una mayor disponibilidad de sustratos (especialmente cultivos) a finales del verano y principios del otoño.

Las concentraciones de esporas de *Penicillium*, registradas como ufc, no mostraron periodicidad estacional, lo cual concuerda con algunas otras investigaciones que reportan que varias especies de *Aspergillus* y *Penicillium* son frecuentes a lo largo de todo el año, sin mostrar patrones diurnos y/o estacionales definidos (Adams

1964; Larsen & Gravesen 1991; Li & Kendrick 1994, 1995; Al Doory *et al.* 1980). Lo anterior puede deberse a distintos factores, como el pequeño tamaño de las esporas de estos géneros, que aun con ligeras corrientes de viento se liberan y distribuyen rápidamente en la atmósfera, lo que dificulta precisar su comportamiento con respecto a su liberación y dispersión. Asimismo, ambos géneros son amplios, con una gran cantidad de especies, cuyos ciclos de vida pueden sobreponerse unos con otros y confundirse los patrones estacionales y/o diurnos de cada una de ellas.

Las esporas de los carbones, representadas principalmente por *Ustilago nuda*, también presentaron una alta incidencia anual (87% de los días), mientras que las esporas de royas se presentaron sólo en el 35% del año. Sin embargo, la abundancia de ambos tipos de esporas fue tan baja que sólo en las royas fue posible observar un ligero incremento hacia los meses de septiembre y octubre, tanto en la zona sur como en la centro de la ciudad, lo cual se debe, probablemente, a la lejanía que hay de las fuentes productoras y a la producción de enfermedades en pastos y otros hospederos hacia finales de la época de lluvias e inicio de la de secas, ya que las royas y los carbones son conocidos ampliamente como patógenos de plantas (cultivos, bosques, plantas de ornato, etc.).

Las basidiosporas, en cambio, fueron altamente dependientes de la estación, con muy pocas esporas atrapadas durante la época de secas y elevadas concentraciones (máximos promedios diarios de 2150 esporas/m³) durante la época de lluvias. Del alto porcentaje de basidiomicetes que crecen en el Valle de México, y de las elevadas concentraciones de basidiosporas que son producidas y liberadas a la atmósfera, pocos son los géneros (10%) que alcanzan a dispersarse hasta la ciudad. Esporas tipo- *Coprinus* fueron de las basidiosporas más abundantes en la atmósfera de esta zona urbana, así como uno de los principales géneros responsables de la marcada periodicidad encontrada para este tipo de hongos, con incrementos en sus concentraciones desde junio hasta octubre, mes en el que su número en el aire comenzó a decrecer.

Periodicidad diurna

La periodicidad diurna observada tanto para las conidiosporas como para las basidiosporas mostró que los ritmos circadianos varían con las especies y las condiciones ambientales.

La variación diurna registrada para las conidiosporas de *Cladosporium* difirió algo de lo que ha sido reportado previamente (Rich & Waggoner 1962; Lacey 1981, Vittai & Krishnamoorthi 1981; Ayanuru 1983; Atluri *et al.* 1988;), ya que en este estudio las variaciones mostraron de uno a dos picos de concentración de esporas durante el día y carencia de éstas en las primeras horas de la mañana, mientras que las concentraciones de esporas de *Alternaria* mostraron máximas durante el período de la tarde, lo cual resulta similar a lo encontrado en otras regiones del mundo (Lacey 1981; Atluri 1981, 1988). Asimismo, las basidiosporas mostraron los patrones diurnos típicos observados para este grupo de hongos (Levetin 1990, 1991; Hasnain 1993; Li & Kendrick 1994), cuyas concentraciones máximas (1520 esporas/m³ en el sur de la ciudad) se registraron en las primeras horas de la mañana (02:00-04:00) durante la época de lluvias.

Las características en los cambios diurnos de la cantidad de esporas en el aire son determinadas por las interacciones existentes entre los ciclos biológicos de los hongos, los mecanismos y las horas de liberación de las esporas, la presencia y distancia de las fuentes, los cambios en las condiciones meteorológicas y la localización geográfica, entre otros (Lacey 1981, 1996 b).

Efecto del grado de urbanización y de las condiciones ambientales sobre el comportamiento de los propágulos fúngicos en el aire

Con respecto a las diferencias locales y a la influencia de las condiciones ambientales sobre las variaciones estacionales y diurnas de los propágulos fúngicos en el aire, se observó que en regiones tropicales como la Ciudad de México las concentraciones promedio de conidiosporas, y las de algunos basidiomicetes (royas y carbones), así como su heterogeneidad, fueron similares en las áreas centro y sur de la ciudad. Asimismo, las unidades formadoras de

colonias de *Penicillium* registradas en este estudio no mostraron una diferencia clara entre las dos zonas estudiadas, lo que probablemente se debe que estos hongos son ubicuos y muy frecuentes en las áreas urbanas. Por otro lado, la concentración promedio de las basidiosporas registradas (*Coprinus*, *Ganoderma*, etc.) tendió a ser mayor en el área sur.

Sin embargo, el promedio diario de la concentración de esporas no siempre refleja los cambios que ocurren en el aire durante el día, como una respuesta directa a las variaciones de las condiciones ambientales y de sus efectos sobre las aerosporas de hongos. Por ello, a través de un análisis bihorario de las concentraciones de conidiosporas, como las de *Cladosporium* y *Alternaria*, fue posible detectar diferencias significativas entre las dos zonas evaluadas (sur y centro), estas diferencias dependieron de la época del año analizada (secas y/o lluvias) y de las características propias de cada una de las zonas.

El área sur, con un IU de 0.25 (con áreas verdes dentro de los suburbios, así como algunos bosques, zonas rurales y algunas montañas que la rodean), presenta una extensa vegetación que sirve como fuente local para el desarrollo de los diversos tipos de hongos (principalmente basidomicetes y ascomicetes). Mientras que el área centro, con un IU de 0.97 y cambios en el clima local (sobrecalentamiento y pocas áreas verdes), afecta considerablemente el desarrollo de los aeropropágulos fúngicos. La presencia de ascosporas y basidiosporas, así como de teliosporas de royas y carbones, en la zona centro se puede deber a que, aun cuando hayan sido producidas en zonas boscosas o agrícolas alejadas de la ciudad, dichas esporas sean transportadas por los vientos, que obedecen a distintos patrones diurnos y nocturnos. Esto podría explicar el registro de este tipo de esporas fúngicas en una zona tan urbanizada como el centro de la Ciudad de México.

Las características locales también influyen directamente en las condiciones de colonización, desarrollo, esporulación, mecanismos y tiempo de liberación y dispersión de los propágulos fúngicos en el aire, así como en la abundancia de las aerosporas de cada localidad, lo que fue observado en los desfazamientos horarios que presentaron las conidiosporas de *Alternaria*, cuya concentración más alta se

registró dos horas antes en el área sur que en el área centro, reflejándose el efecto de las diferencias locales (IU) y del viento sobre la distribución de los aeropropágulos fúngicos.

Los porcentajes de esporas de deuteromicetes, basidiomicetes y ascomicetes registrados en ambas zonas de la Ciudad de México coincidieron con los reportados en investigaciones realizadas en diversas zonas urbanas del mundo (Lacey 1981; Ebner & Haselwandter 1992; Shaheen 1992; Halwagy 1989, 1994; Li & Kendrick 1995).

Junto con las características propias de cada lugar, las condiciones ambientales ejercen una influencia determinante en la producción, liberación, dispersión y variación de los propágulos fúngicos en el aire (Al Doory *et al.* 1980). Es bien sabido que la temperatura y la humedad influyen en el ciclo biológico de los hongos (Bhatti 1976; Lacey 1996 b; Hawke & Meadows 1989; Stephen *et al.* 1990; Cadman 1991; Li & Kendrick 1994). En general, las conidiosporas se encuentran en el aire cuando disminuye la humedad relativa, y la temperatura y velocidad del viento se incrementan (Lacey 1981, 1996 b).

Las condiciones ambientales que se registran en cada época del año determinan la mayor frecuencia y/o abundancia de los diferentes grupos de hongos que se presentan en el aire. En este estudio se observó que las conidiosporas se incrementaron en la época fría de secas (septiembre a diciembre), cuando la humedad relativa del aire es menor y las temperaturas fluctúan ampliamente a lo largo del día.

La correlación entre diversos factores meteorológicos (temperatura máxima, humedad, precipitación y velocidad diaria del viento) y la concentración de conidiosporas en las zonas sur y centro de la ciudad mostraron una interacción significativa ($p < 0.05$) solamente con la temperatura máxima (negativa) y la humedad relativa del aire (positiva) de un día previo, lo que demuestra la influencia que ejercen estos parámetros en la formación de las conidiosporas. Asimismo, el viento juega un papel importante en el momento de la liberación y en la dispersión de estas esporas secas (velocidades entre 2 y 4 m/s).

Las variaciones ambientales que ocurren a lo largo del día, entre ellas las oscilaciones térmicas, influyen directamente sobre las variaciones diarias de la concentración de esporas en el aire (en ocasiones estas variaciones son más marcadas que las estacionales); dichas variaciones ambientales tienen una influencia directa en los ciclos biológicos de la vegetación, permitiendo su desarrollo, incluyendo la floración, aun durante los meses más fríos (de diciembre hacia febrero), lo que permite tener una producción activa de esporas (conidiosporas y teliosporas de royas y carbones) durante todo el año.

A pesar de que los propágulos fúngicos de *Penicillium* no mostraron variación estacional, se obtuvieron correlaciones negativas con la temperatura, la presión de vapor y la humedad relativa, factores que influyen directamente en su liberación y dispersión. No así en el caso de las basidiosporas, que son producidas abundantemente durante la época de lluvias, que es cuando se presenta mayor cantidad de fuentes productoras de este tipo de hongos (vegetación) y las condiciones climáticas que inciden en el ciclo biológico de los hongos. La época de lluvias favorece el desarrollo de los basidiomas y la liberación de las basidiosporas (Hasnain 1993). En este estudio, las concentraciones de basidiosporas estuvieron directamente correlacionadas con la humedad relativa (sólo en la época de lluvias) y con la precipitación, aunque los coeficientes de correlación aumentaron cuando se correlacionaron con la humedad relativa prevaleciente 3 a 4 días antes, lo que refleja el tiempo que tarda en llevarse a cabo la maduración del cuerpo fructífero de estos hongos.

Se encontraron correlaciones negativas entre las concentraciones de basidiosporas y la temperatura lo que sugiere que la producción de esporas o el desarrollo de los hongos decrece cuando se presentan altas temperaturas ($>26^{\circ}\text{C}$) durante la época de lluvias. Por otro lado, las altas concentraciones de basidiosporas en ambas épocas del año estuvieron asociadas con velocidades bajas de viento (2 a 3 m/s). Se sabe que las velocidades altas del viento ejercen un efecto de dilución sobre las aeropartículas, además de que el incremento del viento puede aumentar la pérdida de agua y por lo tanto disminuir la producción de esporas.

Es claro que los factores meteorológicos que ocurren a lo largo del día y en las diferentes épocas del año son decisivos para la producción y variación de las concentraciones de esporas de hongos en el aire. Así, por ejemplo, las conidiosporas de *Cladosporium* correlacionaron significativamente con la velocidad del viento y con las temperaturas y humedades relativas bajas durante las mañanas y las tardes durante el mes seco de febrero, mientras que en septiembre (época de lluvias), las concentraciones máximas de estas esporas secas se registraron cuando disminuyó la humedad y se incrementó la velocidad del viento, en el período de la mañana. Las condiciones de sequedad y las corrientes del viento permiten el desprendimiento de las conidiosporas de sus conidióforos, liberándolas y dispersándolas en el aire. En cambio, las basidiosporas, registraron sus máximas concentraciones durante las primeras horas de la mañana (2:00 y 4:00 hs), lo cual es el resultado de la interacción de su propio ciclo biológico con las condiciones ambientales.

Propágulos fúngicos en ambientes intramuros

La evaluación de la micobiota del polvo, tanto suspendido como depositado en ambientes intramuros localizados al sur de la Ciudad de México permitió registrar la heterogeneidad y la variación de las concentraciones de esporas de hongos, así como la influencia que ejercen las condiciones ambientales y las características particulares de cada uno de los ambientes estudiados en el desarrollo, la dispersión y la depositación de dichas esporas presentes en estos ambientes.

Los géneros colectados en el aire y en el polvo, tanto de las casas como del exterior, fueron similares y son reconocidos como hongos comunes de estos ambientes, representados principalmente por *Cladosporium* y *Penicillium*, los cuales son potencialmente alérgenos (Solomon 1975; Hoffman 1980, 1981; Agarwal *et al.* 1986, Waegemaekers *et al.* 1989; Wickman *et al.* 1992; Ebner & Haselwandter 1992; Verhoeff *et al.* 1994). Además, se aislaron diversas especies xerófilas de *Aspergillus* y *Penicillium*.

Aunque las esporas de deuteromicetes están presentes durante todo el año, en estos ambientes se observó cierta variación estacional, ya que las concentraciones más altas de estas esporas en el aire se registraron durante la época de secas (noviembre a mayo), así como las mayores diferencias en concentraciones entre intra y extramuros con *Penicillium* (in/ext 18:1) y *Cladosporium* (in/ext 8:1). Estos resultados concuerdan con un reporte previo sobre propágulos fúngicos registrados en casas localizadas en la Ciudad de México, en donde las concentraciones máximas de este tipo de hongos se presentaron en los primeros meses de la estación fría de secas (Escamilla *et al.* 1995). Esto sugiere que los propágulos fúngicos, ya sea provenientes del exterior o de fuentes internas, además de estar dispersos en el aire se pueden sedimentar sobre cualquier sustrato, acumulándose por largos períodos de tiempo en el polvo.

Durante la época de lluvias, las concentraciones de *Cladosporium* y *Penicillium* disminuyeron a casi la mitad de las encontradas en la época de secas. Estas bajas concentraciones pueden ser el resultado de las condiciones ambientales desfavorables para su liberación y dispersión o de que la lluvia lave la atmósfera de aeropropágulos fúngicos (Rosas *et al.* 1986). De manera similar, la concentración de hongos disminuyó en ambientes intramuros, lo que puede estar asociado con una baja influencia del exterior o con un incremento en la humedad del aire que dificulte su liberación aunque la humedad en el sustrato sea necesaria para el desarrollo de estos hongos.

El contenido de propágulos fúngicos en el polvo depositado en el piso no mostró diferencias significativas entre las estaciones, ya que dependiendo de las condiciones de las casas (ventilación, limpieza, tipo de muebles, presencia de cortinas y alfombras, etc.), el polvo puede acumularse durante mucho tiempo y guardar gran cantidad de esporas, que probablemente se desarrollen cuando las condiciones de humedad, temperatura y disponibilidad de algún tipo de sustrato, sean los apropiados. Por lo anterior resulta difícil encontrar algún tipo de relación entre las concentraciones de esporas colectadas del polvo y la variación estacional.

Debido al tipo de muestreador utilizado en esta parte del estudio (muestreador para partículas viables Andersen), no fue posible coleccionar propágulos fúngicos de basidiomicetes y/o ascomicetes, por lo cual es importante considerar que los deuteromicetes presentes en el aire y en el polvo son sólo una parte del total de hongos presentes dentro de estos ambientes intramuros.

Con respecto a la relación entre las concentraciones de hongos y las condiciones ambientales del interior de los ambientes evaluados, no fue posible observar el efecto de la temperatura o la presión de vapor, aun en las "casas problema." Esto puede estar asociado con el corto tiempo de muestreo, ya que tanto la temperatura como la humedad registradas durante este período no reflejan en su totalidad las condiciones ambientales prevaletientes en estos ambientes. Además, se ha reportado que el contenido de agua en ambientes intramuros no es un buen indicador de la cantidad de humedad que penetra o se condensa en las paredes o techos fríos y que favorecen el desarrollo de los hongos (Strachan. *et al.* 1990; Becker 1994; Nevalaine *et al.* 1994).

Las concentraciones de un solo género, *Cladosporium* o *Penicillium*, fueron > 500 ufc/ m^3 . Este hecho, junto con algunas tasas de la relación intramuros/extramuros, pueden ser buenos indicadores de la existencia de fuentes de hongos dentro de estos ambientes. El registro de propágulos fúngicos durante periodos de no actividad o disturbio dentro de las casas no proporcionó una estimación adecuada del grado de exposición a hongos por parte de los residentes, por lo que se sugiere que las concentraciones están subvaloradas en comparación con aquellas que posiblemente se registraran en periodos de actividad (Holmber 1984; Passanen *et al.* 1992).

En este estudio, no se encontraron correlaciones entre las concentraciones de hongos del aire y las del polvo, debido probablemente a que las casas fueron muestreadas en periodos de inactividad o porque los propágulos fúngicos derivaron de otras fuentes.

Las características ambientales de una región como la Ciudad de México permiten la ventilación natural (ventanas y puertas abiertas) aun en época de lluvias, por lo

que en muchas de estas casas se encontraron tasas intra/ extramuros más pequeñas o menores a uno. Esto sugiere que hay un flujo de partículas fúngicas del exterior hacia el interior a través de ventanas y puertas abiertas, como frecuentemente ha sido reportado (Oren & Baker 1970; Bunnag *et al.* 1982; Chakraverty & Sinha 1985). Sin embargo, 18% de las casas con fuentes intramuros, y probablemente ventilación pobre, estuvieron asociadas a tasas intra/extramuros altas ($> 3:1$). Asimismo, estas tasas estuvieron asociadas tanto con la presencia de mascotas, las cuales generan escamas, partículas fecales y pelo, lo que constituye excelentes sustratos para el desarrollo de los hongos (Hoffman 1980; Su *et al.* 1992) como con una humedad relativa elevada, lo que favorece el desarrollo y la dispersión de los hongos sobre diversos sustratos (Strachan *et al.* 1990; Becker 1994; Nevalainen *et al.* 1994). El total de propágulos fúngicos colectados del aire de los ambientes intramuros evaluados fue $< 10,000$ ufc /m³, que es un nivel sugerido como indicador de exposición asociado a problemas respiratorios causados por hongos (Passanen *et al.* 1992).

El conocimiento de los diversos factores que contribuyen a elevar las concentraciones de hongos en ambientes intramuros es muy importante para el control y tratamiento de enfermedades respiratorias y para el desarrollo de medidas correctivas y programas de educación.

CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES GENERALES

- El aire contiene propágulos fúngicos que, por ser potencialmente patógenos y/o alérgicos, resultan de gran interés en la epidemiología de las enfermedades de plantas, animales y del hombre.
- La investigación aerobiológica de los propágulos fúngicos presentes en ambientes extramuros permitió caracterizar la aeromicobiota de las dos zonas evaluadas de la Ciudad de México con diferente Índice de Urbanización (IU). Los resultados mostraron la gran heterogeneidad de hongos presentes en esta zona urbana siendo los deuteromicetes los más abundantes, seguidos por los basidiomicetes y por los ascomicetes.
- Los diversos propágulos fúngicos presentaron marcadas variaciones y patrones diarios y estacionales, dependiendo de las características biológicas de cada uno, y de las condiciones ambientales prevalecientes. Las basidiosporas mostraron patrones diarios y estacionales característicos, es decir, se registraron abundantemente durante la época de lluvias, que es cuando se desarrollan las fructificaciones y se producen las basidiosporas, ya sea hialinas (las cuales se liberan rápidamente con la lluvia), o de color, cuyas concentraciones más altas en el aire se registraron días después de la precipitación (debido al tiempo que tardan algunos cuerpos fructíferos para desarrollarse). En cambio, las teliosporas de carbones, así como las conidiosporas de *Cladosporium* y *Alternaria*, aunque mostraron cierta variación estacional (registrándose máximas concentraciones durante la época de secas), se registraron durante todo el año.
- Fue posible determinar que las diversas condiciones ambientales y los diferentes índices de urbanización que presentan las zonas evaluadas (sur y

centro de la ciudad) influyen directamente en el tipo y la concentración de los hongos dispersos en cada una de las áreas estudiadas. La vegetación presente en la zona sur provee el sustrato necesario para el desarrollo de diversos tipos de hongos (basidiomicetes y ascomicetes comunes de áreas rurales o de bosques). Mientras que la zona centro, altamente urbanizada, cuenta con menor cantidad de propágulos fúngicos producidos en la propia localidad (principalmente conidiosporas), y las esporas de los basidiomicetes y ascomicetes ahí colectadas probablemente son transportadas desde localidades distantes. Sin embargo, se determinó que la heterogeneidad de los géneros colectados fue similar en ambas zonas de estudio, ya que los diversos patrones de viento sobre la Zona Metropolitana de la Ciudad de México dispersan las esporas de una zona a otra, ya sea del norte hacia el sur, y/o del norte y del sur hacia el centro, dependiendo de la hora del día.

- De los deuteromicetes colectados en ambientes extramuros, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum* y *Aspergillus/Penicillium* fueron los más frecuentes y abundantes, mientras que de los basidiomicetes las esporas más abundantes fueron las basidiosporas de *Coprinus*, seguidas por otras basidiosporas (*Inocybe*, *Agrocybe*, *Boletus*, *Russula*, *Bovista*, *Panaeolus*). En cambio, las teliosporas de los carbones (*Ustilago nuda*, *Ustilago* spp. y *Tilletia* spp.) y las royas (*Puccinia*) fueron registradas a través de todo el año, aunque en bajas concentraciones.
- Las concentraciones registradas en los ambientes extramuros mostraron concentraciones promedio de alrededor de 300 a 500 esporas/m³, con concentraciones máximas de deuteromicetes > 4500 esporas/m³, y de basidiomicetes > 2000 esporas/m³, colectadas en diversas épocas del año y horas del día. Aunque estas concentraciones presentes en el aire extramuros, no son altas en promedio, las concentraciones máximas de estas esporas

potencialmente alergenas pueden ser importantes en relación con enfermedades respiratorias alérgicas, como el asma.

- La evaluación de los propágulos fúngicos presentes en el aire y en el polvo de ambientes intramuros indicó que, en general, las concentraciones fueron menores de 1000 ufc/m³.
- Los géneros más abundantes y frecuentes fueron *Cladosporium* y *Penicillium*, los cuales son comunes en ambientes intramuros.
- Las correlaciones significativas encontradas entre las concentraciones de intra y extramuros, con proporciones de 3:1 sugieren que el flujo de esporas de hongos del exterior hacia el interior se debe probablemente a la ventilación natural que es muy común en una región tropical como la Ciudad de México.
- Tanto en el aire como en el polvo de ambientes intramuros, frecuentemente se registraron el mismo tipo de géneros, lo que significa que las esporas presentes en el polvo son dispersadas en el aire y las concentraciones varían dependiendo de las actividades en el interior.
- Las concentraciones de esporas fueron determinadas en períodos de inactividad dentro de las casas; por lo tanto se sugiere que las concentraciones están subvaloradas en comparación con aquellas que posiblemente sean registradas en períodos de actividad.
- De las casas muestreadas, cinco fueron consideradas casas problema, ya que se registraron concentraciones > 500 ufc/m³ de hongos. Esto sugiere la existencia de posibles fuentes productoras de hongos dentro de estos ambientes, las cuales pueden significar un riesgo potencial para la salud de individuos sensibilizados

(en este caso principalmente para los asmáticos), ya que la exposición a concentraciones de hongos > de 500 ufc/m³ en ambientes intramuros han sido reportadas como posibles causantes de enfermedades alérgicas.

- Las especies predominantes en estos ambientes fueron *Cladosporium herbarum*, *Penicillium aurantiogriseum* y *P. chrysogenum*, las cuales son potencialmente alergenas, que inhaladas en altas concentraciones pueden causar asma.
- El estudio de los propágulos fúngicos presentes en el aire y su interacción con el ambiente, tanto en extramuros como en intramuros, es esencial para conocer los riesgos potenciales hacia la salud, ya que la mayoría, de dichos propágulos son potencialmente alergenos y/o patógenos del hombre, los animales y las plantas.

LITERATURA CITADA

- Abdel-Hafez, S.I.I. & El-Said, A.H.M. 1989. Seasonal variations of airborne fungi in Wadi Qena, Eastern Desert, Egypt. *Grana* 28: 193-203.
- Abdel-Hafez, S.I.I., Moubasher, A.H. & Barakat, A. 1993. Seasonal variations of fungi of outdoor air and sedimented dust at Assiut region, Upper Egypt. *Grana* 32:115-121.
- Adams, K. F. 1964. Year to year variation in the fungus spore content of the atmosphere. *Acta Allergol.* 19: 11-50.
- Agarwal, M. K., Jones, R. T. & Yunginger, J. W. 1982. Shared allergenic and antigenic determinants in *Alternaria* and *Stemphylium* extracts. *J. Allergy Clin. Immunol.* 70: 437-444.
- Agashe, S.N. & Chattergee, M. 1987. Aircraft sampling of the upper airspore. En: *Adv. in Aerobiol.* Birkhauser Verlag, Basel, pp. 411-414.
- Al-Doory, Y., Domson, J.M., Howard, W.A. & Sly, R.M. 1980. Airborne fungi and pollens of the Washington, D.C., metropolitan area. *Ann. of Allergy* 45:360-367.
- Al-Tikriti, S.K., Al-Salihi, M. & Gaillard, E. 1980. Pollen and mold survey of Baghdad, Iraq. *Ann. of Allergy* 45:97-99.
- American Public Health Association. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th ed. American Public Health Association. Washington, D.C.
- Atturi, J.B. & Subba Reddi, C. 1981. The fungus airspora of Visakhapatnam. *Proc. Ind. Nat. Sci. Acad.* B47: 731-747.
- Atturi, J. B., Varma, K.V. & Subba-Reddi, C. 1988. Circadian periodicity in some airborne fungi over a rice crop. *Grana* 27:71-76.
- Auger-Barreau, R. 1971. Constituants microbiologiques et l'atmosphère pollution fongique de l'atmosphère Bordelaise. *Pollut. Atmosph.* 53: 293-300.

- Ayanuru, D.K. 1983. Diurnal periodicity of *Cladosporium* in the air of an urban and suburban station in Southern Nigeria. *Abst., 2nd Int. Conf. Aerobiol., 1982. Seattle.*
- Aylor, E.D. 1986. A framework for examining inter-regional aerial transport of fungal spores. *Agr. and Forest Meteorol.* 38: 263-288.
- Barnett, H.L. & Hunter, B.B. 1972. *Illustrated Genera of the Fungi Imperfecti*, 3th ed. Burgess Publ. Co., Mineápolis, 241 pp.
- Barron, G.L. 1968. *The Genera of Hyphomycetes from Soil*. Williams & Wilkins Co., Baltimore, 364 pp.
- Beaumont, F. 1985. Aerobiological and clinical studies in mould allergy. Tesis de Doctorado, Rijksuniversiteit te Groningen, Netherlands.
- Beaumont, F., Kauffman, H.F.M., Slioter, H.J. & Vries, K. de. 1984. A volumetric-aerobiological study of seasonal fungus prevalence inside and outside dwellings of asthmatic patients living in North East Netherlands. *Ann. Allergy* 53: 486-492.
- Beaumont, F., Kauffman, H.F., van der Mark, T.H., Sluiter, H.L. & de Vries, K. 1985. Volumetric aerobiological survey of conidial fungi in the north-east Netherlands. *Allergy* 40: 173-180.
- Becker, R. 1994. Fungal disfigurements of construction analysis of the effects of various factors, En : R. A. Samson, B. Flannigan, M.E. Flannigan, A. P. Verhoeff, O. C. G. Adan & E. S. Hoekstra (Eds.). *Health Implications of Fungi in Indoor Environments*, pp. 361-380. Elsevier, Amsterdam.
- Bhatti, M.A.R. 1976. Diurnal periodicity and the effect of meteorological factors on air-borne fungus-flora. *Pak. J. Bot.* 8: 87-93.
- British Aerobiology Federation. 1995. *Airborne Pollens and Spores: A Guide to Trapping and Counting*. British Aerobiology Federation, Harpenden, U.K.
- Bunnag, C., Dhorrantina B. & Plangpatanapanichya A. 1982. A comparative study of the incidence of indoor and outdoor mold spore in Bangkok, Thailand. *Ann. Allergy* 48: 333-339.

- Burge, H. 1986. Some comments on the aerobiology of fungus spores. *Grana* 25: 143-146.
- Buttner, M.P. & Stetzenbach, L.D. 1993. Monitoring airborne fungal spores in an experimental indoor environment to evaluate sampling methods and the effects of human activity on air sampling. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 219-226.
- Cadman, A. 1991. Airspora of Johannesburg and Pretoria, South Africa, 1987/88. II. Meteorological relationships. *Grana* 30: 181-183
- Calderón, C. Lacey, J., McCartney, H.A. & Rosas, I. 1995. Seasonal and diurnal variation of airborne basidiomycete spore concentrations in Mexico City. *Grana* 34: 260-268.
- Cammack, P.H. 1955. Seasonal changes in three common constituents of the air spora of Southern Nigeria. *Nature* 176:1270-1272.
- Cavender, J. & Raper, K. 1965. The acrasieae in nature. I. Isolation. *Amer. J. Bot.* 52: 294-296.
- Chakraverty, R. & Sinha, S. 1985. The incidence of *Aspergillus parasiticus* in the indoor and outdoor environments of Calcutta, India. *Grana* 24: 133-135.
- Chío, R., Frutis, I. & Guzmán, G. 1988. Hongos del Estado de México, I. Especies citadas en la bibliografía, 1a. Parte. Ascomycetes, Tremellales y Aphyllophorales. *Rev. Mex. Mic.* 4: 97-113.
- Chío, R., Frutis, I., Guzmán, G. & Bandala, V. 1989. Hongos del Estado de México II. Especies citadas en la bibliografía: Agaricales. *Rev. Mex. Mic.* 5: 125-148.
- Chío, R., Guzmán, G. & Bandala, V. 1990. Hongos del Estado de México, III. Especies citadas en la bibliografía: Gasteromycetes. *Rev. Mex. Mic.* 6: 207-220.
- Cummins G.B. & Hiratsuka, Y. 1991. *Illustrated Genera of Rust Fungi*, 2nd ed. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota.
- Dames, J.F. & Cadman, A. 1994. Airspora of Durban: a sub-tropical, coastal South African city. II Fungal spore component. *Grana* 33:346-348

- Davies, J.M. & Main, C. E. 1986. Applying atmospheric trajectory analysis to problems in epidemiology. *Plant. Dis.* 70: 490-497.
- Davies, R.R. 1957. A study of air-borne *Cladosporium*. *Tran. Br. Mycol. Soc.* 40: 409-414.
- Davies, R.R., Denny, M. & Newton, L. 1963. A comparison between the summer and autumn air-spores at London and Liverpool. *Acta Allergol.* 28: 131-247.
- Dobell, C. 1932. *Antony van Leeuwenhoek and his "Little Animals"*. Bale & Danielsson, Londres.
- Domsch, K.H., Gams, W. & Anderson, T.H. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press, Londres.
- Dransfield, M. 1966. The fungal air-spores at Samaru, Northern Nigeria. *Tran. Br. Mycol. Soc.* 49: 121-132.
- Ebner, M.R. & Haselwandter, K. 1992. Indoor and outdoor incidence of airborne fungal allergens at low and high-altitude alpine environments. *Mycol. Res.* 96:117-124.
- Edmonds, R.L. (Ed.) 1979. *Aerobiology: The Ecological Systems Approach*. US/IBP Synthesis Series 10. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., Stroudsburg.
- Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. CAB International Mycological Institute, Kew.
- Ellis, M.B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. C.A.B. International Mycological Institute, Kew.
- Escamilla, B., Comtois, P. & Cortés, B. 1995. Fungal content of air samples from some asthmatic childrens' homes in Mexico City. *Aerobiologia* 11: 95-100.
- Eversmeyer, M.G. & Kramer, C.L. 1987. Vertical concentrations of fungal spores above wheat fields. *Grana* 26:97-102.
- FAO, 1967. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *A Practical Manual of Soil Microbiology Laboratory Methods*. Roma, 69 pp.
- Flannigan, B. 1993. Approaches to assessment of the microbial flora of buildings. En: IAQ 92, *Environments for People*. ASHRAE, Atlanta, pp. 139-145.

- Garfield, A., Stone, C., Holmes, P. & Tai, E. 1984. "*Serpula pinastri* - a wood decay fungus causing allergic alveolitis", *Aust. N. Z. J.M.* 14: 552-553.
- González Ochoa, A. & Orozco, C. 1943. Los hongos del aire de la Ciudad de México y su relación con los factores atmosféricos. *Rev. Ints. Salub. y Enferm. Trop.* 4:259-265.
- Gravesen, S. 1972. Identification and quantification of indoor airborne microfungi during 12 months from 44 Danish homes. *Acta Allergol.* 27:409-413.
- Gravesen, S. 1979. Fungi as a cause of allergenic disease. *Allergy* 34: 135-154.
- Gregory, P.H. 1973. *The Microbiology of the Atmosphere*, 2nd ed. Leonard Hill Books Aylesbury.
- Guevara, S.S. & Moreno, P.C. 1987. Areas verdes de la zona metropolitana de la Ciudad de México. En: *Atlas de la Ciudad de México* (Garza, G. & Programa de Investigación Científica y Capacitación Técnica (Eds.)). México D.F., Depto. de Publicaciones de El Colegio de México, pp 231-236.
- Guzmán G. 1977. *Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera*. Ediciones Limusa Mexico, D.F.
- Guzmán L. & Guzmán. G. 1979. Estudio ecológico comparativo entre los hongos (macromicetos) de los bosques tropicales y los de coníferas del sureste de México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 13: 89-125.
- Halwagy, H.M. 1989. Seasonal airspora at three sites in Kuwait, 1977-1982. *Mycol. Res.* 93: 208-213.
- Halwagy, H.M. 1994. Fungal airspora of Kuwait City, Kuwait, 1975-1987. *Grana* 33:340-345.
- Harries M.G., Lacey J., Tee R.D. & Cayley, G.R. 1985. *Didymella exitialis* and late summer asthma. *Lancet.* ii:1063-1066.
- Harvey, R. 1967. Air spora studies at Cardiff. I *Cladosporium*. *Trans. Br.Mycol. Soc.* 50: 479- 495.
- Hasnain, S.M. 1993. Influence of meteorological factors on the air spora. *Grana.* 32:184-188.

- Hawke, P.R., Meadows, M.E. 1989. Winter airspora and meteorological conditions in cape Town, South Africa. *Grana* 28: 187-192.
- Herrera, T. 1963. Especies de *Lycoperdon* del Valle de México. *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. Méx.* 34: 43-68.
- Hirst, J.M. 1952. An automatic volumetric spore trap. *Ann. Appl. Biol.* 39: 488-492.
- Hirst, J.M. 1953. Changes in atmospheric spore content: diurnal periodicity and the effects of weather. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 36:395-393.
- Hjelmroos, M. 1993. Relationship between airborne fungal spore presence and weather variables. *Cladosporium* and *Alternaria*. *Grana* 32:40-47.
- Hocking, A.D. & Pitt, J.I. 1980. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 488-492.
- Hoffman, D. 1980. Dog and cat allergens: urinary proteins or dander proteins?. *Ann. Allergy* 45:205-206.
- Hoffman, D. R., Kozak, P. P., Gillman, S. A., Cummins, L. H. & Gallup, J. 1981. Isolation of spore specific allergens from *Alternaria*. *Ann. Allergy* 46: 310 -315.
- Holmberg, K. 1984. Mould growth inside building. En : B. Berglund, T. Linvall, & J. Sundell (Eds.). *Sensory and Hyperreactivity Reactions to Sick Buildings. Indoor Air*, vol. 3, pp. 253-256. Stockholm Swedish Council for Building Research.
- Hudson, H.J. 1969. Aspergilli in the air spora at Cambridge. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 52:1533-1559
- Hunter, C. A. & Lea, R. G. 1994. The airborne fungal population of representative British homes. En R. A. Samson, B. Flannigan, M.E. Flannigan, A. P. Verhoeff, O. C. G. Adan & E. S. Hoekstra (Eds.). *Health Implications of Fungi in Indoor Environments*, pp. 141-153. Elsevier, Amsterdam.
- Hunter, C.A., Grant, C., Flannigan, B. & Bravery, A.F. 1988. Moulds in buildings: the air spora of domestic dwelling. *Intern. Biodet.* 24:81-101.
- Hyde, H. 1973. Atmospheric pollen and spores in relation to allergy. *Clin. Allergy* 3: 109-126.

- Hyde, H.A. & Adams, K.F. 1960. Airborne allergens at Cardiff, 1942-59. *Act. Allergol.* 7:159.
- Hyde, C.A. & Williams, D.A. 1949. Mould spores at Cardiff, 1942-1943. *Nature* 164: 668.
- Ibañez, M.D., Horner, W.E., Liengswangswong, V., Sastre, J. & Lehrer, S.B. 1988. Identification and analysis of basidiospore allergens from puffballs. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 82: 787-795.
- Ibarra, V. 1987. Delegación Tlalpan En: Atlas de la Ciudad de México (Garza, G. & Programa de Investigación Científica y Capacitación Técnica (Eds.). México D.F., Depto. de Publicaciones de El Colegio de México, pp. 310-314.
- IEHO. 1985. Mould fungal spores: Their effects on health, and the control, prevention and treatment of mould growth in dwellings. *Environmental Health Professional Practice* Vol. I. Capítulo II.
- Jáuregui, E. 1971. La erosión eólica en los suelos vecinos al lago de Texcoco. *Ing. Hidr. en México* 25: 103-117.
- Jáuregui, E. 1974. La isla de lluvia en la Ciudad de México. *Rev. Rec. Hidrául.* 3: 138-151.
- Jáuregui, E. 1989. The dust storms of Mexico City. *Int. J. of Climatol.* 9: 169-180.
- Jáuregui, E. 1993. Mexico City's urban heat island revisited. *Erdkunde* B47: 185-195.
- Jáuregui, E. & Luyando, E. 1992. Patrones de flujo de aire superficial y su relación con el transporte de contaminantes en el Valle de México. *Bol. Inst. Geogr.* 24:51-78.
- Jones, L. B. & Cookson, T. J. 1983. Natural atmospheric microbial condition in a typical suburban area. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 919-934.
- Kääpylä, M. & Penttinen, A. 1981. An evaluation of the microscopical counting methods of the trap in Hirst-Burkard pollen and spore trap. *Grana* 20:131-141.
- Kozak, P. P., Gallup, J., Cummins, L. H. & Gillman S. A. 1979. Factors of importance in determining the prevalence of indoor molds. *Ann. Allergy* 43:88-94.

- Kramer, C.L., Pady, S.M. & Rogerson, C. T. 1959. Kansas aeromycology. V: *Penicillium* and *Aspergillus*. *Mycologia* 52: 545-552.
- Kramer, C.L. & Pady, S.M. 1968. Viability of airborne spores. *Mycologia* 60: 448-449.
- Kuraishi, H., Itoh, M., Tsuzaki, N., Katayama, Y., Yokoyama, T. & Sugiyama, J. 1990. The ubiquinone system as a taxonomic aid in *Aspergillus* and its teleomorphs. En: R.A. Samson & J. L. Pitt (Eds.). *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*. pp. 407-421. Plenum Press, Nueva York.
- Lacey, J. 1981. The aerobiology of conidial fungi. En: G.T. Cole & W.B. Kendrick (Eds.). *Biology of Conidial Fungi*, vol. 1, pp. 373-415. Academic Press, Nueva York.
- Lacey, J. 1986. Water availability and fungal reproduction: patterns of spore production, liberation and dispersal. En: P.G. Ayres & L. Boddy (Eds.). *Water, fungi and plants*, BMS Symposium 11, pp. 65-85. Cambridge University Press, R.U.
- Lacey, J. 1990. Aerobiology and health: the role of airborne fungal spores in respiratory disease. En: D.L. Hawksworth, (Ed.). *Frontiers in Mycology*, pp. 131-156. C.B.A., Wallingford.
- Lacey, J. 1996 a. Fungi and actinomycetes as allergens. En: A. B. de Kay (Ed.), *Allergy and Allergic Diseases*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Lacey, J. 1996 b. Spore dispersal - its role in ecology and disease: the British contribution to fungal aerobiology. *Mycol. Res.* 6: 641-660.
- Lacey, M.E. 1962. The summer air-spora at two contrasting adjacent rural sites. *J. Gen. Microbio.* 29: 485-501.
- Larsen, L. & Gravesen, S. 1991. Seasonal variation of outdoor airborne viable microfungi in Copenhagen, Denmark. *Grana* 30: 467-471.
- Leach, C.M. 1975. Influence of relative humidity and red-infrared radiation on violent spore release by *Drechslera turcica* and other fungi. *Phytopathology* 65: 1303-1312.
- Levetin, E. 1990. Studies on airborne basidiospores. *Aerobiologia* 6:177-180

- Levetin, E. 1991. Identification and concentration of airborne basidiospores. *Grana* 30:123-128.
- Li, D. W. & Kendrick, B. 1994. Functional relationships between airborne fungal spores and environmental factors in Kitchener-Waterloo, Ontario, as detected by Canonical correspondence analysis. *Grana* 33:166-176.
- Li, D.W. & Kendrick, B. 1995. A year-round outdoor aeromycological study in Waterloo, Ontario, Canada. *Grana* 34:199-207.
- López-Martínez, R. & García-Maynez, C. 1983. Aislamiento de hongos productores de alergias en mercados de la Ciudad de México. *Alergia* 30:103-108.
- López-Martínez, R., Ruiz, S.D., Huerta, J.G., Esquenaze, A. & Álvarez, M.T. 1986. Variación estacional de hongos productores de alergia en el sur de la Ciudad de México. *Allergol. et Immunopathol.* 14: 43-48.
- Lowenstein, H., Gravesen, S., Larsen, L., Lind, P. & Schwartz, B. 1986. Indoor allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 78: 1035-1039.
- Lyon, F.L. & Framer, C.L. Eversmeyer, M. G. 1984. Variation of airspora in the atmosphere due to weather conditions. *Grana* 23: 177-181.
- McDonald, M.S. & O'Driscoll, B.J. 1980. Aerobiological studies based in Galway. A comparison of pollen and spore counts over two seasons of widely differing conditions. *Clin. Allergy* 51: 26-29.
- Meier, F. C. 1936. Collecting microorganisms from winds above the Caribbean Sea. *Phytopathology* 26: 102.
- Meredith, D.S. 1962. Spore dispersal in *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. *Nature* 195: 92-93.
- Mouilleseaux, A. & Squinazi, F. 1994. Airborne fungi in several indoor environments. En : R. A. Samson, B. Flannigan, M.E. Flannigan, A. P. Verhoeff, O. C. G. Adan & E. S. Hoekstra (Eds.). *Health Implications of Fungi in Indoor Environments*, pp. 155-162. Elsevier, Amsterdam.
- Moulton, S. (Ed.) 1942. *Aerobiology. American Association for the Advancement of Science. Publication No. 17*, Washington.

- Munk, L. 1981. Dispersal of *Erysiphe graminis* conidia from winter barley. *Grana* 20:215-217.
- Munuera Giner, M. & Carrión García, J.S. 1995. Daily variations of spores in the city of Murcia (semi-arid southeastern Spain). Relationship with weather variables. *Int. J. Biometeorol.* 38:176-179.
- Nevalainen, A., Hyvarinen, A., Pasanen, A. & Reponen, T. 1994. Fungi and bacteria in normal and mouldy dwellings, En: R.A. Samson, B. Flannigan, A.P. Verhoeff, O.C.G. Adan & E.S. Hoekstra (Eds.). *Health Implications of Fungi in Indoor Environments*, pp. 155-162. Elsevier, Amsterdam.
- Niemela, S.I., Vaatanen, P., Mentu, J., Jokinen, A., Jappinene, P. & Sillanpaa, P. 1985. Microbial in upper respiratory tracts of workers in the paper industry. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 163-168.
- Nilsby, I. 1949. Allergy to moulds in Sweden. A botanical and clinical study. *Acta Allergol.* 2: 57-90.
- Nilsson, S. (Ed.). 1983. Atlas of Airborne Fungal Spores in Europe. Springer-Verlag, Berlin.
- Ogunlana, E.O. 1975. Fungal air spora at Ibadan, Nigeria. *Appl. Microbiol.* 29: 458-463.
- Oren, J. & Baker, G.E. 1970. Molds in Manoa: a study of prevalent fungi in Hawaiian homes. *Ann. Allergy* 28: 472-481.
- Pady, S. M. 1957. Quantitative studies of fungus spores in the air. *Mycologia* 49: 339-353.
- Pady, S.M. & Kramer, L.C. 1960. Kansas aeromycology. VI. Hyphal fragments. *Mycologia* 54: 169-180.
- Pady, S.M., Kramer, C.L. & Clarry, R. 1967. Diurnal periodicity in airborne fungi in an orchard. *J. Allergy* 39: 302.
- Palmas, F. & Cosentino, S. 1990. Comparison between fungal airspore concentration at two different sites in the South of Sardinia. *Grana* 29: 87-95.

- Passanen, A. L., Niininen, M., Kalliokoski, P., Nevalaine, A. & Jantunen, M. J. 1992. Airborne *Cladosporium* and other fungi in damp versus reference residences. *Atmosph. Environ.* 26B:121-124.
- Pathak, V.K. & Pady, S.M. 1965. Numbers and viability of certain airborne fungus spores. *Mycologia* 57: 301-310.
- Pennycook, S.R. 1980. The air spora of Auckland city, New Zealand. I. Seasonal and diel periodicities. *New Zeal. J. Sci.* 23:27-37.
- Pérez-Silva, E. 1989. La micobiota del Valle de México. Ecología Urbana, *Ann. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México* Vol. especial : 71-79.
- Pérez-Silva, E. & Aguirre-Acosta, E. 1986. Macromicetos de zonas urbanas de México, I. Area metropolitana. *Rev. Mex. Mic.* 2:187-195.
- Pit, J. I. 1979. *The Genus Penicillium and its Telomorphlic States Eupenicillium and Talaromyces*. Academic Press, Londres.
- Pit, J. I. 1985. *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Research, Sidney, 182 pp.
- Ramírez Sáiz, J.M. & Morelos, J.B. 1987. Delegación Coyoacán. En: Atlas de la Ciudad de México (Garza, G. & Programa de Investigación Científica y Capacitación Técnica (Eds.). México D.F., Depto. de Publicaciones de El Colegio de México, pp. 260-264
- Raper, K.B. & Fennel, D.I. 1977. *The Genus Aspergillus*. Williams and Wilkins, Baltimore, 686 pp.
- Rati, E. & Ramalingam, A. 1976. Air-borne aspergilli at Mysore. *Aspects Allergy Appl. Immunol.* 9: 139- 149
- Rezedowski, J. & Rezedowski, G. 1979. *Flora fúerogámica del Valle de México*. Ed. Continental, México, pp. 403.
- Reygadas, F., Zamora-Martínez, M. & Cifuentes, J. 1995. Conocimiento sobre los hongos silvestres comestibles en las comunidades de Ajusco y Topilejo, D.F. *Rev. Mex. Mic.* 11: 85-108.

- Rich, S. & Waggoner, P. 1962. Atmospheric concentration of *Cladosporium* spores. *Science* 137: 962-965.
- Richards, M. 1954. Atmospheric mould spores in and out of doors. *J. Allergy* 25: 429-439.
- Rosas, I., Calderón C., Gutiérrez, S. & Mosiño, P. 1986. Airborne fungi isolated from rain water collected in Mexico city. *Contam. Ambient.* 2:13-23.
- Rosas, I., Escamilla, B., Calderón, C. & Mosiño, P. 1990. The daily variations of airborne fungal spores in Mexico city. *Aerobiologia* 6:153-158.
- Rosas, I., Calderón, C., Escamilla, B. & Ulloa, M. 1992. Seasonal distribution of *Aspergillus* in the air of an urban area: Mexico city. *Grana* 31:315-319.
- Rosas, I., Calderón, C., Ulloa, M. & Lacey, J. 1993. Abundance of airborne *Penicillium* in relation to urbanization in Mexico City. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:2648-2652.
- Royes Joy, V.I. 1987. Some components of the air spora in Jamaica and their possible medical application. *Grana* 26: 151-157.
- Salvaggio, J. & L. Aukrust. 1981. Mold-induced asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 68:327-346.
- Salvaggio, J.E. 1986. Human symptomatology and epidemiology of fungi in air. En: *Significance of Fungi in Indoor Air: Report of a Working Group. Part 1: Report* (de Health Welfare Canada Working Group Fungi Indoor), p. 33. F.I.A. Ottawa.
- Samson, A.R. & Pitt, J. 1990. (Eds). *Modern Concepts in penicillium and Aspergillus Classification*. Plenum Press, Londres, 478 pp.
- Schaffer, N., Siedmon, E.E., Plainfield, N.J. & Bruskin, S. 1953. The clinical evaluation of air-borne and house dust fungi in New Jersey. *J. Allergy* 24: 348-354.
- Shaheen, I.A. 1992 Aeromycology of Amman area, Jordan. *Grana* 31:223-228.
- Shenoi, M.M. & Ramalingam, A. 1975. Circadian periodicities of some spore components of air at Mysore. *Arogya J. Health Sci.* 1: 154-156.

- Sheridan, J.E. & Stevenson, G. 1976. The air spora of the Wairarapa district of New Zealand. *New Zeal. J. Sci.* 19:331-337.
- Smith, E.G. 1984. *Sampling and Identifying Allergenic Pollens and Molds*, 1st ed. Blewstone Press, San Antonio.
- Solomon, W. 1975. Assessing fungus prevalence in domestic interiors. *J. Allergy Clin. Immunol.* 56:235-242.
- Springle, W.R. 1981. Paints for mould control. In: Proc. of Joint BRE-Paint Research Association, Seminar on Mould Growth in Buildings, June, 1980. Building Research Establishment, Aylesbury, Bucks, pp. 26-31.
- Sreeramulu, T. & Ramalingam, A. 1962. Notes on airborne *Tetraploa* spores. *Curr. Sci.* 31: 121-122.
- Sreeramulu, T. & Ramalingam, A. 1964. Some short period changes in the atmospheric spore contents associated with changes in the weather and other conditions. *Proc. Ind. Acad. Sci.* 59:154.
- Sreeramulu, T. & Ramalingam, A. 1966. A two-year study of the air-spora of a paddy field near Visakhapatnam. *Ind. J. Agri. Sci.* 36: 111-132.
- Sreeramulu, T. & Vittal, B.P.R. 1966. Periodicity in the airborne fungus spores of the rice false smut fungus, *Ustilaginoides virens*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 49: 443.
- Stephen, E., Raftery, A.E. & Dowding, P. 1990. Forecasting spore concentrations: A time series approach. *Int. J. Biometeorol.* 34:87-89.
- Staneyich, R. & Peterson, M. 1990. Effect of sampling time on airborne fungal collection. *Indoor Air 90*, Vol. 20. (Ed. Walkinshaw, D.S.), CMHC, Ottawa, pp. 91-95.
- Strachan, D., Flannigan, B., McCabe, E. M. & McGarry, F. 1990. Quantification of airborne moulds in the homes of children with and without wheeze. *Thorax* 45:382-387.
- Su, H., Rotnitzky, A. Burge, H. & Spengler, J. 1992. Examination of fungi in domestic interiors by using factor analysis: correlations and associations with home factors. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:181-186.

- Tan, T.K., Teo, T.S., Tan, H., Lee, B.W. & Chong, A. 1992. Variations in tropical airspora in Singapore. *Mycol. Res.* 96:221-224.
- Tilak, S.T. 1984. Aerobiology and cereal crop diseases. *Rev. Trop. Plant Pathol.* 1:329-354.
- Turner, P.D. 1966. The fungal spora of Hong Kong as determined by the agar plate method. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 49:255-267.
- Upsher, F.J. & Griffiths, A.D. 1973. Air spora of a site in Tropical Queensland, Australia. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 6:537-545.
- Vandavakis, E. 1990. Seasonal fluctuations of soil microfungi in correlation with some soil enzyme activities and va-micorrhizae associated with certain plant of a typical calcixerol soil in Greece. *Mycologia* 82 : 715-726.
- van Reenen-Hoekstra, E.S., Samson, R.A., Verhoeff, A.P., van Wijnen, J.K., & Brunekreef, B. 1992. Detection and identification of moulds in Dutch houses and non-industrial work environments. *Grana* 30: 418-423.
- Vánky, K. 1987. *Illustrated Genera of Smut Fungi*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Verhoeff, A., Van Wijnen, J., Attwood, P., Boleij, J., Brunekreef, B., van Reenen-Hoekstra, E. S. & Samson, R.A. 1988. Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in houses: a comparison of selected measurement techniques. Municipal Health Service. Public Health and Environmental Section, Amsterdam.
- Verhoeff, A., Van Wijnen, J., Boleij, J., Brunekreef, B., van Reenen- Hoekstra, E. S. & Samson, R.A. 1990. Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in houses. *Allergy* 45:275-284.
- Verhoeff, A., van Wijnen, J. H., Hoekstra, E. S. , Samson, R. A., van Strien, R. T. & Brunekreef, B. 1994. Fungal propagules in house dust: relation with home characteristics, En: R. A. Samson, B. Flannigan, M.E. Flannigan, A. P. Verhoeff, O. C. G. Adan & E. S. Hoekstra (Eds.). *Health Implications of Fungi in Indoor Environments*, pp. 129-140. Elsevier, Amsterdam.
- Vittal, B.P.R. & Krishnamoorthi, K. 1981. Air spora of an agricultural farm in Madras, India. *Grana* 20:61-61.

- von Arx, J. 1981. *The Generas of Fungi Sporulating in Pure Culture*, 2nd. ed. J. Cramer, Lehre, 315 pp.
- Waegemeakers, M., Wageningen, N., van Brunckreef, B. & Boleij, J. S. M. 1989. Respiratory symptoms in damp homes: a pilot study. *Allergy* 44: 192-198.
- Wickman, M., Gravesen, S., Nordvall, S.L., Pershagen, G. & Sundell, J. 1992. Indoor viable dust-bound microfungi in relation to residential characteristics, living habits, and symptoms in atopic and control children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 89: 752-759.
- Wiley, B., Herbert, R., Armstrong, J. & Kaplan, A. 1982. The aerobiology of an environmental test chamber. *Mycologia* 74: 886-893.
- Wright, T.J., Greehe, V.W. & Paulus, J.J. 1969. Viable microorganisms in an urban atmosphere. *J. Air. Poll. Contr. Assoc.* 19: 337-341.
- Youssef, Y.A. & Karam El-Din, A. 1988. Airborne spores of opportunistic fungi in the atmosphere of Cairo, Egypt. I. Mould fungi. *Grana* 27: 89-92.
- Zarco, J. 1986. Estudio de la distribución ecológica de los hongos (principalmente macromicetos) en el Valle de México, basado en los especímenes depositados en el herbario ENCB. *Rev. Mex. Mic.* 2:41-72.
- Ziccardi, A. 1987. Delegación Venustiano Carranza. En: Atlas de la Ciudad de México (Garza, G. & Programa de Investigación Científica y Capacitación Técnica (Eds.). Depto. de Publicaciones de El Colegio de México, Mexico D.F., pp. 315-319.