



UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona

icta



Aerobiología de las esporas
de *Pleosporales* en ambientes
intra y extradomiciliarios de
Barcelona. Aplicación a la
clínica en población alérgica

Alvaro León Rúa Giraldo

Tesis doctoral
2013

Directores

Jordina Belmonte Soler
Jorge Martínez Quesada



**Aerobiología de las esporas de *Pleosporales* en
ambientes intra y extradomiciliarios de Barcelona.
Aplicación a la clínica en población alérgica.**

Tesis doctoral

Alvaro León Rúa Giraldo

Institut de Ciència i Tecnologia Ambientals (ICTA)
Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia
Universitat Autònoma de Barcelona

Bellaterra, julio 2013

**Aerobiología de las esporas de *Pleosporales* en
ambientes intra y extradomiciliarios de Barcelona.
Aplicación a la clínica en población alérgica**

Tesis doctoral

Memoria presentada por

Alvaro León Rúa Giraldo

para optar al grado de Doctor

Con el visto bueno de los directores de tesis:

Dra. Jordina Belmonte Soler

UAB-ICTA

Dr. Jorge Martínez Quesada

EHU

Institut de Ciència i Tecnologia Ambientals (ICTA)
Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia
Universitat Autònoma de Barcelona

Bellaterra, julio 2013

A mi familia

*A Herta Vélez, Luz H. Moncada,
Myrtha Arango y Auxilio Ramírez*

Mis maestras.

Agradecimientos

Mi más profundo sentimiento de gratitud a los directores de esta tesis. A la Dra. Jordina Belmonte Soler por darme la oportunidad de cruzar el Atlántico para venir a aprender todo lo que me llevo de regreso a mi Colombia y por la confianza que depositó en mí. Al Dr. Jorge Martínez Quesada por sus consejos, apoyo y su forma tan particular de decir las cosas (directa, sin rodeos). A los dos, mil gracias por brindarme todo su conocimiento y experiencia, espero ser terreno fértil que dé frutos y los comparta con otros.

Al Dr. Tito Morales Pinzón, llegó como mandado del cielo. Muchas gracias por la invaluable colaboración para llevar a feliz término esta tesis y por la amistad y esas tardes de ocio en Barcelona.

A los médicos de las consultas de alergia y a las instituciones que representan por invitar a sus pacientes a participar en este estudio. Dr. Joan Bartra Tomás (Hospital Clinic de Barcelona), Dra. Victoria Cardona Dahl y Dra. Olga Luengo (Hospital Valle d'Hebrón), Dr. Joseph Maria Torres (Clínica Teknon), Dra. Montserrat Bosque (Hospital de Sabadell), Dra. Marta Viñas Domingo (Hospital de Terrassa), Dra. Pilar García Ortega q.e.p.d. y Dra. Teresa Dordal (Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona).

A las personas que aceptaron participar en la investigación. Gracias por la confianza para dejarme entrar en sus casas y la buena disposición durante la duración del estudio.

A los amigos, y amigos de mis amigos que me permitieron abusar de su cordialidad para usarlos como controles en el estudio.

A la Dra. Concepción de Linares "Conchi", por la acogida tan cálida desde el primer momento, por su apoyo incondicional, por sus consejos, por su paciencia y por compartir su forma de ser tan especial con mi familia. Ella sabe que en Medellín siempre será bienvenida.

A mis amigos de la Unitat de Botànica, especialmente a David, Ruth, Silvia, Rebeca, Alba, las dos Elenas, Oriol, Txell, Pep, Ramón, Miquel, Joan y a los compañeros del tercer piso. Gracias por todos los buenos ratos compartidos, por la colaboración desinteresada y por las palabras de ánimo.

Al Dr. Josep Girbal de la Unitat de Botànica de la UAB por su valiosa colaboración y asesoría y por el préstamo de los equipos muestreadores.

A Mirna, por aguantar durante todo este tiempo mi genio y mi humor negro. Por siempre estar atenta a mis cosas. Mi Dios te pague.

A Antonio Gutiérrez por toda la colaboración durante mis estancias en Vitoria y tener la paciencia para repetirme *n* veces las cosas que se me olvidaban. Espero me disculpe si alguna vez me pasé con mis bromas.

A los compañeros de la Universidad del País Vasco en Vitoria. A la Dra. Idoia Postigo y al Dr. Jorge Guisantes por su caluroso recibimiento y el conocimiento compartido; a Maialen, Ilargi, Irati, Raúl, Andrea, Maria. Por su inmensa colaboración y amabilidad, eskerrik asko!!!

A Yolanda Maldonado y sus compañeros del ICTA por siempre estar dispuestos a hacerme más fácil todos los trámites dentro de la UAB.

A mi familia. Mi mayor bendición y orgullo. Los 8529 kilómetros que nos han separado durante todos estos años han fortalecido el amor que siento hacia ellos y me han corroborado lo afortunado que he sido de tenerlos a mi lado. A mis padres Javier y Orfilia, todo lo que haga es poco para recompensar

tanto que he recibido y he aprendido de ellos. A mis hermanas (Lorena y Noelia) y mis hermanos (Jaime y Diego) que siempre me han hecho sentir el consentido de la casa. A mis sobrinas Maira, Daniela, Camila, Yiye, Mariana y mi precioso sobrino Juan Sebastián, son mi adoración y mi motivo para alcanzar todas las metas y fijarme nuevas. A Lina, Yamile, a mi tío Carlos, a toda la familia y amigos de la familia, mil gracias por los mensajes de ánimos y por sus oraciones.

A Felipe por cada mensaje y por ser tan constante y soñador.

A Carlos Alberto y Marina, mis amigos del alma.

A Camilo, José, Jorge, Sebastián, Maribel, Rogelio y todos aquellos amigos que han cruzado los dedos para que me salgan las cosas bien.

A Ana Luz Galván. A veces pienso si debo agradecerle o mentarle la madre por embarcarme en este viaje. Pero ahora que le veo final solo resta decir, muchas gracias. Y también por los gratos recuerdos que nos llevamos de los viajes.

A Myrtha Arango. Otro ángel que Dios ha enviado para hacerme más grata la vida.

A Herta Vélez, Luz H. Moncada, Gloria Durango, Lucía Santamaría, Martha Lucía Escobar y María Cecilia Ortega, mis profesoras de Micología, de quienes aprendí a amar a los hongos y la docencia. Herta y Luz H, a ustedes les debo la pasión por aprender y hacer las cosas de la manera como debe ser.

A Stella Restrepo (q.e.p.d) por esa confianza ciega en mi que me motivó y me sigue impulsando después de tantos años.

A Auxilio Ramírez, por meterme al mundo de la Aerobiología, por creer en mí, por esa gran energía con la que contagia a todos y todo los que la rodean.

A Alejandro Mesa Arango, por tener siempre las palabras acertadas y por incluirme en sus oraciones.

A Jairo Alonso Mesa, por los saludos cortos pero motivadores.

A la Universidad de Antioquia. Mi Alma Mater.

A las directivas, compañeros, ex alumnos y amigos de la Escuela de Microbiología.

A mis compañeros y amigos del Departamento de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Medicina, U de A.

A la Dra. Angela Restrepo, al Dr. Juan Guillermo McEwen y los amigos de la Corporación para Investigaciones Biológicas.

A mis grandes amigos de la Unidad de Biología Celular e Inmunogenética de la CIB. Isaura, Ana, Orville, Angela, Diana, Luisa, José. Los quiero mucho.

A mis compañeros de travesía por Europa y Asia. Angela, Ana C, Zaira, María y Ana, Carmen. Qué bien la pasé con ustedes. Espero que algún día podamos reencontrarnos para visitar otro continente.

Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias por la beca durante los tres primeros años del doctorado.

A DIOS, por todo. Por los amigos y demás personas e instituciones que puso en mi camino para poder culminar con éxito esta tesis.

Tabla de contenido

Resumen	11
Abstract	13
Introducción general	15
Objetivos	17
Objetivo general	17
Objetivos específicos	17
Capítulo 1. Esporas de <i>Pleosporales</i> en la atmósfera de Cataluña (NE de España): Diversidad y dinámica (1995-2009)	19
Introducción	21
Materiales y métodos	24
Descripción geográfica y entorno bioclimático de los puntos de muestreo	24
Muestreo e identificación de esporas	24
Análisis estadístico	25
Resultados	25
Discusión	32
Efectos del ámbito rural o urbano en la presencia de esporas de <i>Pleosporales</i> en la atmósfera	32
Estacionalidad de las esporas de <i>Pleosporales</i>	32
Dinámica anual de las esporas de <i>Pleosporales</i> en la atmósfera	32
Efecto de los parámetros meteorológicos sobre el tipo, la concentración y la dinámica aerobiológica de las esporas de <i>Pleosporales</i>	32
Capítulo 2. Ascosporas y conidias de <i>Pleosporales</i> en la aerospora de la ciudad de Barcelona (España) durante el año 2010. Dinámica diaria y horaria e influencia de los parámetros meteorológicos	35
Introducción	37
Materiales y métodos	40
Descripción geográfica y condiciones bioclimáticas	40
Muestreo e identificación de las esporas	40
Análisis estadístico	40
Resultados	41
Discusión	55
Comportamiento aerobiológico de los grupos de <i>Pleosporales</i> y los fragmentos de hifas dematiáceas en el aire de Barcelona	56
Comportamiento estacional e intradiurno de los <i>Pleosporales</i> meiospóricos	57
Comportamiento estacional e intradiurno de los <i>Pleosporales</i> mitospóricos	65
Capítulo 3. Esporas de <i>Pleosporales</i> asociados a manifestaciones alérgicas en el aire interior y exterior de viviendas del área metropolitana de Barcelona. Efectos de las características locativas y climáticas	79
Introducción	81

Materiales y métodos	86
Descripción de la población, del entorno y de las viviendas estudiadas	86
Pruebas diagnósticas utilizadas con los participantes	87
Estudio aerobiológico y del material particulado sedimentado sobre las superficies	87
Análisis de muestras de aire	87
Muestreo de esporas totales en el exterior	90
Muestreo de hongos totales en el interior	90
Muestreo de los hongos cultivables en interior y exterior	90
Análisis de material particulado sedimentado sobre superficies (polvo sedimentado)	91
Determinación de niveles del alérgeno Alt a 1 en material particulado ..	91
Variables ambientales	91
Base de datos y análisis estadístico	91
Resultados	92
Descripción de la población estudiada	92
Características de las viviendas analizadas	92
Recuentos de esporas y unidades formadoras de colonias	95
Discusión	122
Características de la población y los ambientes estudiados	122
Efecto de las condiciones ambientales sobre los niveles de <i>Pleosporales</i> en el aire y las superficies	125
Niveles de esporas y UFC totales y de <i>Pleosporales</i> en el aire de ambientes exteriores	126
Niveles de esporas y UFC totales y de <i>Pleosporales</i> en el aire de ambientes interiores	128
Niveles de esporas y UFC totales y de <i>Pleosporales</i> en superficies de ambientes exteriores	132
Niveles de esporas y UFC totales y de <i>Pleosporales</i> en superficies de ambientes interiores	133
Relación I/O para esporas y UFC totales y de <i>Pleosporales</i>	134
Relación entre características de las viviendas y los niveles de hongos	135
Concentraciones de Alt a 1 en ambientes interiores	136
Comportamiento aerobiológico de los taxones de <i>Pleosporales</i> observados en ambientes interiores y exteriores	137
Conclusiones	159
Anexos	163
Referencias bibliográficas	173

Resumen

El Orden *Pleosporales* incluye hongos dematiáceos con distribución cosmopolita y que suelen comportarse como saprofitos o parásitos de la madera y las hojas. Tienen notable repercusión agrícola debido a que causan cuantiosas pérdidas económicas por infección de cultivos, principalmente de cereales, verduras, frutales y pastos, y de plantas en general. En patología humana y veterinaria se han relacionado con afecciones que van desde colonizaciones cutáneas leves hasta infecciones diseminadas fatales, pasando por el hecho de que dentro de este orden se encuentran algunos de los hongos alergénicos más reconocidos como *Alternaria* y *Epicoccum*. La aerobiología de las conidias de *Alternaria* ha sido ampliamente estudiada por su gran importancia como fitopatógeno y alérgeno, no obstante, a pesar de que se ha demostrado alta homología entre algunas de sus moléculas alergénicas y factores de virulencia con las de otros géneros dentro de los *Pleosporales*, poco se conoce acerca de la diversidad y distribución en la atmósfera y del efecto de los factores ambientales sobre estos otros *Pleosporales*.

Barcelona y su área metropolitana es una zona densamente poblada con un clima templado influenciado por el mediterráneo y caracterizado por veranos cálidos y secos e inviernos no muy fríos y otoños y primaveras lluviosos, condiciones consideradas óptimas para el desarrollo de la mayoría de los hongos. La prevalencia de enfermedades alérgicas en la zona es alta, y la sensibilización a alérgenos fúngicos afecta a más del 23% de la población atópica, asociándose principalmente a la frecuencia de las esporas de *Alternaria* en el aire. No obstante, el aporte de otros taxones filogenéticamente relacionados con *Alternaria* a la aerospora de Barcelona se desconoce. Con el propósito de dilucidar el comportamiento aerobiológico de los *Pleosporales* en Barcelona, se procedió a: 1) establecer el comportamiento estacional de las esporas de *Pleosporales* más frecuentemente identificadas en el aire de tres regiones en Cataluña con diferentes características ambientales (Barcelona, Bellaterra y Lleida), su dinámica a través de un periodo de 15 años y la correlación con los parámetros meteorológicos por medio del análisis retrospectivo de las bases de datos de la Xarxa Aerobiològica de Catalunya desde 1995 al 2009; 2) identificar las esporas de *Pleosporales* (diversidad) en el aire de la ciudad de Barcelona durante el año 2010, determinando el comportamiento horario y diario de cada taxón y el efecto de las variables meteorológicas sobre su presencia y variabilidad en la atmósfera; y 3) analizar la presencia de *Pleosporales* en el aire y el polvo sedimentado en ambientes intra y extradomiciliarios de las viviendas de individuos sensibilizados a *Alternaria* y un grupo control (no sensibilizados al hongo) en Barcelona durante las cuatro estaciones climáticas y empleando métodos para hongos viables y no viables, además de determinar los niveles del alérgeno Alt a 1 en las muestras de polvo del interior de las viviendas.

El estudio retrospectivo de 15 años de monitoreo, permitió establecer que los *Pleosporales* mitospóricos predominaron en la aerospora de todas las zonas estudiadas, siendo *Alternaria* el taxón más frecuentemente observado. Las mayores concentraciones se presentaron en zonas rurales (Lleida) o semiurbanas (Bellaterra) comparadas con los ambientes urbanos (Barcelona). Los *Pleosporales* mitospóricos presentaron un comportamiento estacional con un incremento del nivel de las esporas asociado al aumento de la temperatura y la disminución de la humedad relativa. En contraste, los *Pleosporales* meiospóricos no mostraron un patrón claro, aunque si evidenciaron un comportamiento contrario a los mitospóricos, correlacionándose principalmente a periodos de humedades relativas altas. Durante el año 2010 se identificaron 32 taxones de *Pleosporales*, nuevamente con el predominio de los estadios mitospóricos a expensas de las conidias de *Alternaria*, *Epicoccum* y *Stemphylium*. Dentro de los *Pleosporales* meiospóricos las ascosporas de *Leptosphaeria* y *Pleospora* fueron las más representativas. Aunque el comportamiento horario no fue común entre todos los *Pleosporales*, se describió una tendencia a la liberación diurna (hacia el

mediodía) de las esporas entre los mitospóricos y nocturna (hacia la madrugada) en los meiospóricos. Con respecto al estudio de los ambientes intra y extradomiciliarios, los hallazgos corroboran la infravaloración de los niveles de hongos cuando se emplean solamente los métodos para organismos viables ya que no permiten el crecimiento de *Pleosporales* meiospóricos y la cuantificación de los mitospóricos en forma de unidades formadoras de colonias (UFC) da resultados significativamente inferiores a los métodos para no viables. Adicionalmente se observó que las concentraciones fueron evidentemente mayores en el exterior que en el interior, y que eran aún superiores cuando la vivienda se ubicaba en zonas rurales que en semiurbanas. *Alternaria* fue también el taxón más comúnmente observado en el método viable, tanto en las muestras de aire en el interior como en las del exterior. En cuanto a las superficies, aquellas obtenidas de exteriores presentaron un mayor número de esporas o UFC por cm² y una mayor diversidad de *Pleosporales* que las de interiores, y estuvieron dominadas por los *Pleosporales* productores de macroconidias. Las esporas y UFC fueron significativamente mayores durante el verano, tanto en el aire interior como en el exterior, no obstante sobre las superficies de exterior los mayores recuentos se presentaron en invierno o en otoño. Algunas características de las viviendas, como la presencia de moquetas, la ventilación natural por ventanas abiertas y la presencia de mascotas, se correlacionaron con los niveles de algunos taxones de *Pleosporales*.

Los hallazgos sugieren que la abundancia de los *Pleosporales* en la atmósfera podría representar riesgo de sensibilización para los individuos expuestos o de exacerbación de los síntomas en los ya sensibilizados a los alérgenos de *Alternaria* u otros *Pleosporales*, debido principalmente a la reactividad cruzada. Para establecer el riesgo real que supone la exposición a estos agentes, es necesario demostrar la presencia del gen que codifica para Alt a 1 y la producción de esta proteína en los géneros de *Pleosporales* comunes en el aire. También hay que continuar con la búsqueda de otras moléculas alérgicas determinando la prevalencia de sensibilización a estos nuevos alérgenos en la población.

Abstract

Order *Pleosporales* includes dematiaceous fungi with cosmopolitan distribution and usually behaving as saprophytes or parasites of wood and leaves. *Pleosporales* have an important impact on agriculture because they cause economic losses by infecting crops (mainly cereal, vegetables, fruits and pastures), and plants in general. In human and veterinarian pathology they have been linked to a wide range of illnesses from mild skin colonization to fatal disseminated infections, and through allergy, as the most recognized allergenic fungi (*Alternaria* and *Epicoccum*) are comprised amongst of them. Aerobiology of *Alternaria* conidia has been intensively studied because of its huge importance as phytopathogen and allergen; however, despite high homology between some allergenic molecules and virulence factors with other *Pleosporales* genera has been demonstrated, little is known about the diversity and distribution in the atmosphere of these other *Pleosporales* and the effects that environmental factors have on them.

Barcelona and its metropolitan area is a densely populated area with a mild climate influenced by the Mediterranean Sea. It is characterized by warm and dry summers and mild winters, as well as by rainy springs and falls. These conditions are considered optimal for the development of most fungi. The prevalence of allergic diseases in the area is high, and sensitization to fungal allergens affects more than 23% of the atopic population, mainly associated with the frequency of *Alternaria* spores in the air. However, the contribution to the aerospora of Barcelona of other taxa phylogenetically related to *Alternaria* is unknown. In order to elucidate the aerobiological behavior of the *Pleosporales* in Barcelona, this study aimed to: 1) establish the seasonal behavior of the most common *Pleosporales* spores identified in the air of three regions with different environmental characteristics in Catalonia (Barcelona, Bellaterra and Lleida); their dynamics in the atmosphere and correlation with meteorological parameters in a 15 years period using data from 1995 to 2009 provided by the Xarxa Aerobiològica de Catalunya, 2) identify *Pleosporales* spores (diversity) in the air of Barcelona year 2010, determining for each taxon the hourly and daily distribution and the effect of meteorological parameters, and 3) analyze the presence of *Pleosporales* spores in the air and settled dust in indoors and outdoors housing environments of people sensitized to *Alternaria* and a control group (not sensitized to the fungus) in Barcelona, at four moments in the year corresponding to climatic seasons, using methods for viable and non-viable fungi and also measuring the alt a 1 allergen in the indoor dust samples.

The study of the 15 years dataset showed that *Alternaria* was the most frequent mitosporic *Pleosporales* taxon in the aerospora of the three studied areas. The highest concentrations occurred in the rural (Lleida) and suburban (Bellaterra) areas, while the urban environment (Barcelona) showed lower levels. Mitosporic *Pleosporales* presented seasonal behavior, increasing their levels with increasing temperature and decreasing relative humidity. In contrast, meiosporic *Pleosporales* did not show a clear pattern, and correlated mainly with periods with high relative humidity. In 2010, 32 *Pleosporales* taxa were identified, again with the predominance of mitosporic stages due to the abundance of *Alternaria*, *Epicoccum* and *Stemphylium* conidia. Within meiosporic *Pleosporales*, *Leptosphaeria* and *Pleospora* ascospores were the most representative. Regarding the hourly behavior, mitosporic *Pleosporales* showed a tendency to be released during daylight (about noon) while meiosporic *Pleosporales* showed a nocturnal release tendency (toward dawn). With regard to the study of indoors and outdoors environments, our results corroborated that fungi levels were underestimated not only when using measuring methods for viable organisms, which do not allow meiosporic *Pleosporales* growth, but also when making the quantification of colony forming units (CFU) of mitosporic taxa and comparing them with total spore counts. Additionally, it was found that the concentrations were obviously higher outdoor than indoor, and were even higher in rural than in suburban areas. *Alternaria* was also the most commonly observed taxon in the viable method, both in

indoor and outdoor air samples. Regarding outdoor surfaces, they showed higher number of spores or CFU/cm² and higher *Pleosporales* diversity than indoor surfaces and were dominated by taxa producing macroconidia. Counts of Spores and CFU were significantly higher during summer, both in indoors and outdoors air, however, counts of the outdoor surfaces samples were higher in winter and autumn. Some characteristics of homes, such as presence of carpets, natural ventilation through open windows and having pets, showed correlations with the levels of some taxa *Pleosporales*.

These findings suggest that the abundance of *Pleosporales* spores in the atmosphere could be a risk of sensitization to the exposed people and of exacerbation of symptoms in those already sensitized to allergens of *Alternaria* or other *Pleosporales*, mainly due to cross-reactivity. To establish the actual risk of the exposure to these particles, it is necessary to demonstrate the presence of the gene coding for Alt a 1 and the production of this protein in common *Pleosporales* taxa in the air. It is also important to pursue the search for other allergenic molecules and to determine the prevalence of sensitization of the population to these new allergens.

Introducción general

Los hongos son ubicuos en la naturaleza y están involucrados en un amplio rango de ecosistemas donde cumplen roles muy diversos, e incluso opuestos, como promover la vida al descomponer la materia orgánica muerta en compuestos útiles para ellos mismos y otros organismos, y provocar daño al colonizar, infectar o intoxicar a una extensa gama de huéspedes fúngico, vegetales y animales. En su ciclo de vida, los hongos se reproducen típicamente por esporas que se forman en procesos sexuales y asexuales, morfológicamente distinguibles y cuya producción, liberación y dispersión están condicionadas por múltiples factores, de los que dependerá el éxito o el fracaso de su permanencia y distribución en los ambientes. La mayoría de hongos producen al menos un tipo de spora diseñada para su dispersión por el aire, debido a la alta eficacia de este método de propagación, que permite la dispersión desde pocos centímetros hasta miles de kilómetros.

En las últimas décadas se han dedicado esfuerzos para conocer el comportamiento aerobiológico y la distribución en la atmósfera de las esporas de algunos taxones de hongos, con el fin de establecer el grado de exposición o el riesgo relativo al que están sometidos los huéspedes susceptibles en determinados ambientes, tanto intra como extramurales. Debido a que las condiciones varían entre un lugar y otro, no es posible considerar una flora micótica o niveles de referencia comunes. Por tal motivo, lo correcto sería conocer lo que sucede en cada ambiente de interés, para aplicar, si es el caso, las medidas correctivas específicas.

Monitoreos aerobiológicos alrededor del mundo han permitido establecer cuáles son los hongos de mayor distribución y las condiciones que favorecen su permanencia y distribución en la atmósfera. Para algunos taxones se conoce muy bien su comportamiento aerobiológico, ya sea por su importancia como fitopatógenos, causando millonarias pérdidas en cosechas, o por su efecto sobre la salud humana y animal. Hongos como *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, y principalmente *Alternaria*, han sido objeto de numerosos estudios y trabajos de tesis, no obstante, recientemente se ha demostrado que otros taxones también son importantes, tanto por su frecuencia de aparición en el aire, como por su relación con manifestaciones alérgicas.

Alternaria y otros mohos dematiáceos están ampliamente distribuidos en ambientes interiores y exteriores debido a la protección que les confiere los altos niveles de melanina a nivel de su pared celular contra el efecto germicida de la luz ultravioleta del sol y otro tipo de radiaciones. Adicionalmente a su frecuencia en la aerospora, primera causa de su capacidad alergénica, la importancia de estos mohos, en especial de aquellos filogenéticamente más relacionados, radica en que comparten proteínas alergénicas y determinantes de virulencia. Un ejemplo a resaltar es la proteína Alt a 1, el alérgeno fúngico más reconocido, originalmente descrito en *Alternaria alternata* pero cuya producción se ha demostrado en especies de *Alternaria* y otros géneros dentro del orden *Pleosporales*. Estudios recientes han demostrado que géneros relacionados con *Alternaria*, como *Stemphylium* y *Ulocladium*, pueden producir inclusive mayores niveles de esta proteína alergénica, lo cual podría explicar la falta de correlación observada en algunas investigaciones entre los niveles del alérgeno y las concentraciones de *Alternaria*, principalmente en el aire o el material particulado en ambientes interiores.

La comprensión de la relación entre la exposición a hongos y la aparición de los cuadros clínicos de alergia o de infección se ha dificultado debido a la subjetividad de los métodos empleados para medir tal exposición y también a la variabilidad personal, los cuales han incluido los conteos de esporas, los cuestionarios o encuestas de vigilancia epidemiológica y la medición del crecimiento visible de hongos en ambientes interiores. Generalmente, los monitoreos aerobiológicos se limitan a la utilización de un solo método de muestreo, ya sea para partículas viables o no viables, con la

consabida subvaloración de la concentración total cuando se emplean los métodos basados en el cultivo de las esporas. Los ambientes exteriores normalmente suelen tener una carga micótica varias veces mayor a las halladas en interiores, pero por lo general en ambos ambientes se encuentran los mismos grupos de hongos, aunque con predominio de hongos hialinos en ambientes intramurales y dematiáceos en extramurales, por tal motivo, todo estudio de la flora micótica interior debe ir acompañado del análisis comparativo con lo que se encuentra en el exterior. El tamaño de las esporas es un condicionante que limita la permanencia de un hongo en el aire, ya que aquellas más livianas permanecerán resuspendidas por periodos más prolongados y serán elevadas de las superficies con mayor facilidad que aquellas de mayor tamaño. Esto implica que al análisis del aire debe sumarse el estudio de superficies con el fin de establecer la presencia en el ambiente de taxones productores de conidias grandes, como es el caso de los *Pleosporales*. Adicionalmente, la búsqueda de componentes celulares o metabolitos en el aire o en el polvo depositado sobre las superficies, pueden evidenciar la presencia de algunos taxones que suelen encontrarse en bajas concentraciones o que son morfológicamente difíciles de diferenciar y permiten una correlación más directa con la aparición de manifestaciones clínicas, ya que son estas moléculas las directamente responsables del daño, más que la sola presencia del hongo.

En resumen, el limitar los análisis aerobiológicos a la búsqueda de las esporas o colonias de *Alternaria*, deja a medio camino cualquier investigación, más aún cuando lo que se pretende es establecer correlaciones entre su presencia y el desarrollo o la exacerbación de los síntomas de alergia. Es indispensable incluir en la identificación y en el conteo, no solo *Alternaria*, sino también aquellos taxones más relacionados; estudiar tanto el aire como las superficies de ambientes interiores y exteriores; emplear métodos para partículas no viables (que permitirán establecer la carga total de partículas micóticas e identificar aquellos hongos incapaces de crecer en los medios de cultivo convencionales), métodos para partículas viables (que ayudarán a establecer qué hongos pueden reproducirse potencialmente en el ambiente estudiado y facilitarán la identificación de género, y, en algunos casos, de especie) y la búsqueda en el ambiente de las moléculas directamente responsables de las manifestaciones clínicas (proteínas, compuestos orgánicos volátiles, toxinas, entre otros). Todo lo anterior, sumado a la caracterización locativa del ambiente y el análisis los factores atmosféricos, no solo de manera puntual sino continuada, o al menos que abarque las diferentes estaciones climáticas que se presentan en la zona, permitirán identificar los hongos que implican algún riesgo para la salud o de contaminación de materiales o productos y las condiciones que favorecen su permanencia o multiplicación en el ambiente y que deberán ser vigiladas o modificadas para disminuir la posibilidad o la magnitud del daño, conocer las épocas del año críticas y que requerirán de acciones de control e implementar esquemas de tratamiento e intervención más dirigidos de acuerdo al riesgo relativo al que está sometido cada individuo, sea persona alérgica, zona de cultivo o material y producto.

Objetivos

Objetivo general.

Establecer el comportamiento aerobiológico de algunos géneros de *Pleosporales* en la atmósfera de ambientes interiores y exteriores de Barcelona y su correlación con las condiciones locativas y los parámetros meteorológicos.

Objetivos específicos

Determinar el comportamiento aerobiológico de las esporas sexuales (ascosporas) y asexuales (conidias) de *Pleosporales* identificadas en tres localidades en Cataluña (España) de características medioambientales y de urbanización diversas, durante un periodo de 15 años.

Identificar las esporas de *Pleosporales* presentes en el aire de la ciudad de Barcelona durante el año 2010, estableciendo la influencia de las condiciones medioambientales sobre su permanencia y fluctuación estacional, diaria y horaria en la atmósfera.

Reconocer los géneros de *Pleosporales* más frecuentes en el aire y en las superficies interiores y exteriores de viviendas de individuos alérgicos y no alérgicos en Barcelona, empleando metodologías para hongos viables y no viables, correlacionando su presencia y fluctuación con las condiciones locativas y ambientales durante un año de estudio.

Cuantificar los niveles del alérgeno principal de *Alternaria alternata*, Alt a 1, en el polvo sedimentado en el interior de viviendas de individuos alérgicos y no alérgicos en Barcelona, durante dos estaciones climáticas y su correlación con los niveles de esporas o UFC de *Alternaria* y otros *Pleosporales*, las características locativas y las variables atmosféricas.

Capítulo 1.
Géneros seleccionados de *Pleosporales*
en la atmósfera de Cataluña (NE de España):
Diversidad y dinámica (1995-2009).

Géneros seleccionados de *Pleosporales* en la atmósfera de Cataluña (NE de España): Diversidad y dinámica (1995-2009).

Introducción

Los hongos son ubicuos en el medioambiente, y a pesar de que el aire no es su hábitat definitivo, normalmente lo utilizan como ruta de dispersión (**Bovallius & Roffey 1987**). Estos organismos han sido asociados con enfermedad en humanos, animales y plantas, al igual que se ha reconocido su potencial para inducir una respuesta inmunológica aumentada en individuos con hipersensibilidad a ciertas proteínas fúngicas (**Kasprzyk 2008**). Las concentraciones de esporas y los taxones de hongos presentes en el aire varían significativamente en respuesta a múltiples factores medioambientales y de sitio, como la hora del día, la localización geográfica, la contaminación ambiental, la actividad humana y la vegetación en el área circundante (**Li & Kendrick 1996, Weber 2003, Jones & Harrison 2004**). La influencia de la diversidad y abundancia de la flora ha sido un factor subestimado en los estudios aerobiológicos, a pesar de que las plantas son el substrato principal donde los hongos desarrollan la mayor parte de su ciclo de vida. Por lo tanto el tipo de vegetales que crece o se cultiva en un área y cualquier cambio en su ecología tienen un efecto importante sobre las concentraciones de la micoflora atmosférica (**Thomma 2003, Awad 2005**).

Numerosos estudios han examinado las concentraciones y diversidad de las esporas fúngicas en ambientes exteriores, incluyendo zonas urbanas, suburbanas y rurales (**Aira et al. 2013, Oliveira et al. 2010c**), y en algunos casos áreas especiales de ambientes ocupacionales como industrias de manejo de desechos (**Lugauskas et al. 2004**), áreas de compostaje (**Swan et al. 2003**), vertederos municipales (**Danuta et al. 2004**) y áreas de cultivo (**Bellí et al. 2006, Haas et al. 2010, Escuredo et al. 2011**). La mayoría de los trabajos científicos publicados limitan el análisis a los géneros *Alternaria*, *Cladosporium* y *Aspergillus* por ser estos los agentes alergénicos más reconocidos. En España, el grueso de los estudios sobre la aerospora, hacen referencia a las esporas de *Alternaria* y *Cladosporium* en diversas áreas durante un periodo de tiempo (generalmente un año) y su relación con los parámetros meteorológicos (**Fernández-González et al. 1993, Infante et al. 1999, Sabariego et al. 2000, Munuera et al. 2001, Gómez de Ana et al. 2006, Sabariego et al. 2007, Aira et al. 2008, Bartra et al. 2009, Sánchez et al. 2009, De Linares et al. 2010**).

Las especies del género *Alternaria* han sido consideradas los alérgenos más prevalentes y ampliamente distribuidos (**Sánchez & Bush 2001, Breitenbach et al. 2002, Cantani & Ciaschi 2004, Bartra et al. 2009**), además de ser fitopatógenos importantes responsable de un rango muy amplio de enfermedades con impacto sobre una gran variedad de cultivos agrícolas como cereales, plantas ornamentales, oleaginosas, verduras y frutas (**Pryor & Michailides 2002, Thomma 2003**) asociados a cuantiosas pérdidas económicas alrededor del mundo (**Thomma 2003, Corden et al. 2003, Iglesias et al. 2007**). Además, *Alternaria* spp son reconocidos productores de micotoxinas que contaminan alimentos para el consumo humano y animal y agentes de procesos infecciosos que van desde colonizaciones cutáneas superficiales leves (dermatitis y onicomicosis) hasta formas diseminadas fatales que suelen afectar a individuos inmunocomprometidos (**Boyce et al. 2010, Pavón et al. 2012**). El género *Alternaria* está ubicado taxonómicamente dentro de la familia *Pleosporaceae*, la principal del orden *Pleosporales*, que a su vez es el más importante dentro de la clase *Dothideomycetes* comprendiendo más de un cuarto de todas las especies incluidas en él (**Zhang et al. 2012b**).

Taxonómicamente, la morfología de las ascosporas juega un papel importante en la delimitación de las familias de *Pleosporales*, pero de acuerdo a los primeros trabajos de filogenia molecular de *Dothideomycetes*, las relaciones entre varias familias dentro de este orden están pobremente soportadas por estas características morfológicas (**Schoch C et al. 2009**). El orden *Pleosporales* fue inicialmente propuesto por Luttrell en 1955 y luego revisado por este mismo autor en 1973 basándose para la delimitación de las familias en la morfología de las ascosporas, estructura del ascomata, forma

de los picos u ostiolos y el tipo de hábitat (**Luttrell 1973**). Posteriormente el orden fue formalmente establecido por Luttrell & Barr (**Barr 1987**) considerando como caracteres definitorios la producción de una ascoma peritecioide, usualmente con un ápice papilado, ostiolos con o sin peréfnis, presencia deseudoparáfnis celulares, ascas bitunicadas y ascosporas hialinas o pigmentadas de tonalidades de café y que morfológicamente pueden ser del tipo amerospora (ej: *Semidelitschia* spp), fragmospora (ej: *Phaeosphaeria* spp y *Massariosphaeria* spp), dictiospora (ej: *Pleospora* spp y *Bimuria* spp) o escolescospora (ej: *Cochliobolus* spp o *Entodesmium* spp) (**Zhang et al. 2012b**). Según la más reciente edición de Dictionary of the fungi se acepta que *Pleosporales* está constituido por 23 familias, 332 géneros y más de 4700 especies (**Kirk et al. 2008**). Recientemente se agregaron 5 nuevas familias al orden (**Lumbsch and Huhndorf 2010**), sin embargo **Zhang et al. (2012b)**, estima que aún faltan estudios que incluyan muestreos con secuencias de ADN más extensas, por tal motivo solo incluye 26 familias. En su fase anamórfica, los miembros del orden *Pleosporales* se incluyen principalmente dentro de la clase *Coelomycetes* (orden *Sphaeropsidales*) pero también un gran número hacen parte de la clase *Hyphomycetes* (orden *Moniliales*, familia *Dematiaceae*) (**Hyde et al. 2011**).

Las especies de *Pleosporales* se distribuyen por un sinnúmero de hábitats, y pueden ser epífitos, endófitos o parásitos de hojas o tallos vivos, hiperparásitos de otros hongos o insectos, estar liquenizados o ser saprobios de tallos, hojas o cortezas de plantas muertas en ambientes terrestres y acuáticos (**Zhang et al. 2012b**). Su fácil adaptabilidad a diversos ambientes y la amplia distribución de sus plantas hospederas, permiten que taxones de este orden sean informados prácticamente en todos los inventarios micóticos, tal como lo presenta **Sierra (2006)** en su estudio de Ascomycetes bitunicados en Cataluña (España), quien encontró gran diversidad de *Pleosporales* en un número también extenso de plantas hospederas.

Frecuentemente los miembros del orden *Pleosporales* liberan sus esporas en el aire de forma accidental o como parte de su ciclo de vida (**Schoch et al. 2009**). Muchos géneros dentro de este orden son importantes fitopatógenos, tal es el caso de los estados teleomórficos *Cochliobolus*, *Setosphaeria*, *Pyrenophora*, *Pleospora*, *Lewia* y sus respectivos anamórficos, *Bipolaris/Curvularia*, *Exserohilum*, *Drechslera*, *Stemphylium* y *Alternaria*, responsables de enfermedades de severidad variable sobre plantas. La mayoría de las especies de *Cochliobolus*, *Setosphaeria* y *Pyrenophora* producen solo síntomas leves principalmente en monocotiledóneas, usualmente manchas foliares en pastos silvestres, mientras *Alternaria* spp. ataca los tallos y frutos de dicotiledóneas, principalmente las cultivadas (**Turgeon 1998, Pratt 2006, Zhang et al. 2009**). Algunos de estos géneros anamórficos también se han asociado con infecciones y reacciones de hipersensibilidad en humanos y animales (**Pritchard & Muir 1987, Fothergill 1996, Brandt & Warnock 2003, Revancar & Sutton 2010**). La capacidad patogénica o alergógena compartida entre taxones de *Pleosporales* puede ser explicada por su proximidad filogenética y la exhibición de mecanismos de virulencia o de componentes celulares comunes (o la presencia de genes homólogos que codifican para ellos) (**Soeria-Atmadja et al. 2010**). Ejemplos serían la producción de melanina y la liberación de múltiples proteínas (la mayoría con actividad enzimática) que participan en diversas rutas metabólicas y permiten la fácil adaptabilidad de los hongos de este orden a las condiciones del medio (**Ohm et al. 2012**). Un ejemplo particular dentro de estas proteínas es Alt a 1, reconocido alérgeno para humanos, la cual es conservada en un gran número de miembros dentro de las clases *Dothideomycetes* y *Sordariomycetes*, especialmente en taxones del orden *Pleosporales* (**Hong et al. 2005, Sáenz de Santamaría et al. 2006, Schmechel et al. 2008, Chruszcz et al. 2012**), y aunque el papel de esta proteína en el establecimiento de la infección en plantas no ha sido completamente dilucidado, se presume que tiene una función biológica importante en la patogénesis de *Alternaria brassicicola* sobre *Arabidopsis* (**Cramer & Lawrence 2003**).

Las características ecológicas de algunos de los taxones de *Pleosporales* han sido objeto de muchas investigaciones (**Bashan et al. 1991, Paredes et al. 1997, Guo & Fernando 2005, Rossi et al. 2003, Lian et al. 2007, Leach 2008, Naseri et al. 2009**). Dichos estudios han definido los huéspedes y condiciones que favorecen el desarrollo de estos hongos, no obstante los efectos del cambio en los parámetros meteorológicos sobre la presencia de estas esporas en el aire aún son poco claros. Se conoce que el comportamiento de la aerospora no está determinado por un factor meteorológico

individual, sino por una combinación de diferentes factores y las interrelaciones que se dan entre ellos (**Weber 2003, Grinn-Gofroñ & Strzelczak 2009**). La lluvia y el riego de cultivos son especialmente importantes en el crecimiento de la mayoría de grupos de hongos, además de participar en el proceso de liberación de sus esporas en el aire (**Hirst & Stedman 1963, Lyon et al. 1984**). La liberación de ascosporas (*Pleospora* spp, *Leptosphaeria* spp, *Venturia* spp, etc) y otras esporas de aire húmedo (wet-weather air spora) es favorecida por la lluvia, pero su presencia en el aire es corta y ocurre inmediatamente después de que la lluvia se ha detenido (**Hernández et al. 2012, Rivera-Mariani & Bolaños-Rosero 2012**). En contraste, la concentración de la mayoría de los taxones anamórficos (*Alternaria* spp, *Epicoecum* spp, *Drechslera* spp, etc), incluyendo otras esporas de aire seco (dry-air spora), disminuyen con los eventos de lluvia. Lluvias fuertes y prolongadas pueden “limpiar” el aire de estas esporas temporalmente (**Fitt et al. 1989, Burch & Levetin 2002**). Esta liberación de esporas puede ser también afectada por la temperatura, la humedad relativa, el viento, turbulencias y corrientes de aire (**Bashan et al. 1991, Pasanen et al. 1991, Katial et al. 1997, Jones & Harrison 2004, Bruno et al. 2007**). La velocidad y dirección del viento tienen un efecto crucial en la diseminación de esporas de hongos y la dispersión de esporas vía corrientes de aire desde distancias cortas dentro de un cultivo hasta distancias intercontinentales enormes (**Aylor 1986, Próspero et al. 2005, Skjøth et al. 2012**).

Las esporas de *Pleosporales* muestran usualmente un ritmo estacional en el aire de acuerdo con la meteorología. Sin embargo, dependiendo de los cambios en las condiciones meteorológicas a través del año y la variabilidad climática de un área geográfica, pueden estar presentes en la aerospora a lo largo de todo el año (**Mitakakis & Guest 2001, Stępańska & Wołek 2005, Oliveira et al. 2010b**). El meta-análisis realizado por **Kasprzyk (2008)** basado en estudios aerobiológicos de diversas partes del mundo demostró que en climas moderados la concentración máxima de la mayoría de las esporas ocurre en verano o inicios de otoño. Las diferencias entre concentraciones de la aerospora en áreas rurales y urbanas también han sido estudiadas y pueden ser explicadas por microclimas, como sucede por el efecto invernadero en áreas densamente urbanizadas, que afecta los ciclos circadianos y estacionales de las esporas (**Calderón et al 1997, Pei-Chih et al. 2000, Pepeljnkak & Šegvić 2003, Oliveira et al. 2009**). Dentro de los *Pleosporales*, *Alternaria* es quizás el taxón del que se dispone de mayor conocimiento sobre su comportamiento aerobiológico (**Calvo et al. 1980, Kothari & Tyagi 1993, Angulo-Romero et al. 1999, Sakiyan & Ünçeoğlu 2003, Bush & Prochnau 2004, Rodríguez-Rajo et al. 2005, Gómez de Ana et al. 2006, de Linares et al. 2010, Aira et al. 2013**), y se ha podido establecer que la dispersión de sus conidias ocurre más comúnmente durante épocas secas, con vientos de alta velocidad y humedad relativa baja, además se ha establecido que sus mayores niveles se encuentran en áreas cultivadas con pastos o gramíneas.

En las últimas décadas se han dedicado esfuerzos en el conocimiento de la aerobiología de los hongos y la distribución de ciertos taxones con el fin de establecer el grado de exposición de los individuos tanto en ambientes intra como extradomiciliarios y comprobar su capacidad alergénica y las moléculas responsables de esta, todo esto con el propósito de obtener extractos de proteínas alergénicas de una calidad y especificidad óptimas para realizar un correcto diagnóstico y tratamiento de las alergias a hongos (**Kou & Li 1994, Katial et al. 1997, Newhouse & Levetin 2004, Das & Gupta-Bhattacharya 2008**). Adicionalmente, los avances en el conocimiento de la dinámica de los hongos fitopatógenos, con respecto a las condiciones que favorecen su proliferación, liberación y dispersión por el aire y deposición sobre las cosechas ofrece herramientas valiosas en el momento de establecer métodos de prevención y control más eficientes y económicos, que disminuyan el riesgo al cual se expone un ecosistema al emplear tratamientos indiscriminados y por periodos prolongados.

Materiales y métodos

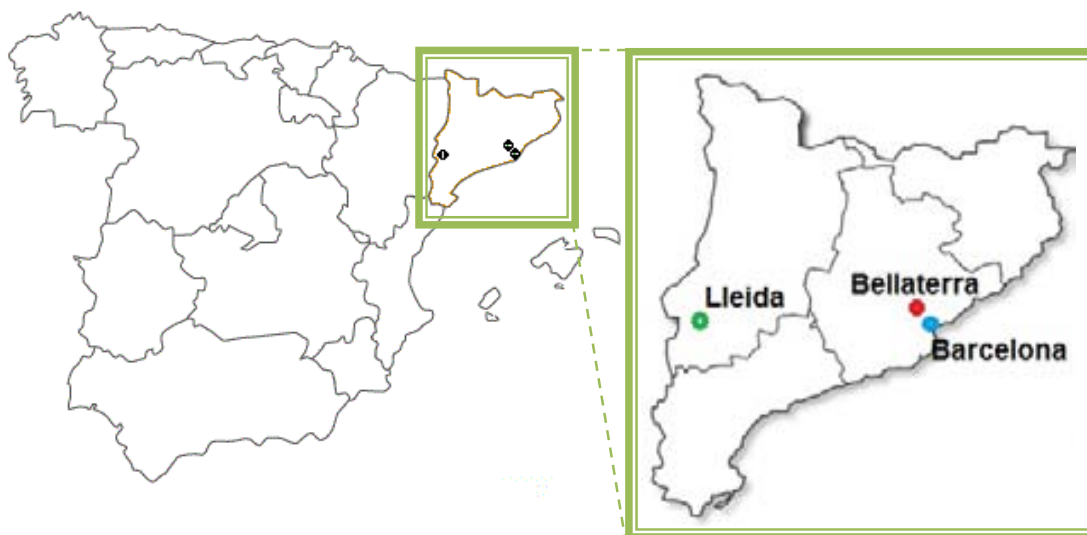
Descripción geográfica y entorno bioclimático de los puntos de muestreo – La ciudad de Barcelona (BCN) es un área urbana densamente poblada, Bellaterra (BTU) es un área semiurbana o urbana mezclada con edificios universitarios, zona de bosques y cultivos, y Lleida (LLE) presenta condiciones cercanas a un ambiente rural (tabla N° 1.1 y figura N° 1.1).

Tabla N° 1.1. Descripción geográfica, paisajística y climática de las estaciones aerobiológicas y de su entorno.

Estación muestreo	Características geográficas			Vegetación	Características climáticas (Allue 1990)		
	Entorno	Altitud (m.s.n.m.)	Coordenadas geográficas	Vegetación & agricultura	Tmedia (°C)	Prec (mm)	Fitoclima
Barcelona (BCN)	urbano	93	41°24' N, 02°09' E	Plantas ornamentales; bosques de roble y árboles de pino en el límite W de la ciudad / Horticultura y cultivos de frutas en el límite S de la ciudad	16,4	593	Fresco-Tético-semiárido
Bellaterra (BTU)	semiurbano	245	41°34' N, 02°06' E	Plantas ornamentales, bisques de robles & árboles de pino / Cultivos de cereales	15,2	594	Fresco-Continental Oriental-semihúmedo
Lleida (LLE)	rural	202	41°37' N, 00°35' E	Cultivos de frutas, árboles de olivo y almendras y cereales / Restos de bosques de roble y árboles de pino que limitan los campos de cultivo	15,1	385	Fresco-Transicional-semiárido

Tmedia (temperatura media anual), Prec (precipitación media anual).

Figura N° 1.1. Localización de las estaciones de muestreo aerobiológico.



La comunidad autónoma de Cataluña está situada al nordeste de la Península ibérica con una población de 7.565.603 habitantes (Censo 2012). Se extiende sobre una superficie de 32.107 km², dividida en cuatro provincias y un total de 946 municipios. En la gráfica se señala la ubicación de las tres estaciones aerobiológicas incluidas en el estudio: Barcelona (BCN) con 1.620.943 habitantes, Bellaterra (BTU) con 2.719 habitantes y Lleida (LLE) con 139.834 habitantes (Anuario Estadístico de Cataluña, 2013. <http://www.idescat.cat>. Consulta: 18 de marzo de 2013).

Muestreo e identificación de esporas - Los datos de esporas de *Pleosporales* y los datos de la aerospora total analizados entre enero de 1995 y diciembre de 2009 fueron proporcionados por la Xarxa Aerobiològica de Catalunya, XAC (<http://lap.uab.cat/aerobiologia>). Las muestras fueron obtenidas empleando una trampa volumétrica de esporas tipo Hirst (Hirst 1952; Burkard 7-day recording volumetric sampler and Lanzoni VPPS 2000) ubicadas en la parte más alta de los edificios (30 m sobre el nivel del suelo en Bellaterra y 25 m en Barcelona y Lleida). Las trampas estuvieron funcionando continuamente, filtrando el aire a una razón de 10 litros/minuto y las esporas fueron atrapadas en una superficie adherente siliconada sobre cintas de Melinex que un mecanismo de relojería hace avanzar a razón de 2 mm/hora, la cual es luego fue cortada en fragmentos correspondientes a cada día. Cada fragmento fue montado sobre una lámina portaobjeto de vidrio y coloreado empleando una solución de gelatina y fucsina como fijador y colorante de contraste. Cada muestra diaria fue analizada por medio de un microscopio óptico en un aumento de 600X, identificando y contando las esporas a lo largo de un barrido longitudinal. Los resultados se expresaron en unidades de número medio de esporas por metro cúbico de aire por día (concentración media diaria de esporas, esp/m³). Las concentraciones medias semanales de esporas fueron calculadas (estableciendo semanas como lo propone la norma ISO8601) al igual que los índices anuales (sumatoria de la concentración media diaria de esporas por año) y los valores medios correspondientes de los periodos. La identificación de los taxones fue hecha de acuerdo a Ellis

(1971), Basset et al. (1978), Käärik et al. (1983), Barnet & Hunter (1998), Smith (1990), de Hoog et al. (2000), Kaap's (2000), Lacey & West (2006) y otros recursos bibliográficos disponibles. Los taxones incluidos en este estudio son las esporas de *Pleosporales* mitospóricos: *Alternaria* spp, *Curvularia* spp, tipo-*Drechslera-Helminthosporium* (incluyendo *Helminthosporium* spp, *Drechslera* spp, *Exserohilum* spp and *Bipolaris* spp), *Epicoccum* spp, *Pithomyces* spp and *Stemphylium* spp, y las esporas de *Pleosporales* meiospóricos: tipo-*Leptosphaeria* (ascosporas fusiformes y multiseptadas que incluyen *Leptosphaeria* spp, *Paraphaeosphaeria* spp, *Phaeosphaeria* spp, *Lophiostoma* spp, *Massariosphaeria* spp y géneros similares), tipo-*Pleospora* (ascosporas muriformes que incluyen *Pleospora* spp, *Lewia* spp, *Pyrenophora* spp, *Comoclathris* spp, *Decorospora* spp, y géneros similares), y tipo-*Venturia* (ascosporas bicelulares fusiformes que incluyen *Venturia* spp, *Macroventuria* spp y géneros similares).

Análisis estadístico - La relación entre las variables del estudio (concentraciones de ascosporas y conidias de los *Pleosporales* seleccionados y los parámetros meteorológicos como temperatura media, mínima y máxima; precipitación diaria, incluyendo la precipitación hasta 5 días antes del día de muestreo; humedad relativa media diaria; horas de luz del sol, y velocidad del viento) fue observada mediante el uso del test de correlaciones de Spearman para niveles de significancia (α) de 0.001, 0.01 y 0.05. Este test no paramétrico puede ser usado directamente sobre los datos sin considerar el supuesto de normalidad, razón por la cual es ampliamente aplicado en estudios aerobiológicos. Debido a la gran cantidad de datos empleados en los análisis (el tamaño de muestra n se presenta en la tabla N° 1.3), consideramos que solo los coeficientes con valor absoluto $|r_s| > 0.2$ deben ser destacados (resultados con color gris en la tabla N° 1.3). Para evaluar las diferencias entre los valores medios diarios de concentración de esporas en las tres localidades, se ha usado el test U de Mann-Whitney, empleando como nivel de significancia valores de $\alpha < 0.05$ y $\alpha < 0.01$, con corrección por el método de Bonferroni para ajustar el efecto de las comparaciones múltiples, haciendo más estricto el nivel de significancia (α/n , siendo n el número de comparaciones por realizar). Como supuesto del análisis, se han considerado como muestras independientes las mediciones de concentración diaria de cada sitio.

Los análisis estadísticos fueron realizados con el paquete informático SPSS v 17 (SPSS Inc., Chicago). Los datos meteorológicos fueron proporcionados por el Servei Meteorològic de Catalunya, Meteocat.

Resultados

Los datos indican que las esporas de *Pleosporales* contribuyen con el 7,6% al espectro de esporas atmosféricas en Barcelona, el 4,3% en Bellaterra y el 7,9% en Lleida. En los tres espectros, las conidias del género *Cladosporium*, las ascosporas transparentes y las basidiosporas totales fueron más abundantes que las esporas de *Pleosporales*. Las concentraciones de esporas de *Pleosporales* en la atmósfera de Lleida superaron en más de dos veces las de Bellaterra, y más de tres veces las de Barcelona (tabla N° 1.2, valores de Índice Medio Anual). Lleida mostró los recuentos individuales más altos de esporas de *Pleosporales* excepto para *Curvularia*, tipo-*Leptosphaeria*, tipo-*Venturia* (valores más altos en Bellaterra) y *Pithomyces* (valores más altos en Barcelona). Las diferencias entre la abundancia de esporas son significativas estadísticamente para Lleida (excepto para *Pithomyces* y tipo-*Venturia*) con respecto a las otras dos localidades muestreadas y para Bellaterra con respecto a Barcelona (excepto para tipo-*Drechslera-Helminthosporium* durante 2009, *Epicoccum* en 1998, *Pithomyces* en 2004 y *Stemphylium* en 2002). *Alternaria* fue el taxón de *Pleosporales* más prevalente en el aire de las tres localidades (tabla N° 1.2) y es seguido por el tipo-*Leptosphaeria*, tipo-*Drechslera-Helminthosporium*, tipo-*Pleospora*, *Epicoccum* y *Stemphylium* (orden que ha sido establecido después de sumar los índices medios anuales de los tres sitios). *Pithomyces*, *Curvularia* y tipo-*Venturia* son los menos abundantes y representan solo el 2% en Barcelona y Bellaterra y el 0,5% en Lleida. Las diferencias significativas de cada taxón para cada localidad y año estudiado se presentan en la tabla N° 1.3.

Tabla N° 1.2. Índice Medio Anual de ascosporas y conidias de *Pleosporales* en el aire de Barcelona (BCN), Bellaterra (BTU) y Lleida para el periodo de 15 años en estudio (1995-2009) y abundancia relativa anual de cada tipo de espora (% anual).

Taxón	Loc.	1995 - 2009			% anual con respecto a las ascosporas y conidias de <i>Pleosporales</i>														
		IMA	%	D%	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
<i>Pleosporales</i>	BCN	17740	100	93.5															
	BTU	26803	100	97.4															
	LLE	59531	100	98.2															
<i>Alternaria</i>	BCN	8849	49.9	81.2	55.5	59.2	41.3	57.6	54.4	52.7	60.9	47.1	46.5	45.5	49.0	54.0	46.3	46.8	43.9
	BTU	12083	45.1	87.1	36.4	54.5	37.6	54.7	45.4	59.8	54.3	41.0	32.9	36.4	50.8	59.9	44.1	43.5	41.3
	LLE	35155	59.1	95.9	-	64.9	-	-	49.6	54.5	52.7	55.4	52.8	58.4	66.1	73.2	70.3	59.6	68.8
<i>Curvularia</i>	BCN	59	0.3	2.4	0.4	1.9	0.2	0.5	0.1	0.5	0.5	0.3	0.3	0.2	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1
	BTU	115	0.4	5.0	0.4	2.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0.4	0.3	0.5	0.6	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1
	LLE	98	0.2	4.4	-	0.1	-	-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.5	0.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Tipo- <i>Drechslera-Helminthosporium</i>	BCN	2527	14.2	55.4	1.2	3.9	12.0	9.6	7.4	12.0	7.0	20.8	20.3	21.6	20.5	18.2	25.5	16.1	14.0
	BTU	2573	9.6	57.8	4.1	3.7	8.9	11.4	4.8	8.3	5.5	16.2	11.5	13.8	12.3	14.5	17.9	6.9	8.6
	LLE	5957	9.9	73.1	-	5.6	-	-	0.9	11.5	10.3	15.9	13.2	14.9	8.7	8.8	12.0	9.2	6.9
<i>Epicoccum</i>	BCN	1431	8.1	40.6	9.9	8.5	4.7	8.0	2.6	5.4	7.5	8.9	10.4	7.7	7.9	7.2	11.3	8.6	11.1
	BTU	1373	5.1	44.5	4.6	8.0	3.9	5.0	1.8	4.6	5.5	5.7	4.5	4.7	4.3	4.4	6.1	5.6	6.8
	LLE	5978	10.0	67.3	-	13.1	-	-	2.9	7.6	8.6	8.9	7.1	6.3	4.4	4.5	5.2	6.1	6.9
<i>Pithomyces</i>	BCN	159	0.9	8.2	0.5	0.7	0.8	0.9	0.1	2.9	1.3	0.7	0.7	0.8	0.5	0.7	1.2	0.6	0.7
	BTU	155	0.6	9.5	0.3	0.6	0.6	0.9	0.3	0.6	1.0	0.8	0.5	0.2	0.3	0.6	0.9	0.6	0.7
	LLE	133	0.2	9.2	-	0.1	-	-	0.1	0.2	0.3	0.4	0.3	0.1	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2
<i>Stemphylium</i>	BCN	864	4.9	36.2	3.5	7.6	4.8	5.8	3.7	5.1	5.2	4.7	4.4	4.6	4.7	5.2	5.1	4.4	3.7
	BTU	1003	3.7	40.3	2.8	5.0	4.4	5.1	3.7	5.1	4.1	3.5	2.3	3.0	3.5	4.3	4.1	3.6	2.6
	LLE	2252	3.8	61.6	-	5.6	-	-	4.8	4.4	3.4	3.7	4.3	4.3	3.5	5.0	3.7	3.5	3.1
Tipo- <i>Leptosphaeria</i>	BCN	2007	11.3	41.9	17.4	3.8	23.3	6.7	21.2	13.2	8.6	9.6	7.7	7.7	6.6	6.2	3.0	12.7	17.1
	BTU	6597	24.6	51.7	43.4	8.8	32.6	8.3	34.3	13.0	18.8	22.7	39.3	31.0	13.5	8.3	18.6	29.5	29.1
	LLE	4584	7.7	51.9	-	4.1	-	-	16.9	13.2	14.2	5.9	14.2	6.4	1.6	2.4	6.2	10.9	7.4
Tipo- <i>Pleospora</i>	BCN	1706	9.6	48.8	11.6	14.3	10.6	8.8	6.6	6.9	8.9	7.9	9.8	11.9	10.7	8.4	7.6	10.4	8.6
	BTU	2602	9.7	53.6	8.1	16.3	9.9	11.1	6.4	6.7	10.3	9.7	8.5	10.1	13.6	7.7	8.3	8.9	8.4
	LLE	5336	9.0	60.4	-	6.5	-	-	24.9	8.5	10.3	9.3	7.6	9.2	15.3	6.8	7.5	10.2	6.6
Tipo- <i>Venturia</i>	BCN	138	0.8	6.1	0.3	2.2	2.1	3.9	1.2	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.5	0.8	0.3
	BTU	302	1.2	9.0	-	0.8	2.8	1.3	2.5	2.8	0.1	0.2	0.0	0.1	1.1	0.2	0.0	3.1	2.4
	LLE	38	0.1	2.8	-	-	-	-	0.0	0.1	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

Loc (localidad), IMA (Índice Medio Anual), calculado como el valor medio de los quince índices anuales), D% (porcentaje de días con ascosporas y conidias de *Pleosporales* en el aire de cada localidad, calculado como el número de días donde cada taxón individual fue medido en el aire con respecto al número de días del periodo), - (datos no disponibles). Para Barcelona n=5408 para todos los taxones excepto tipo-*Venturia* donde n=5044; para Bellaterra n=5399 para todos los taxones excepto tipo-*Venturia* donde n=5053; y para Lleida n=3631 para todos los taxones excepto tipo-*Venturia* donde n=3493.

La mayoría de los *Pleosporales* estudiados estuvieron presente en las muestras de aire durante todo el año (figuras N° 1.2, 1.3 y 1.4), pero debe remarcarse que gran parte de ellos no estuvieron presentes día a día en los muestreos anuales (Tabla N° 1.2, valores D%). Las conidias de *Alternaria* aparecieron en el aire el 88% de los días por año como promedio (96% en Lleida). Los demás taxones, citados en orden decreciente del número de días con presencia en el aire (tabla N° 1.2, valores D%), fueron tipo-*Drechslera-Helminthosporium*, tipo-*Pleospora*, *Epicoccum*, tipo-*Leptosphaeria* y *Stemphylium*. Las conidias de *Curvularia* y *Pithomyces* y las ascosporas tipo-*Venturia* fueron un componente ocasional de la micoflora aérea en las tres localidades, presentándose como media en el 3,9% de los días (*Curvularia*), 9,0% (*Pithomyces*) y 6% (tipo-*Venturia*). Las conidias de *Curvularia* estuvieron ausentes del espectro de la aerospora de Barcelona en el 2005 y el 2006 y de Lleida en 1999, las ascosporas tipo-*Venturia* estuvieron ausentes en los datos recolectados de Barcelona en 2002, 2003, 2004 y 2006; de Bellaterra en 2003 y 2007 y de Lleida en 1999, 2001, 2003 y 2004.

Las figuras 1.2, 1.3 y 1.4 muestran los patrones anuales de las esporas de *Pleosporales* como total de esporas (fondo color verde y eje derecho) e individualmente (diferentes colores de acuerdo al taxón y eje izquierdo), y permiten evidenciar el comportamiento estacional de los *Pleosporales* conidiales en las tres localidades (excepto para *Curvularia* que se presenta en muy bajas concentraciones y de manera esporádica). En las tres figuras también es posible observar que la línea de distribución del taxón *Pleosporales* comparte la misma tendencia de distribución anual mostrada por *Alternaria*, *Epicoccum* y *Stemphylium*, con incrementos en abril o mayo (mediados de primavera) y caídas en noviembre (finales de otoño). La presencia de conidias del tipo *Drechslera-Helminthosporium* fue más común en primavera. *Pithomyces* fue más abundante en otoño. Para las ascosporas tipo-*Pleospora*, tipo-*Leptosphaeria* y tipo-*Venturia* no hubo un comportamiento estacional claro, aunque las tipo-*Pleospora* tendieron a mostrar una mayor abundancia durante el invierno en Lleida y las tipo-*Venturia* durante el otoño en Bellaterra.

Tabla N° 1.3. Resultados de la prueba de Mann Withney U entre las concentraciones medias diarias de esporas de cada taxón para cada localidad y año.

Taxones	Loc	Años														
		1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
<i>Alternaria</i>	BCN -BTU	BTU**	BTU*	BTU**	BTU	BTU**	BTU**	BTU	BTU	BTU	BTU**	BTU**	BTU**	BTU**	BTU**	BTU
	BCN -LLE	-	LLE**	-	-	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**
	BTU -LLE	-	LLE**	-	-	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**
<i>Curvularia</i>	BCN -BTU	BTU*	BTU*	BTU	BCN	BTU	BCN	BCN	BTU	BTU**	BTU**	BTU	BTU*	BCN	BTU	BTU
	BCN -LLE	-	BCN*	-	-	BCN	BCN	BCN	LLE*	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE*	LLE**	LLE
	BTU -LLE	-	BTU**	-	-	BTU	BTU	BTU	LLE	LLE	LLE	LLE	LLE	LLE*	LLE	LLE
Tipo- <i>Drechslera-Helminthosporium</i>	BCN -BTU	BTU**	BTU**	BTU**	BTU	BTU	BCN	BTU	BCN	BCN	BTU	BCN	BTU	BCN	BCN	BCN*
	BCN -LLE	-	LLE**	-	-	BCN**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**
	BTU -LLE	-	LLE**	-	-	BTU**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**
<i>Epicoccum</i>	BCN -BTU	BTU*	BTU**	BTU*	BCN*	BTU	BTU	BTU	BCN	BCN	BTU*	BTU	BTU	BTU	BTU**	BCN
	BCN -LLE	-	LLE**	-	-	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**
	BTU -LLE	-	LLE**	-	-	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**
<i>Pithomyces</i>	BCN -BTU	BTU	BCN	BTU	BTU	BTU*	BCN	BTU	BTU	BCN	BCN*	BCN	BCN	BTU	BTU**	BTU
	BCN -LLE	-	BCN	-	-	LLE	BCN	BCN	LLE	LLE	BCN	LLE**	LLE*	BCN	LLE	LLE
	BTU -LLE	-	BTU	-	-	BTU	BTU	BTU**	BTU	LLE	LLE	LLE**	LLE*	BTU	BTU	BTU
<i>Stemphylium</i>	BCN -BTU	BTU**	BTU	BTU**	BCN	BTU*	BTU*	BCN	BCN*	BCN	BTU	BTU	BTU	BTU	BTU**	BCN
	BCN -LLE	-	LLE**	-	-	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**
	BTU -LLE	-	LLE**	-	-	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**
Tipo- <i>Leptosphaeria</i>	BCN -BTU	BTU**	BTU*	BTU**	BCN	BTU*	BTU*	BTU**	BTU**	BTU**	BTU**	BTU*	BTU	BTU**	BTU**	BTU*
	BCN -LLE	-	LLE**	-	-	LLE**	LLE**	LLE**	LLE	LLE**	LLE**	LLE	BCN	LLE**	LLE**	LLE
	BTU -LLE	-	LLE	-	-	LLE*	LLE**	LLE**	BTU**	BTU	BTU**	BTU	BTU	BTU**	BTU	BTU
Tipo- <i>Pleospora</i>	BCN -BTU	BTU	BTU**	BTU	BTU	BTU*	BTU	BTU**	BTU	BTU*	BTU*	BTU*	BTU**	BTU	BTU**	BTU
	BCN -LLE	-	LLE	-	-	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**
	BTU -LLE	-	BTU	-	-	LLE**	LLE**	LLE	LLE*	LLE**	LLE**	LLE**	LLE**	LLE*	LLE	LLE**
Tipo- <i>Venturia</i>	BCN -BTU	-	BTU*	BTU	BTU	BTU	BTU*	BTU	BTU	BTU	BTU	BTU**	BTU*	BTU	BCN	BTU**
	BCN -LLE	-	-	-	-	BCN**	BCN**	BCN	BCN	LLE	LLE	LLE**	LLE	LLE*	LLE	BCN
	BTU -LLE	-	-	-	-	BTU**	BTU**	BTU	BTU	LLE	BTU	BTU	BTU	LLE	LLE	BTU**
Tamaño de la muestra (n)	Total	707	708	716	725	798	1079	1083	1032	1063	1078	1052	1065	1051	1079	1060

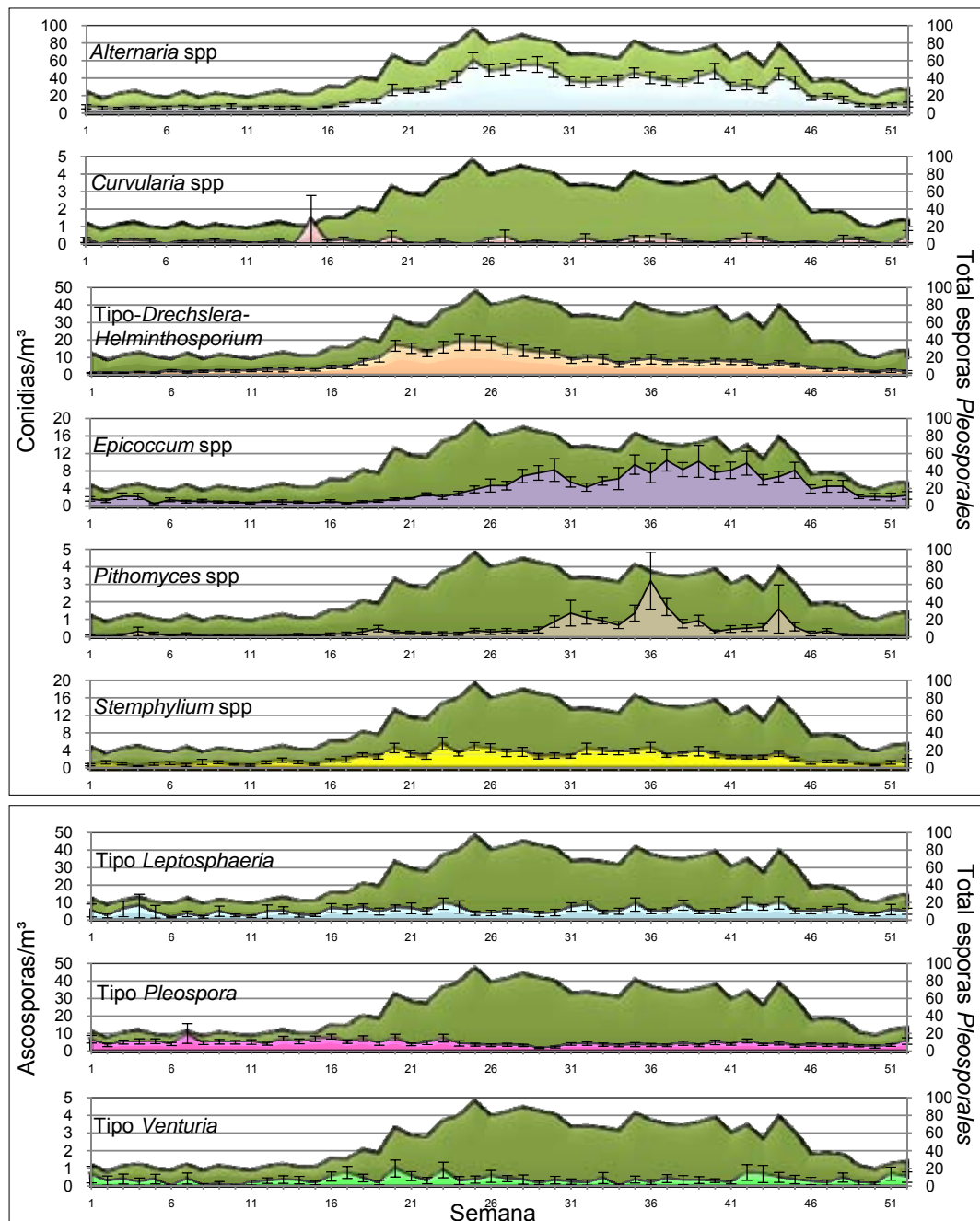
Loc: Localidad, BCN: (Barcelona), BTU: (Bellaterra), LLE: (Lleida), (-): Datos no disponibles.

Nivel de significancia: * $\alpha < 0.05$; ** $\alpha < 0.01$, usando el método de corrección de Bonferroni.

Las temperaturas mínimas y máximas estuvieron positiva y significativamente correlacionadas con los niveles de *Pleosporales* conidiales (correlación de Spearman), sobre todo cuando se usan los datos de promedios semanales (tabla N° 1.4); se encontraron correlaciones altas ($r_s > 0.5$) para *Alternaria*, tipo-*Drechslera-Helminthosporium* y *Stemphylium*. Las correlaciones entre las concentraciones de esporas tipo-*Pleospora*, tipo-*Leptosphaeria* y tipo-*Venturia* con la temperatura fueron muy bajas ($r_s < 0.2$). No se encontró ninguna correlación significativa para *Curvularia*. Las horas de sol igualmente mostraron una correlación positiva y significativa ($0.2 < r_s < 0.5$) con la concentración de conidias de *Alternaria* y tipo-*Drechslera-Helminthosporium* y una correlación negativa y significativa ($-0.6 < r_s < -0.4$) con tipo-*Pleospora*. La humedad relativa presentó una correlación negativa significativa baja ($-0.5 < r_s < -0.2$) con las concentraciones de esporas de *Alternaria* y del tipo-*Drechslera-Helminthosporium*, y una negativa, pero no significativa o muy baja correlación ($-0.2 < r_s$), con las concentraciones de conidias de *Epicoccum*, *Pithomyces* y *Stemphylium*. También se observó una correlación levemente positiva y significativa ($0.2 < r_s < 0.3$) con la concentración de ascosporas tipo-*Leptosphaeria*, tipo-*Pleospora* y tipo-*Venturia*. Con respecto a la precipitación, se observó una correlación positiva y significativa baja con *Pleosporales* meiospóricos, mientras una correlación

negativa muy baja, fue encontrada con los *Pleosporales* mitospóricos pero solo cuando se analizan los datos diarios. Las ascosporas tipo-*Leptosphaeria* y tipo-*Pleospora* mostraron una correlación positiva significativa ($0.2 < r_s < 0.5$) con la precipitación diaria. No se encontró correlación entre la lluvia en los días previos y las concentraciones de esporas de *Pleosporales*. De igual manera, tampoco fue posible encontrar una correlación consistente entre las concentraciones de esporas y la velocidad del viento.

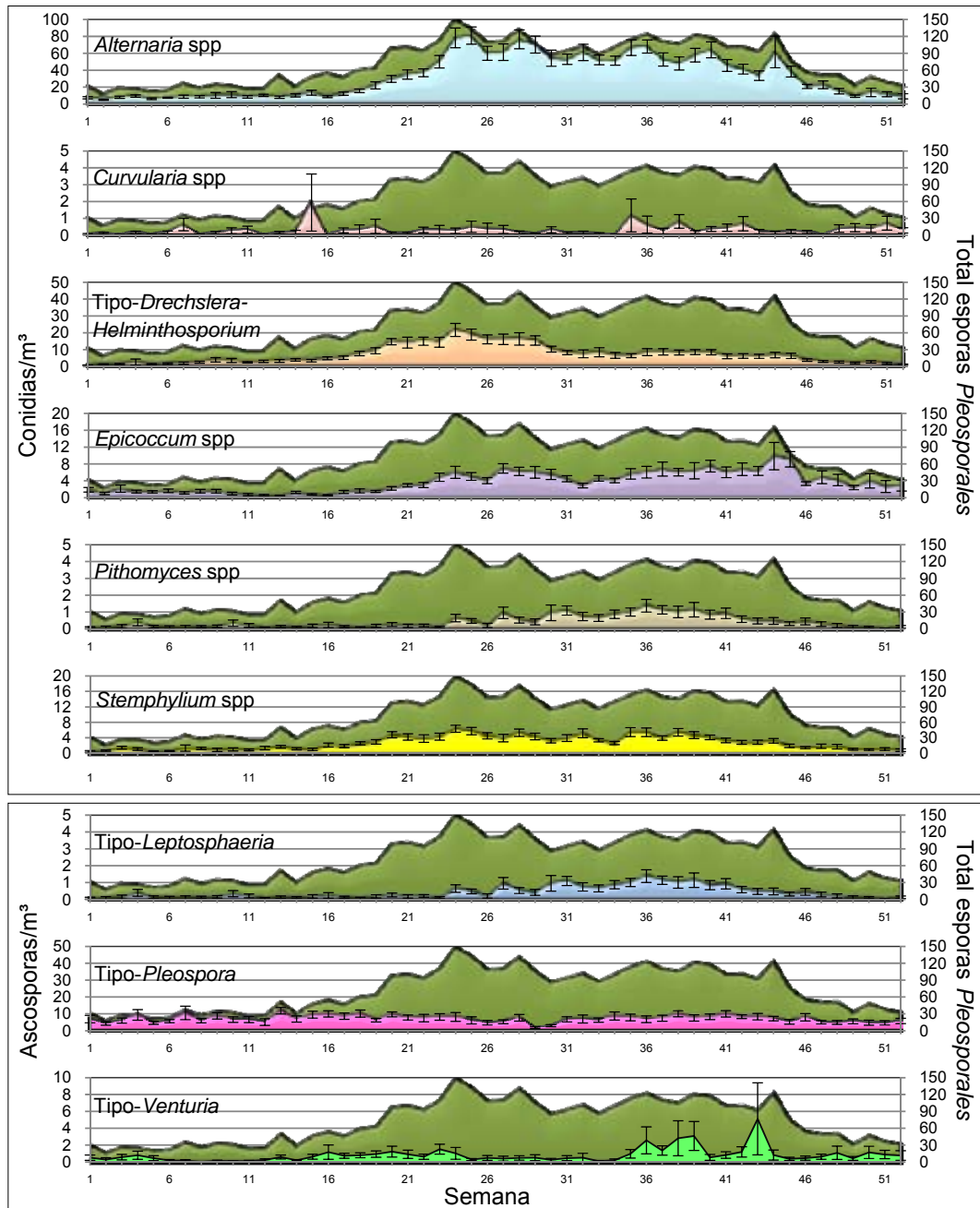
Figura N° 1.2. Dinámica comparativa a lo largo del año de las concentraciones medias semanales del total de esporas de *Pleosporales* y taxones individuales en Barcelona (BCN), periodo 1995-2009.



Los taxones pueden aparecer en diferentes escalas con el fin de mostrar claramente el comportamiento de las concentraciones a lo largo del tiempo.

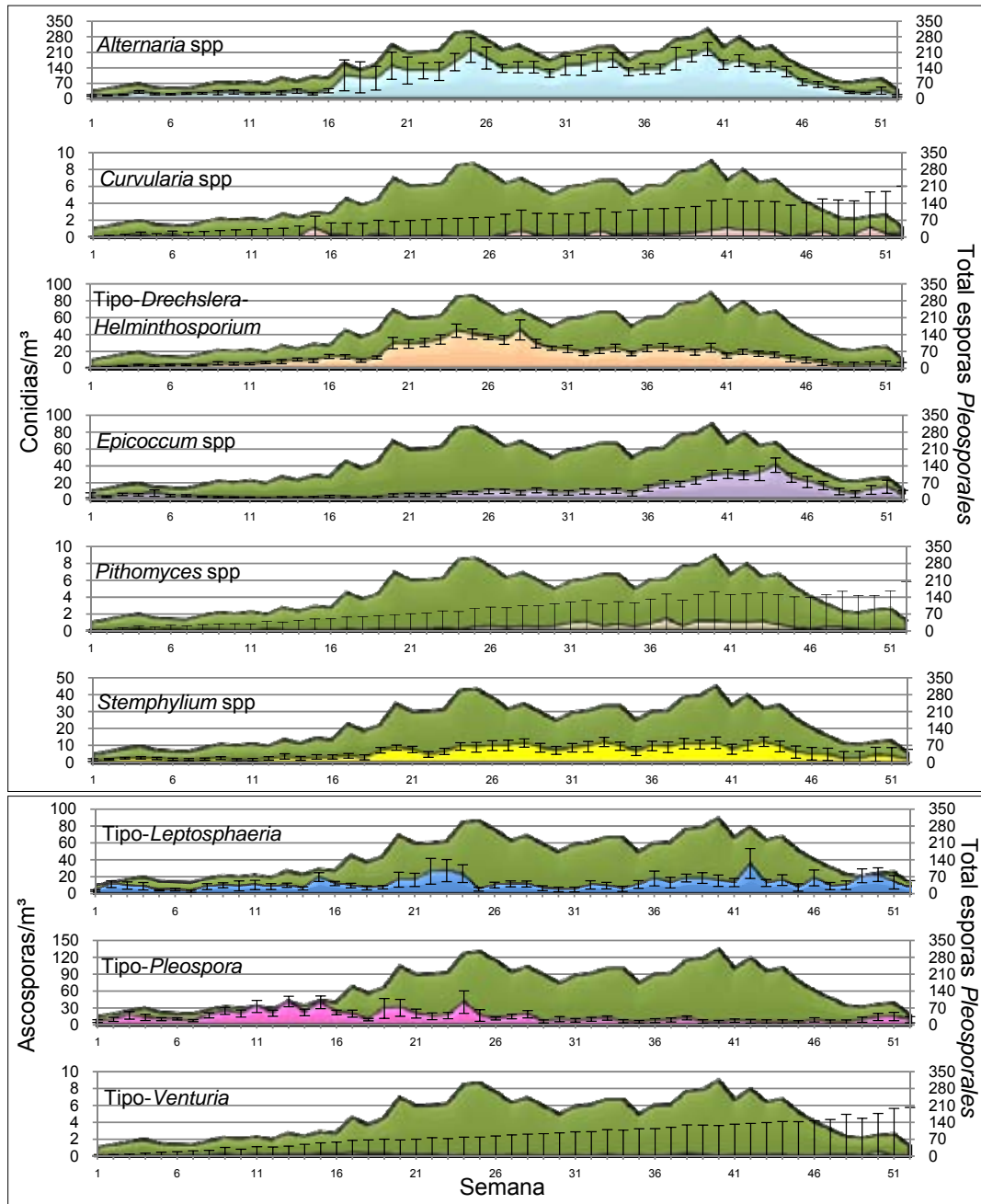
Pleosporales totales como un taxón (línea delgada, escala en el eje derecho), taxones individuales (línea gruesa, escala izquierda del eje). Las curvas de los taxones individuales muestran el error estándar.

Figura N° 1.3. Dinámica comparativa a lo largo del año de las concentraciones medias semanales del total de esporas de *Pleosporales* y taxones individuales en Bellaterra (BTU), periodo 1995-2009.



Los taxones pueden aparecer en diferentes escalas con el fin de mostrar claramente el comportamiento de las concentraciones a lo largo del tiempo. *Pleosporales* totales como un taxón (línea delgada, escala en el eje derecho), taxones individuales (línea gruesa, escala izquierda del eje). Las curvas de los taxones individuales muestran el error estándar.

Figura N° 1.4. Dinámica comparativa a lo largo del año de las concentraciones medias semanales del total de esporas de *Pleosporales* como un taxón y taxones individuales en Lleida (LLE), periodo 1995-2009.



Los taxones pueden aparecer en diferentes escalas con el fin de mostrar claramente el comportamiento de las concentraciones a lo largo del tiempo.

Pleosporales totales como un taxón (línea delgada, escala en el eje derecho), taxones individuales (línea gruesa, escala izquierda del eje). Las curvas de los taxones individuales muestran el error estándar.

Tabla N° 1.4. Resultados de la prueba de correlación Rho de Spearman entre (a) concentración media diaria de esporas y (b) concentración semanal media de esporas y media de parámetros meteorológicos.

Taxones	Estación	Tmax (°C)	TMin (°C)	HR (%)	Prec 24h (mm)	Insolación (h)	VV (m/s)	
<i>Alternaria</i>	BCN	a	0.539**	0.526**	-0.227**	-0.152**	0.281**	-0.065**
		b	0.657**	0.680**	-0.167**	-0.074*	0.314**	-0.268**
	BTU	a	0.619**	0.602**	-0.233**	-0.151**	0.338**	0.207**
		b	0.727**	0.743**	-0.149**	-0.031	0.345*	0.196
	LLE	a	0.589**	0.553**	-0.308**	-0.170**	0.473**	0.089
		b	0.612**	0.618**	-0.297**	-0.106*	0.432*	-0.142
<i>Curvularia</i>	BCN	a	-0.022	-0.013	0.023	0.061**	-0.029	0.012
		b	-0.041	-0.020	0.057	0.102**	-0.040	-0.018
	BTU	a	-0.027	0.001	0.049**	0.075**	-0.079	0.054
		b	-0.032	0.003	0.096**	0.110**	0.015	0.114
	LLE	a	0.045**	0.075**	0.065**	0.071**	-0.197*	-0.115
		b	0.086*	0.129**	0.111**	0.081	-0.246	-0.307
<i>Tipo Drechslera-Helminthosporium</i>	BCN	a	0.406**	0.369**	-0.167**	-0.087**	0.183**	-0.033
		b	0.531**	0.508**	-0.143**	-0.065	0.250**	-0.212**
	BTU	a	0.430**	0.414**	-0.273**	-0.129**	0.242**	0.197**
		b	0.569**	0.569**	-0.315**	-0.045	0.302*	0.245**
	LLE	a	0.612**	0.559**	-0.343**	-0.161**	0.358**	0.005
		b	0.709**	0.694**	-0.404**	-0.112*	0.394	-0.253
<i>Epicoccum</i>	BCN	a	0.224**	0.234**	-0.129**	-0.071**	0.064**	-0.074**
		b	0.383**	0.423**	-0.088*	-0.056	0.091	-0.229**
	BTU	a	0.264**	0.267**	-0.118**	-0.101**	0.067	0.127**
		b	0.411**	0.447**	0.001	-0.043	0.144	0.036
	LLE	a	0.211**	0.222**	0.027	-0.026	-0.159	-0.127
		b	0.241**	0.286**	0.081	-0.013	-0.416	-0.414
<i>Pithomyces</i>	BCN	a	0.177**	0.183**	-0.037*	-0.042**	0.043*	-0.016
		b	0.375**	0.393**	-0.051	-0.033	0.146*	-0.102
	BTU	a	0.157**	0.167**	-0.066**	-0.027	-0.014	0.027
		b	0.330**	0.350**	-0.082*	-0.036	0.042	0.102
	LLE	a	0.181**	0.162**	-0.071**	-0.066**	-0.035	0.141
		b	0.350**	0.329**	-0.119**	-0.138**	-0.303	-0.010
<i>Stemphylium</i>	BCN	a	0.282**	0.273**	-0.076**	-0.046**	0.131**	-0.055*
		b	0.466**	0.486**	0.011	0.054	0.097	-0.267**
	BTU	a	0.311**	0.327**	-0.039**	0.004	0.023	0.139**
		b	0.554**	0.593**	0.034	0.119**	0.213	0.232**
	LLE	a	0.412**	0.420**	-0.137**	-0.052**	0.069	-0.048
		b	0.524**	0.574**	-0.172**	0.067	-0.042	-0.272
<i>Tipo-Leptosphaeria</i>	BCN	a	0.038**	0.058**	0.147**	0.248**	-0.065**	0.026
		b	0.137**	0.169**	0.164**	0.319**	-0.031	0.032
	BTU	a	0.015	0.146**	0.209**	0.372**	-0.055	-0.093*
		b	0.122**	0.226**	0.191**	0.461**	0.054	-0.103
	LLE	a	-0.033	0.094**	0.243**	0.351**	-0.434**	-0.205*
		b	0.037	0.121**	0.182**	0.405**	-0.535*	-0.159
<i>Tipo-Pleospora</i>	BCN	a	-0.087**	-0.104**	0.131**	0.232**	-0.099**	0.055*
		b	-0.064	-0.073*	0.195**	0.351**	-0.174**	0.090
	BTU	a	-0.107**	0.022	0.175**	0.383**	-0.178**	-0.030
		b	-0.040	0.065	0.275**	0.511**	-0.049	-0.035
	LLE	a	-0.122**	0.017	0.143**	0.357**	-0.454**	0.079
		b	-0.056	0.016	0.015	0.418**	-0.428*	0.137
<i>Tipo-Venturia</i>	BCN	a	0.009	0.000	0.017	0.045**	-0.024	0.032
		b	0.045	0.039	-0.006	0.075*	0.013	-0.004
	BTU	a	0.015	0.047**	0.124**	0.078**	0.023	-0.073
		b	0.054	0.057	0.231**	0.095*	-0.118	-0.121
	LLE	a	0.030	0.036*	-0.066**	0.010	-	-
		b	0.055	0.049	-0.193**	0.012	-	-
Tamaño de la muestra (n)	BCN	a	4975	4973	4584	4998	1779	1448
		b	721	721	682	723	256	208
	BTU	a	4982	4976	4980	4991	348	665
		b	724	724	724	724	52	100
	LLE	a	3418	3418	3443	3138	138	138
		b	525	525	525	482	22	22

a. Resultados para las concentraciones medias diarias

b. Resultados para las concentraciones medias semanales
 $\alpha < 0.05$; ** $\alpha < 0.01$; *** $\alpha < 0.001$

TMax (temperatura máxima en grados Celsius), TMin (temperatura mínima en grados Celsius), HR (humedad relativa en porcentaje), Prec 24h (precipitación en 24 horas en mm), Insolación (horas de luz solar), VV (velocidad del viento en metros por segundo), - (datos no disponibles).

Las celdas sombreadas indican el grado de correlación (gris claro: $0.2 < |r_s| < 0.5$, gris oscuro $|r_s| > 0.5$).

Discusión

Efectos del ámbito rural o urbano en la presencia de esporas de *Pleosporales en la atmósfera*. Hasta la fecha, la mayoría de las investigaciones acerca de la micoflora se han concentrado en el espectro total de esporas o en un grupo restringido de taxones, que normalmente incluyen solo a *Alternaria*, *Cladosporium* y *Aspergillus/Penicillium* (Fernández-González et al. 1993, Sánchez & Bush 2001, Breitenbach et al. 2002, Cantani & Ciaschi 2004, Gómez de Ana et al. 2006, Sabariego et al. 2007, Aira et al. 2008, Bartra et al. 2009, Sánchez et al. 2009, De Linares et al. 2010). Recientemente, Oliveira et al. (2010a) publicaron los resultados de tres años de estudio de *Pleosporales* seleccionados de dos regiones en Portugal. Nuestro estudio difiere del llevado a cabo por Oliveira et al. (2010a) en que nosotros no diferenciamos entre *Paraphaeosphaeria* y *Leptosphaeria*, cosa que si hicieron ellos, y en que nosotros incluimos *Curvularia*, taxón no incluido en su trabajo. Las concentraciones obtenidas en las tres localidades catalanas fueron significativamente mayores a las observadas por Oliveira et al. (2010a) en Portugal, con excepción del tipo-*Venturia*, que presentó altos niveles en las localidades atlánticas portuguesas. Las concentraciones de conidias de *Alternaria* en Cataluña fueron similares a las informadas por Grinn-Gofroń & Mika (2008) en Polonia, a excepción de las ascosporas tipo-*Leptosphaeria* que fueron mucho mayores en este país centro-europeo. Martínez et al. (1996), Corden et al. (2003) y De Linares et al. (2010) sugirieron que la abundancia de esporas de *Pleosporales* dependía de la localización geográfica y estuvo inversamente correlacionada al grado de urbanización, con una abundancia mayor en áreas rurales y naturales. Estos hallazgos están en concordancia con los resultados obtenidos en este estudio. Entre las tres localidades analizadas, Lleida, el área más rural, mostró los recuentos más altos de esporas de *Pleosporales* mientras que Barcelona, el sitio más urbano y de ubicación litoral, mostró los niveles más bajos en todo el tiempo evaluado.

Estacionalidad de las esporas de Pleosporales. Las diferencias observadas en las concentraciones a lo largo del año fueron mucho más pronunciadas en Lleida, que tiene un clima más continental, que en Barcelona, donde la proximidad al mar da lugar a un clima templado y a humedad más constante, lo cual se refleja en los patrones de variación anual (Infante et al 1999). Nuestros hallazgos en la dinámica anual de *Alternaria*, *Epicoccum* y *Stemphylium* son similares a los observados en otros estudios (Li & Kendrick 1996, Ianovici & Dumbravă 2008, Kosiada 2008, Rizzi-Longo et al. 2009, Oliveira et al. 2010a). Algunas de estas investigaciones muestran recuentos altos de esporas coincidiendo con la máxima infección de cultivos o cuando la cosecha de los cultivos coincide con condiciones climáticas cálidas (Levetin & Hornerb 2002, Ianovici & Dumbravă 2008, Kosiada 2008, Skjøth et al. 2012). Picos repentinos en la dinámica diaria de las esporas pueden ser debidos a la intrusión de esporas llevadas por el viento desde áreas remotas (Bashan et al. 1991, Próspero et al. 2005).

Dinámica anual de las esporas de Pleosporales en la atmosfera. La dinámica anual de las esporas de *Pleosporales* en las tres localidades catalanas mostró una clara estacionalidad, evidente principalmente en los taxones mitospóricos, mientras que en las locaciones portuguesas (Oliveira et al. 2010a) tal patrón no fue observado.

Efecto de los parámetros meteorológicos sobre el tipo, la concentración y la dinámica aerobiológica de las esporas de Pleosporales. Es importante resaltar los bajos coeficientes de correlación entre algunos de los parámetros meteorológicos, tales como la lluvia y horas de luz solar y los niveles de esporas. *Alternaria* mostró una correlación positiva con el incremento de la temperatura, lo que confirma los resultados de otros autores (Munuera et al. 2001, Burch & Levetin 2002, Stępańska & Wołek 2005, Grinn-Gofroń & Rapiejko 2009, Sánchez et al. 2009, Oliveira et al. 2010a). Este puede ser debido a que las altas temperaturas promueven la maduración y liberación de la conidia que son luego transportadas en la fracción aérea cuando el viento reactiva su fuerza después de una serie de días cálidos (Rodríguez-Rajo et al. 2005). En este estudio, un comportamiento similar fue observado para las conidias tipo-*Drechslera-Helminthosporium*, *Stemphylium* y *Epicoccum*. La correlación débil encontrada entre las ascosporas tipo-*Leptosphaeria* y tipo-*Pleospora* y la temperatura mínima está en concordancia con el hecho que la producción y liberación de estas ascosporas ocurre preferencialmente en temperatura por debajo de 20 °C (Martínez et al. 1996,

Mitakakis & Guest 2001, Rossi et al. 2003, Guo & Fernando 2005). El número de horas de luz solar influyó positivamente los niveles de conidias de *Alternaria*, tipo-*Drechslera-Helminthosporium*, *Epicoccum* y *Stemphylium* de igual manera como fue reportado para *Alternaria* y *Cladosporium* por **Sabariego et al. (2000, 2007)** en Granada y Madrid (España), **Stępańska & Wolek (2005)** en Cracovia (Polonia) y **Grinn-Gofroń & Strzelczak (2009)** en Szczecin (Polonia). Un patrón opuesto fue observado para las ascosporas tipo-*Leptosphaeria* y tipo-*Pleospora*, lo cual pudo deberse principalmente a la liberación de ascosporas durante la noche o la madrugada, posiblemente en respuesta al incremento de la humedad relativa cuando la temperatura disminuye en horas de la noche (**Li & Kendrick 1996**). En contraste, los hongos conidiales prefieren la luz solar y las condiciones secas para la liberación de sus esporas (**Leach 1975**).

Aunque la humedad es crucial para el crecimiento fúngico (**Weber 2003**), la humedad relativa mostró una leve correlación negativa, aunque significativa, con los niveles atmosféricos de *Pleosporales* conidiales en las tres localidades muestreadas. Tal correlación también fue observada por **Li & Kendrick (1996)**, **Martínez et al. (1996)**, **Rossi et al. (2003)** y **Stępańska & Wolek (2005)**. En este estudio la correlación fue mayor cuando se calculó con los promedios semanales en vez de los valores diarios. Esto sugiere la importancia del efecto acumulativo de la humedad relativa en los días previos para el desarrollo de los hongos (**Bruno et al. 2007**). **Grinn-Gofroń & Rapiejko (2009)** encontraron en Polonia, que aunque los niveles diarios más altos de conidias de *Alternaria* ocurrieron durante los días secos, la lluvia ocasional resultó en conteos mensuales mayores comparados con los observados durante periodos secos prolongados. En contraste, ellos encontraron una correlación positiva leve entre la humedad relativa y las concentraciones de ascosporas tipo-*Pleospora*. **Li & Kendrick (1996)** y **Martínez et al. (1996)** reportaron una tendencia al aumento en el aire de algunas ascosporas con humedades relativas por encima del 70%. Esto sugiere que las ascosporas requieren de la humedad superficial proporcionada por la lluvia, el rocío o una atmósfera saturada para ser liberadas desde los ascocarpos maduros como también ha sido observado para *Venturia nashicola* (**Lian et al. 2007**). Los resultados de este estudio demuestran que la lluvia remueve las conidias de *Pleosporales* del aire mientras al mismo tiempo estimulan la liberación de ascosporas desde los cuerpos fructíferos, tal como fue propuesto por **Martínez et al. (1996)**, **Weber (2003)**, **Rodríguez-Rajo et al. (2005)**, **Bruno et al. (2007)**, **Lian et al. (2007)** y **Quintero et al. (2009)**. **Weber (2003)** sugirió que la lluvia acumulada podría causar el efecto opuesto debido a la acción de lavado de la atmósfera durante la lluvia. La relación positiva entre la concentración de conidias de *Alternaria* y la lluvia durante 2 o 3 días anteriores al día de muestreo que fue encontrada por **Stennett & Beggs (2004)** en Sídney (Australia) y por **De Linares et al. (2010)** en varias localidades españolas no fue aparente en este estudio.

A pesar de que la mayoría de los autores (**Bashan et al. 1991, Paredes et al. 1997, Sabariego et al. 2000, Grinn-Gofroń & Strzelczak 2009**) observaron una correlación entre las concentraciones de algunos *Pleosporales* y la velocidad y dirección del viento, nuestros datos no mostraron ninguna correlación con la velocidad del viento (la dirección no fue incluida en este estudio).

La identificación de los taxones de *Pleosporales* en el aire y el entendimiento de su comportamiento aerobiológico se convierten en herramientas valiosas para predecir los riesgos potenciales de infecciones para los cultivos y problemas de salud para individuos que sufren alergias. La presencia persistente de estas esporas en las atmósferas de Barcelona, Bellaterra y Lleida demuestra su adaptación a las diferentes condiciones climáticas y medioambientales que estas tres localidades representan y resalta su posible papel como agentes infecciosos y alergógenos a través de los diversos rangos de medioambientes naturales y urbanos.

Capítulo 2.

**Ascosporas y conidias de *Pleosporales*
en la aerospora de la ciudad de Barcelona (España)
durante el año 2010. Dinámica diaria y horaria e influencia
de los parámetros meteorológicos.**

Ascosporas y conidias de *Pleosporales* en la aerospora de la ciudad de Barcelona (España) durante el año 2010. Dinámica diaria y horaria e influencia de los parámetros meteorológicos.

Introducción

Se estima que existen en la tierra entre 1-1.5 millones de especies de hongos, de los cuales entre 80.000 a 120.000 han sido descritas a la fecha (**Kirk et al. 2008**). Los hongos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, donde cumplen un importante papel en el reciclaje de la materia orgánica gracias a su amplio arsenal enzimático, que les permite colonizar e invadir diversos sustratos donde se comportan como saprobios, comensales o parásitos (**Fisher et al. 2012**). Estos modos de nutrición están ligados a los patrones de distribución de los hongos y la naturaleza y cantidad de nutrientes. Todo esto, junto con las características físicas del sustrato, la disponibilidad de agua, humedad y temperatura, determinan el éxito de la colonización y subsecuente supervivencia de especies individuales o de grupos de ellas formando una comunidad (**Kirk et al. 2008**).

Muchos hongos tienen más de un estado en su ciclo de vida en y en cada uno de ellos producen esporas morfológicamente diferentes, con un teleomórfico (meiosporas) y uno o más anamórficos (mitosporas). Un gran número de especies al parecer solo se reproducen por esporas mitóticas (**Carlile et al. 2001**). Dentro del reino hongos, el filum más reconocido es el Ascomycota, con 3 subfilum, 15 clases, 68 órdenes, 327 familias, 6355 géneros y 64163 especies, de las cuales alrededor de 13,000 (40%) son microhongos encontrados frecuentemente sobre material vegetal muerto y muchos de ellos son considerados de importancia económica. Las especies restantes son liquenizadas, confinadas a tejidos vegetales vivos o asociados primariamente con tierra (**Blackwell 2011**). Los Ascomycota forman ascas con ascosporas como producto final de su reproducción sexual (teleomórfica). En su estado mitospórico (anamórfico), los Ascomycota se han incluido clásicamente dentro de los Hifomicetes, los Agonomycetes y los Coelomicetes y producen conidias de formas y tamaño diversos sobre conidióforos o dentro de sacos de hifas (**Kirk et al. 2008**). Los Hifomicetes son los Ascomycota más numerosos, son comunes en la tierra y en la superficie de las hojas y muchos son importantes patógenos de plantas y animales. Suelen ser además, los microhongos más abundantes en el medioambiente y en la mayoría de los días sus conidias dominan la aerospora (**Brown 1997**).

Pleosporales es el orden más importante dentro del filum Ascomycota. Se considera un gran grupo monofilético incluido en la clase Dothideomycetes, subclase Pleosporomycetidae y conformado por 26 familias, 575 géneros y más de 1400 especies (**Kirk et al. 2008**), aunque recientemente **Zhang et al. (2009)** han estimado en más de 4700 las especies en este Orden. Este orden es frecuentemente recuperado de hojas muertas, tallos de hierbas, ramas de árboles y madera, así como de hojas verdes haciendo parte del filoplano y de los tallos. Algunos de los géneros incluidos en este orden, como *Cochliobolus*, *Phaeosphaeria* y *Pyrenophora*, son reconocidos patógenos de pastos y cereales, *Pyrenophora* y *Cochliobolus* son fitopatógenos asociados a manchas foliares y al tizón, y otros como *Pleospora*, *Lewia* y *Leptosphaeria* son endófitos comunes, saprofitos o parásitos de otras herbáceas (**Sivanesan 1984**). Estos géneros y sus anamórficos (donde se incluye *Alternaria*, *Curvularia*, *Bipolaris*, *Drechslera*, *Helminthosporium*, *Phoma*, entre otros), además de ser reconocidos fitopatógenos, también son importantes en salud humana, comportándose como alérgenos o patógenos, además de producir micotoxinas (**Tanaka 2003**). Para el ser humano, la exposición a estos hongos puede relacionarse con efectos adversos en la salud que van de leves a severos, dependiendo principalmente de la susceptibilidad a la enfermedad del individuo expuesto, de la especie micótica y de la duración y severidad de la exposición (**Bush et al. 2006**).

Salvo pocas excepciones (*Glomales*, *Chytridiomycota* y muchos de los *Gasteromycetes*), la mayoría de los hongos se dispersan liberando sus esporas en el aire (**Alexopoulos et al 1996**). La gran mayoría de los hongos producen al menos un tipo de spora adaptada para su diseminación por el aire, inclusive algunas especies producen dos o más esporas que son movilizadas por el viento, mientras que otras especies producen esporas que, a pesar de que no son desarrolladas para este tipo de dispersión, suelen encontrarse en las corrientes de aire (**Brown 1997**). Por lo general, las esporas asexuales son producidas externamente de manera individual o formando cadenas sobre un conidióforo lo que permite su liberación y arrastre por las corrientes de aire. Este es el mecanismo empleado por los principales hongos alergénicos que pueden ser recuperados del aire, como *Cladosporium*, *Alternaria* y *Epicoccum*, los cuales comúnmente colonizan la superficie de las hojas (filoplano), tallos y otros órganos de las plantas, principalmente cuando estas envejecen (**Tilak 2009**). En contraste, las ascosporas son producidas en el interior de ascos, y para ser liberadas, requieren de eventos mecánicos como la presión ejercida por las gotas de lluvia, insectos y otros animales. El splash de la lluvia es otro método de dispersión para algunos hongos que forman sus esporas generalmente incluidas en una sustancia mucilaginosas que inhibe la dispersión por el viento (**Trail 2007**). El aire está rara vez libre de esporas fúngicas. La atmósfera contiene una mezcla heterogénea de esporas de diferentes orígenes, y aunque tiende a ser muy estable en un área, puede ser modificada, e inclusive dominada, por esporas originadas en sitios cercanos. Algunas especies son prácticamente ubicuas, mientras otras son más o menos confinadas a ciertos sitios y estar asociadas a áreas de cultivo, por tanto es de esperarse que la aerospora de zonas urbanas sea menos abundante y diversa que la de las áreas rurales (**Oliveira et al. 2009b**). La mayoría de las esporas fúngicas caen cerca de los cuerpos fructíferos y por esto se puede concluir que las esporas capturadas reflejan principalmente la diversidad de especies local y sitio específico (**Kauserud et al. 2005**). La cantidad de estas esporas en el aire además de ser una consecuencia del mecanismo de dispersión, suele ser marcadamente estacional debido a su sensibilidad a los cambios meteorológicos (principalmente la temperatura y las precipitaciones) y es influenciada por los ritmos diarios de producción, liberación y deposición de esporas, la descarga relacionada con los eventos medioambientales y los efectos estacionales y espaciales (como las actividades realizadas en el área o cerca de ella tales como siega de pastos y cosecha de grano) (**Elbert et al. 2007, Oliveira et al. 2009b**). Adicional a las esporas, en el aire también pueden encontrarse fragmentos de hifas que suelen ser resuspendidos durante actividades de siega y cosecha de granos y que al igual que las esporas, pueden comportarse como partículas infectantes o desencadenantes de los síntomas de alergia (**Green et al. 2006a, Elbert et al. 2007**).

Los hallazgos de los estudios aerobiológicos sobre el efecto de las variables medioambientales, tales como la humedad relativa y las estaciones climáticas (asociada a la temperatura, pluviosidad, etc.) en la aerospora de un ambiente específico, es a veces contradictorio, sin embargo, por consenso se acepta que los hongos crecen y esporulan mejor en temperaturas mayores a 15 - 20°C (**Carlile et al. 2001**). La humedad relativa, en contraste con la temperatura del ambiente, juega un papel más claro sobre la diversidad fúngica y es reconocido que la producción de esporas en un amplio rango de hongos depende de una adecuada pluviosidad. Estudios en ambientes interiores han establecido que humedades relativas inferiores a 30% tienen un efecto negativo sobre el crecimiento de hongos, en cambio cuando son mayores al 70% favorecen su desarrollo (**Burger 1995**).

Durante periodos meteorológicos secos, las esporas de muchos hongos asexuales muestran un pico de descarga temprano hacia la media tarde y una baja en tempranas horas de la mañana. Los picos diarios usualmente ocurren cuando la temperatura y la velocidad del viento son altas y la humedad es baja (**Troutt & Levetin 2001**). Las conidias conocidas como esporas de aire seco incluyen los propágulos de *Cladosporium*, *Botrytis*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Torula*, conidias tipo *Drechslera*, *Polythrincium*, *Stemphylium*, *Pithomyces* y *Ganoderma*. Estas, al igual que otros géneros de hongos asexuales y esporas del tizón, están asociadas con el mayor promedio mensual de temperatura durante el verano y las precipitaciones mensuales más bajas desde mayo a octubre con el resultado de humedades relativas bajas (entre 65% y 79%). En las áreas templadas las esporas de aire seco dominan la atmósfera desde la primavera hasta el otoño, excepto en los periodos de lluvia (**Troutt & Levetin 2001, Stępańska & Wołek 2005**). Las ascosporas requieren de humedad para la descarga y

algunos tipos son liberados durante periodos de alta humedad, sin embargo la mayoría de las ascosporas solo son liberadas durante o después de la lluvia. Algunas especies son liberadas entre 10 a 15 minutos después de que comienza la lluvia, mientras otras liberan sus esporas solo cuando las estructuras reproductivas se están secando después de un evento de lluvia (**Lacey 1996**). Los requerimientos de lluvia para muchos Ascomycetes tienden a enmascarar cualquier ritmo diurno, sin embargo cuando la lluvia está presente algunos Ascomycetes muestran ritmos tanto con picos en el día como en la noche dependiendo de las especies. Además de provocar la liberación activa de las ascosporas, la lluvia puede causar la dispersión pasiva de otras esporas como las de aire seco, por varios mecanismos que incluyen el efecto trampolín cuando las gotas golpean las superficies de las hojas u otros sustratos produciendo vibraciones que resultan en la liberación de masas de conidias (**Brown 1997**). Este mecanismo puede explicar algunos de los datos contradictorios sobre el incremento de *Cladosporium*, *Alternaria* y otras conidias durante eventos de lluvia en múltiples investigaciones aerobiológicas. Aunque estos mecanismos explican la dispersión durante la lluvia, ésta también tiene un efecto limpiador de las esporas de la atmósfera, especialmente de los miembros de las esporas de aire seco (**Deacon 2006**). Adicional a la lluvia, otros eventos meteorológicos pueden causar variabilidad en los niveles de esporas atmosféricas. Se ha observado un marcado incremento de corta duración de los niveles de esporas en el aire (plumas de esporas) con concentraciones que pueden exceder las 100,000 esporas/m³ (**Burch & Levett 2002**), coincidiendo con el incremento simultáneo del viento y de la presión barométrica. Los factores meteorológicos también son responsables de la variabilidad estacional en la aerospora. En la mayoría de las áreas templadas, las concentraciones de esporas tienden a incrementarse en la primavera tardía, permaneciendo elevadas durante el verano y el otoño mostrando una correlación significativa con el aumento de las temperaturas (**Ricci et al. 1995**). En áreas tropicales y subtropicales, las esporas del aire pueden ser abundantes durante todo el año o seguir los patrones estacionales de las lluvias. **Stępańska & Wołek (2005)** encontraron una correlación significativamente positiva entre la concentración de esporas con la temperatura y la humedad relativa y una correlación negativa con la lluvia. Los mismos autores y otros como **Mitakakis et al. (1997)** reportaron esta misma correlación con las esporas de *Alternaria* y *Cladosporium*, sin embargo, **Stępańska & Wołek (2005)** encontró que los niveles de *Cladosporium* no se correlacionaban con la pluviosidad.

Las esporas fúngicas atmosféricas han sido frecuentemente estudiadas con el fin de entender su impacto en la salud, el medio ambiente o en la agricultura y la producción forestal (**Bauer et al. 2002**). En la mayoría de los estudios, solo ciertos grupos morfológicos de esporas son considerados, y la población de esporas del aire ha sido tratada parcialmente, lo cual restringe el análisis de los resultados cuando se pretende correlacionar el efecto de hongos taxonómicamente relacionados con daños directos sobre cosechas o sobre la salud. Como se mencionó previamente, los *Pleosporales* son un grupo taxonómico de suma importancia dentro de los Ascomycota, y son comunes fitopatógenos y agentes infecciosos y alérgicos para humanos y animales, además su presencia ha sido referida muy frecuentemente en la aerospora de diversas latitudes. Al respecto, recientes estudios han demostrado la presencia de genes ortólogos relacionados con virulencia y alergenidad (como Alt a 1, serin proteasa, manganeso superóxido dismutasa, entre otros) dentro de diferentes géneros y especies de *Pleosporales* (**Sáenz de Santamaría et al. 2006, Simon-nobbe et al. 2008, Gutiérrez-Rodríguez et al. 2011, Postigo et al. 2011**). Por tal motivo, el conocimiento de los taxones de *Pleosporales* presentes con mayor frecuencia en la atmósfera de una región y el estudio de su comportamiento aerobiológico, permitirán establecer su importancia local y estimar el riesgo real al que está expuesta la población. Con este fin, en el presente estudio se pretendió reconocer las principales esporas de *Pleosporales* en la atmósfera de la ciudad de Barcelona (España) durante un año de estudio (2010) y determinar su comportamiento intradiurno y los efectos de las variables atmosféricas sobre su concentración y distribución en el aire.

Materiales y métodos

Descripción geográfica y condiciones bioclimáticas - La ciudad de Barcelona es un área urbana densamente poblada (alrededor de 3 millones de habitantes) localizada en la costa mediterránea en 41,4° Latitud Norte y 2.2° Longitud Este. Ocupa una llanura de aproximadamente 5 km, que limita al este, con el mar Mediterráneo, al norte-noroeste con la Serra de Collserola (512 m.s.n.m.), al nordeste con el río Besós y al suroeste con el río Llobregat.

En términos de vegetación, el territorio de Barcelona está dominado por el encinar litoral, predominando los encinares y diferentes etapas de degradación de los mismos (garrigas, brollas silicícolas y calcícolas, yermos y prados secos), un recubrimiento de pinos y pequeñas áreas con cañizares y salicorniales. Algunas zonas están dedicadas a cultivos de huerta y frutales.

La situación geográfica de Barcelona, cerca del mar, favorece un clima templado denominado marítimo subhúmedo de tendencia marítima (**Bolós 1962**). La temperatura media anual es de 16,5 °C, la temperatura media de las mínimas 9,4 °C (Enero) y la media de las máximas 24,4 °C (julio). El régimen de lluvias es el típico de la región mediterránea, con una sequía estival acusada, y con dos estaciones lluviosas (otoño y primavera) con precipitaciones moderadas (595 mm de promedio anual) (**Roldán 1985**). Según el Servei Meteorològic de Catalunya la temperatura media para el año 2010 fue 17,2 °C (máxima 39,3 °C – mínima 0,7 °C, Primavera 19,9 ± 1,7 °C; Verano 25,4 ± 2 °C; Otoño 15,1 ± 4,3 °C; Invierno 10,2 ± 2,9 °C.) con una precipitación acumulada de 718,5 mm (conservándose el patrón primavera-otoño) y una velocidad media del viento (a 10 m) de 2,1 m/s con dirección dominante SW. La humedad relativa media fue 62% y una media de radiación solar global diaria de 15,5 MJ/m².

Muestreo e identificación de las esporas - Las muestras fueron obtenidas empleando la trampa volumétrica de esporas tipo Hirst (Hirst 1952; Burkard 7-day recording volumetric sampler and Lanzoni VPPS 2000) perteneciente al sistema de monitoreo de la Xarxa Aerobiològica de Catalunya (XAC, <http://lap.uab.cat/aerobiologia>). El captador esporo-polinico, está ubicado en el centro de la ciudad, equidistante de la Serra de Collserola y del mar, a una altura aproximada de 25 m del suelo y a 90 m sobre el nivel del mar. Las muestras estudiadas correspondientes al periodo comprendido entre el 1 de enero y el 31 de diciembre de 2010. El captador estuvo operativo permanentemente, filtrando el aire a razón de 10 l/min, capturando las esporas en una superficie adhesiva sobre tiras de Melinex. El método de preparación de material, captura y procesamiento de las muestras estuvo de acuerdo al manual de calidad de la Red Española de Aerobiología (**Galán et al. 2007**). Las láminas portaobjetos fueron examinadas empleando microscopía de luz con un aumento de 600X; dividiendo el área longitudinal total (48 mm) en 24 áreas verticales equidistantes (2 mm) que corresponden a cada hora del día. Las esporas de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas fueron identificadas y contadas siguiendo un barrido transversal continuo en la zona central de cada franja horaria. Los resultados fueron expresados en número medio de esporas por m³ de aire por hora (concentración media horaria de esporas-fragmentos de hifas/m³), como promedios diarios totales de *Pleosporales* y de fragmentos de hifas por m³ y promedios estacionales de *Pleosporales* totales/fragmentos de hifas y por cada taxón individual. Se empleó el sistema GMT para designar las horas del día. La identificación de las esporas se realizó siguiendo las descripciones de **Ellis (1971)**, **Basset et al. (1978)**, **Käärik et al. (1983)**, **Barnet & Hunter (1998)**, **Smith (1990)**, **de Hoog et al. (2000)**, **Kaap's (2000)**, **Lacey & West (2006)**, **Silvera (2011)** y otras fuentes disponibles.

Análisis estadístico - Las correlaciones fueron establecidas entre las conidias, ascosporas y fragmentos de hifas de los *Pleosporales* seleccionados y las variables medioambientales incluyendo la temperatura horaria media, máxima y mínima; pluviosidad horaria (como mm y evento de lluvia); humedad relativa horaria media, máxima y mínima; y velocidad del viento a 10 metros. Las correlaciones fueron obtenidas empleando el test de correlación de Spearman con niveles de significancia (α) de 0.001, 0.01 y 0.05.

Para los análisis estadísticos se empleó el software SPSS v 17 (SPSS Inc., Chicago). Los datos meteorológicos fueron proporcionados por el Servicio Meteorológico de Cataluña (Meteocat).

Resultados

Las esporas de *Pleosporales* fueron un componente común en la atmosfera de la ciudad de Barcelona durante todo el periodo estudiado. Tanto las conidias como las ascosporas tuvieron taxones representantes en el aire durante todo el año 2010 (100% de los días analizados), sin embargo se observó diferencia significativa entre las concentraciones de las formas asexuadas, que en ciertas épocas del año (principalmente durante el verano e inicios del otoño) superaban hasta 10 veces las de las formas sexuadas (figura N° 2.1).

En total se encontraron 15 taxones de *Pleosporales* mitospóricos (conidias) y 17 meiospóricos (ascosporas), adicionalmente se incluye el recuento de fragmentos de hifas dematiáceas. Los taxones identificados en este estudio se presentan en la tabla N° 2.1 junto con su índice anual y el porcentaje con respecto al total de *Pleosporales*.

Tabla N° 2.1. Taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas observados en la aerospora exterior de la ciudad de Barcelona durante el año 2010.

Taxón	Índice Anual (total de esporas)	Promedio diario	ds (rango)	Porcentaje total (%)	Días en la aerospora (%)	n
<i>Pleosporales</i> mitospóricos	440999			66,83		
<i>Alternaria</i> spp	315683	874,5	931,5 (0 – 8171,5)	47,8	360 (99,7)	361
<i>Bipolaris</i> spp	1343	3,7	9,9 (0 – 104,8)	0,20	74 (20,5)	361
<i>Corynespora</i> spp	229	0,6	4,2 (0 – 38,1)	0,03	9 (2,5)	361
<i>Curvularia</i> spp	991	2,7	7,0 (0 – 66,7)	0,15	66 (18,3)	361
<i>Dendryphion</i> spp	48	0,1	1,7 (0 – 28,6)	0,01	3 (0,8)	361
<i>Drechslera</i> spp	26572	73,6	194,1 (0 – 1704,8)	4,03	283 (78,4)	361
<i>Embellisia</i> spp	848	2,4	9,12 (0 – 123,8)	0,13	47 (13,4)	352
<i>Epicoccum</i> spp	53439	148,0	183,8 (0 – 1200,0)	8,10	343 (95)	361
<i>Fusicladium</i> spp	1352	3,9	9,23 (0 – 76,2)	0,21	81 (23,6)	343
<i>Helminthosporium</i> spp	1114	3,1	8,5 (0 – 85,7)	0,17	79 (21,9)	361
<i>Pithomyces</i> spp	5172	14,3	27,8 (0 – 190,5)	0,78	168 (46,5)	361
<i>Sporidesmium</i> spp	1533	4,5	8,4 (0 – 57,1)	0,23	107 (31,2)	343
<i>Stemphylium</i> spp	30839	85,4	88,5 (0 – 666,7)	4,67	334 (92,5)	361
<i>Tetraploa</i> spp	352	1,0	4,1 (0 – 38,1)	0,05	27 (7,5)	361
<i>Ulocladium</i> spp	1486	4,1	19,9 (0 – 323,8)	0,23	63 (17,5)	361
<i>Pleosporales</i> meiospóricos	218843			33,17		
<i>Comoclathris</i> spp	400	1,1	5,3 (0 – 76,2)	0,06	27 (7,5)	361
<i>Cucurbitodithis</i> spp	5733	16,2	42,6 (0 – 428,6)	0,87	145 (40,8)	355
<i>Delitschia</i> spp	2038	5,7	16,4 (0 – 171,4)	0,31	75 (20,8)	361
<i>Diapleella</i> spp	124	0,3	2,5 (0 – 28,6)	0,02	8 (2,2)	361
<i>Didymella</i> spp	3581	9,9	82,0 (0 – 1495,3)	0,54	61 (16,9)	361
<i>Leptosphaerulina</i> spp	467	1,4	4,8 (0 – 57,1)	0,07	37 (10,8)	343
<i>Leptosphaeria</i> spp	85030	235,5	412,6 (0 – 4238,2)	12,89	332 (92,0)	361
<i>Lewia</i> spp	4714	13,8	28,3 (0 – 228,6)	0,71	155 (45,2)	343
<i>Lophiostoma</i> spp	2438	6,8	18,8 (0 – 209,5)	0,37	92 (25,5)	361
<i>Massarina</i> spp	6705	19,6	63,0 (0 – 838,1)	1,02	109 (31,8)	343
<i>Melanomma</i> spp	4714	13,1	33,9 (0 – 257,2)	0,71	110 (30,5)	361
<i>Paraphaeosphaeria</i> spp	18134	50,2	83,0 (0 – 800,0)	2,75	285 (78,9)	361
<i>Phaeosphaeria</i> spp	1972	5,8	14,0 (0 – 104,8)	0,30	91 (26,5)	343
<i>Pleospora</i> spp	60744	168,3	254,0 (0 – 2228,6)	9,21	329 (91,1)	361
<i>Rebentischia</i> spp	1057	2,9	6,4 (0 – 38,1)	0,16	77 (21,3)	361
<i>Sporormiella</i> spp	1076	3,0	8,2 (0 – 95,2)	0,16	72 (19,9)	361
Tipo <i>Venturia</i> spp	19915	58,1	115,1 (0 – 933,4)	3,02	217 (63,3)	343
Hifas septadas dematiáceas	218842	1548,5	1659,7 (47,6 - 12838,4)	-	361 (100)	361

Conidias y ascosporas de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas encontrados en la aerospora exterior de la ciudad de Barcelona durante el año 2010. Se presenta el índice anual que corresponde al total de esporas observadas durante el periodo de estudio y el porcentaje de aparición de cada taxón identificado.

Cuando se agrupan los taxones mitospóricos incluidos en el estudio, se observa que las mayores concentraciones aparecen durante el verano, además, en un 71% de los días de primavera estas concentraciones muestran diferencia significativa respecto a las de primavera y otoño (figura N° 2.2). Las concentraciones diarias más elevadas se obtuvieron desde finales de primavera, durante el verano y hasta entrado el otoño. El mayor pico (9752,6 esporas/m³) se presentó a inicios del otoño, el 26 de septiembre a expensas de las conidias de *Alternaria* sp (8171,6 conidias/m³). Conidias de *Pleosporales* estuvieron presentes en el aire de Barcelona en el 100% de los días estudiados en el año 2010 (361 días). En algunas ocasiones coinciden caídas de la humedad relativa y aumentos o descensos de temperatura con aumentos de las concentraciones diarias de conidias, pero no puede generalizarse este modelo. Durante primavera y otoño las concentraciones medias horarias suelen darse con valores similares, con una particularidad: las concentraciones son más altas en primavera entre las 5 y las 14 horas y en otoño el resto de horas. Durante el invierno las concentraciones medias son siempre más bajas y con diferencia estadísticamente significativa. Se observa una clara diferencia en la concentración de las conidias de *Pleosporales* de acuerdo a la hora del día, presentándose un ascenso evidente durante las épocas más cálidas alrededor del mediodía (13 a 14 horas en primavera y 10 a 15 horas en verano) y uno menos pronunciado hacia las 20 horas, pero con un desplazamiento hacia más tarde durante los periodos fríos (otoño e invierno, de 13 a 24 horas) (figura N° 2.3).

En el caso de las concentraciones de las ascosporas de *Pleosporales*, éstas en la mayoría de los días suelen ser más bajas que las de conidias y muestran también más estabilidad durante todo el día en todas las estaciones climáticas (figura N° 2.4). Sin embargo en la figura N° 2.5 puede observarse una mayor presencia en el aire durante las primeras horas del día (de 22 a 14 horas) y un descenso significativo hacia el mediodía (de 15 a 21 horas) durante la primavera, invirtiéndose este patrón en el invierno. Los promedios diarios y horarios más bajos se presentaron durante el verano y el otoño con un comportamiento similar al observado en el invierno, pero con diferencias muy sutiles entre las concentraciones de ascosporas. Las concentraciones diarias más elevadas se obtuvieron durante la primavera. El mayor pico (entorno a 5000 esporas/m³) se presentó a inicios del otoño, el 3 de octubre a expensas de las ascosporas de *Leptosphaeria* spp (4238,2 esporas/m³), coincidiendo con un aumento en la temperatura y una disminución de la humedad relativa. Ascosporas de *Pleosporales* estuvieron presentes en el aire de Barcelona en el 100% de los días estudiados en el año 2010 (361 días). En numerosas ocasiones coinciden aumentos de la humedad relativa y de la temperatura con aumentos de las concentraciones diarias de ascosporas, pero no puede generalizarse este modelo.

Las hifas septadas dematiáceas fueron un componente común de la aerospora en la ciudad de Barcelona (figuras N° 2.6 y 2.7). Las concentraciones diarias más elevadas se obtuvieron desde mediados de primavera, durante el verano y hasta entrado el otoño de 2010. El mayor pico (12838 fragmentos de hifas septadas dematiáceas/m³) se presentó a finales de primavera, el 18 de junio, con otros dos picos importantes durante el otoño los días 27 de septiembre y 19 de octubre (11105 y 9647,8 fragmentos de hifas dematiáceas/m³, respectivamente). Las concentraciones de fragmentos de hifas dematiáceas suelen ser estables durante todo el día y presentaron concentraciones similares a través de todas las estaciones climáticas del año, con un ligero aumento durante el verano y el otoño, sin embargo se presenta una disminución significativa de los niveles de fragmentos durante la primavera y el invierno. Fragmentos de hifas dematiáceas estuvieron presentes en el aire de Barcelona en el 100% de los días estudiados en el año 2010 (361 días). En algunas ocasiones coinciden caídas de la humedad relativa y aumentos de temperatura con aumentos de las concentraciones de hifas dematiáceas, pero no puede generalizarse este modelo.

Para los taxones específicos incluidos en el estudio, el comportamiento aerobiológico a través del año, las épocas con mayores concentraciones y la correlación entre sus esporas y variables ambientales se consignó en la tabla N° 2.2, adicionalmente en la figura N° 2.8.1 - 2.8.32 se esquematiza el comportamiento horario diferenciado por estación para cada género y su distribución estacional.

Tabla N° 2.2. **Estacionalidad, fechas de los valores picos y correlaciones estadísticamente significativas para la presencia horaria de taxones de Pleosporales en la atmósfera de la ciudad de Barcelona (2010).**

	Epocas con concentraciones mayores	Fecha de valor máximo	Variabes con las que se correlacionan
<i>Alternaria</i> spp	Mediados de mayo a mediados de noviembre	26/09 (8172/m ³)	Positiva Alta: Hifas Septadas dematiáceas. Positiva Baja: <i>Pleospora</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Stemphylium</i> , VV10. Positiva Muy Baja: <i>Didymella</i> , <i>Ulocladium</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Drechslera</i> , <i>Sporidesmium</i> , DV10. Negativa Baja: PV, HRM, HRMIN, TPR. Negativa Muy Baja: <i>Massarina</i> , TTH, PATM, PRECIP.
<i>Bipolaris</i> spp	Inicios de otoño y durante el invierno	11/02 (105/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Alternaria</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Tetraploa</i> , <i>Drechslera</i> , Hifas septadas dematiáceas, VVMAX10. Negativa Muy Baja: HRM, HRMIN.
<i>Corynespora</i> spp	Ocasionalmente durante el invierno	13/01 (38/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Massarina</i> , Tipo <i>Venturia</i> , <i>Didymella</i> , PV, TPR, VV10, RG, ETO Negativa Muy Baja: <i>Leptosphaeria</i> , <i>Pleospora</i> , HRM, HRMIN, PRECIP.
<i>Curvularia</i> spp	Mediados de julio mediados de octubre (verano e inicios de otoño)	30/09 (66,7/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Delitschia</i> , <i>Tetraploa</i> , <i>Lewia</i>
<i>Dendryphion</i> spp	En invierno, entre el 10 y el 12 de febrero	11/02 (29/m ³)	No se encontró correlación significativa
<i>Drechslera</i> spp	Mediados de mayo a mediados de noviembre (finales de primavera hasta mediados de otoño)	14/06 (1543/m ³) 17/06 (1705/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Pleospora</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Stemphylium</i> , <i>Bipolaris</i> , Hifas Septadas dematiáceas, Negativa Muy Baja: PV, HRM, HRMIN, TPR, PATM
<i>Embellisia</i> spp	Aparición ocasional a través del año	18/06 (124/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Didymella</i> , Hifas Septadas dematiáceas, <i>Sporidesmium</i> .
<i>Epicoccum</i> spp	Inicios de enero a mediados de marzo y desde inicios de mayo a finales de diciembre (solo bajas durante el inicio de la primavera)	20/08 (1200/m ³) 25/12 (1067/m ³)	Positiva Baja: <i>Pleospora</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Stemphylium</i> , VV10, VVMAX10. Positiva Muy Baja: <i>Didymella</i> , <i>Ulocladium</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Drechslera</i> , <i>Sporidesmium</i> , DV10 Negativa Baja: PV, HRM, HRMIN, TPR. Negativa Muy Baja: TM, TMIN, TMAX, TTH, PTM, PRECIP.
<i>Fusicladium</i> spp	Bajos niveles durante todo el año	24/04 (76/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Phaeosphaeria</i> .
<i>Helminthosporium</i> spp	Bajos niveles durante todo el año	09/02 (86/m ³) 02/05 (86/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Ulocladium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Bipolaris</i> , Hifas dematiáceas, <i>Sporidesmium</i> , VVMAX10. Negativa Muy Baja: PV, HRM, HRMIN, TPR, PATM.
<i>Pithomyces</i> spp	Finales de primavera hasta mediados de otoño	20/08 (191/m ³) 23/08 (181/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Ulocladium</i> , Hifas dematiáceas
<i>Sporidesmium</i> spp	Bajos niveles durante todo el año	01/01 y 17/10 (57/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Embellisia</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Rebentischia</i> , Hifas Septadas dematiáceas, VV10, VVMAX10. Negativa Muy Baja: PV, HR, HRMIN, TPR, PATM.
<i>Stemphylium</i> spp	Bajos niveles durante todo el año	07/05 (667/m ³) 15/06 (610/m ³)	Positiva Baja: <i>Alternaria</i> , <i>Epicoccum</i> , Hifas Septadas dematiáceas. Positiva Muy Baja: <i>Pleospora</i> , <i>Tetraploa</i> , <i>Drechslera</i> , VV10, VVMAX10, DV10. Negativa Muy Baja: PV, HR, HRMIN, TPR, TTH, PATM, PRECIP.
<i>Tetraploa</i> spp	Presencia ocasional a través del año	06 - 07/02 (38/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Curvularia</i> , <i>Stemphylium</i> , <i>Bipolaris</i> , Hifas septadas dematiáceas.
<i>Ulocladium</i> spp	Presencia ocasional a través del año	28/10 (324/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Alternaria</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Pithomyces</i> , Hifas Septadas dematiáceas, VV10. Negativa Muy Baja: PV, HRM, HRMIN, TPR, TTH, RG.
<i>Comoclathris</i> spp	Presencia ocasional, principalmente durante el invierno y la primavera	08/05 (76/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Sporormiella</i> , Tipo <i>Venturia</i> , <i>Didymella</i> , TM, TMIN, TMAX, TTH, RG. Negativa Muy Baja: <i>Leptosphaeria</i> , <i>Pleospora</i> .
<i>Cucurbitodhis</i> spp	Valores bajos constantes durante todo el año con algunos picos durante la primavera	07/05 (429/m ³) 14/06 (419/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Leptosphaerulina</i> , <i>Massarina</i> , Tipo <i>Venturia</i> , <i>Delitschia</i> , <i>Diapleella</i> .
<i>Delitschia</i> spp	Invierno y primavera	20/05 (171/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Pleospora</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Cucurbitodhis</i> , <i>Paraphaeosphaeria</i> , <i>Lewia</i> .
<i>Diapleella</i> spp	Ocasional en niveles bajos durante el invierno y el otoño	15/01 (29/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Cucurbitodhis</i> .

TM: Temperatura Media, TMIN: Temperatura Mínima, TMAX: Temperatura Máxima, HRM: Humedad Relativa Media, HRMIN: Humedad Relativa Mínima, HRMAX: Humedad Relativa Máxima, VV10: Velocidad media del viento a 10 metros, VvMAX10: Velocidad Máxima del Viento a 10 metros, HVVMAX10: Hora de la Velocidad Máxima del Viento a 10 metros, DV10: Dirección de Viento a 10 metros, PV: Presión Barométrica, PATM: Presión atmosférica, TPR: Temperatura del punto de rocío, TTH: Temperatura Termómetro Húmedo, RG: Radiación Global, ETO: Evotranspiración.

Correlación significativa para el coeficiente rho de Spearman entre 0,5 y 0,7. Se presentan también las correlaciones menores (entre 0.1 y 0.5).

0,1 a 0,3 Correlaciones muy bajas.

0,3 a 0,5 Correlaciones bajas.

0,5 a 0,7 Correlaciones altas.

Se presenta la descripción del comportamiento estacional, los días en que se presentaron los mayores recuentos para cada uno de ellos en el aire de la ciudad de Barcelona durante el año 2010 y su correlación con las variables meteorológicas y la presencia simultánea de otras esporas. De igual manera se presenta las correlaciones para los fragmentos de hifas dematiáceas.

Tabla N° 2.2. (continuación).

	Epocas con concentraciones mayores	Fecha de valor máximo	Variables con las que se correlacionan
<i>Didymella spp</i>	Principalmente durante el invierno, niveles bajos durante el resto del año	22/10 (1495/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Sporormiella</i> , <i>Embellisia</i> , Tipo <i>Venturia</i> , <i>Comoclathris</i> , <i>Corynespora</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Lewia</i> , TM, TMIN, TMAX, PV, TPR, TTH, RG, ETO.
<i>Leptosphaerulina spp</i>	Niveles bajos ocasional durante todo el año	25/01 (57/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Cucurbitodithis</i> .
<i>Leptosphaeria spp</i>	Niveles altos durante todo el año, a excepción de gran parte del verano donde caen significativamente.	02/10 (4238/m ³)	Positiva Baja: <i>Pleospora</i> , <i>Paraphaeosphaeria</i> . Positiva Muy Baja: <i>Lophiostoma</i> , <i>Phaeosphaeria</i> , <i>Lewia</i> . Negativa Muy Baja: <i>Sporormiella</i> , <i>Comoclathris</i> , <i>Corynespora</i> , TM, TMIN, TMAX, PV, TPR, TTH, RG.
<i>Lewia spp</i>	Mayores en otoño e invierno	05/02 (229/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Leptosphaeria</i> , <i>Pleospora</i> , <i>Massarina</i> , Tipo <i>Venturia</i> , <i>Didymella</i> , <i>Delitschia</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Paraphaeosphaeria</i> , TM, TMIN, TMAX.
<i>Lophiostoma spp</i>	Desde finales de invierno hasta comienzos de verano	12/06 (210/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Leptosphaeria</i> , <i>Massarina</i> , Tipo <i>Venturia</i> , <i>Melanomma</i> , HSOLAR, HRMIN, HRMAX, HVVMAX10, Negativa Muy Baja: Hifas Septadas dematiáceas.
<i>Massarina spp</i>	Niveles mayores durante la primavera, ocasionales pero constantes durante las demás estaciones	08/06 (838/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Sporormiella</i> , <i>Corynespora</i> , <i>Cucurbitodithis</i> , <i>Lophiostoma</i> , <i>Lewia</i> , TM, TMIN, TMAX, PV, TPR, TTH. Negativa Muy Baja: <i>Alternaria</i> , Hifas Septadas dematiáceas.
<i>Melanomma spp</i>	Niveles variables a través del año, pero más constantes durante el invierno y la primavera	04/08 (257/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Lophiostoma</i> , <i>Phaeosphaeria</i> , <i>Paraphaeosphaeria</i> .
<i>Paraphaeosphaeria spp</i>	Valores constantes con algunos picos a través del año	30/08 (800/m ³)	Positiva Baja: <i>Leptosphaeria</i> . Positiva Muy Baja: <i>Pleospora</i> , Tipo <i>Venturia</i> , <i>Delitschia</i> , <i>Melanomma</i> , <i>Lewia</i> , TM, TMIN, PV, HRM, HRMIN, TPR, TTH. Negativa Muy Baja: Hifas Septadas dematiáceas, VV10, VVMAX10.
<i>Phaeosphaeria spp</i>	Mayores valores durante el invierno	18/02 (105/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Fusicladium</i> , <i>Leptosphaeria</i> , <i>Melanomma</i> , PV, HRM, HRMIN, TPR, TTH.
<i>Pleospora spp</i>	Niveles altos durante el invierno y la primavera, con algunos picos durante el verano	27/03 (2229/m ³)	Positiva Baja: <i>Leptosphaeria</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Epicoccum</i> . Positiva Muy Baja: <i>Delitschia</i> , <i>Stemphylium</i> , <i>Paraphaeosphaeria</i> , <i>Drechslera</i> , Hifas Septadas Dematiáceas, <i>Lewia</i> . Negativa Muy Baja: <i>Sporormiella</i> , <i>Comoclathris</i> , <i>Corynespora</i> , TM, TMIN, TMAX, PV, TPR, TTH, RG.
<i>Rebentischia spp</i>	Valores bajos durante todo el año	07/01 (38/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Sporidesmium</i> , PRECIP
<i>Sporormiella spp</i>	Niveles bajos durante todo el año	24/09 (95/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Massarina</i> , Tipo <i>Venturia</i> , <i>Comoclathris</i> , <i>Didymella</i> , TM, TMIN, TMAX, PV, TPR, TTH, VV10, VVMAX10, RG, ETO. Negativa Muy Baja: <i>Leptosphaeria</i> , <i>Pleospora</i> .
<i>Tipo Venturia spp</i>	Mayores niveles durante el invierno y la primavera, casi desaparece durante el verano.	08/06 (933/m ³)	Positiva Muy Baja: <i>Sporormiella</i> , <i>Comoclathris</i> , <i>Didymella</i> , <i>Corynespora</i> , <i>Cucurbitodithis</i> , <i>Lophiostoma</i> , <i>Paraphaeosphaeria</i> , <i>Lewia</i> , TM, TMIN, TMAX, PV, TPR, TTH, VV10, VVMAX10, ETO.
Hifas septadas dematiáceas	Niveles constantes durante todo el año, con ligero descenso durante el invierno e inicios de la primavera.	17/06 (12838/m ³) 26/09 (11105/m ³)	Positiva Alta: <i>Alternaria</i> . Positiva Baja: <i>Epicoccum</i> , <i>Stemphylium</i> , VV10, VVMAX10, DV10. Positiva Muy Baja: <i>Embellisia</i> , <i>Pleospora</i> , <i>Ulocladium</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Pithomyces</i> , <i>Tetraploa</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Drechslera</i> , <i>Sporidesmium</i> , TM. Negativo Bajo: PATM Negativa Alta: PV, HRM, HRMIN, TPR, TTH. Negativa Muy Baja: <i>Massarina</i> , <i>Lophiostoma</i> , <i>Paraphaeosphaeria</i> , TMIN, TMAX, PRECIP.

TM: Temperatura Media, **TMIN:** Temperatura Mínima, **TMAX:** Temperatura Máxima, **HRM:** Humedad Relativa Media, **HRMIN:** Humedad Relativa Mínima, **HRMAX:** Humedad Relativa Máxima, **VV10:** Velocidad media del viento a 10 metros, **VvMax10:** Velocidad Máxima del Viento a 10 metros, **HVVMAX10:** Hora de la Velocidad Máxima del Viento a 10 metros, **DV10:** Dirección de Viento a 10 metros, **PV:** Presión Barométrica, **PATM:** Presión atmosférica, **TPR:** Temperatura del punto de rocío, **TTH:** Temperatura Termómetro Húmedo, **RG:** Radiación Global, **ETO:** Evotranspiración.

Correlación significativa para el coeficiente rho de Spearman entre 0,5 y 0,7. Se presentan también las correlaciones menores (entre 0.1 y 0.5).

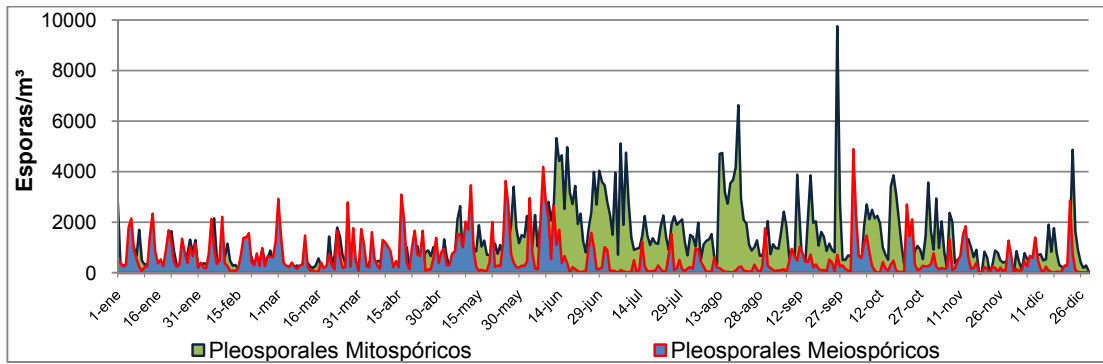
0,1 a 0,3 Correlaciones muy bajas.

0,3 a 0,5 Correlaciones bajas.

0,5 a 0,7 Correlaciones altas.

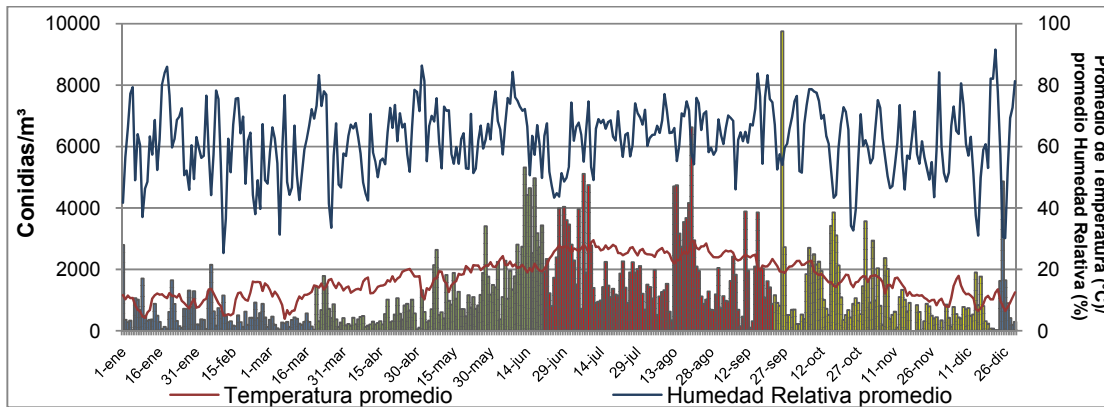
Se presenta la descripción del comportamiento estacional, los días en que se presentaron los mayores recuentos para cada uno de ellos en el aire de la ciudad de Barcelona durante el año 2010 y su correlación con las variables meteorológicas y la presencia simultánea de otras esporas. De igual manera se presenta las correlaciones para los fragmentos de hifas dematiáceas.

Figura N° 2.1. **Concentraciones diarias de ascoporas y conidias de *Pleosporales* en la aerospora de la ciudad de Barcelona durante el año 2010.**



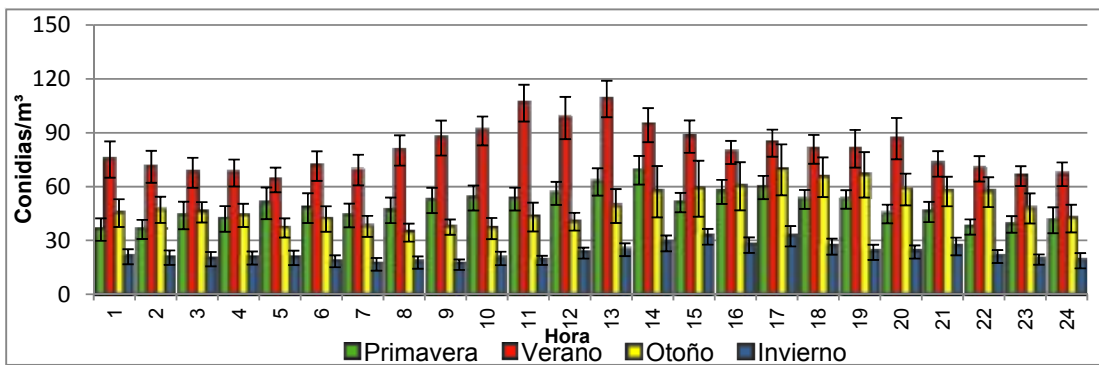
Comparación de las concentraciones de *Pleosporales* mitospóricos y meiospóricos en la atmosfera de la ciudad de Barcelona durante través del año 2010. El área en verde representa concentración media diaria de todos los taxones de *Pleosporales* incluidos en el estudio. Las líneas en azul y rojo corresponden a la concentración media diaria de las conidias y ascoporas de *Pleosporales*, respectivamente.

Figura N° 2.2. **Distribución de conidias de *Pleosporales* seleccionados y relación con parámetros meteorológicos.**



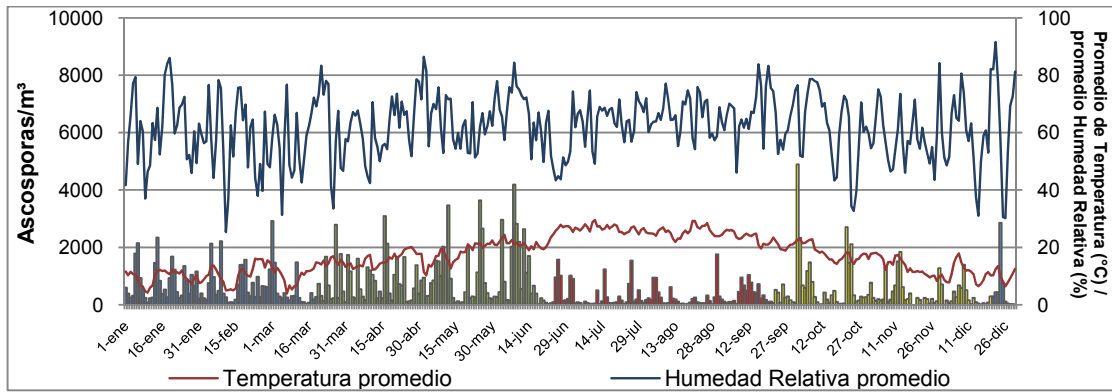
Comportamiento diario de las concentraciones de conidias de *Pleosporales* a lo largo de las 4 estaciones del año 2010 y su relación con la temperatura y la humedad relativa. Las columnas corresponden a las concentraciones de las conidias de *Pleosporales* para el día en cuestión. El color azul corresponde a los días de invierno, el verde a los de primavera, el rojo a los de verano y el amarillo a los de otoño.

Figura N° 2.3. **Comportamiento intradiurno de conidias de *Pleosporales* seleccionados por estación climática.**



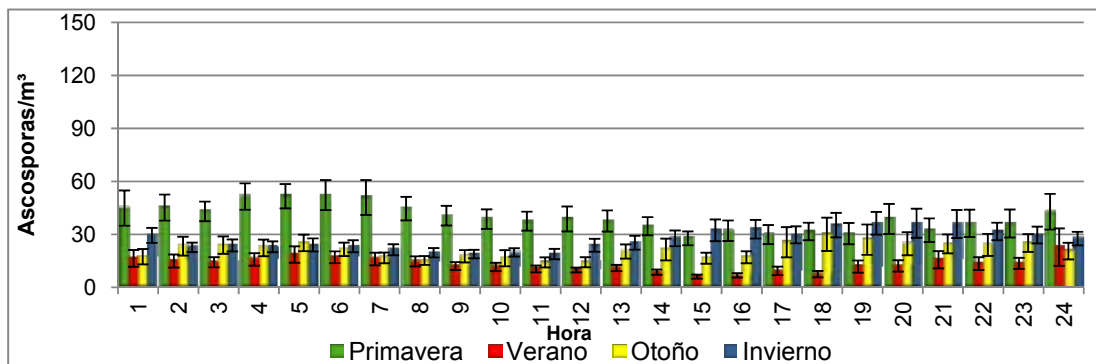
Comportamiento horario (intradaily) de las concentraciones de las conidias de *Pleosporales* mitospóricos en el aire de Barcelona en cada estación climática durante el año 2010. Las columnas corresponden a la concentración promedio de las conidias *Pleosporales* en cada franja horaria y época del año. Se muestran las barras de error típico para cada promedio. El color azul corresponde a los días de invierno, el verde a los de primavera, el rojo a los de verano y el amarillo a los de otoño.

Figura N° 2.4. **Distribución de ascosporas de *Pleosporales* seleccionados por estación climática.**



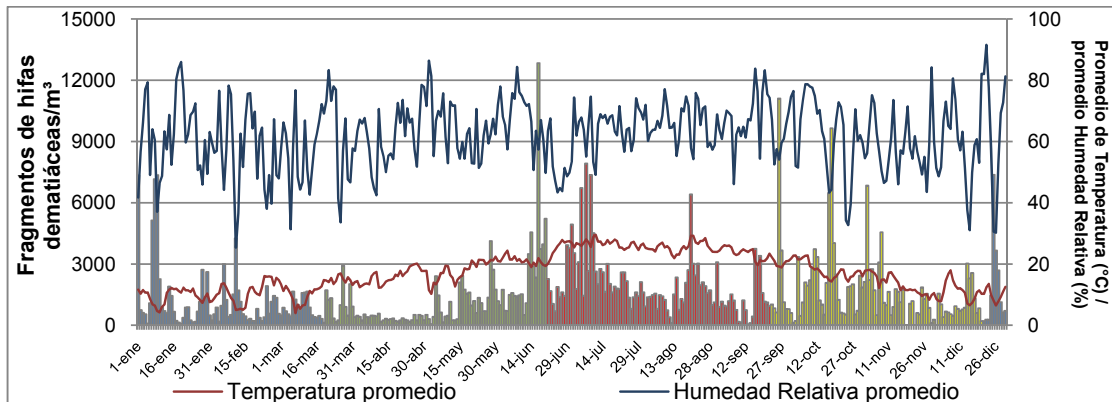
Comportamiento diario de las concentraciones de ascosporas de *Pleosporales* a lo largo de las 4 estaciones del año 2010 y su relación con la temperatura y la humedad relativa. Las columnas corresponden a las concentraciones de las ascosporas de *Pleosporales* para el día en cuestión. El color azul corresponde a los días de invierno, el verde a los de primavera, el rojo a los de verano y el amarillo a los de otoño.

Figura N° 2.5. **Comportamiento intradiurno de ascosporas de *Pleosporales* seleccionados por estación climática y relación con parámetros meteorológicos.**



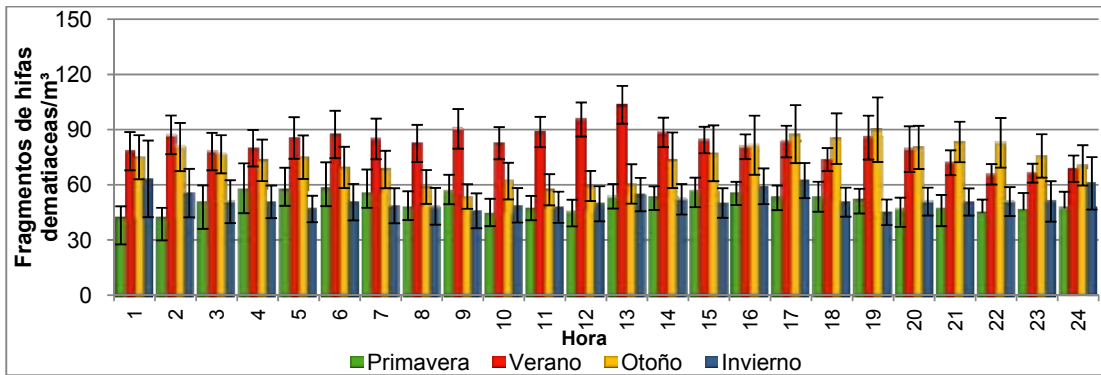
Comportamiento horario (intradiurno) de las concentraciones de las ascosporas de *Pleosporales* en el aire de Barcelona en cada estación climática durante el año 2010. Las columnas corresponden a la concentración promedio de las ascosporas de *Pleosporales* en cada franja horaria y época del año. Se muestran las barras de error típico para cada promedio. El color azul corresponde a los días de invierno, el verde a los de primavera, el rojo a los de verano y el amarillo a los de otoño.

Figura N° 2.6. **Distribución de hifas septadas dematiáceas por estación climática y relación con parámetros meteorológicos.**



Comportamiento diario de las concentraciones de fragmentos de hifas dematiáceas a lo largo de las 4 estaciones del año 2010 y su relación con la temperatura y la humedad relativa. Las columnas corresponden a las concentraciones de los fragmentos de hifas dematiáceas para el día en cuestión. El color azul corresponde a los días de invierno, el verde a los de primavera, el rojo a los de verano y el amarillo a los de otoño.

Figura N° 2.7. Comportamiento intradiurno de fragmentos de hifas septadas dematiáceas por estación climática.



Comportamiento horario (intradurno) de la concentración de los fragmentos de hifas dematiáceas en el aire de Barcelona en cada estación climática durante el año 2010. Las columnas corresponden a la concentración promedio de los fragmentos de hifas para cada hora del día. Se muestran las barras de error típico para cada promedio. El color azul corresponde a los días de invierno, el verde a los de primavera, el rojo a los de verano y el amarillo a los de otoño.

Figura N° 2.8.1. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Alternaria* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

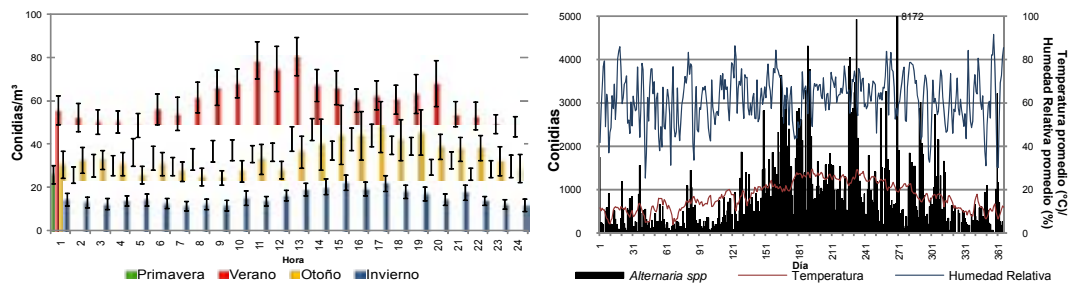


Figura N° 2.8.2. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Bipolaris* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

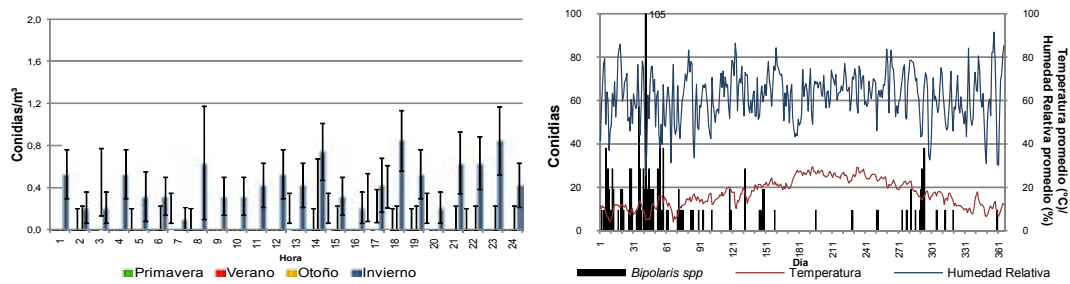


Figura N° 2.8.3. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Corynespora* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

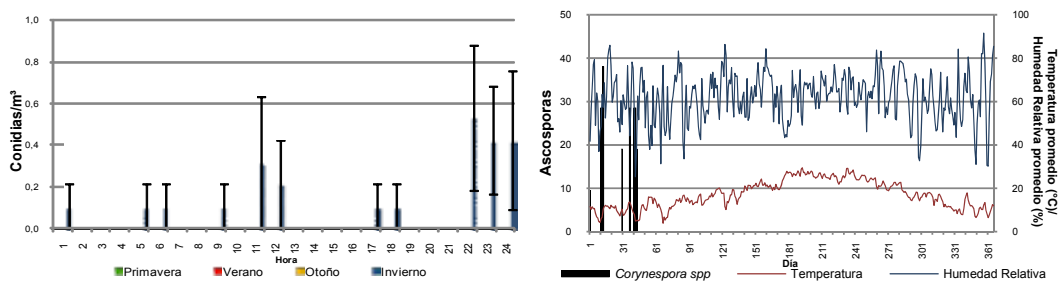


Figura N° 2.8.4. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Curvularia* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

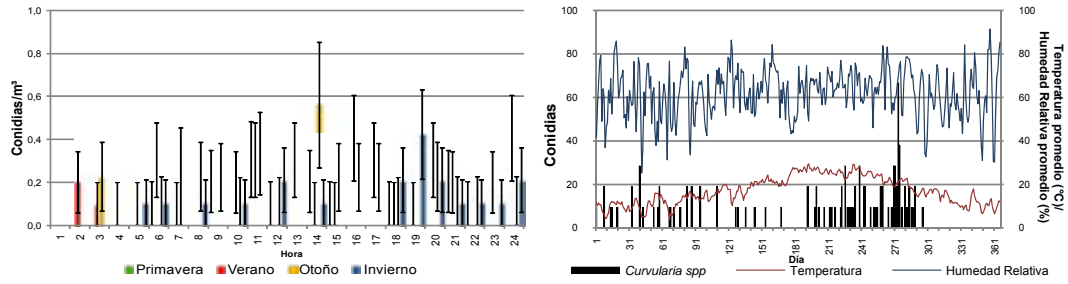


Figura N° 2.8.5. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Dendryphion* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

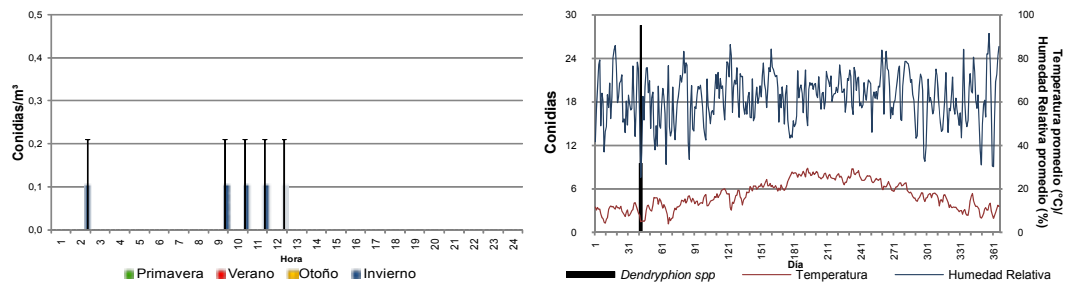


Figura N° 2.8.6. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Drechslera* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

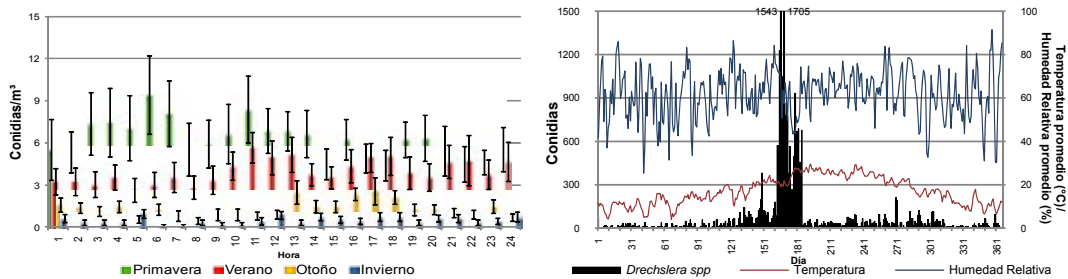
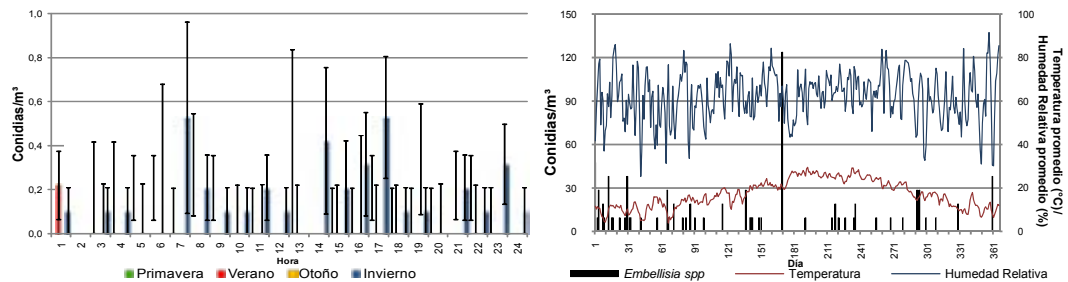


Figura N° 2.8.7. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Embellisia* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

En la figura de la izquierda se presenta con barras el comportamiento horario del promedio de cada espora y su respectivo error estándar de acuerdo a la estación climática. En la figura de la derecha se esquematiza con barras la distribución de la sumatoria diaria de cada espora y con líneas el comportamiento de la temperatura y la humedad relativa promedio a través del año 2010 y en cada estación climática (franjas de color en el fondo de figura, azul: invierno, verde: primavera, rojo: verano y amarillo: otoño).

Figura N° 2.8.8. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Epicoccum* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

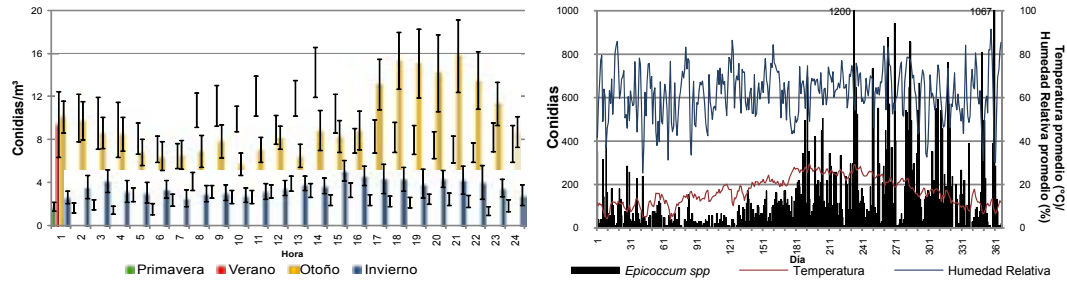
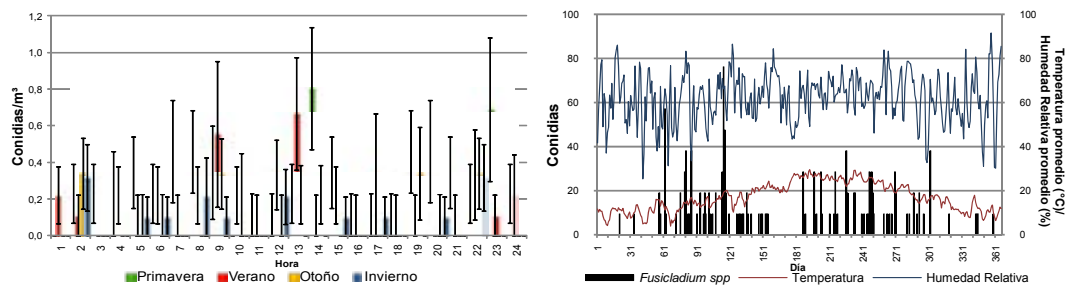
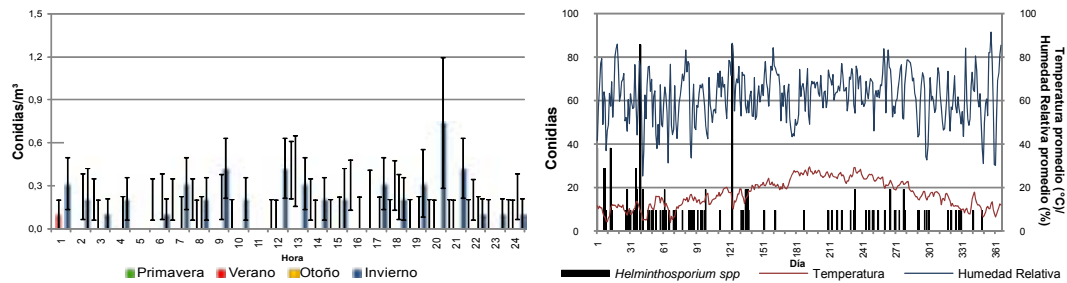


Figura N° 2.8.9. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Fusicladium* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



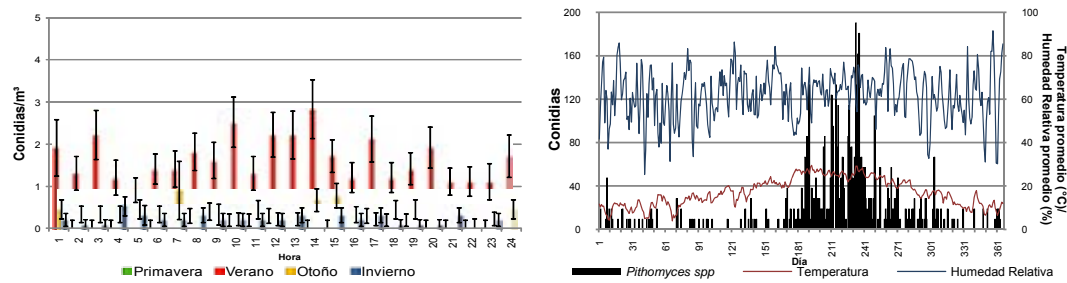
Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

Figura N° 2.8.10. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Helminthosporium* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



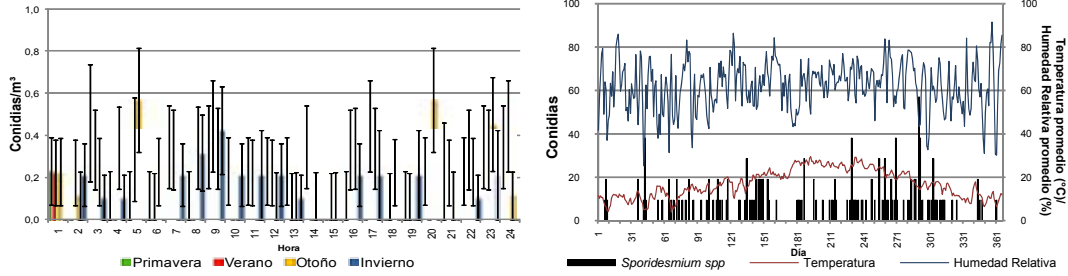
Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

Figura N° 2.8.11. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Pithomyces* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



En el figura de la izquierda se presenta con barras el comportamiento horario del promedio de cada espora y su respectivo error estándar de acuerdo a la estación climática. En la figura de la derecha se esquematiza con barras la distribución de la sumatoria diaria de cada espora y con líneas el comportamiento de la temperatura y la humedad relativa promedio a través del año 2010 y en cada estación climática (franjas de color en el fondo de figura, azul: invierno, verde: primavera, rojo: verano y amarillo: otoño).

Figura N° 2.8.12. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Sporidesmium* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

Figura N° 2.8.13. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Stemphylium* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

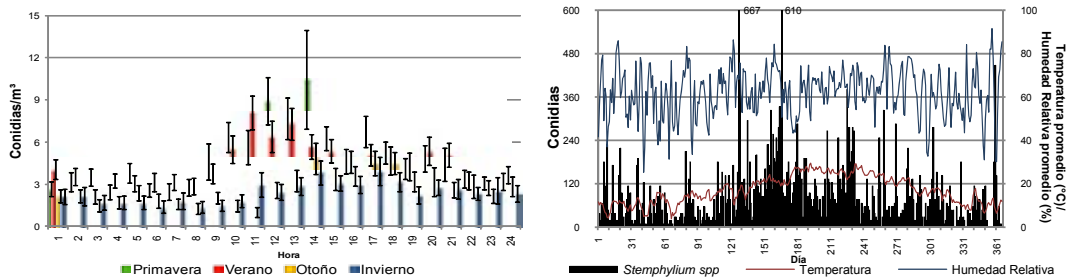


Figura N° 2.8.14. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Tetraploa* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

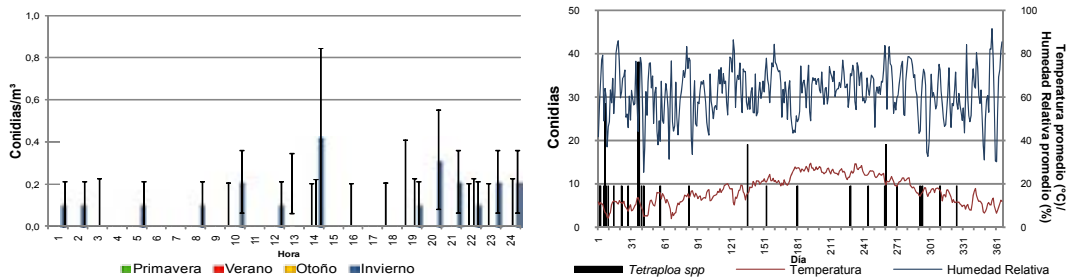
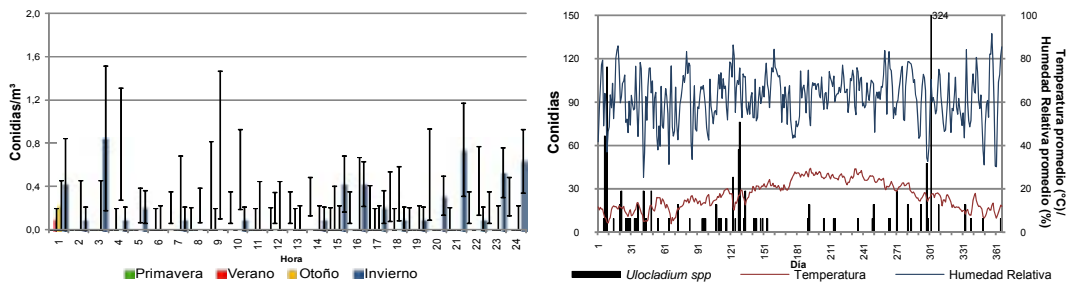


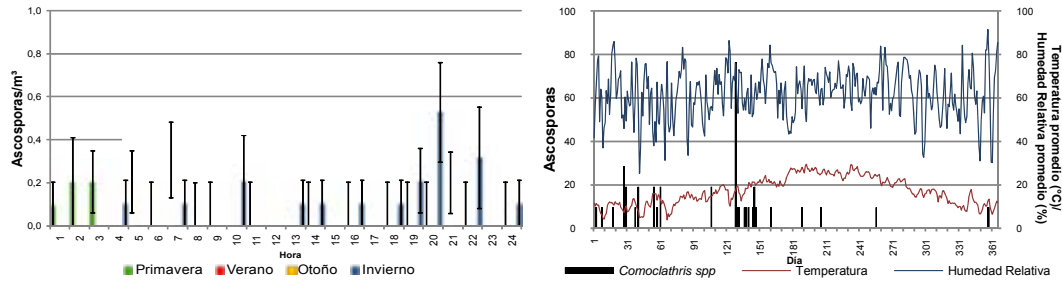
Figura N° 2.8.15. Comportamiento horario y distribución estacional de las conidias de *Ulocladium* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

En el figura de la izquierda se presenta con barras el comportamiento horario del promedio de cada espora y su respectivo error estándar de acuerdo a la estación climática. En la figura de la derecha se esquematiza con barras la distribución de la sumatoria diaria de cada espora y con líneas el comportamiento de la temperatura y la humedad relativa promedio a través del año 2010 y en cada estación climática (franjas de color en el fondo de figura, azul: invierno, verde: primavera, rojo: verano y amarillo: otoño).

Figura N° 2.8.16. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascoporas de *Comoclaithris* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

Figura N° 2.8.17. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascoporas de *Cucurbitodithis* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

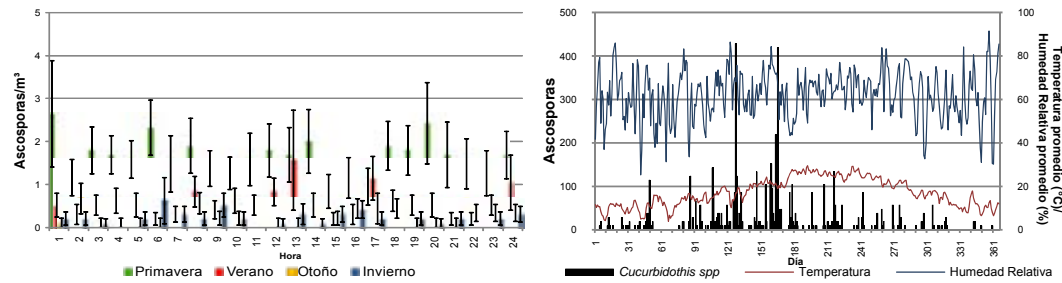
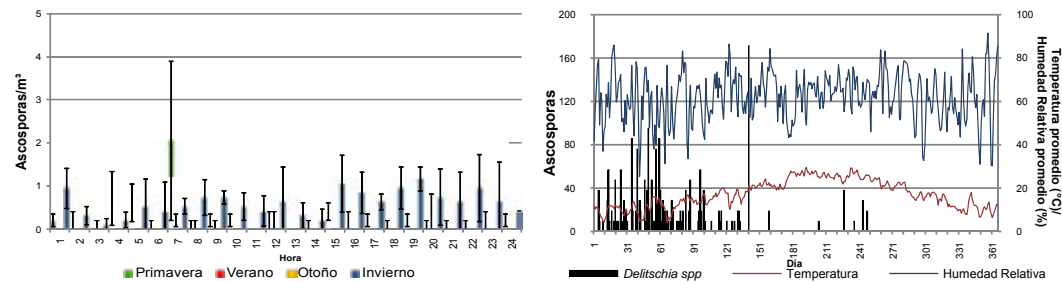
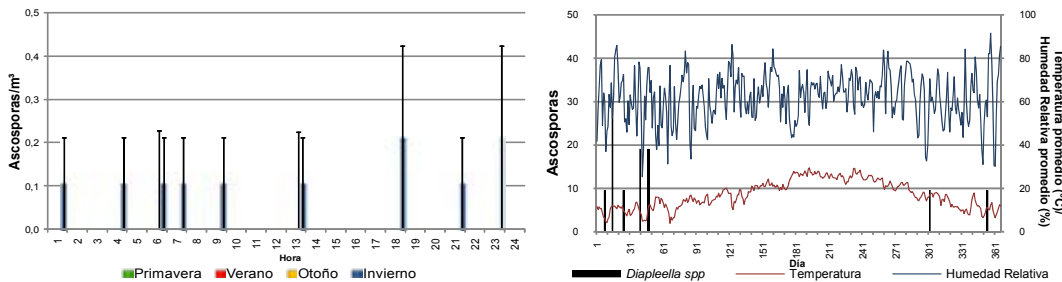


Figura N° 2.8.18. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascoporas de *Delitschia* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

Figura N° 2.8.19. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascoporas de *Diapleella* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



En la figura de la izquierda se presenta con barras el comportamiento horario del promedio de cada espora y su respectivo error estándar de acuerdo a la estación climática. En la figura de la derecha se esquematiza con barras la distribución de la sumatoria diaria de cada espora y con líneas el comportamiento de la temperatura y la humedad relativa promedio a través del año 2010 y en cada estación climática (franjas de color en el fondo de figura, azul: invierno, verde: primavera, rojo: verano y amarillo: otoño).

Figura N° 2.8.20. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Didymella* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

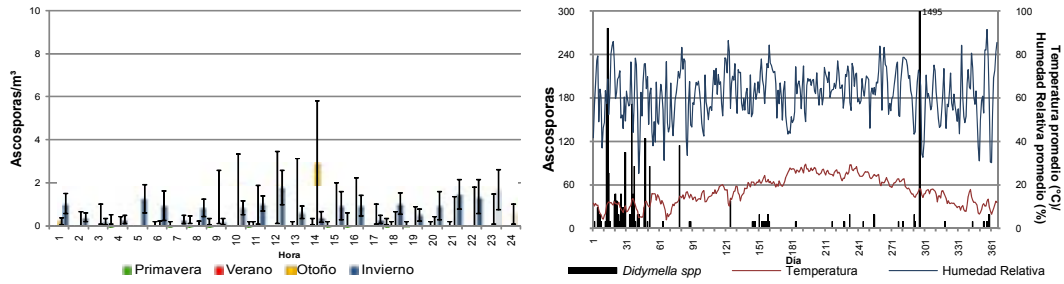


Figura N° 2.8.21. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Leptosphaeria* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

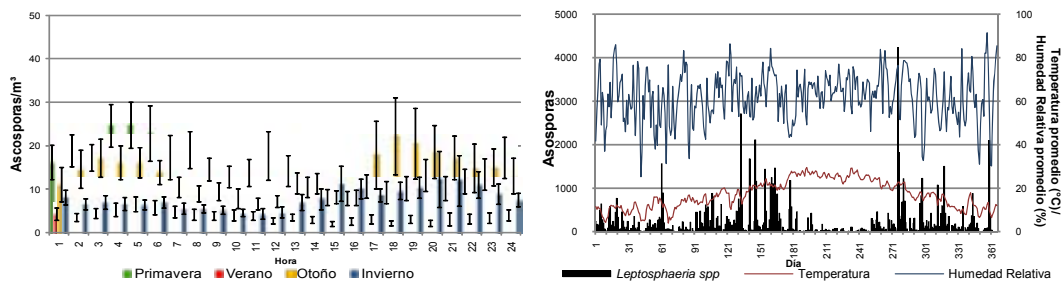


Figura N° 2.8.22. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Leptosphaerulina* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

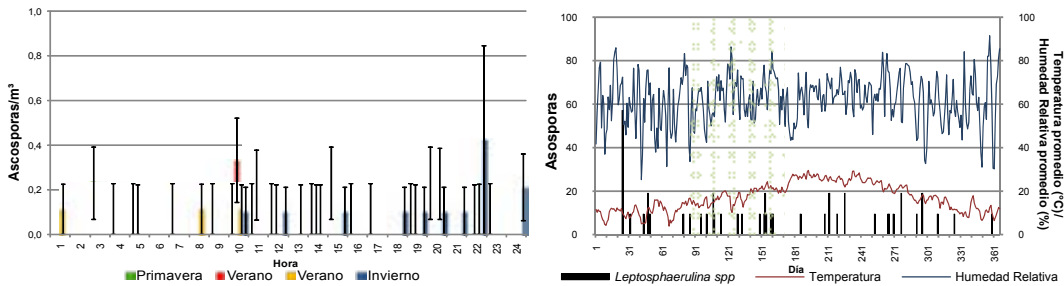
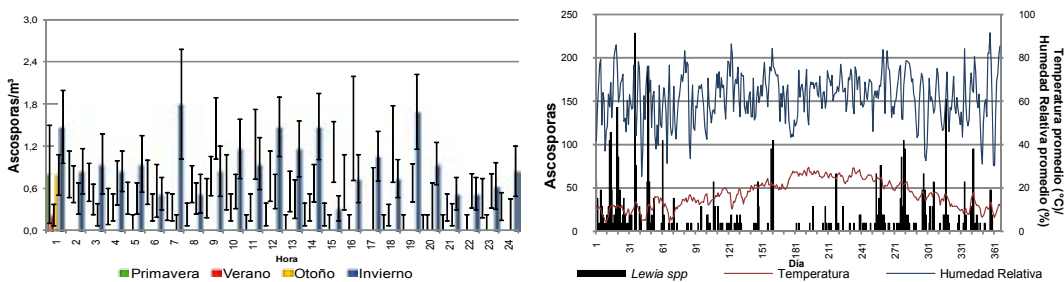


Figura N° 2.8.23. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Lewia* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

En la figura de la izquierda se presenta con barras el comportamiento horario del promedio de cada espora y su respectivo error estándar de acuerdo a la estación climática. En la figura de la derecha se esquematiza con barras la distribución de la sumatoria diaria de cada espora y con líneas el comportamiento de la temperatura y la humedad relativa promedio a través del año 2010 y en cada estación climática (franjas de color en el fondo de figura, azul: invierno, verde: primavera, rojo: verano y amarillo: otoño).

Figura N° 2.8.24. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Lophiostoma* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

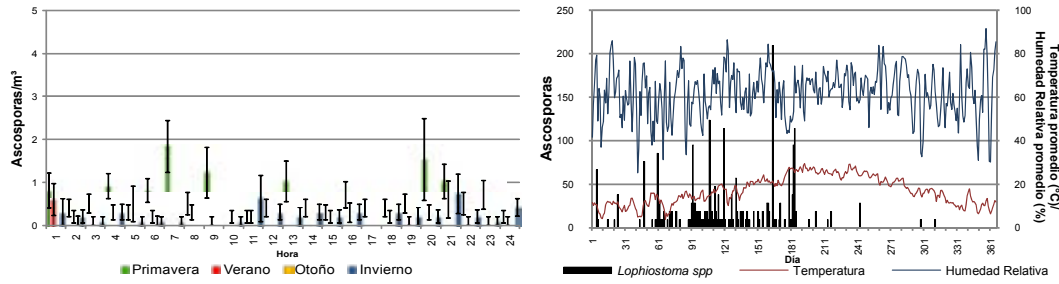
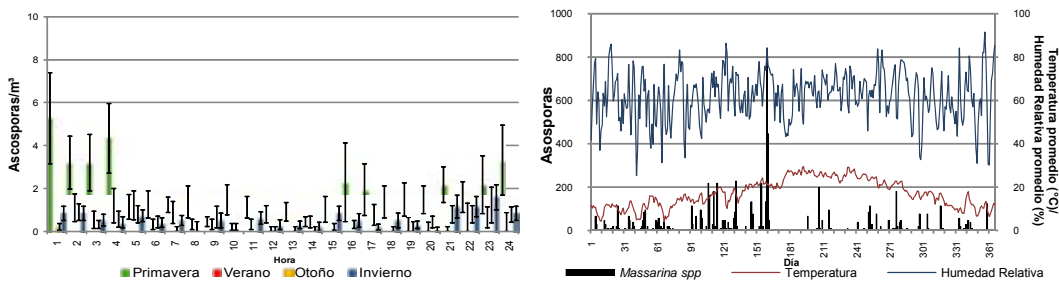
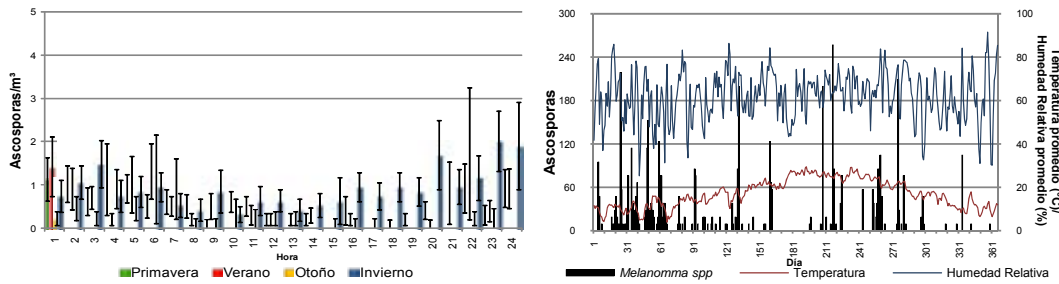


Figura N° 2.8.25. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Massarina* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



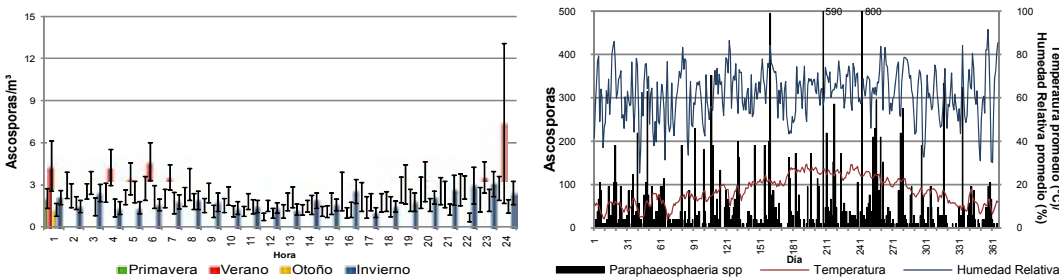
Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

Figura N° 2.8.26. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Melanomma* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



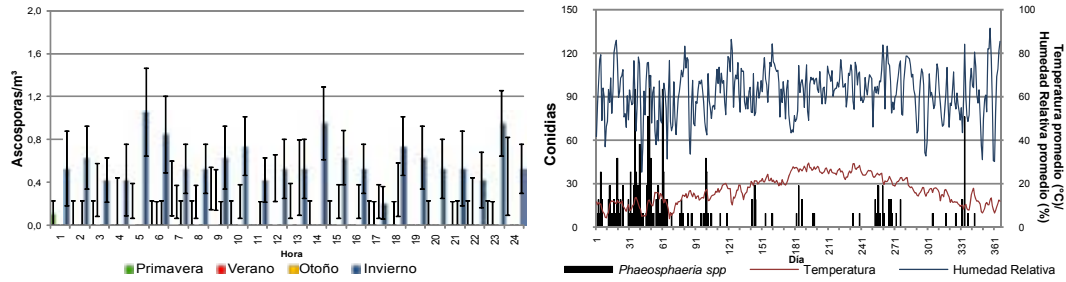
Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

Figura N° 2.8.27. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Paraphaeosphaeria* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



En el figura de la izquierda se presenta con barras el comportamiento horario del promedio de cada espora y su respectivo error estándar de acuerdo a la estación climática. En la figura de la derecha se esquematiza con barras la distribución de la sumatoria diaria de cada espora y con líneas el comportamiento de la temperatura y la humedad relativa promedio a través del año 2010 y en cada estación climática (franjas de color en el fondo de figura, azul: invierno, verde: primavera, rojo: verano y amarillo: otoño).

Figura N° 2.8.28. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Phaeosphaeria* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

Figura N° 2.8.29. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Pleospora* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.

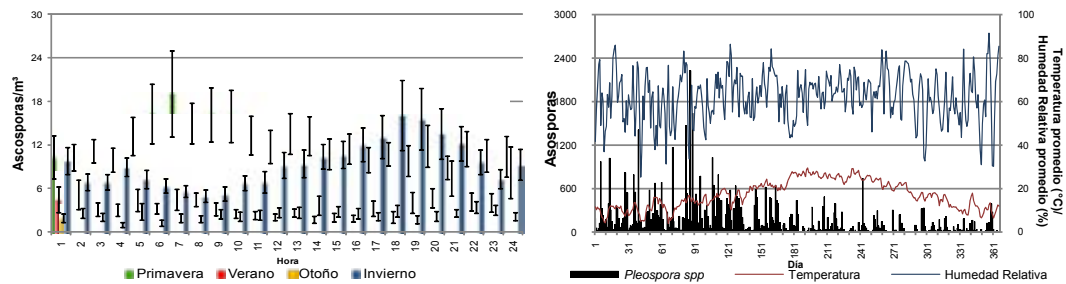
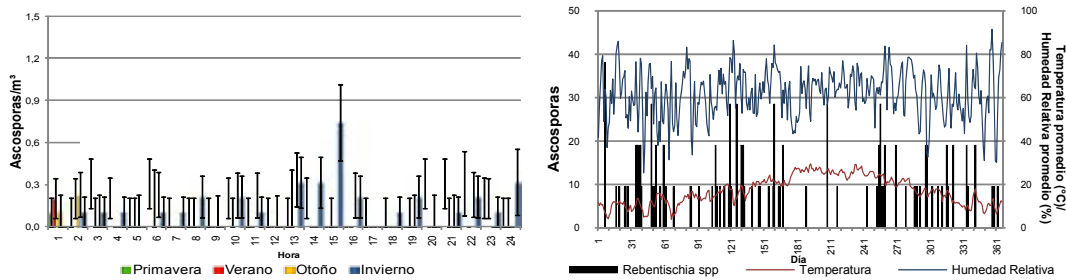
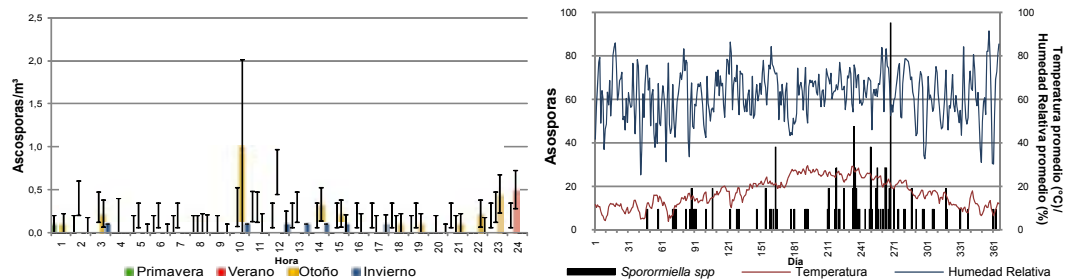


Figura N° 2.8.30. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Rebentischia* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



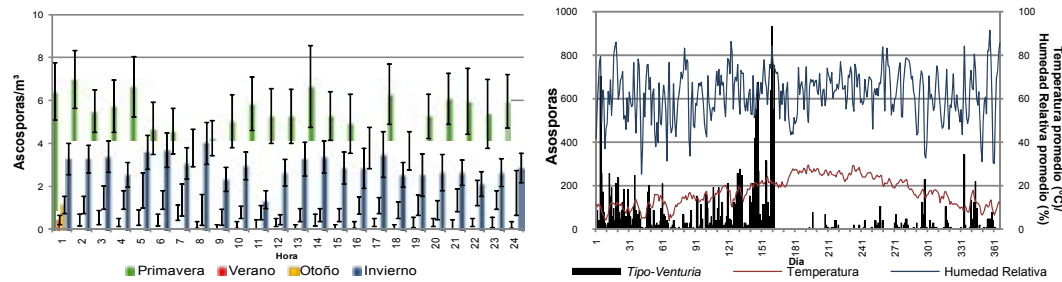
Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

Figura N° 2.8.31. Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de *Sporormiella* spp en el aire de Barcelona durante el año 2010.



En el figura de la izquierda se presenta con barras el comportamiento horario del promedio de cada espora y su respectivo error estándar de acuerdo a la estación climática. En la figura de la derecha se esquematiza con barras la distribución de la sumatoria diaria de cada espora y con líneas el comportamiento de la temperatura y la humedad relativa promedio a través del año 2010 y en cada estación climática (franjas de color en el fondo de figura, azul: invierno, verde: primavera, rojo: verano y amarillo: otoño).

Figura N° 2.8.32. **Comportamiento horario y distribución estacional de las ascosporas de tipo-Venturia en el aire de Barcelona durante el año 2010.**



Sin datos disponibles entre el 20 y el 29 de junio.

En la figura de la izquierda se presenta con barras el comportamiento horario del promedio de cada espora y su respectivo error estándar de acuerdo a la estación climática. En la figura de la derecha se esquematiza con barras la distribución de la sumatoria diaria de cada espora y con líneas el comportamiento de la temperatura y la humedad relativa promedio a través del año 2010 y en cada estación climática (frangas de color en el fondo de figura, azul: invierno, verde: primavera, rojo: verano y amarillo: otoño).

Discusión

Las especies de *Pleosporales* corresponden alrededor de la cuarta parte de todos los Dothideomycetes descritos a la fecha (Kirk et al. 2008). Estudios moleculares han demostrado que los modos de nutrición y los hábitos medioambientales pueden tener significancia filogenética en *Pleosporales*, sin embargo las características morfológicas pueden no ser claras o útiles en el momento de incluir a un hongo como miembro de este orden (Zhang et al. 2012b). Los cambios en las características morfológicas, principalmente en la forma, color y textura de las ascosporas, pueden ser debidas a adaptaciones funcionales en pro de los requerimientos de liberación pasiva, flotación en fluidos, deposición y supervivencia (Hawksworth 1991). Los taxones de este orden se han adaptado a múltiples hábitats y pueden encontrarse actuando como epifitos, endófitos o parásitos sobre hojas y tallos, hiperparásitos de hongos e insectos, liquenizados, o como saprófitos de material vegetal en descomposición o coprófilos sobre excrementos de animales herbívoros (Zhang et al. 2012). Entre estos también se incluyen varios géneros de importancia económica debido a su potencial fitopatógeno en mono y dicotiledóneas herbáceas, especialmente en pastos y cereales (*Pleospora*, *Lewia*, *Alternaria*, *Leptosphaeria*) (Zhang et al. 2009). Algunos son patógenos para animales y humanos, en quienes pueden causar desde cuadros leves de alergia respiratoria hasta micosis diseminadas fatales (*Alternaria*, *Drechslera*, *Stemphylium*) (Revankar & Sutton 2010). Muchos de los hongos de este grupo producen toxinas con especificidad de hospedero variable (Friesen et al. 2008).

Por la amplia distribución de sus plantas hospederas y su fácil adaptación a condiciones ambientales, los *Pleosporales* suelen encontrarse prácticamente en cualquier latitud (Cannon & Kirk 2007) y son un componente habitual de la aerospora, informándose prácticamente en todos los estudios aerobiológicos alrededor del mundo (Prospero 2005, Sesartic & Dallafior 2011, Robertson & Brandys 2011, Pashley 2012)

En un completo catálogo realizado por Sierra (2006) sobre los Ascomicetos bitunicados en el área de Cataluña, se encontró gran diversidad de géneros del Orden *Pleosporales* (alrededor de 130 taxones), siendo el mayormente representado en el área estudiada. Es de anotar que el autor encontró una alta especificidad de los taxones por el sustrato sobre el que se desarrollan y una amplia distribución en el territorio Barcelonés y zonas cercanas.

Es evidente que las variables meteorológicas, incluyendo la temperatura del aire, la temperatura de rocío, la humedad relativa, las horas de sol, la dirección y velocidad de los vientos, la precipitación y

las nevadas, afectan significativamente tanto la liberación como el transporte de las esporas, tal como lo han descrito varios autores (**Hasnain 1993a, Li & Kendrick 1995, Li & Li 2000, Mitatakis et al. 2001, Jones & Harrison 2004, Bruno et al. 2007, Hameed et al. 2012**). Adicional a esto, otros factores como la localización costera o interior (distancia del mar), la densidad poblacional o nivel de urbanismo y la presencia y concentración de contaminantes en la atmósfera, tienen efecto sobre la aerospora (**Infante et al. 1999, Li & Li 2000, Oliveira et al. 2009b y 2010c, Grinn-Gofroñ et al. 2011**). A saber los vientos provenientes del mar suelen traer una carga inferior de esporas que los provenientes de zonas en el interior, más aún si estas zonas presentan una alta densidad de cultivos, adicionalmente algunos autores sugieren el efecto tóxico que puede tener el aire proveniente del mar sobre los microorganismos del aire (**Li & Li 2000**). La ubicación de Barcelona sobre el litoral Mediterráneo, el hecho de presentar estaciones climáticas y su alto grado de urbanismo, le proporcionan condiciones particulares con efectos directos sobre el tipo, concentración y distribución en el tiempo de los componentes de la aerospora.

Comportamiento aerobiológico de los grupo de Pleosporales y los fragmentos de hifas dematiáceas en el aire de Barcelona - En el presente estudio las esporas de *Pleosporales* se encontraron en el aire de Barcelona a través de todo el año 2010, mostrando patrones estacionales y de liberación horaria diversos de acuerdo al taxón, pero conservando, por lo general, un comportamiento similar según el modo de producción de la spora, es decir, si son del tipo conidias o ascosporas. Este orden fue representado en la aerospora de Barcelona por los *Pleosporales* mitospóricos principalmente, los cuales duplicaban en concentración a los meiospóricos, prácticamente durante todo el año, a excepción de picos ocasionales a expensa de las ascosporas de *Leptosphaeria* o *Didymella*, y durante los periodos de bajas temperaturas (invierno y comienzos de primavera) cuando los niveles de ambos grupos presentaron concentraciones similares. Los *Pleosporales* mitospóricos como grupo, manifestaron a través del año un comportamiento supeditado por la concentración de las conidias de *Alternaria*, encontrándose presentes permanentemente en la aerospora, pero con un incremento significativo en los valores desde mediados de primavera hasta finales de otoño, con dos épocas de valores altos a finales de primavera y comienzos de verano y a mediados de verano, pero con la concentración más elevada (9753 esp/m³) el 26 de septiembre (otoño). Los valores más bajos se presentaron en invierno, sin embargo se notó la presencia de picos ocasionales con valores cercanos a los 5000 esp/m³ a inicios de la estación. Los niveles altos se asociaron con el incremento en la temperatura, lo que se evidencia de igual manera en el comportamiento horario, ya que las horas más cálidas (hacia el medio día y al atardecer) solían presentar las mayores concentraciones. Esto es explicado por el efecto de la radiación solar directamente sobre la maduración de las conidias, así como en su liberación favorecida por el ascenso de las temperaturas, la disminución de la humedad relativa, el incremento de la evaporación de la humedad y la deshidratación de la conidia; también la velocidad del viento y las turbulencias participan activamente en su liberación (**Leach et al. 1982, Aylor & Taylor 1983**). Adicionalmente, **Adams et al (1986)** sugirieron que cambios en la radiación solar y la humedad relativa pueden afectar la carga eléctrica de la superficie de las hojas, con un pronunciado incremento en la carga cuando sale el sol, correlacionándose con la masiva liberación de esporas, proponiendo que la carga eléctrica dirige la liberación de conidias mas que el movimiento del aire a través de la superficie de la hoja.

En contraste, el grupo de *Pleosporales* meiospóricos, aunque también se encontró en la aerospora a través de año, sus niveles fueron bajos, principalmente durante el verano cuando en algunos días casi desaparecieron del aire, y con picos ocasionales en las demás estaciones, siendo más comunes durante la primavera. Tal comportamiento refleja el efecto negativo de las temperaturas altas sobre la humedad relativa y el nivel de humedad sobre las superficies, disminuyendo el porcentaje de agua disponible en el aire, indispensable para la liberación de la mayoría de las ascosporas por su efecto sobre las células turgentes (**Ingold & Hudson 1993, Gottwald et al. 1997**). Su comportamiento horario también reflejó este fenómeno, ya que los niveles de ascosporas más altos en el aire se observaron en la madrugada (principalmente entre las 4:00 y las 7:00 horas), asociado a la disminución de la temperatura y la velocidad del viento, al incremento de la humedad relativa y la formación del rocío, adicionalmente, **Cheah et al (1982)** sugirieron que la liberación de ascosporas

puede ser inducida por periodos de luz-oscuridad, aunque en sus estudios de campo la aparición de picos de liberación solo fue evidente durante la noche.

Los fragmentos de hifas dematiáceas, se presentaron en altas concentraciones a través del año, inclusive durante el invierno, no obstante puede notarse un incremento significativo en su liberación en el aire durante el verano. No fue posible establecer un comportamiento horario, ya que durante el verano las horas de madrugada y hasta el medio día presentaron los niveles más altos, pero en el otoño este patrón cambió siendo mayores a finales de la tarde.

Con respecto a los taxones particulares, en el aire de Barcelona se identificaron un total de 32 géneros de *Pleosporales*, 15 estados anamórficos y 17 teleomórficos, además de fragmentos de hifas dematiáceas, otras ascosporas bicelulares y multicelulares pigmentadas y otras dictio y fragmoconidias dematiáceas no identificadas. Estos tres últimos grupos fueron tenidos en cuenta por ser morfológicamente similares a las conidias y ascosporas de *Pleosporales* y potencialmente incluir otros *Pleosporales* no identificados. Las ascosporas bicelulares pigmentadas se presentaron en un promedio diario de 178,1 esp/m³ y estuvieron en el aire de la ciudad durante el 95,6% de los días, las ascosporas multicelulares pigmentadas fueron más abundantes, con un promedio diario de 1032,7 esp/m³ y se observaron en el 98,5% de los días muestreados. Las dictio y fragmoconidias dematiáceas tuvieron un promedio diario de 240,1 esp/m³ y se presentaron en el aire de Barcelona durante el 98,8% de los días analizados. Los dos grupos de ascosporas presentaron un comportamiento estacional diferente al descrito para los *Pleosporales* meiospóricos, con presencia en el aire prácticamente durante todo el año, pero con oscilaciones marcadas en las concentraciones en todas las estaciones, siendo más constantes durante el verano y el otoño para las bicelulares (aunque el pico más alto se presentó en el invierno) y la primavera para las multicelulares. El comportamiento horario presentó un patrón similar al descrito para los *Pleosporales* meiospóricos, con los mayores niveles en la madrugada y los menores hacia el medio día. Las fragmo y dictioconidias no identificadas fueron constantes durante todo el año con dos picos altos en la concentración, el mayor a inicios de invierno y más bajo a finales de la primavera, y su comportamiento horario no mostró ningún patrón evidente.

Comportamiento estacional y intradiurno de los Pleosporales meiospóricos.

Por lo general, los Ascomycetes utilizan mecanismos de lanzamiento a presión de sus esporas que permiten que éstas puedan ser disparadas a más de 2 metros del sitio de producción (Yafetto et al. 2008). En el sitio de origen de las esporas (en el caso de las ascosporas, una planta huésped), estos mecanismos dependen enteramente de la disponibilidad de agua (principalmente de la humedad relativa y punto de rocío). Gracias a sus propiedades foto y geotrópicas, las ascosporas son liberadas hacia la luz y lejos del sitio de origen (Isard & Gage 2001), para luego ser transportadas por las corrientes de aire, inicialmente favorecida por el incremento en la temperatura a nivel del sitio de origen, pero luego dependiendo enteramente de la presencia de flujos de aire (Isard & Gage 2001, Agashe & Caulton 2009). La lluvia tiene un efecto dual en el comportamiento aerobiológico de las ascosporas, ya que lluvias intensas y prolongadas "limpian" el aire de partículas en suspensión, entre éstas las esporas de hongos, mientras que lluvias de corta duración pueden ejercer un efecto trampolín sobre las hojas, los cuerpos fructíferos o las superficies provocando el movimiento de las esporas o induciendo el lanzamiento de las ascosporas por un efecto directo en las células turgentes (Rivera-Mariani & Bolaños-Rosero 2012). Los *Pleosporales* meiospóricos emplean ambos mecanismos para la liberación y distribución de sus ascosporas por la atmósfera, por tal razón su presencia suele ser casi permanente en la aerospora y en algunas épocas del año en altas concentraciones.

Comoclathris. Para este taxón teleomórfico solo se ha descrito un anamórfico en *Alternaria alternata* (Farr, Bills, Chamuris & Rossman 1989). Su presencia se ha descrito en varias zonas de España sobre diversos huéspedes vegetales (Checa 1997, Hernández-Crespo 2006, Sierra 2006). Por su similitud con *Pleospora* (dictiospora) suele informarse dentro del grupo tipo-*Pleospora* (Hernández et al. 2012). Como taxón individual fue informado en la aerospora en Pakistán representando menos del

1% del total de esporas (**Hasnain et al. 2012**). En Barcelona se observó ocasionalmente en el aire, principalmente durante el invierno y la primavera y no fue encontrado en el otoño. El promedio diario fue 1,1 esp/m³ correspondiendo al 0,06 del total de *Pleosporales* y estuvo presente en el aire durante el 7,5% de los días analizados (27). La mayor concentración, 76,2 esp/m³, fue encontrada en la primavera (8 de mayo). Aunque las ascosporas fueron observadas principalmente durante horas de la tarde y la noche, no es posible describir un patrón horario de liberación. Los niveles de *Comocloathris* se correlacionaron débilmente con la temperatura media y máxima y la radiación global.

Cucurbitodithis. Fitopatógeno sobre pinos y abetos y ha sido informado ocasionalmente en España sobre ramas de *Pinus uncinata* y *Pinus mugo* en Girona y Lleida (**Checa 1997, Hernández-Crespo 2006, Sierra 2006**). No se ha encontrado registro de su presencia en estudio aerobiológicos en otros sitios. La presencia de esta ascospora fue permanente en el aire (salvo dos periodos en que no se contabilizó), observándose un incremento desde finales de invierno, con las mayores concentraciones a mediados y finales de primavera, para caer a los valores más bajos a mediados de otoño. Su concentración promedio diaria fue 16,2 esp/m³ y significó el 0,87% del total de *Pleosporales*. Este tipo de espora se encontró en el aire de Barcelona durante 145 días (40,8% del tiempo analizado). Presentó dos picos significativamente mayores, ambos en primavera, el primero el 7 de mayo (429 esp/m³) y el segundo el 14 de junio (419 esp/m³). Presentó un comportamiento intradiurno similar al descrito como general para las ascosporas, más evidente durante la primavera, con las concentraciones mal altas en la madrugada e inicios de la noche, sin embargo durante el verano este patrón se pierde y los mayores niveles aparecen hacia el medio día. Los niveles de *Cucurbitodithis* no se correlacionaron con ninguna variable meteorológica.

Delitschia. Hongo de amplia distribución geográfica, común en suelos y ambientes acuáticos. En Cataluña ha sido informado sobre excrementos de conejo (**Sierra 2006**). Sus ascosporas se han reportado ocasionalmente y en bajos niveles en monitoreos aerobiológicos correspondiendo a menos del 1% del total de esporas una cueva turística en España (**Docampo et al. 2010**), y en el aire exterior de una zona urbana Pakistán (**Hasnain et al. 2012**) y como parte de la aerospora una zona de viñedos en Italia (**Magyar et al. 2009**). En Barcelona, las ascosporas de *Delitschia* correspondieron al 0,31% del total de *Pleosporales* y se encontraron principalmente durante el invierno y parte de la primavera, ocasionalmente aparecieron en bajos niveles en el verano y estuvieron ausentes del aire de la ciudad en el otoño. La concentración promedio diaria fue 2,7 esp/m³ y estuvo presente en el aire durante 20,8% de los días (75). El valor más alto (171/m³) se presentó el 20 de mayo. Solo durante el invierno se evidenció un comportamiento horario predominantemente vespertino, con los mayores niveles entre las 15:00 y las 23 horas, mientras que en la primavera los valores más altos se presentaron en la madrugada (4:00 a 7:00 horas). Los niveles de *Delitschia* no se correlacionaron con ningún parámetro meteorológico.

Diapleella. Este hongo fitopatógeno ha sido informado contaminando agracejo, rosa y *Rubus spp.* en España (**Malgarejo et al. 2010**). Las ascosporas de *Diapleella* es de aparición ocasional en el aire y rara vez informado en los informes aerobiológicos. **Magyar et al. (2009)** las reportó conformando menos del 1% de las esporas recuperadas durante tres años en una zona de viñedos en Italia (101 esporas durante todo el periodo). En nuestro estudio en Barcelona, *Diapleella* representó el 0,02% del total de *Pleosporales* con una concentración promedio de 0,3 esp/m³ y fue observado en el aire principalmente en el invierno y solo dos días del otoño. El mayor recuento fue informado el 15 de enero (29 esp/m³). Este tipo de esporas se encontraron en el aire durante el 2,2% de los días (8). No se obtuvo ninguna correlación entre los niveles de *Diapleella* y los parámetros meteorológicos evaluados.

Didymella. Este hongo saprófito o patógeno débil ha sido informado alrededor del mundo, principalmente en campos de trigo y cebada, por tal motivo sus niveles suelen ser altos en zonas cercanas a cultivos de este tipo y tienden a disminuir una vez son cosechados (**Stępańska et al. 2012**). En España ha sido reportado como parásito en tallos de *Cucurbitaceae* y como saprofito en tallos y hojas de *Brachypodium* (**Sierra 2006**). *Didymella* ha sido asociado con manifestaciones alérgicas, principalmente con el asma de finales de verano en Inglaterra (**Frankland & Gregory**

1973, Harries et al. 1995). Este hongo ha sido informado como de aparición ocasional en el aire (menor del 1% del total) de Atenas, Grecia (**Gonianakis et al. 2005**) y Portugal (**Oliveira et al. 2010a**). En zonas urbanas de Londres, UK (**Atkinson et al. 2006**) y Szczecin, Polonia (**Grinn-Gofroń et al. 2008**) se reportaron valores cercanos a 300 esp/m³ y en un ambiente rural en España, **Docampo et al. (2010)** encontraron 8339 esp/m³ en el interior de una cueva turística. En Barcelona, se encontró un promedio de 9,9 esp/m³ de *Didymella* representando el 0,54% del total de *Pleosporales* y estuvo presente en el aire el 16,9% de los días (61). Los niveles de *Didymella* se correlacionaron de forma positiva pero muy baja con la temperatura media, mínima y máxima, temperatura del punto de rocío, presión barométrica, radiación global y la evotranspiración. Otros autores encontraron un aumento de los niveles de *Didymella* relacionado con alta humedad y periodos de lluvia (**Corden & Millington 1994, Fairs et al. 2010**), correlación no hallada en nuestro estudio, adicionalmente y contrario a nuestros hallazgos **Oliveira et al. (2009), Fairs et al. (2010)** y **Stępańska et al. (2012)** han observado una correlación negativa con la temperatura. Se ha sugerido que altas temperaturas cuatro días antes de una tormenta pueden provocar un incremento significativo de las concentraciones y asociarse a exacerbación de cuadros de asma en pacientes sensibilizados al hongo (**Corden & Millington 1994, Lewis et al. 2000**). Sin embargo, **Allit (2000)** reportó un modesto incremento de esta ascospora después de una gran tormenta y **Stępańska & Wolek (2009)** no encontraron diferencias en los niveles de *Didymella* entre periodos secos y lluviosos. Con respecto a la estacionalidad **Stępańska & Wolek 2005** en Polonia encontró que los mayores niveles se presenta de junio a agosto (finales de primavera y verano), sin embargo, en el aire de Barcelona este tipo de ascosporas se encontró principalmente durante el invierno y ocasionalmente durante el resto del año. El valor más alto se presentó en el otoño, el 22 de octubre cuando *Didymella* alcanzó una concentración de 1495 esp/m³. Un comportamiento nocturno fue descrito por **Stępańska & Wolek (2009)** en Polonia, con una concentración máxima hacia las 4 a.m., pero son altas entre la 1:00 a.m. y las 6:00 a.m., no obstante en nuestro estudio no se dilucidó ningún patrón horario.

Leptosphaeria. Este teleomórfico incluye estados sexuales para especies de *Phoma*, *Stagonospora* y *Septoria*. *Leptosphaeria* se ha recuperado de hojas moribundas y tallos de herbáceas y se han descrito alrededor de 100 especies con un amplio rango de hospederos. Es un fitopatógeno extensamente distribuido, afectando principalmente a dicotiledóneas y asociado con enfermedades en crucíferas, cereales, caña de azúcar, hortalizas, entre muchos otros. *L. coniothyrium* causa el tizón de la caña de la frambuesa, *L. maculans* causa el pie negro de la canola y otras malezas y *L. acuta* fructifica en abundancia en primavera en la base de los tallos de ortiga mayor (*Urtica dioica*). La especies de *Leptosphaeria* causan manchas foliares, muy comunes en zonas de cultivo de cereales y llegan a ser de importancia económica afectando las hojas de los cereales en áreas húmedas y frescas. En España se ha informado infectando col, colza, nabo, repollo, arroz, cebada, centeno y trigo (**Malgarejo et al. 2010**). *Leptosphaeria* se ha asociado a procesos infecciosos en humanos, principalmente las especies *L. senegalensis* y *L. thompkinsii* responsables del micetoma de punto negro en el norte de Africa (**Revankar & Sutton 2010**). Se ha relacionado con manifestaciones alérgicas, particularmente con el asma bronquial de finales de verano y otoño (**Hasnain 1993b, Rosas et al. 1998**). La presencia de este taxón en la aerospora está asociada, por lo general, a zonas de cultivos susceptibles a la infección. En la Península Ibérica *Leptosphaeria* es la ascospora más frecuentemente informada en la aerospora, tanto de ambientes rurales como urbanos. En Mérida, España, presentó una media diaria de 54 esp/m³ (**Fernández et al. 2012**), mientras que en una zona rural de Badajoz con cultivos irrigados alcanzó medias entre 20 - 83 esp/m³ (**Muñoz et al. 2010**) y en Madrid correspondió al 1,48% del total de esporas (**Díez et al. 2006**); en Portugal aportó el 1% de las esporas del aire exterior en Oporto (**Oliveira 2009a**) y el 0,16% en dos áreas, rural (media 2,1 esp/m³) y urbana (media 0,5 esp/m³) (**Oliveira et al. 2010a y 2010b**). En otras zonas con influencia Mediterránea también es informada con frecuencia, tal es el caso de un ambiente rural con viñedos en Italia donde el promedio de estas ascosporas fue de 6,7 esp/m³ (**Magyar et al. 2009**) y en Grecia donde representó el 6,54% de las ascosporas en el aire con una concentración promedio de 14,3 esp/m³ en la isla de Creta (**Gonianakis et al. 2005**) y al 1,23% del total de esporas en Thessaloniki (**Gioulekas et al. 2004**). En India en un área suburbana, las ascosporas de *Leptosphaeria* significaron el 0,3% del total (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008**) y en el ambiente

exterior de una zona industrial fue el 0,18% del total (**Gaikwad & Sonawane 2012**). En la ciudad de Karachi (Pakistán) fueron menos del 1% del total de esporas (**Hasnain et al. 2012**) y en Melbourne (Australia) correspondió al 14,9% de la aerospora (**Mitatakis & Guest 2001**). En el aire de Barcelona, las ascosporas de *Leptosphaeria* spp correspondieron al 12,9% del total de *Pleosporales* con un promedio diario de 235,5 esp/m³. Los niveles de esta espora se correlacionaron negativamente (pero de manera baja) con la temperatura media, mínima y máxima y la de punto de rocío, la presión barométrica y la radiación global, lo cual está de acuerdo a lo observado para la mayoría de las ascosporas (**Ingold & Hudson 1993, Gottwald et al. 1997**). Con respecto a la estacionalidad, *Leptosphaeria* spp estuvo presente en el aire de Barcelona durante todo el año, pero presentó un patrón de dos picos, el primero desde finales del invierno hasta comienzo del verano y el segundo desde finales de verano a finales del otoño. La mayor concentración se presentó el 2 de octubre (4238 esp/m³). En otras zonas de la Península Ibérica y de la Europa Mediterránea el comportamiento fue similar (**Gonianakis et al. 2005, Oliveira et al. 2010a y 2010b, Hernández et al. 2012**). En Nueva Zelanda este patrón difiere ligeramente con los nuestros ya que los mayores niveles se observaron en a finales de verano e inicios de otoño (**Hasnain 1993b**). Estos niveles de esporas suele correlacionarse positivamente con los eventos de lluvia (**Gonianakis et al. 2005, Oliveira et al. 2009b y 2010a, Hernández et al. 2012**), tanto previa al muestreo (**Hasnain 1993b**) como hasta 3 días después (**Oliveira et al. 2010a**), sin embargo este comportamiento no fue evidente en nuestro estudio. El comportamiento horario de *Leptosphaeria* fue el descrito para el total de *Pleosporales* meiospóricos, con importantes diferencias entre la primavera y el otoño, ya que durante la primera estación la mayor liberación de las ascosporas suele darse en horas de la madrugada e inicios de la mañana y otro pico incremento menos marcado en la noche, mientras que durante el otoño la mayor liberación se dio durante la tarde y la noche y en menor grado en la madrugada y la mañana. El patrón observado en la primavera es similar al descrito en Portugal y New Zelanda por **Oliveira (2009b y 2010a) y Hasnain (1993b)** quienes describen la presencia de un pico de liberación nocturno hacia la media noche y en la madrugada.

Leptosphaerulina. Incluye estados teleomórficos de *Stemphylium*, *Pithomyces* y *Stagonospora*. Sus huéspedes habituales son la alfalfa y el trébol donde pueden causar el quemado de la hoja (**Malgarejo et al. 2010**), en Cataluña ha sido observado como saprófito sobre tallos secos (**Sierra 2006**). No se ha asociado a procesos infecciosos en humanos ni animales y es muy escasa la evidencia directa sobre la relación de antígenos de este género y el desarrollo de alergia (**Burge et al. 1986**), no obstante, **Green et al. (2005)** empleando el inmunoensayo halógeno, demostró la presencia de alérgenos en sus ascosporas. Las esporas de este Pleosporal son informadas con relativa frecuencia en la atmósfera de diversas zonas geográficas, pero debido a su morfología, algunos autores la han incluido dentro del grupo de esporas tipo-*Pleospora* de ahí el subregistro de su verdadera prevalencia en el aire (**Hernández et al. 2012**). **Díez et al. (2006)** reportaron que *Leptosphaerulina* representó el 0,02% del total de esporas en el aire de Madrid, presentándose en el 0,8% de los días en el año 2003. **Gonianakis et al. (2005) y Mitatakis & Guest (2001)**, en Creta, Grecia y Melbourne, Australia, respectivamente reportaron que este tipo de ascospora estuvo ocasionalmente en la aerospora de estas regiones. A pesar de estos informes, la prevalencia de este taxón es mucho mayor, como lo han demostrado **Yamamoto et al. (2012)** empleando técnicas de qPCR y análisis de secuencias, estableciendo que la abundancia relativa de *Leptosphaerulina* en el aire de New Heaven, Connecticut (USA) era del 4,9% del total de *Ascomycota*, siendo más frecuente inclusive que *Cladosporium* y *Epicoccum*. En el mismo sentido, utilizando también técnicas moleculares, **Amend et al. (2010)** encontraron en muestras de polvo del interior de edificaciones de todos los continentes, que *Leptosphaerulina* se encuentra en todas las latitudes, sin embargo es más común en zonas tropicales. En Barcelona, este tipo de ascosporas se encontró en el aire durante el 10,8% de los días muestreados (37) en una concentración promedio diaria de 1,4 esp/m³. No se describió ningún comportamiento estacional, encontrándose bajos niveles de esta ascospora ocasionalmente a lo largo del año, tampoco pudo evidenciarse un comportamiento horario. El máximo valor dentro de la aerospora en Barcelona fue 57 esp/m³ y sucedió el 25 de enero.

Lewia. Este taxón incluye algunos estados teleomórficos de especies de *Alternaria*. Fructifica sobre hierbas (incluyendo cereales en los cuales es un patógeno importante) y en hospederos dicotiledóneos (incluyendo *Brassica* y *Pastinaca*). En España ha sido informado como parásito de diversas plantas o como saprofito en tallos y hojas secas (**Checa 1997, Hernández-Crespo 2006, Sierra 2006**). Son pocos los registros disponibles sobre su presencia en la aerospora. **Allit (2000)** reportó un incremento en los niveles de esta ascospora junto con granos de polen después de una tormenta durante el verano en el Reino Unido. **Fairs et al. (2010)** informó su presencia en bajas concentraciones, tanto en interiores como exteriores, sin embargo la incluye dentro del grupo *Pleospora/Lewia* sin aclarar si existían diferencias entre estos dos taxones. **Amend et al. (2010)** reporta que el ADN de *Lewia* es frecuente en el polvo del interior de edificios alrededor del mundo, especialmente en zonas tropicales. En Barcelona, las ascosporas de *Lewia* tuvieron una concentración promedio diaria de 13,8 esp/m³ correspondiendo al 0,71% del total de *Pleosporales* y estando presente en el aire de la ciudad durante el 45,2% de los días (155) con el mayor pico en su concentración el día 5 de febrero (229 esp/m³). Sus mayores concentraciones se presentaron durante el invierno, seguido del otoño, y las más bajas durante el verano cuando no se observó en varios días. Su patrón horario varió significativamente entre estaciones, mientras durante la primavera y el verano, presentó el típico comportamiento de las ascosporas con los mayores niveles durante la madrugada, en el invierno se presentaron picos a diversas horas del día, inclusive hacia el medio día. Los niveles de esporas se correlacionaron de manera positiva débil con las temperaturas media, máxima y mínima.

Lophiostoma. Las estructuras reproductivas de este género han sido observadas ampliamente distribuidas en España y Cataluña, actuando como saprofito sobre tallos y hojas secas de diversas especies (**Checa 1997, Hernández-Crespo 2006, Sierra 2006**). Las características morfológicas de sus ascosporas son muy similares a las de otros taxones, lo que ha sido la causa de que este hongo presente un subregistro de su presencia en la aerospora. **Hernández et al. (2012)** la ha incluido dentro del tipo-*Pleospora* en su estudio realizado en Mérida (España). **Díez et al. (2006)** la informó como taxón individual en el aire de Madrid correspondiendo a menos del 0,01% de las esporas totales y presentándose solo en el 0,3% de los días muestreados. **Magyar et al. (2009)** también observó este tipo de esporas en una zona rural con viñedos en Italia representando menos del 1% de las esporas totales. **Gaikwad & Sonawane (2012)** y **Kotwal et al. (2010)** lo identificaron en el aire de zonas urbanas en la India representando el 0,57% y el 0,54% del total de esporas, respectivamente. Las esporas de taxón también ha sido observadas en las nubes de polvo originadas en el Sahara (**Schlesinger et al. 2006**). En nuestro estudio correspondió al 0,37% del total de las esporas de *Pleosporales* con un promedio diario de 6,8 esp/m³ y estuvo presente en el aire durante el 25,5% de los días (92). Su mayor concentración se presentó el 12 de junio (210 esp/m³). Se presentó principalmente durante la primavera y finales de invierno, y ocasionalmente durante el verano y el otoño. Su comportamiento horario durante la primavera evidenció el patrón descrito para las ascosporas, con los mayores niveles a finales de la madrugada y comienzos de la noche. Los niveles de *Lophiostoma* se correlacionaron positiva pero débilmente con las horas de luz solar, la humedad relativa máxima y mínima y la hora de la velocidad máxima del viento.

Massarina. Este estadio meiospórico ha sido asociado con múltiples géneros mitospóricos (*Pyricularia*, *Dendrophoma*, entre otros). Su presencia como saprofito sobre tallos y hojas secas de diversas especies vegetales ha sido ampliamente observada en España y Cataluña (**Checa 1997, Hernández-Crespo 2006, Sierra 2006**). Las ascosporas de *Massarina* fueron observadas esporádicamente en el aire de exteriores en la Isla de Creta (**Gonianakis et al. 2005**) y representando menos del 1% de la aerospora de Karachi en Pakistán (**Hasnain et al. 2012**). En Barcelona representó el 1,02% del total de *Pleosporales* con una concentración promedio diaria de 19,6% y una presencia en el aire durante el 31,8% de los días (109). El nivel más alto de esta ascospora se dio el 8 de junio y alcanzó las 838 esp/m³. A pesar de que este tipo de esporas se encontraron en el aire de la ciudad durante todo el año, los mayores niveles de presentaron durante la primavera. Su comportamiento horario fue el estándar para la mayoría de las ascosporas, con los picos mayores de liberación durante la madrugada y la noche, aunque también se observaron valores

altos en algunas horas de la tarde. Los niveles de *Massarina* se correlacionaron de manera positiva baja con la temperatura media, mínima y máxima y de punto de rocío y la presión barométrica.

Melanomma. Se reconoce como el teleomórfico de hongos mitospóricos como *Phoma*, *Aposphaeria* y *Nigrolentilocus*. Ha sido observada como saprófito en diversas zonas de Cataluña (**Sierra 2006**). También se ha asociado a infecciones en plantas de cacao y arroz. Sus ascosporas son de aparición ocasional en el aire y se ha informado en la aerospora de Mérida (España) con un promedio de 0,15 esp/m³ (**Hernández et al. 2012**), de aparición esporádica en viñedos de Ourense (España) (**Reinera et al. 1998**) y en zonas urbanas de Pakistán representando menos del 1% del total de esporas (**Hasnain et al. 2012**). En la atmósfera de Barcelona, las ascosporas de *Melanomma* correspondieron al 0,71% del total de esporas de *Pleosporales* con una concentración promedio diaria de 13,1 esp/m³. Este tipo de spora estuvo presente en el aire durante el 30,5% de los días (110) y la mayor concentración se presentó el 4 de agosto. A pesar de que las mayores concentraciones de *Melanomma* se presentaron durante el verano, fue más constante en el aire durante el invierno y la primavera. Los mayores niveles de esporas se presentaron en la madrugada y a finales de la noche y no se correlacionaron con las variables atmosféricas medidas en el estudio.

Paraphaeosphaeria. Taxón con estados anamórficos dentro de los géneros *Coniothyrium* spp y *Hendersonia* spp. Algunas de sus especies son parásitos con alto grado de especialización. Se ha asociado con enfermedades del maíz, yuca y plantas de jardín. En Cataluña se ha observado ocasionalmente como saprófito (**Checa 1997, Hernández-Crespo 2006**). *Paraphaeosphaeria* ha sido incluida generalmente dentro de las esporas tipo *Leptosphaeria*, por tal razón no se conoce bien su distribución en la aerospora mundial. En España, este tipo de spora fue informada por **Hernández et al. (2012)** en Mérida donde encontró niveles medios diarios de 0,15 esp/m³ y por **Díez et al. (2006)** observó que era de aparición ocasional (solo 1,9% de los días muestreados) y no superaba el 0,01% del total de esporas. En otras zonas de Europa ha sido reportada por **Oliveira et al. (2010a)** en áreas rurales y urbanas de Portugal, donde representó el 0,10% del total de esporas, con una concentración promedio de 0,9 esp/m³ y 0,5 esp/m³ y estuvo presente en el aire de ambas regiones en aproximadamente el 30% de los días. En Italia, en una zona de viñedos, **Magyar et al. (2009)** encontró concentraciones promedios de 2,25 esp/m³. En Melbourne, Australia, **Mitatakis & Guest (2001)** reportan que las ascosporas de *Paraphaeosphaeria* representaron el 0,7% del total de esporas. En Caixas do Sul, en Brasil significó entre el 0,98% y el 1,27% del total de la aerospora (**Zoppas et al. 2006**). Su ADN fue encontrado en las nubes de polvo transportadas por corredor del Atlántico medio (**Griffin et al. 2006**). En la aerospora de Barcelona, fue de aparición común, informándose en el 78,9% de los días (285) en una concentración promedio de 50,2 esp/m³. Las ascosporas de *Paraphaeosphaeria* significaron el 2,75% del total de esporas de *Pleosporales* y presentaron el mayor valor el 30 de agosto (800 esp/m³). Los mayores niveles se presentaron desde finales de la primavera y durante el verano, aunque se dieron picos altos de esporas en las demás estaciones, comportamiento diferente al descrito en Portugal por **Oliveira et al. (2010a)** quienes encontraron los mayores niveles en otoño, pero similares a los descritos por **Zoppas et al. (2006)** en Brasil donde se dieron durante el verano y en contraste con lo observado en Australia, donde los recuentos más altos fueron en el invierno (**Mitatakis & Guest 2001**). Según **Oliveira et al. (2010a)**, *Paraphaeosphaeria* presenta un comportamiento horario diurno, con los mayores picos en la mañana, no obstante nuestros resultados, aunque no describen un comportamiento marcado, muestran mayores concentraciones durante la madrugada y la noche, con un descenso evidente durante el medio día. Los niveles de esporas de *Paraphaeosphaeria* se correlacionaron de manera positiva baja con la temperatura media, mínima y la de punto de rocío, la humedad relativa media y mínima y de manera negativa con la velocidad del viento.

Phaeosphaeria. Taxonómicamente se ha relacionado con hongos mitospóricos dentro de los géneros *Phoma*, *Stagonospora*, *Tyarospora* y otros *Coelomycetes*. Este género se considera saprotróficos o necrotróficos, y patógeno de monocotiledóneas. En España se ha encontrado frecuentemente sobre restos vegetales en descomposición, principalmente sobre tallos herbáceos, hojas y tallos de monocotiledóneas, pero también sobre restos leñosos o sobre otros hongos (**Sierra 2006**) y causando enfermedad sobre cultivos de pastos, cebada, centeno y trigo (**Melgarejo et al. 2010**). Las

ascosporas de este taxón, al igual que *Paraphaeosphaeria*, son incluidas generalmente dentro del tipo-*Leptosphaeria* (Hernández et al. 2012), lo cual podría explicar los bajos niveles reportados o su ausencia en los estudios sobre la aerospora en diferentes zonas geográficas. Sus concentraciones suelen ser altas en áreas vecinas a las zonas de cultivo de cereales durante la estación del crecimiento, e incrementan significativamente en la época de cosechas, principalmente cuando la temperatura es cercana a los 13°C y las lluvias exceden 1 mm o hay un rocío prolongado con el subsecuente incremento de la humedad relativa (Arseniuk et al. 1998). Allit (2000) encontró niveles inusualmente altos de esta ascospora durante tormentas fuertes. Kauserud et al. (2005) y Pitkäranta et al. (2008), empleando técnicas moleculares, demostraron la presencia de AND de este microorganismo en el aire de bosques boreales y en el polvo depositado en el interior de edificios en Finlandia, respectivamente. En el aire de Barcelona las ascosporas de *Phaeosphaeria* presentaron un promedio diario de 5,8 esp/m³ correspondiendo al 0,3% del total de esporas de *Pleosporales* y estuvieron presentes en el aire durante el 26,5% de los días (91). El pico de mayor concentración se dio el 18 de febrero (105 esp/m³). Según Arseniuk et al. (1998) en la zona central de Polonia los mayores niveles se presentan entre los meses de agosto y octubre, sin embargo en nuestro estudio se observaron durante el invierno con un pico ocasional durante el otoño. No es posible determinar un patrón horario de liberación de esporas debido a la aparición irregular de estas durante el día. Los niveles de *Phaeosphaeria* en el aire se correlacionaron de manera positiva débil con la presión barométrica, la humedad relativa media y mínima y la temperatura de punto de rocío.

Pleospora. Dentro de este taxón se han descrito estados teleomórficos de *Stemphylium*, *Phoma*, *Alternaria*, *Dendryphion*, entre otros. Se encuentran principalmente en tallos herbáceos moribundos aparentemente como saprofitos, pero en algunos casos como parásitos débiles. Una de sus especies es la responsable del pie negro de la remolacha azucarera. *P. herbarum* ataca un amplio rango de hospederos cultivados causando enfermedades como la helmintosporiosis de las habas y las manchas foliares del trébol, lucerna y otros hospederos. En España ha sido reportado como patógeno para alfalfa, trébol, altramuz, remolacha, lechuga, manzano y peral (Melgarejo et al. 2010). Las ascosporas de este microorganismo son consideradas alergénicas (Newson et al. 2000) debido a la relación entre el aumento en su concentración y el incremento de los ingresos por cuadros asmáticos en servicios de urgencia. En *P. herbarum* se ha identificado el alérgeno Ple h 1 relacionado a Alt a 1 y Ste b 1 (Simon-Nobbe et al. 2008). En el aire, las ascosporas de este hongo son frecuentemente informadas en todas las zonas geográficas, pero principalmente en áreas tropicales. En la aerospora de España, fue informada en Mérida (España) como la tercera ascospora más común con una concentración promedio de 27 esp/m³ (Hernández et al. 2012), en Madrid también fue frecuente y se encontró en el 71,2% de los días correspondiendo al 1,52% de la aerospora (Díez et al. 2006), mientras que en la zona de Badajoz, las concentraciones oscilaron entre 8 - 21 esp/m³ en un área de cultivos irrigados (Muñoz et al. 2010). Sin embargo, en Portugal no fue tan frecuente recuperándose solo en el 26% de los días analizados con concentraciones similares entre ambientes urbanos y rurales representando el 0,09% del total de esporas en el aire (Oliveira et al. 2010a). En el aire de una zona de viñedos en Italia, Magyar et al. (2009) encontró este tipo de ascosporas en un promedio de 28 esp/m³. Waisel et al. (2008) encontraron concentraciones que oscilaron entre 0,6 y 0,9 esp/m³ en el polvo que cruza el Mediterráneo desde Israel a Turquía, de igual manera Smith et al. (2012) encontró el ADN de este microorganismo en el 97% de las muestras del polvo que atraviesa el océano desde Asia a Norteamérica. En India correspondió entre el 0,1 y el 0,22% del total de esporas (Das & Gupta-Bhattacharya 2008, Gaikwad & Sonawane 2012). En Suramérica el aporte de las ascosporas de *Pleospora* a las esporas totales fue muy variables, representando el 8% del total de esporas en un área urbana de Chile, con una concentración promedio diaria de 11 esp/m³ (Ibáñez et al. 2001), y solo entre el 0,52% y el 0,65% del total de esporas del aire en otras áreas urbanas en Brasil (Zoppa et al. 2009). En Melbourne (Australia), el 0,9% del total de la aerospora pertenecía a *Pleospora* spp (Mitatakis & Guest 2001). En Barcelona, las esporas de *Pleospora* fueron las segundas ascosporas más comunes en el aire representando el 9,21% del total de *Pleosporales* con una concentración promedio de 168,3 esp/m³ y una presencia en el aire durante el 91,1% de los días (329). Su mayor concentración se dio el 27 de marzo (2229 esp/m³). Este tipo de espora tuvo presencia permanente en el aire de la ciudad de Barcelona, pero los mayores niveles se presentaron

durante el invierno y la primavera, hallazgos similares a los de **Hernández et al. (2012)** en Mérida (España) y **Tomassetti et al. (2013)** en Italia. **Díez et al. (2006)** en Madrid y **Oliveira et al. (2010a)** en Oporto y Amares (Portugal) también encontraron los mayores niveles desde finales de invierno y la primavera, pero también hallaron otro pico en la concentración durante el otoño. El comportamiento horario fue descrito por **Oliveira et al. (2010a)** como diurno, con los niveles más altos durante la mañana, para Barcelona, los mayores niveles se presentaron también a inicios de la mañana y en la noche durante la primavera, sin embargo durante el invierno, los niveles de la noche fueron superiores a los de la mañana. Los niveles de ascosporas de *Pleospora* se correlacionaron negativamente pero de manera leve con la temperatura media, mínima, máxima y de punto de rocío, con la presión barométrica y la radiación global, resultados similares a los descritos por **Hernández et al. (2012)** y **Oliveira et al. (2009b)**, quienes encontraron correlaciones negativas con la temperatura, pero positivamente con la humedad relativa y la lluvia, los cuales no fueron hallados en nuestro estudio.

Rebentischia. Este hongo corresponde al estado perfecto de *Asteromella* spp. Se ha encontrado creciendo sobre plantas ornamentales. Solo se encontró un reporte de su presencia en la aerospora en una zona de viñedos en Italia en concentraciones que no superaron el 1% del total de esporas (**Magyar et al. 2009**). En la aerospora de Barcelona durante el año 2010, las ascosporas de *Rebentischia* correspondieron al 0,26% del total de esporas de *Pleosporales* con una concentración promedio de 2,9 esp/m³ y estuvieron presentes en el 21,3% de los días (77) presentando el nivel máximo el 7 de enero (38 esp/m³). No hay un patrón estacional establecido, ya que este tipo de ascosporas estuvieron a través del año en el aire en concentraciones bajas similares con picos ocasionales, sin embargo es evidente su disminución durante el verano. No se evidencia un comportamiento horario y solo se encontró una correlación positiva baja entre las precipitaciones y los niveles de *Rebentischia*.

Sporormiella. Este género es un reconocido hongo coprofílico, ampliamente utilizado como indicador de especies animales herbívoras actuales y extintas *Sporormiella* tiene alrededor de 70 especies comunes en los excrementos de herbívoros, pero algunas especies pueden ser recuperadas del suelo o como endófitos. En la zona de Cataluña, **Sierra (2006)** encontró este taxón creciendo sobre estiércol de conejo, cabra, vaca y caballo. Su informe dentro de la aerospora ha sido ocasional en Creta, Grecia (**Gonianakis et al. 2005**), en Karachi, Pakistán (**Hasnain et al. 2012**) y en Mérida, España (**Hernández et al. 2012**). En Madrid significó solo el 0,01% del total de la aerospora y estuvo presente durante el 2,7% de los días evaluados (**Díez et al. 2006**), en zona rural con viñedos en Italia representó menos de 1 esp/m³ (**Magyar et al. 2009**) y en Melbourne (Australia) correspondió al 0,07% del total de la aerospora. En Barcelona se presentó en el aire en una concentración promedio diaria de 3 esp/m³ correspondiendo al 0,16% del total de *Pleosporales*. Este tipo de espora estuvo presente en el 19,9% de los días (72) y alcanzó su valor máximo el 24 de septiembre (95 esp/m³). Los mayores niveles se presentaron al final del verano e inicios de otoño y estuvieron ausentes del aire casi durante todo el invierno. No fue posible identificar un patrón horario de liberación de esporas. *Sporormiella* se correlaciono positiva pero levemente con la temperatura media, mínima, máxima y la de punto de rocío, con la presión barométrica, la velocidad del viento, la radiación global y con la evotranspiración.

Tipo-Venturia. En este grupo se incluyeron algunos géneros presentes en la aerospora y que presentan una morfología similar a *Venturia* spp, incluyendo *Macroventuria* spp, *Munkovalsaria* spp y géneros similares. *Fusicladium* spp, *Cladosporium* spp y *Spiloceae* spp representan algunos de los estadios mitospóricos más reconocidos para este grupo. Las ascosporas de *Venturia* suelen ser liberadas en grupo principalmente por el efecto trampolín ejercido por las gotas de lluvia sobre las hojas en las que se ha desarrollado el cuerpo fructífero del hongo (**Alt & Kollar 2010**). El género *Venturia* contiene aproximadamente 50 especies las cuales causan costras sobre las hojas y el fruto de varias especies de árboles. La especie más importante es *V. inaequalis* la cual parasita manzanos (*Malus* spp) y hospederos relacionados. *Venturia* spp ha sido informada en España afectando principalmente frutales como el cerezo, el manzano y el peral (**Malgarejo et al. 2010**) y en Cataluña como saprófito y fitopatógeno (**Sierra 2006**). Este grupo frecuentemente detectado en la aerospora de

ambientes rurales, correspondió a la segunda ascospora más informada en el aire de Mérida, con un promedio de 51 esp/m³ (Hernández et al. 2012), en áreas de cultivos irrigados en Badajoz osciló entre 4 y 47 esp/m³ (Muñoz et al. 2010). En Portugal correspondió al 0,14% del total de esporas en el aire con concentraciones promedio de 1,4 esp/m³ en ambientes rurales y 0,7 esp/m³ en zonas urbanas y estuvo presente en el 34% de los días muestreados (Oliveira et al. 2010a). En Italia, se encontró un promedio de 1,7 esp/m³ en el aire de viñedos (Magyar et al. 2009). En la Ciudad de Monterrey (México), *Venturia* correspondió al 3% del total de esporas y estuvo en el aire con 178 días del año estudiado (Rocha et al. 2013). El material genético de este taxón ha sido encontrado en el 98,3% de muestras obtenidas de las nubes de polvo que pasan sobre el océano desde Asia a Norteamérica (Smith et al. 2012). En Barcelona representó el 3,02% de los *Pleosporales* totales con una concentración promedio de 58,1 esp/m³ y estuvo presente en el aire de la ciudad durante el 63,3% de los días (217). Su concentración pico fue de 933 esp/m³ y se dio el 8 de junio. Estacionalmente se caracterizó por presentar los mayores niveles durante gran parte del invierno y la primavera, y los más bajos durante el verano, hallazgos significativamente diferentes a los reportados por otros autores como Oliveira et al. (2010a) que no encontró un comportamiento estacional definido en Portugal, sin embargo coinciden que los valores más bajos se presentaron durante el verano y Hernández et al. (2012) que reportaron que las mayores concentraciones se presentaron durante el otoño y en mayo asociados a lluvias. En Barcelona no presenta un patrón horario definido de liberación de esporas, en contraste Oliveira et al. (2010a) y Rocha et al. (2013) definieron un patrón nocturno y de madrugada, con los mayores niveles (12% del conteo total diario) a las 22 horas en la atmósfera de Monterrey (México). Los niveles de las esporas tipo-*Venturia* se correlacionaron de forma positiva pero leve con la temperatura media, mínima, máxima y de punto de rocío, la presión barométrica, la velocidad del viento y la evotranspiración, hallazgos que no coinciden con los reportados por otros autores en zonas con condiciones similares a las de Barcelona, como es el caso Oliveira et al. (2010a) quienes encontraron correlación positiva con la humedad relativa y la precipitación y negativa con la temperatura, y Rocha et al. (2013) quienes observaron, al igual que en Barcelona, una correlación positiva con la temperatura, pero como Oliveira et al. (2010a), también positiva con la humedad relativa y las precipitaciones.

Comportamiento estacional y intradiurno de los Pleosporales mitospóricos.

Los hongos asexuales presentan mecanismos intrínsecos para la liberación de esporas donde las fuerzas electrostáticas cumplen un papel esencial (Leach 1980). A diferencia de lo que sucede con las esporas sexuales, la temperatura no juega un papel crucial, cobrando mayor importancia la velocidad del viento que rompe las uniones entre las esporas y la célula conidiógena o entre las esporas y la superficie sobre la cual están depositadas (Jones & Harrison 2004). Adicional al efecto del viento sobre la liberación de esporas, otras fuerzas como el splash de la lluvia y las actividades mecánicas como las de cosecha o remediación del terreno pueden inducir una liberación pasiva de las esporas (Lacey & West 2006).

Alternaria. Este taxón es el más representativo dentro de los *Pleosporales*. Su taxonomía es compleja y para pocas especies se ha descrito su fase sexual, las cuales se incluyen en los géneros *Pleospora*, *Lewia* y *Comoclathris*. Es un saprofito de material vegetal muerto y un endófito común. Algunas especies de *Alternaria* son consideradas de importancia económica, siendo *A. alternata* la más ampliamente distribuida en todo tipo de material vegetal senescente. *Alternaria spp* se ha asociado a enfermedad de cultivos, mostrando cierto grado de especificidad de hospedero, principalmente por sus semillas, las cuales son infectadas desde la florescencia (Cheikowski & Visconti 1992). En España se ha asociado a daños en cultivos de cítricos, remolacha, crucíferas, cártamo, melón, sandía, calabacín, pepino, berenjena, patata, tomate, trigo y vid (Melgarejo et al. 2010). Algunas especies son oportunistas de humanos causando infecciones en oídos, ojos, piel, uñas, tejido subcutáneo y formas diseminadas que comprometen hueso y tracto urinario en individuos inmunocomprometidos (Pastor & Guarro 2008, Revankar & Sutton 2010). *Alternaria alternata* es el hongo alergénico más importante, con una incidencia de sensibilización en pacientes atópicos de 3,6 a 39,4% (Simon-Nobbe et al. 2008) y se asocia con alergias tipo I y neumonitis por hipersensibilidad tipo III. Se han identificado 13 alérgenos en *Alternaria* (Knutsen et al. 2012), siendo Alt a 1 el

mayormente asociado a las exacerbaciones de los cuadros alérgicos y que es compartido ampliamente por otros hongos dentro del orden *Pleosporales* (Hong et al. 2005). Algunos estudios han demostrado la relación entre el incremento de los recuentos diarios de esporas de *Alternaria* y los síntomas de asma (Denning et al. 2006) y se ha estimado que concentraciones de 100 esporas por metro cúbico de aire de especies de *Alternaria* o concentraciones inferiores, pero constantes, durante 24 horas pueden exacerbar los síntomas en individuos sensibilizados (Salo et al. 2006, Aira 2013). *Alternaria* hace parte del filopano y se considera uno de los taxones más comunes en los ambientes donde existan plantas (Levetin & Dorsey 2006). Su presencia en la aerospora interior y exterior ha sido documentada en todas las zonas geográficas, con diferencias en sus niveles de acuerdo a factores ambientales y locativos y es considerado dentro del grupo de esporas de ocurrencia superior al 50% propuesto por Kasprzyk et al. (2004) y Oliveira et al. (2009a) junto con *Botrytis*, *Cladosporium*, *Epicoccum* y *Ganoderma*. Los valores altos de conidias de *Alternaria* en el aire se asocian a actividades de cosecha en áreas cercanas y lejanas, pero localmente depende más de las condiciones climáticas y de los métodos de producción agrícola (maquinaria y métodos de aplicación de fungicidas) (Skjøth et al. 2012). También se han observado aumentos significativos en las concentraciones en el aire durante las tormentas de arena (Marks & Bush 2007, Grinn-Gofroń & Strzelczak 2012). Los valores bajos se han asociado a lluvias prolongadas, a nevadas y a la presencia de contaminantes químicos como SO₂, NO₂ tanto durante el muestreo como hasta en tres días previos (Grinn-Gofroń et al. 2011).

En España las conidias de *Alternaria* spp son un componente común y permanente de la aerospora (Infante et al. 1999), y recientes compendios de datos de diversas zonas de España han permitido establecer patrones de comportamiento de las conidias de *Alternaria* según la zona. En las zonas Atlánticas (Lugo, Santiago, Ourense y Vigo) se reportan concentraciones medias diarias que oscilan entre 3 y 6 esp/m³, en la zona central (Alcalá, Madrid, Toledo, Valladolid) entre 4,4 – 12,4 esp/m³, en la zona Mediterránea (Albacete, Almería, Cartagena, Granada, Málaga Mérida y Sevilla) entre 4,4 y 109 esp/m³, con los niveles más altos en Mérida (53 esp/m³) y Sevilla (109 esp/m³) (Díez et al. 2006, Sánchez et al. 2009, De Linares et al. 2010, Maya-Manzano et al. 2012, Sabariego et al. 2012, Aira et al. 2013) y en la zona insular de Canarias (Isaña y Santa Cruz de Tenerife) entre 3 y 4 esp/m³ (De Linares et al. 2010). Específicamente en la zona de Cataluña, De Linares et al. (2010) revisaron las bases de datos de 8 estaciones aerobiológicas distribuidas en la región, observando que las concentraciones medias diarias de conidias de *Alternaria* spp oscilaron entre 4 y 94 esp/m³, con los mayores valores en las zonas más interiores (Manresa 60, Lleida 94) y el menor en zona interior fría (Vielha 4), fenómeno que se repite en otras zonas geográficas de la Península Ibérica (Aira et al. 2008, Oliveira et al. 2010a). En Barcelona, una zona urbana, la media diaria de conidias de *Alternaria* fue 25 esp/m³ (máximo 471 esp/m³), mientras que en Bellaterra que es considerado un ambiente semiurbano, la media diaria fue 34 esp/m³ (máximo 927 esp/m³). Estas diferencias de concentración, dependiendo el tipo de ambiente rural, semiurbano o urbano, han sido también observadas en otras áreas de Europa por Oliveira et al. (2010a) en Portugal quienes encontraron que las conidias de *Alternaria* spp correspondieron al 1% del total de esporas de ambientes rurales y urbanos, con una media diaria de 9,6 esp/m³ y 5,9 esp/m³, respectivamente, Kasprzyk & Worek (2006) en Polonia que encontraron que entre el 2,1 y el 2% de las esporas en zonas urbanas correspondían a *Alternaria* frente al 1,5 a 5,3% en zonas rurales. Tommasetti et al. (2013) publicó que los mayores picos en las concentraciones de *Alternaria* se presentan más frecuentemente en zonas planas que en áreas montañosas de Italia.

En otros continentes, *Alternaria* es informada por lo general correspondiendo a porcentajes mayores dentro del total de esporas. En Asia, Das & Gupta-Bhattacharya (2008) encontraron que este tipo de conidias correspondió al 2,7% de las esporas en un ambiente suburbano de West Bengala, India, y en Nueva Delhi, Sharma et al. (2011), estimaron que *Alternaria* fue el 15% de las esporas observadas en el exterior. En América, *Alternaria* correspondió al 6% de las esporas totales en la ciudad de Monterrey (México) (Rocha et al. 2013). En Chile el promedio de esporas de *Alternaria* fue 40 esp/m³ (Ibáñez et al. 2001). En Australia, las esporas de *Alternaria* oscilaron entre 0 y 1125 esp/m³ en la ciudad de Sídney, (Stennett & Beggs 2004). El ADN de este hongo se ha encontrado

en el 100% de las muestras tomadas del polvo que recorre el océano pacífico desde Asia hasta Norteamérica (**Smith et al. 2012**).

Para nuestro estudio el promedio de conidias de *Alternaria* fue significativamente mayor que todos los informados, 874,5 esp/m³, y esta diferencia tan marcada se debe a la metodología de lectura empleada, que incluyó la revisión de un porcentaje muy superior al 13% de la superficie de la placa que clásicamente se analiza, lo cual demuestra que las esporas no se impactan homogéneamente y la cantidad reportada no refleja el comportamiento real de las esporas en el aire. *Alternaria* fue el taxón más representativo en la aerospora, correspondiendo al 47,8% del total de *Pleosporales* y estuvo presente en el aire durante el 99,7% de los días (360) con concentraciones que oscilaron entre 0 y 8172 esp/m³. El mayor valor se presentó el 26 de septiembre.

Sobre la estacionalidad de las conidias de *Alternaria*, en los países Europeos se presenta por lo general el patrón estacional de uno o dos picos, dependiendo de la ubicación de la estación (**Rizzi-Longo et al. 2009, Aira et al. 2013**), sin embargo recientemente, **Kasprzyk et al. (2013)** reporta un patrón de tres picos para el centro de Europa, con los niveles más altos a mediados de julio, agosto (principal periodo) y a finales de agosto. En zonas de influencia Mediterránea es más común un patrón de dos picos, uno en primavera y otro a finales de verano y comienzos de otoño (**Rizzi-Longo et al. 2009, Aira et al. 2013**). En España se ha determinado que el NE se da el patrón de un periodo de esporulación que inicia a mediados de la primavera hasta el otoño, mientras que en el SE se observa el patrón de dos periodos definidos (primavera y otoño) y en Islas Canarias la presencia es constante y uniforme (**De Linares et al. 2010, Recio et al. 2012, Aira et al. 2013**). En Málaga se presentó un pico en primavera y uno a finales de verano o inicios de otoño. En otras regiones de la Península Ibérica, específicamente en Porto y Amares en Portugal, se observó que los niveles empiezan a incrementar a mediados de la primavera, alcanzando los mayores conteos durante el verano, para luego disminuir nuevamente a finales de otoño, hasta llegar a los niveles más bajos en invierno (**Oliveira et al. 2010a**). En Italia los recuentos diarios aumentan a partir de Junio, con el mayor pico en agosto y otro en septiembre (ocasionalmente en julio o inicios de octubre) y caen a finales de octubre (**Rizzi-Longo et al. 2009**). En la zona mediterránea de Turquía se presentó el patrón de doble pico, uno en primavera y el otro en verano (**Kilic et al. 2000, Erkara et al. 2008**). En el Reino Unido, los mayores niveles son más frecuentes durante el verano, coincidiendo con el periodo de recolección de la cosecha (**Corden & Millington 2001**). En otros continentes, los niveles tienden a mostrar el mismo comportamiento asociado al incremento en las temperaturas, sin embargo los meses con los mayores niveles serán diferentes de acuerdo a la distribución en el año de las estaciones climáticas. En India las concentraciones más altas se presentaron al inicio del Monsoon, asociadas con la temperatura y la dirección de los vientos (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008**). En México, los mayores niveles se presentaron durante septiembre y octubre (finales de la época de lluvia) (**Rocha et al. 2013**) y en Chile, los mayores niveles se dieron en la primavera y el otoño y los más bajos durante el invierno (**Ibáñez et al. 2001**), patrón similar al observado por **Stennett & Beggs (2004)** en Australia. En nuestro estudio, aunque las concentraciones se incrementan desde la primavera hasta finales de otoño, se evidenció el patrón de dos picos, con uno mayor que inicia desde finales de la primavera e inicios de verano (más constante) y otro a finales de verano (con los valores más altos), los recuentos más bajos se presentaron durante el invierno.

Las concentraciones altas generalmente ocurren en las horas del día cuando la temperatura y la velocidad del viento son suficientes para romper las cadenas de conidias, lo que por lo general sucede durante la tarde en las estaciones secas (**Brown 1997**). En España las curvas de variación diurna de las concentraciones de *Alternaria* muestran una tendencia al aumento antes del medio día, con los picos más altos en la tarde e inicios de la noche y los más bajos temprano en la mañana (**Rodríguez-Rajo et al. 2005**), no obstante algunos autores han presentado patrones horarios diferentes, tal es el caso de **Sánchez et al. (2009)**, en Valladolid que encontró los mayores valores hacia la media noche y los menores entre las 2:00 y las 9:00 horas. En Portugal, **Oliveira et al. (2010b)** observó un patrón similar al descrito para España, con los mayores niveles de conidias de *Alternaria* entre las 13:00 y 14:00 horas y los más bajos entre las 7:00 y 8:00 horas en los días secos y a las 5:00 y 6:00 horas en días lluviosos, aunque la disminución en los niveles empezó desde las

20:00 y 21:00 horas. Un comportamiento similar ha sido descrito en Polonia (**Grinn-Gofroń & Strzelczak 2009**), Dinamarca (**Skjøth et al. 2012**) y el Reino Unido (**Corden & Millington 2001**). En México, los mayores valores se presentaron entre las 21:00 y 22:00 horas (11% de total de esporas diarias de *Alternaria*) (**Rocha et al. 2013**). En Barcelona observamos que las mayores concentraciones se daban entre las 10:00 y las 13:00 horas con otro ligero incremento hacia las 20 horas durante el verano, mientras que en las otras estaciones hay desplazamiento de los niveles dándose un solo pico entre las 13:00 y las 18:00 horas.

En general, los mayores niveles se dan en el verano relacionado con el aumento de la temperatura, la velocidad del viento y la ausencia de precipitaciones (**Hjelmoroos 1993, Paternen et al. 2004, Aira et al. 2008**). En la zona del Mediterráneo **Maya-Manzano et al. (2012)** establecieron que la temperatura tuvo un efecto positivo sobre los niveles de conidias de *Alternaria*, mientras que el de la humedad relativa y la lluvia fue negativo, aunque humedades relativas inferiores a 55% también tuvieron un efecto negativo. Un efecto similar fue descrito por **Aria et al. (2013)** en varias estaciones en España. En Mérida y Málaga, España, adicional a la asociación con la temperatura, encontraron una correlación también positiva con las horas de luz solar (**Fernández et al. 1998, Recio et al. 2012**). En Valladolid, además de lo observado en las otras zonas de España, encontraron que los niveles de *Alternaria* se podían correlacionar positiva o negativamente con la dirección del viento dependiendo las zonas de procedencia (**Sánchez et al. 2009**), en este sentido **Recio et al. (2012)** observaron en Málaga una correlación positivamente el viento que provenía del interior y negativamente con el que provenía del mar. En otras zonas de Europa se observan coincidencias con lo observado en España (**Corden & Millington 2001, Erkara et al. 2008, Rizzi-Longo et al. 2009, Oliveira et al. 2009b, 2010a**). En Polonia, adicional a las asociaciones ya descritas, también se observó una correlación positiva con la presión atmosférica (**Grinn-Gofroń & Strzelczak 2009**). En Turquía los niveles del hongo solo se relacionaron positivamente con la temperatura y la presión barométrica (**Kilic et al. 2000**), En Grecia se correlacionó con la temperatura y con la lluvia en días previos (**Damialis & Gioulekas 2006**). En Australia se encontró asociación positiva con la temperatura, la temperatura del punto de rocío y la lluvia 2 y 3 días antes y negativa con la presión de aire y la lluvia el mismo día del muestreo (**Stennett & Beggs 2004**). En Barcelona, se observó una correlación positiva baja solo con la temperatura del punto de rocío y la dirección de viento y negativa, también baja con la presión atmosférica (contrario a la observado por **Grinn-Gofroń & Strzelczak 2009** en Polonia) y la precipitación.

Bipolaris. El género *Bipolaris* incluye alrededor de 40 especies, muchas de las cuales son consideradas fitopatógenas, principalmente en climas tropicales y subtropicales, aunque han sido aisladas en casi todas las latitudes afectando principalmente a gramíneas. También puede ser recuperado a partir de detritus vegetales y muestras de tierra desde donde suelen resuspenderse hacia el aire, encontrándose frecuentemente en exteriores y en menor proporción en el interior de las edificaciones. En España, este género se ha encontrado afectando cultivos de cereales y granos (**Melgarejo et al. 2010**). En humanos, las especies *B. australiensis*, *B. hawaiiensis* y *B. spicifera*, son reconocidos patógenos oportunistas y se han asociado con queratitis micótica, peritonitis, sinusitis, feohifomicosis subcutánea, colonización de tejido muerto, enfermedad del sistema nervioso central, invasión vascular y osteomielitis, aunque también se recuperan en menor proporción causando formas benignas en pacientes inmunocompetentes (**Saubolle & Sutton 1996, Revankar & Sutton 2010**). *Bipolaris* también se ha relacionado con presentaciones alérgicas como enfermedad broncopulmonar alérgica, fiebre del heno y asma y se estima que el 20,5% de la población atópica presenta hiperreactividad a alérgenos de este género (**Simon-nobbe 2008**). Entre individuos atópicos se han encontrado frecuencias de sensibilización a *Bipolaris* de 23,1%, 30,7% y 36,8% (**Lim et al. 1995, Corey et al. 1997**) y en población no alérgica 6,6 % (**Chew et al. 2000**), todos en Estados Unidos y países de Asia. Su concentración en el aire no es fácil de establecer debido a las similitudes morfológicas entre las esporas de este género con otras dentro de los *Pleosporales*, e incluso de otros órdenes. Por lo general, en los monitoreos aerobiológicos, las esporas de *Bipolaris* se incluyen dentro del grupo tipo *Drechslera/Bipolaris/Helminthosporium/Exserohilum*. Como taxón individual fue reportado en el aire de Madrid (España) representando menos del 0,01% del total de esporas y apareciendo en el 0,6% de los días muestreados (**Díez et al. 2006**), y en una zona de viñedos en

Italia su aparición también fue muy baja significando menos del 1% del total de esporas (**Magyar et al. 2009**). En Egipto representó el 0,1% del total de esporas (**Haamed et al. 2009**), mientras que en Karachi (Pakistán) se presentó con relativa frecuencia, correspondiendo al 4,5% del total de esporas y sus concentraciones fueron mayores durante el otoño, con los recuentos más altos en horas de la tarde y los más bajos durante la noche (**Hasnain et al. 2012**). En el aire de Barcelona, las esporas de *Bipolaris* correspondieron al 0,2% del total de esporas de *Pleosporales* y se presentaron en una concentración promedio diaria de 3,7 esp/m³ en el 20,5% de los días muestreados (74). Su concentración más alta se presentó el 11 de febrero (105 esp/m³). Los niveles de conidias fueron mayores durante el invierno y se encontraron con frecuencia pero en bajas concentraciones en primavera y otoño, mientras que en invierno solo se encontraron en el aire en 4 días. A pesar de que no se manifiesta un patrón horario claro, durante el invierno se observan tres picos con mayores concentraciones, sobre inicios de la tarde, un segundo hacia las 18:00 horas y otro más duradero entre las 21:00 y las 23:00 horas. *Bipolaris* se correlacionó débilmente de manera positiva con la velocidad máxima del viento y negativa con la humedad relativa media y mínima.

Corynespora. Este fitopatógeno está ampliamente distribuido en la naturaleza. Se ha asociado a infecciones en cultivos de soja, tomate, pepino y sésamo, a bosques de eucalipto, entre otros. No hay registros de infección en humanos debidos a este género. **Chew et al. (2000)** encontró una sensibilización del 7,9% en individuos no alérgicos y de 30,7% en atópicos, al ser evaluados con extractos de este hongo. A pesar de ser tan común, sus esporas son rara vez informadas en los estudios aerobiológicos. Las esporas de *Corynespora* fueron reportadas por **Hasnain et al. (2012)** representando menos del 1% del total de la aerospora en Karachi (Pakistán). En la aerospora de India es donde más registro existen de la presencia de este agente en la aerospora, es así como **Das & Gupta-Bhattacharya (2012)** lo reportaron en Calcuta, como el 0,25% del total de esporas, **Adhikari et al. (2004a)** lo encontró solo entre los meses de abril a septiembre en una concentración promedio de 11,17 esp/m³, correspondiendo al 0,45% del total de esporas del aire en West Bengala y **Nayac et al. (1998)** observaron que las conidias de *Corynespora* representaron menos del 1% del total de esporas en Ganjam y fueron más frecuentes en el aire durante las horas de la noche. En Barcelona fue un hallazgo ocasional, representando solo el 0,03% del total de esporas de *Pleosporales*, alcanzando una concentración promedio diaria de 0,6 esp/m³ y apareciendo en el 2,5% de los días (9) con un pico de máxima concentración el día 13 de enero (38 esp/m³). Este tipo de espora fue de aparición exclusiva durante el invierno, y aunque no manifiesta ningún comportamiento horario definido, su aparición fue más constante entre las 21:00 y las 23:00 horas. Los niveles de *Corynespora* se correlacionaron de manera positiva pero baja con la presión barométrica, la temperatura de punto de rocío, la velocidad del viento, la radiación global y la evotranspiración; de manera negativa débil se correlacionaron con la humedad relativa media y mínima y con las precipitaciones.

Curvularia. Las especies de este género presentan patrones de distribución geográfica amplios como cosmopolitas o pantropicales, aunque algunos de sus representantes pueden presentar áreas de distribución más limitadas. Pueden recuperarse fácilmente del suelo de áreas tropicales y en menor frecuencia en áreas templadas (**de Hoog et al. 2000**). En las plantas actúan como patógenos facultativos, principalmente de aquellas viejas o senescentes, pueden ser también invasores secundarios o saprobios. Son muy conocidas como parásitos de gramíneas silvestres y cultivadas causando lesiones como manchas foliares, marchitamiento de hojas y plántulas, pudriciones de raíces y afectaciones de semillas y granos (**Sivanesan 1987**). En España se ha encontrado como fitopatógeno del trigo y el gladiolo (**Melgarejo et al. 2010**). En humanos las especies *lunata*, *senegalensis* y *geniculata* han sido informadas en repetidas ocasiones causando infecciones superficiales benignas en piel y uñas en individuos inmunocompetentes y formas diseminadas fatales en inmunocomprometidos (**de Hoog 2002, Revankar & Sutton 2010**). *Curvularia* es un importante hongo alérgico, del cual se han identificado 9 proteínas capaces de despertar una respuesta inflamatoria mediada por IgE en individuos sensibilizados (**Simon-Nobbe et al. 2008**). Se ha descrito la presencia en su genoma de una secuencia ortóloga para Alt a 1 (**Hong et al. 2005**) y se ha comprobado la producción de esta proteína alérgica aunque en bajos niveles (**Sáenz de Santamaría et al. 2006**). La sensibilización a los alérgenos de *Curvularia* al parecer es más frecuente

en áreas tropicales y subtropicales. **Gupta et al. (2002)** reportaron una prevalencia de sensibilización que oscila entre el 7 y el 28% de la población alérgica en India. **Pimhirum et al. (1997)** en individuos riniticos en Tailandia encontró que la prevalencia era del 28% y en una cohorte de individuos atópicos en Singapur, **Chew et al. (2000)** halló reactividad a los alérgenos de *Curvularia* entre 26,0 y 31,6%. En USA, **Corey et al. (1997)** observó una prevalencia de 18,4% en pacientes con rinitis alérgica y más recientemente, en un grupo de granjeros, también en USA, **Endres et al. (2012)** encontró una prevalencia de sensibilización de 5% en individuos atópicos y 1% en no atópicos. Se ha reportado la asociación en el incremento del número de exacerbaciones de asma que exigen hospitalización con los niveles de *Curvularia* en el aire (**Niedoszytko et al. 2007**). Aunque este género ha sido asociado más a ambientes tropicales húmedos (**Shelton et al. 2002, Prospero et al. 2005**), por ser un importante componente del filoplan (Awad 2005), es frecuente encontrarlo en la aerospora de zonas templadas, aunque en bajas concentraciones. En España, las esporas de *Curvularia* spp han sido informadas en la aerospora de Madrid representando el 0,02% del total de esporas (**Diez et al. 2006**). En una zona rural de Italia correspondió a menos del 1% de las esporas totales (**Magyar et al. 2009**). En zonas rurales de India, las conidias de *Curvularia* fueron entre el 0,52% y el 2,97% del total de esporas (**Adhikari et al. 2004b**), mientras que en zonas urbanas correspondieron entre el 1% y el 2,1% (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008, Gaikwad & Sonawane 2012, Sharma et al. 2011**). En Pakistán correspondió al 2,1% del total de esporas (**Hasnain et al. 2012**). En Hong Kong, *Curvularia* correspondió al 2,4% de los hongos observados en ambientes exteriores de un área urbana (**Wong et al. 2009**). En Estados Unidos se considera una de las esporas más comunes en interiores y exteriores. En Florida se ha reportado promedios de 4 esp/m³ (1,5% del total de esporas en interior) y 20 esp/m³ (1,1% del total de exteriores) (**Codina et al. 2008**). En Tulsa el promedio de esta spora es 13 esp/m³ (**Levetin & Dorsay 2006**). En Monterrey, México, este tipo de spora significó el 2% del total y estuvo presente en el aire de la ciudad durante 189 días al año (**Rocha et al. 2013**). Incrementos significativos en la concentración de este agente se ha asociado con huracanes y tifones (**Rao et al. 2007, Hsu et al. 2011**). En Barcelona, las conidias de *Curvularia* correspondieron al 0,15% del total de esporas de *Pleosporales* con una concentración promedio diaria de 2,7 esp/m³ y presentándose en el aire de la ciudad durante el 18,3% de los días (66). Su mayor concentración fue observada el día 30 de septiembre y alcanzó las 66,7 esp/m³.

En áreas tropicales, este taxón presenta una estacionalidad relacionada con el periodo de lluvias. En India se han observado incrementos significativos de las concentraciones de asociados con las lluvias a mediados del Monsoon y durante el otoño y los valores más bajos se presentan durante el invierno (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008, Sharma et al. 2011**), sin embargo en otras zonas este comportamiento no es similar, como en Pakistán donde los mayores niveles fueron encontrados durante el verano (**Hasnain et al. 2012**). En USA los recuentos fueron más altos en primavera y más bajos durante el invierno (**Shelton et al. 2002**). En Barcelona, las esporas de *Curvularia* fueron más frecuentes en el aire durante el verano y comienzos de otoño, también se presentaron con regularidad en el invierno, pero fueron de aparición ocasional en primavera contrario a lo observado en USA por **Shelton et al. (2002)**. Dos comportamientos horarios para este taxón fueron reportados por **Hasnain et al. (2012)** en Pakistán quienes observaron los valores más altos durante la tarde y los más bajos en la noche, y por **Roche et al. (2013)** en México con los mayores niveles entre las 5:00 y las 10:00 horas. Nuestros resultados muestran un pico de liberación hacia las 14:00 horas con los valores más bajos en horas de la madrugada.

Estas esporas se han correlacionado positivamente con la humedad relativa y las precipitaciones (**Rocha et al. 2013**). No obstante en nuestro estudio los niveles de *Curvularia* en el aire no se relacionaron con ningún parámetro meteorológico.

Dendryphion. Este taxón está incluido dentro del compendium de alérgenos de plantas, animales, alimentos y químicos presentado por **Bernstein et al. (2008)**, sin embargo a la fecha no se ha demostrado la producción de ninguna proteína alérgica por este agente. Tampoco se ha asociado a procesos infecciosos en humanos o animales. En la aerospora, conidias de *Dendryphion* fueron informadas en Italia, en una zona de viñedos representando menos del 1% del total de esporas del aire (**Magyar et al. 2009**). Un porcentaje similar fue reportado por **Nayak et al. (1998)** en la India

principalmente en horas de la noche. **Griffin et al. (2006)** identificó ADN de este microorganismo en muestras de las nubes de polvo que atraviesan el océano Atlántico provenientes del Sahara. En Barcelona las conidias de *Dendryphion* fueron observadas en escasas oportunidades, solo durante 3 días en el mes de febrero y correspondieron al 0,01% del total de las esporas de *Pleosporales* con una concentración media diaria de 0,1 esp/m³. Por su baja frecuencia de aparición, no fue posible establecer un comportamiento estacional ni horario, ni tampoco algún tipo de correlación con los parámetros medioambientales.

Drechslera. Este género puede ser recuperado frecuentemente del suelo y detritus vegetales al igual que del aire. Es considerado saprofito y fitopatógeno, y en España se ha encontrado causando manchas foliares en cultivos de arroz, avena, cebada, trigo, maíz, sorgo y gramíneas pratenses (**Melgarejo et al. 2010**). También ha sido ocasionalmente asociado con infección oportunista en seres humanos (**de Hoog et al. 2002, Revankar & Sutton 2010**). Su capacidad alergénica ha sido demostrada, documentándose niveles de sensibilización en atópicos que van desde el 5% (**Menezes et al. 1998**) hasta 40% (**Hasan et al. 2003**) en Brasil y alrededor del 26% en una cohorte de niños asmáticos en Finlandia (**Koivikko et al. 1991**). *Drechslera* fue incluida en el grupo de esporas con alta frecuencia de aparición propuesto por **Kasprzyk et al. (2004)** y en el de baja frecuencia o aparición esporádica definido por **Oliveira et al. (2009a)**, sin embargo, al igual que sucede con *Bipolaris*, la verdadera prevalencia de este taxón en el aire no es conocida por ser generalmente incluido dentro del grupo *Drechslera/Bipolaris/Helminthosporium/Exserohilum*. En España, las conidias de *Drechslera* representaron el 0,30% del total de esporas observadas en el aire de Madrid y estuvieron presentes en la aerospora durante el 32,4% de los días muestreados (**Díez et al. 2006**) y en zonas rurales de cultivos irrigados en Badajoz el promedio diario de osciló entre 23 esp/m³ y 193 esp/m³ (**Muñoz et al. 2010**). En Portugal correspondió al 0,02% del total de esporas y estuvo presente en el 11% de los días, con concentraciones similares entre áreas urbanas y rurales (0,1 esp/m³) (**Oliveira et al. 2010a**). En Polonia se observaron recuentos que oscilaban entre 0,4 y 05 esp/m³ en áreas urbanas y 1,2 y 2,5 esp/m³ en áreas rurales (**Kasprzyk & Worek 2006**). En Egipto correspondió al 0,05% de las esporas observadas en una zona industrial (**Haamed et al. 2009**). En India es informada con frecuencia en muestras de aire, **Sharma et al. (2011)** encontró en Nueva Delhi que las esporas de *Drechslera* correspondían al 1,3% de las esporas en exteriores, **Adhikari et al. (2004b)** reportó en zonas rurales recuentos entre 1,37 a 9,12 esp/m³ y **Das & Gupta-Bhattacharya (2008)** en un área semiurbana determinó que representaba el 2,7% del total de esporas del aire. En Taiwán las concentraciones de esporas de *Drechslera* antes y después del tifón Marakot no presentaron diferencias significativas y oscilaron entre 0,42 a 1,07 esp/m³ (**Hsu et al. 2011**). En Tulsa, USA, **Levetin & Dorsay (2006)** encontraron que las esporas tipo-*Drechslera* aparecían en una concentración promedio diaria de 21 esp/m³. En Barcelona la concentración promedio diaria de *Drechslera* fue de 2,4 esp/m³ representando el 4,03% del total de esporas de *Pleosporales* y con una presencia en el aire en el 78,4% de los días (283). Durante el año 2010, se observó un incremento significativo de los niveles de esta espora en los días 14 y 17 de junio (1543 y 1705 esp/m³, respectivamente).

Las conidias de *Drechslera* fueron más frecuente de primavera a otoño en Portugal, con los mayores valores durante el verano (**Oliveira et al. 2010a**), similar a lo observado por **Stepalska & Wolek (2005)** en Polonia, aunque ellos describen una caída importante en los niveles a finales de julio. En India los mayores valores se presentaron a mediados de la estación del Monsoon (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008**). En Barcelona, aunque las esporas estuvieron en el aire prácticamente durante todo el año, con un ligero incremento en los niveles entre primavera y otoño, un incremento muy marcado fue observado a finales de primavera y comienzos del verano. El comportamiento horario fue descrito por **Oliveira et al. (2010a)** como matinal y nocturnos, similares a los observados en Barcelona durante la primavera, sin embargo en época de verano, este comportamiento horario se desplazó hacia el medio día y la tarde.

El número de conidias liberadas por *Drechslera* se ha correlacionado con disminución en la humedad relativa y el aumento en la radiación infrarroja (**Leach 1975**). En nuestro estudio, los niveles de estas

conidias se correlacionaron de forma negativa pero leve con la presión barométrica, la humedad relativa media y mínima, la temperatura de punto de rocío y la presión atmosférica.

Embellisia. Se ha observado afectando cultivos de ajo blanco en España (Melgarejo et al. 2010). No se ha asociado a enfermedad en humanos ni animales. Se ha encontrado en su genoma una secuencia homóloga en gen Alt a 1 (Hong et al. 2005). Sus esporas se han informado en bajos niveles en el interior de viviendas en Arabia Saudita (Bokhary & Parvez 1995) y Turquía (Centinkaya et al. 2005). En exteriores ha sido informada en Qatar, correspondiendo al 0,06% del total de esporas del aire (Al-Subai 2002). Su ADN se ha encontrado en muestras de polvo que atraviesan el corredor Atlántico proveniente del Sahara (Griffin et al. 2006). *Embellisia* correspondió al 0,13% del total de esporas de *Pleosporales* observadas en el aire de Barcelona, con una concentración promedio diaria de 2,4 y estuvo presente durante el 13,4% de los días (47). La concentración pico fue el 18 de junio cuando alcanzó 124 esp/m³. No se distingue ningún patrón estacional ni horario de estas esporas en el aire, aunque sus niveles fueron más constantes durante el invierno y las conidias se encontraron en mayores niveles durante el día.

Epicoccum. Este género está ampliamente distribuido y es comúnmente encontrado en el aire, tierra y en las partes muertas de muchas plantas y frutas. Se comporta como saprofito de distribución mundial, pero además es un importante fitopatógeno afectando diferentes tipos de plantas y cultivos como los de cebada, avena, trigo y maíz. Gracias a su termotolerancia puede adaptarse a la temperatura corporal humana, causando diversos cuadros clínicos como sinusitis, feohifomicosis subcutánea e infecciones en piel (de Hoog et al. 2002, Revankar & Sutton 2010). Horner et al. (1995) resumen la prevalencia de la sensibilización a este agente entre el 20 y el 30% en población atópica. En Europa su incidencia en esta misma población se encuentra entre el 5% y 15.4% (Bisht et al. 2003, Calabria & Dice 2006). En una población de granjeros en USA, Endres et al. (2012) encontró una sensibilización del 8% en población atópica y un 2% en no atópicos. El primer alérgeno descrito para este hongo fue una glicoproteína de 33,5 kDa denominada Epi p 1, posteriormente fue descrita una glutatión S transferasa (Epi p GST) de 26 kDa (Simon-Nobbe et al. 2008). Recientemente Kukreja et al. (2008) empleando inmunoblotting bidimensional y espectrometría de masa identificaron en *E. purpurascens* otras 16 proteínas alergénicas, de las cuales seis presentaron alta homología con proteínas anotadas en las bases de datos y para las cuales aún no existe denominación. Las esporas de *Epicoccum* son informadas prácticamente en todos los reportes aerobiológico a través del mundo y ha sido incluida entre el grupo de esporas de alta frecuencia (Kasprzyk et al. 2004, Oliveira et al. 2009b). Este taxón es más común en ambientes rurales y más abundante en áreas del interior comparadas con zonas costeras (Baxter et al. 2005). En España, representó el 0,09% del total de esporas y estuvo presente en el aire durante 19,5% de los días en el aire de Madrid (Díez et al. 2006) y en zonas de cultivos en Badajoz, Muñoz et al. (2010) encontró concentraciones de esporas que oscilaban entre 30 y 309 esp/m³. En áreas rurales y urbanas de Portugal y Polonia, Oliveira et al. (2010a) y Kasprzyk & Worek (2006) encontraron niveles de esporas que oscilaron entre 1,1 y 2,2 esp/m³ y 2,1 y 3,1 esp/m³, respectivamente. Haamed et al. (2009) encontró en una zona industrial de Egipto que las esporas de *Epicoccum* correspondían solo al 0,04% del total de esporas. En una zona rural de India las esporas de *Epicoccum* oscilaron entre 0,43 y 12,47 esp/m³ (Adhikari et al. 2004b), y en otra zona semiurbana de este país representaron el 1% del total (Das & Gupta-Bhattacharya 2008). En Norteamérica, Levetin & Dorsay (2006) encontraron un promedio de 27,2 esp/m³ en el aire de la ciudad de Tulsa. En Chile, Ibañez et al. (2001) reportó que este tipo de esporas correspondieron al 0,5% del total de la aerospora. En Australia, Garrett et al. (1997) estableció que en el aire exterior de la ciudad de Victoria, las conidias de *Epicoccum* significaban el 1 % del total de esporas. Adams et al. (2013) reportó que empleando técnicas moleculares como qPCR encontró que en viviendas de USA, el ADN de *Epicoccum* estuvo presente en el polvo en el interior del 88,1% de las viviendas estudiadas y en el 100% de los ambientes exteriores. En Barcelona las conidias de *Epicoccum* fueron las segundas en frecuencia, correspondiendo al 8,1% del total de las esporas de *Pleosporales* con una concentración promedio en el aire de 148 esp/m³. Este tipo de esporas se encontraron en el aire durante el 95% de los días (343) y presentaron dos picos de concentración significativamente alta durante el 20 de agosto (1200 esp/m³) y el 25 de diciembre (1067 esp/m³).

En Europa, los niveles de *Epicoccum* fueron más altos durante el verano y el otoño (**Kasprzyk & Worek 2006, Rizzi-Longo et al. 2009, Oliveira et al. 2010a**). En Estados Unidos los niveles mayores se presentan durante el otoño y los menores durante el invierno (**Shelton et al. 2002**). En Chile los mayores niveles se presentaron en otoño (**Ibáñez et al. 2001**). En Barcelona se observa un incremento de los niveles desde mediados de primavera hasta finales de invierno, con un incremento significativo durante el verano y el otoño. Se sugiere que la descarga de las conidias de *E. nigrum* es estimulada por la desecación ya que los picos de concentración en el aire ocurren momentos antes de anochecer, lo cual es compatible con lo observado en Portugal por **Oliveira et al. (2010a)** y en Barcelona durante el otoño, sin embargo durante el verano, los mayores niveles se observaron desde las 8:00 hasta las 15:00 horas.

Para **Oliveira et al. (2009b, 2010a)**, las concentraciones de *Epicoccum* se vieron correlacionadas positivamente con la temperatura y negativamente con la humedad relativa y nivel de lluvias. En Italia los niveles altos se presentaron más frecuentemente en los días cálidos con condiciones secas y usualmente precedidos de días con lluvia, y se asociaron positivamente con la temperatura (media, máxima y mínima) y negativamente con la lluvia en el día del muestreo (**Rizzi-Longo et al. 2009**). En nuestro caso se encontró correlación positiva leve con la velocidad y la dirección de los vientos y negativa débil con la presión barométrica, la humedad relativa media y mínima, la temperatura media, mínima, máxima y de punto de rocío y las precipitaciones.

Fusicladium. Este taxón se ha considerado un importante patógeno de frutales en España (**Malgarejo et al. 2010**). Su presencia es ocasional en la aerospora. En Madrid, las conidias de *Fusicladium* estuvieron presentes en el aire en el 2,2% de los días muestreados y representó el 0,01% del total de esporas (**Díez et al. 2006**). En Barcelona correspondió al 0,21% del total de las esporas de *Pleosporales* presentando una concentración promedio diaria de 3,9 esp/m³ y estando presente en el aire durante el 23,6% de los días (81). El mayor valor se registró el día 24 de abril (76 esp/m³). **Gottwald & Bertrand (1982)** encontraron que las conidias de *Fusicladium* presentan una mayor dispersión sobre los cultivos que infecta desde finales de abril hasta noviembre, con los máximos niveles entre junio y octubre en Estados Unidos. Estos hallazgos de estacionalidad fueron similares a lo observado en Barcelona, donde los niveles fueron constantes desde finales de invierno hasta comienzos de otoño, con los valores más altos durante la primavera. **Latam (1982)** señala que las concentraciones de *Fusicladium* muestran una periodicidad diurna con las máximas concentraciones a las 12:00 horas, no obstante a partir de nuestros datos no fue posible establecer ningún comportamiento horario. Los niveles de *Fusicladium* se correlacionan positivamente con la velocidad del viento, la temperatura y las lluvias y negativamente con la humedad relativa (**Latam 1982**). **Gottwald & Bertrand (1982)** encontraron correlaciones similares, sin embargo la lluvia y el rocío presentaron una correlación negativa. En nuestro estudio no fue posible establecer ningún tipo de correlación entre las concentraciones de *Fusicladium* y los parámetros meteorológicos evaluados.

Helminthosporium. *Helminthosporium* tienen alrededor de 20 especies y es afín a *Leptosphaeria*. *H. halodes* es el anamórfico de *Setosphaeria rostrata*. Especies de *Helminthosporium* se asocian comúnmente con manchas y tizones en las hojas, pudriciones de la raíz y otras enfermedades de Poaceas salvajes y cultivadas, además de afectar otro tipo de plantas como palmas, cactus, frijol, legumbres y café (**Alcorn 1988**). En España se ha encontrado causando infecciones en los cultivos de patata (**Malgarejo et al. 2010**). No se tienen reportes de infecciones en humanos debidas a este hongo pero si se ha demostrado el desarrollo de hipersensibilidad a sus antígenos en el 18,8% de la población atópica (**Simon-Nobbe et al. 2008**). *Drechslera/Bipolaris/Helminthosporium/ Exserohilum* por lo que suele desconocerse su verdadera prevalencia en el aire. En España ha sido observada en Madrid (**Díez et al. 2006**) representando menos del 0,01% de la aerospora y estuvo presente en el aire en el 2,2% de los días muestreados, también fue encontrada en las Islas Canarias (**La-Serna et al. 2002**) correspondiendo menos del 1% del total de esporas. En la zona de L'Aquila (Italia) este taxón se encontró generalmente en concentraciones menores a 5 esp/m³, presentando sus mayores niveles en mayo (**Bruno et al. 2007**). En Grecia, su concentración promedio fue 0,29 esp/m³ en el aire de Atenas (**Pyrris & Kapsanaki-Gotsi 2007**) y en Tesalónica significó el 1,4% del total de esporas (**Gioulekas et al. 2004**). En India, las esporas de *Helminthosporium* suelen informarse con

frecuencia, aunque en bajos niveles, tal como lo ha descrito **Nayak (1998)** y **Gaikwad & Sonewain (2012)** en ambientes industriales donde representaron menos del 1% y el 1,2% del total de esporas, respectivamente; también en India, **Adhikari et al. (2004b)** y **Chakraborty et al. (2000)** encontraron ocasionalmente este tipo de espora en zonas agrícolas siendo más comunes durante el invierno y más baja durante el verano; y en áreas residenciales de Lucknow, **Khandelwal (2001)** reportaron bajos recuento de esporas de *Helminthosporium* en el aire durante todo el año con un promedio de 20 esp/m³, con los mayores niveles entre abril y julio que corresponde con el verano en India. En el aire de Barcelona, las conidias de *Helminthosporium* correspondieron al 0,17% del total de *Pleosporales* y presentaron una concentración promedio diaria de 3,1 esp/m³ y registrándose en la atmósfera en el 21,9% de los días (79). La mayor concentración (86 esp/m³) se observó durante dos días, el 9 de febrero y el 2 de mayo. Sus concentraciones fueron generalmente bajas durante todo el año, siendo más constantes durante el invierno e inicios de la primavera. No se observa un comportamiento horario claro, aunque durante el invierno se evidenció un incremento hacia las 21:00 horas. Los niveles de *Helminthosporium* se correlacionaron positivamente pero de manera muy leve con la velocidad del viento y negativamente, también de forma leve, con la presión barométrica, la humedad relativa media y mínima, la temperatura de rocío y la presión atmosférica.

Pithomyces. Este género comprende 12 especies asociadas a material vegetal en descomposición, aunque suele recuperarse con frecuencia causando lesiones en herbáceas, gramíneas y otros tipos de plantas. No hay reportes de infección en humanos por *Pithomyces*, sin embargo en ganado ovino y bovino ha sido implicado en cuadros de eczema facial, inducido por la producción de esporidesmina. Se ha demostrado la presencia de moléculas alergénicas en las conidias e hifas del hongo, pero se desconoce la reactividad de la población a estos alérgenos (**Green et al. 2005**). **Kasprzyk et al. (2004)** y **Oliveira et al. (2009b)** incluyeron este taxón dentro del grupo de baja frecuencia o aparición esporádica en el aire. En España este hongo ha sido reportado en la aerospora de Madrid correspondiendo a menos del 0,01% del total de esporas y encontrándose en el 0,6% de los días muestreados (**Díez et al. 2006**) y en Badajoz, **Muñoz et al. (2010)** encontró medias que oscilaron entre 8 y 46 esp/m³ en una zona rural. En Portugal, **Oliveira et al. (2009a y 2010a)** encontraron que este tipo de esporas correspondía al 0,04% del total tanto en zonas rurales como urbanas en (concentración promedio de 0,2 esp/m³) y se encontraba presente en el aire en el 15% de los días estudiados. En Polonia la concentración promedio fue 0,1 esp/m³, tanto en ambientes rurales como urbanos (**Kasprzyk & Worek 2006**). En la zona de Karachi, Pakistán, correspondieron a menos del 1% del total (**Hasnain et al. 2012**). En India, **Das & Gupta-Bhattacharya (2008)** encontraron que las esporas de este tipo representaban el 1,1% del total de esporas en un área semiurbana. En Tulsa, USA, **Levetin & Dorsay (2006)** estimaron que el promedio de *Pithomyces* en el aire era 16 esp/m³, correspondiendo al 0,30% del total de esporas observadas. En Barcelona, las esporas de *Pithomyces* presentaron una concentración promedio de 14,3 esp/m³ correspondiendo al 0,78% del total de *Pleosporales* y estuvieron presentes en el aire de la ciudad en el 46,5% de los días (168). Las mayores concentraciones se observaron los días 20 y 23 de agosto (191 y 181 esp/m³, respectivamente). En Europa se ha observado un patrón estacional que va desde finales de verano a finales de otoño (**Stepalska & Worek 2005, Oliveira et al. 2010a**). En India fue más frecuente a inicios del invierno (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008**). En Barcelona se observó un claro comportamiento estacional, similar al descrito en otras zonas de Europa (**Stepalska & Worek 2005, Oliveira et al. 2010a**), sin embargo aquí los niveles incrementaron desde inicios de verano y descendieron a mediados de otoño. Para **Oliveira et al. (2010a)** *Pithomyces* presenta un comportamiento horario con los mayores niveles a finales de la tarde, mientras que **Hasnain et al. (2012)** encontró los mayores niveles en la madrugada en Pakistán. En Barcelona los mayores recuentos se observaron hacia el medio día, entre las 10:00 y las 14:00 horas. No se observó ningún tipo de correlación entre los niveles de *Pithomyces* y los parámetros atmosféricos estudiados.

Sporidesmium. Este taxón está incluido dentro del compendium de alérgenos de plantas, animales, alimentos y químicos presentado por **Bernstein et al. (2008)**. No existen registro de infecciones en animales o humanos debidas a este agente, no obstante **Green et al. (2005)** encontraron que a nivel de la pared de las conidias de este microorganismo se existían proteínas fuentes de alérgenos. Las esporas de este hongo han sido informadas en la aerospora de una zona de viñedos en Italia

(Magynar et al. 2009) y en la ciudad de Karachi, Pakistán, (Hasnain et al. 2012) donde representaron menos del 1% del total de esporas recuperadas. En India correspondieron al 0,1% del total de esporas en áreas semiurbana de West Bengala (Das & Gupta-Bhattacharya 2008) y en zonas densamente pobladas de Kolkata (Das & Gupta-Bhattacharya 2012). También fue observado en bajos niveles en el aire de Nuevo Gales del Sur, Australia (Green et al. 2006). En Barcelona correspondió al 0,23% del total de *Pleosporales* con una concentración promedio diaria de 4,5 esp/m³ y estuvo presente en el aire en el 31,2% de los días (107). La mayor concentración se registró los días 1 de enero y 17 de octubre (57 esp/m³). Los niveles fueron constantes durante todo el año, a excepción de a finales de verano y comienzos de otoño cuando se observan incrementos leves y en el invierno cuando desaparece del aire por algunos días. No se distingue un patrón horario definido. Los niveles de *Sporidesmium* en el aire se correlacionaron de manera positiva baja con la velocidad del viento y negativa baja con la presión barométrica, la humedad relativa media y mínima, la temperatura de punto de rocío y la presión atmosférica.

Stemphylium. Este hongo se ha aislado de suelos de bosques, praderas, cultivos de trigo y otros cereales, cultivos de cítricos y cafetales comportándose como saprofito y en algunos casos como patógeno. Muchas especies de *Stemphylium*, incluyendo su estado teleomórfico clasificado dentro del género *Pleospora*, son importantes económicamente ya que pueden afectar cultivos agrícolas, provocando enfermedades como las manchas en las hojas de alfalfa, trébol rojo, cebolla y ajo, también se ha asociado con la mancha púrpura en el espárrago y a la mancha gris del tomate y la papa (Camara et al. 2002). En España, este hongo se ha encontrado afectando cultivos de Alfalfa, *Allium* spp., altramuz, lechuga, manzano, peral, remolacha, tomate, ajo y trébol (Melgarejo et al. 2010). No hay reportes en la literatura sobre infecciones causadas por este microorganismo en humanos o animales, no obstante si existe evidencia de su papel como importante alérgeno. En este agente se ha demostrado la presencia de una secuencia homóloga al alérgeno Alt a 1 de *Alternaria alternata* (Hong et al. 2005) y la producción de esta proteína en concentraciones que pueden superar las descritas para *A. alternata* (Gutiérrez-Rodríguez et al. 2011). Se ha informado una prevalencia de la sensibilización a *Stemphylium* de 30,7 % en pacientes atópicos con sospecha de alergia a hongos (Corey et al. 1997). Este hongo está incluido dentro del grupo de baja frecuencia o aparición esporádica (Kasprzyk et al. 2004, Oliveira et al. 2009b). En el aire de España, fue identificado por Díez et al. (2006) en Madrid representando el 0,04% del total de esporas y presentándose en el 10,1% de los días estudiados y por Muñoz et al. (2010) en una zona rural de Badajoz en concentraciones que oscilaron entre 32 y 282 esp/m³. Oliveira et al. (2010a) en Portugal encontraron que las conidias de *Stemphylium* representaban el 0,08% del total de esporas y estaba presente en el aire durante el 28% de los días en concentraciones de 0,5 esp/m³ en áreas rurales y 0,6 esp/m³ en urbanas. En Polonia se encontraron niveles que oscilaron entre 0,1 y 0,2 esp/m³ en áreas urbanas y de 0,1 esp/m³ en rurales (Kasprzyk & Worek 2006). En Pakistán fue frecuente y representó el 1,3% del total de esporas observadas en el aire de la ciudad de Karachi (Hasnain et al. 2012). Levetin & Dorsay (2000) encontraron una concentración de 8 esp/m³ en el aire de Tulsa (USA) correspondiendo al 0,14% del total de esporas. En Santiago de Chile correspondió al 0,5% del total de esporas (Ibáñez et al. 2001).

En un estudio realizado en viviendas de USA, su ADN ha sido encontrado en el 55,2% de los interiores analizados frente al 100% de los exteriores (Adams et al. 2013). En Barcelona, las conidias de *Stemphylium* representaron el 4,67% del total de *Pleosporales* con una concentración promedio de 85,4 esp/m³ y fueron frecuentes en el aire encontrándose en el 92,5% de los días estudiados (334). Los valores más altos se presentaron el 7 y el 15 de junio (667 y 610 esp/m³, respectivamente). En Islas Canarias se encontraron niveles durante todo el año con dos picos, uno a finales de primavera y el otro en el otoño, con una disminución significativa durante el invierno (Domínguez et al. 1996). En Portugal y Polonia los mayores valores se observan durante el verano y el otoño, con un patrón de dos picos similares a los observados para *Alternaria* (Stępańska & Worek 2005, Oliveira et al. 2010a). En Italia los mayores niveles se presentan entre abril y agosto (Rossi et al. 2005). En Barcelona los niveles se incrementan desde mediados de primavera hasta mediados de otoño, con dos picos significativos, el primero a finales de primavera y el segundo a mediados de verano. El comportamiento horario descrito para las conidias de *Stemphylium* es principalmente diurno, con las

mayores concentraciones entre las 10:00 y las 14:00 horas y las más bajas durante la noche entre las 20:00 y las 8:00 horas (**Domínguez et al. 1996, Rossi et al. 2005, Oliveira et al. 2010a**), coincidiendo con el observado en Barcelona. Se ha documentado que la disminución en la humedad relativa y la humedad superficial después de las 8:00 horas y el incremento de la velocidad de los vientos y las ráfagas después de las 10:00 favorecen la liberación de las conidias de *Stemphylium* desde las superficies de las plantas (**Rossi et al. 2005**) y que los niveles de estas conidias en el aire son afectados positivamente por la temperatura y negativamente por la humedad relativa y la lluvia (**Oliveira et al. 2009b**), sin embargo en nuestro estudio no se observó la correlación con la temperatura, pero si una correlación positiva baja con la velocidad y la dirección del viento y negativa baja con la presión barométrica, la humedad relativa media y mínima, la temperatura de punto de rocía, la presión atmosférica y las precipitaciones.

Tetraploa. Este taxón se encuentra usualmente como saprófito sobre herbáceas y otras monocotiledóneas y rara vez sobre dicotiledóneas y Pinus (**Karpińska-Kolaczek et al. 2010**). Ocasionalmente ha sido informada como patógeno de humanos (**Markham et al. 1990**). En Singapur en población alérgica y no alérgica, **Chew et al. (2000)**, demostraron una prevalencia de sensibilización en el 16% y 6,6%, respectivamente. Este tipo de espora ha sido informada en el aire alrededor del mundo, principalmente en zonas tropicales y subtropicales (**Karpińska-Kolaczek et al. 2010**). En España, se ha registrado ocasionalmente en zona rural de Ourense con niveles nunca superaron las 10 esp/m³ (**Reineria et al. 1998**) y en Islas Canarias en bajos niveles (**La-Serna et al. 2002**). También fue ocasionalmente encontrada en el aire de una zona de viñedos en Italia (**Magynar et al. 2009**). En Pakistán representó menos del 1% del total de esporas del aire de Karachi (**Hasnain et al. 2012**). En un área semiurbana y en una ciudad densamente poblada de India significó el 0,2% del total de esporas en el aire (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008 y 2012**). En Estados Unidos y Australia no superó el 0,1% del total de esporas (**Dixit et al. 2000, Mitatakis & Guest 2001, Levitin & Dorsay 2006**). En Barcelona correspondió al 0,05% del total de esporas de *Pleosporales* con una concentración promedio de 1 esp/m³ y estuvo presente en el aire de la ciudad en el 7,5% de los días (27). La concentración más alta fue el 6 y 7 de mayo (38 esp/m³). Su presencia en el aire fue ocasional pero fue más constante y presentó los mayores picos de concentración durante el invierno. No se observó ningún patrón horario, ni se correlacionó con las variables atmosféricas analizadas.

Ulocladium. Los integrantes de este género son mayoritariamente de vida saprofítica, algunos débiles patógenos oportunistas de vegetales y animales. Su distribución cosmopolita le permite colonizar hábitat tanto naturales como antrópicos, siendo un habitante común del suelo, detritus vegetales, alimentos en descomposición y derivados celulósicos como textiles y papel. *U. chartarum* es la especie más ampliamente distribuida en la naturaleza y la que se aísla con mayor frecuencia en ambientes interiores, principalmente en aquellos con problemas de humedad o que utilizan sistemas de acondicionamiento del aire (**Horner et al. 2004, Runa et al. 2008, Andersen et al. 2011**). *Ulocladium*, principalmente la especie *chartarum* ha sido recuperada de lesiones en piel, uñas y ojos en pacientes inmunocomprometidos (**de Hoog et al. 2002**). Es considerado uno de los mohos alergénicos más comunes en los Estados Unidos asociado a la fiebre del heno, pero la incidencia de reactividad a sus alérgenos no ha sido estimada. Alérgenos relacionados con Alt a 1 han sido identificados en cinco especies dentro de este género (*U. alternarie*, *U. atrum*, *U. botrytis*, *U. chartarum* y *U. cucurbitae*) (**Hong et al. 2005**), específicamente *U. chartarum* demostró producir concentraciones altas de Alt a 1 (**Gutiérrez-Rodríguez et al. 2011**). En España es comúnmente informado en la aerospora pero en Bajas concentraciones. En Madrid correspondió a menos del 0,01% del total de esporas, apareciendo en el aire en el 0,3% de los días estudiados (**Díez et al. 2006**) y en Badajoz se encontró en bajas concentraciones (un total de 30 esporas) en todas las áreas muestreadas (**Tormo-Molina et al. 2012**). En otras latitudes no suele representar más del 0,1% tal como se observó en la aerospora de India (**Haamed et al. 2004**), Chile solo correspondió (**Ibáñez et al. 2001**) y Australia (**Garrett et al. 1997**). En un estudio de ambientes de oficina a través de los Estados Unidos, **MacInstosh et al. (2006)** encontró que las esporas de *Ulocladium* correspondieron al 4% del total de esporas en el exterior. El ADN de *Ulocladium* fue encontrado en el 100% de las muestras de polvo que atraviesa el océano pacífico desde Asia hasta Norteamérica (**Smith et al. 2012**). En Barcelona, las conidias de *Ulocladium* representaron el 0,23% del total de *Pleosporales*,

con una concentración promedio de 4,1 esp/m³ y una presencia en el aire en el 17,5% de los días (63). La mayor concentración fue observada el 28 de octubre (324 esp/m³). **Basilico et al. (2007)** reportó que las mayores concentraciones de *Ulocladium* se encontraron durante el verano en Argentina, sin embargo en Barcelona no se observa un patrón estacional, aunque la aparición de este taxón fue más regular durante el invierno y la primavera. Tampoco se evidencia un patrón horario de liberación de esporas. Los niveles de *Ulocladium* en el aire se correlacionaron de manera positiva pero baja con la velocidad del viento y negativa baja con la presión barométrica, la humedad relativa media y mínima, la temperatura de punto de rocío y la radiación global.

Capítulo 3.
**Esporas de *Pleosporales* asociados
a manifestaciones alérgicas en el aire interior
y exterior de viviendas del área metropolitana de
Barcelona. Efectos de las características
locativas y climáticas.**

Esporas de *Pleosporales* asociados a manifestaciones alérgicas en el aire interior y exterior de viviendas del área metropolitana de Barcelona. Efectos de las características locativas y climáticas.

Introducción

Las enfermedades alérgicas han presentado un aumento constante en el número de casos, afectando en la actualidad entre el 30 y el 40% de la población mundial (**Pawankar et al. 2011**). Estimativos actuales sugieren que hasta el 30% de los europeos sufren de rinitis o conjuntivitis alérgica, hasta el 20% de los niños asma, el 15% manifestaciones alérgicas en piel y el 8% alergias alimentarias (**Calderón et al. 2012**). A nivel mundial se presume que más de medio billón de personas sufren de rinitis (**Bousquet et al. 2008a, Wallace et al. 2008**), y aproximadamente 300 millones padecen asma (**WHO 2011**). Sin embargo, estos datos pueden ser inexactos ya que muchos pacientes no reportan sus síntomas o no son diagnosticados correctamente. Según el EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology) en las próximas décadas más de la mitad de la población europea sufrirá algún tipo de alergia (**Punekar & Sheikh 2009**). La OMS considera que la prevalencia ha aumentado en los últimos años, principalmente en países en vía de desarrollo, debido principalmente a cambios en el ambiente y a la adopción de un estilo de vida occidentalizado, por lo que estima que para el año 2020, el asma, junto con la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), llegará a ser la tercera causa de muerte en estas regiones (**Masoli et al. 2004**). Existe una considerable variación regional en la prevalencia de las alergias respiratorias. En el caso de la rinitis, **Bousquet et al. (2008b)** observó tasas que iban entre el 11,8% en España y el 46% en Australia. En una revisión epidemiológica realizada en los servicios de alergia españoles se observó que el 55% de los pacientes que consultaron en estos centros fueron diagnosticados con rinitis alérgica, y que de éstos el 37% presentaban asma asociado (**Navarro et al. 2009**). En este mismo sentido, la fase III del estudio ISAAC llevada a cabo entre el 2002 y el 2003, determinó que la prevalencia de asma entre los 6 y los 7 años era del 10,7% para niños y 8,2% para niñas y que entre los 13 y 14 años la diferencia era menos marcada, observándose un 9,3 y 9,2%, respectivamente (**García-Marcos et al. 2004**). Para adultos son escasos los datos sobre la prevalencia de las enfermedades alérgicas. En un estudio multicéntrico realizado por **Gaig et al. (2004)** se estableció que la prevalencia de alergia en población adulta española era del 21,6%, siendo la rinoconjuntivitis la manifestación clínica más frecuente (45,4%), seguida del asma bronquial (24,9%).

En algunos países, las alergias respiratorias suponen una carga importante para la salud, no solo en términos de calidad de vida, sino además en costos del tratamiento, comorbilidades y otros gastos indirectos (**Skoner 2001, Quirce et al. 2011**). Considerando el asma solamente, a la Comunidad Europea le cuesta €3,6 billones por año en productos farmacéuticos además de €4,3 billones en gastos de hospitalización, diagnóstico y otros servicios médicos (**Calderón et al. 2012**). Los costos de la atención y el tratamiento de la rinitis alérgica pueden ser aún mayores, pero no se cuenta con estimativos reales. Para la rinitis se presume que la inversión puede ser cercana a los €100 billones anuales, debido principalmente a las pérdidas de horas efectivas de trabajo (**Nasser et al. 2008**). A nivel de España, **Colás et al. (2012)** en el marco del estudio FERIN estimaron que el costo medio total relacionado con rinitis alérgica por paciente es €1708, costes muy cuantiosos teniendo en cuenta la alta prevalencia de la enfermedad en la población general.

Las alergias respiratorias, incluyendo asma y rinitis, son causadas por la sensibilización a alérgenos medioambientales inhalados. Esta exposición suele ser mayor en ambientes interiores debido a que la población permanece cerca del 90% de su tiempo en estos ambientes, y, entre ellos, alrededor del 50% en sus hogares (**Erwin et al. 2005**). Dentro de los alérgenos más comúnmente descritos para ambientes interiores hay proteínas de origen bacteriano, vegetal, animal y fúngico (**Gaffin & Phipatanakul 2009**). Aunque con algunas contradicciones, la prevalencia de sensibilización IgE a

alérgicos de interior (principalmente ácaros y alérgicos de gato) está positivamente correlacionada, tanto con la frecuencia como con la severidad del asma y la rinitis (**Kerkhof et al. 2000, Nelson 2000**). Sin embargo, otros alérgicos como los de hongos (principalmente *Alternaria*) y escamas de insecto también se han ligado a la aparición y severidad de las alergias respiratorias (**Rosenstreich et al. 1997**).

Recientemente se ha demostrado que la presencia de sensibilización a hongos es mayor de lo que se creía, al igual que las manifestaciones alérgicas a proteínas fúngicas. La prevalencia de las alergias respiratorias a hongos se estima entre el 20 - 30% entre los individuos atópicos y hasta un 6% en la población general (**Kurup & Banerjee 2000**). Estos niveles variables de sensibilización dependen en gran medida de las condiciones climáticas regionales; en zonas generalmente frías los niveles son bajos, a diferencia de las áreas cálidas donde los niveles de sensibilización suelen ser mayores (**Mari et al. 2003**). **Black et al. (2000)** observaron mayor positividad en la prueba cutánea para alérgicos fúngicos (54%) en pacientes asmáticos admitidos en la Unidad de Cuidados Intensivos que la incidencia observada en la comunidad o en admitidos en otros servicios hospitalarios (30%). En un estudio realizado en el Reino Unido se encontró que el 76% de los pacientes con admisiones múltiples por síntomas respiratorios severos tuvieron resultados de la prueba cutánea positivos para al menos un hongo (**O'Driscoll et al. 2005**). En España se han realizado múltiples estudios que pretenden establecer la incidencia de la sensibilización a hongos en población alérgica. En 1995 el grupo de trabajo de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (**Alergológica 1995**), encontró que el 9,5% de todos los pacientes con sospecha de alergia respiratoria presentaban sensibilización a alérgicos de *Alternaria* y/o *Cladosporium*. Dos años después, el Estudio Multicéntrico Europeo patrocinado por el Subcomité de Aerobiología de European Academy of Allergology and Clinical Immunology estableció que la prevalencia de la sensibilización a hongos en España se encontraba alrededor del 20% (**D'Amato et al. 1997**). **Alergológica 2005 (2006)** publicó que el 12,5% de la población pediátrica incluida en el estudio diagnosticada de rinitis y el 15% diagnosticada de asma, estaban sensibilizados a hongos. **Navarro et al. (2009)**, como parte de los hallazgos de este mismo estudio, encontraron que el 55,5% de los pacientes que consultaron a los servicios de alergia en España presentaban rinitis alérgica, entre estos el 6% fueron diagnosticados como alérgicos a hongos. En el estudio **Escape (2005)** que pretendía establecer la estacionalidad y hacer el seguimiento de la calidad de vida en el asma pediátrica en España, se determinó que la incidencia de sensibilización a hongos era del 17,7%. En zonas del Mediterráneo se ha encontrado altos niveles de sensibilidad a hongos tanto en población pediátrica como adulta (**D'Amato et al. 1997, Corsico et al. 1998**). Específicamente en Cataluña, **Bartra et al. (2009)** encontró un 26,3% de sensibilidad a hongos en la población alérgica estudiada.

En pacientes atópicos, se ha demostrado que existe una relación entre la severidad del asma y/o rinitis y la duración de la exposición a hongos. Tales contactos pueden ocurrir tanto en exteriores como dentro de las casas o los lugares de trabajo (**Matheson et al. 2005**). La mayoría de los pacientes sensibilizados a hongos presentan sintomatología perenne, aunque con mayor intensidad en el periodo estival y el otoño (**Salvaggio & Aukrust 1981**). Diversos estudios han asociado altos niveles de esporas de *Penicillium* (**Gent et al. 2002**), *Cladosporium* y *Aspergillus* (**Jacob et al. 2002, Matheson et al. 2005**), además de otros hongos con la exacerbación de los síntomas de asma. Sin embargo, es *Alternaria*, el taxón más relevante como hongo responsable de alergia respiratoria (**Downs et al. 2001, Cantani & Ciaschi 2004, Pulimood et al. 2007, Simon-Nobbe et al. 2008**).

Alternaria es un hongo anamórfico perteneciente a la clase *Dothideomycetes*, orden *Pleosporales* (**Kirk et al. 2008**). Los hongos pertenecientes a este orden pueden estar presentes en todos los ambientes gracias a su capacidad de colonizar materia orgánica y tener eficientes mecanismos de producción de esporas y conidias. Pueden comportarse como epifitos, endófitos o parásitos de hojas y tallos vivos; ser hiperparásitos de otros hongos e insectos; asociarse formando líquenes; o ser saprobios sobre material vegetal en descomposición en ambientes acuáticos y terrestres o vivir sobre excretas de animales (**Zhang et al. 2012b**).

Dentro de los *Pleosporales* se incluyen algunos de los más importantes fitopatógenos responsables de grandes daños y cuantiosas pérdidas en cultivos de cereales (trigo, maíz, cebada), árboles (pino, álamo), dicotiledóneas (soja, colza, tomate) y frutas tropicales (banano) (Ohm et al. 2012). También comprende géneros asociados a enfermedad en humanos y animales como *Alternaria*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum*, *Phoma*, entre otros, relacionados con cuadros clínicos que van desde leves reacciones de hipersensibilidad hasta formas diseminadas graves, e incluso fatales, en pacientes severamente inmunocomprometidos (Revankar & Sutton 2010).

Todas las esporas fúngicas pueden potencialmente despertar una respuesta alérgica, sin embargo, *Alternaria alternata* es el hongo alergénico más importante (Simon-Nobbe et al. 2008) y su papel en la alergia ha sido reconocido desde hace más de 80 años (Hopkins et al. 1930). La incidencia de sensibilización a *A. alternata* en pacientes atópicos varía entre 3,6 y 39,4%, dependiendo principalmente de la zona geográfica donde se haya realizado el estudio (Simon-Nobbe et al. 2008). Para esta especie se han identificado 13 proteínas alergénicas, siendo Alt a 1 la más importante ya que induce una respuesta tipo IgE en más del 90% de los pacientes con alergia a este hongo (Asturias et al. 2005, Simon-Nobbe et al. 2008). Sin embargo, este alérgeno (o la secuencia que codifica para esta proteína) no es exclusivo de *A. alternata* y es conservado en hongos pertenecientes a las clases *Dothideomycetes* y *Sordariomycetes* (Hong et al. 2005, Chruszcz et al. 2012). Al parecer las relaciones filogenéticas de los hongos son también reflejadas por la respuesta del sistema inmune, como se ha demostrado en individuos sensibilizados a hongos (Soeria-Atmadja et al. 2010). Sáenz de Santamaría et al. (2006) y Gutiérrez-Rodríguez et al. (2011) han demostrado la unión de anticuerpos tipo IgE procedentes de pacientes alérgicos a *A. alternata* a proteínas homólogas de Alt a 1 de diversas especies de *Alternaria* y de otros *Pleosporales* como *Stemphylium*, *Ulocladium* y *Curvularia*. Otras proteínas alergénicas identificadas en *Alternaria* (y que posiblemente también podrían tener su ortólogo en otros géneros de *Pleosporales*) incluyen manitol deshidrogenasa dependiente de NADP, enolasa, aldehído deshidrogenasa, flavodoxina, proteína ácida ribosomal P1 y P2, proteína de choque térmico 70, factor de transporte nuclear 2, glutatión S transferasa y serin proteasa) (Simon-Nobbe et al. 2008).

Alternaria es un hongo ubicuo, y su presencia en la aerospora ha sido descrita en estudios de flora micótica en África (Ismail et al. 1999, Awad et al. 2013), América (Li & Kendrick 1995, Troutt & Levetin 2001, Menesez et al. 2004, Salo et al. 2006), Antártida (Pearce et al. 2009), Asia (Li et al. 2010, Safatov et al. 2010, Hasnain et al. 2012, Hsu et al. 2012), Europa (Peternel et al. 2004, Gómez de Ana et al. 2006, Pulimood et al. 2007, Buss et al. 2010a, De Linares et al. 2010, Sabariego et al. 2012, Skjøth et al. 2012, Aira et al. 2013) y Oceanía (Stennett & Beggs 2004, Meng et al. 2012). En ambientes interiores, *A. alternata* es una importante fuente de aeroalérgenos y entre el 95 y el 99% de los hogares norteamericanos tienen cantidades detectables de antígenos de *Alternaria* (Salo et al. 2005, Salo et al. 2006). Otros *Pleosporales* son también informados con frecuencia como parte de la micoflora atmosférica. Entre sus estadios mitospóricos (estados conidiales), especies de *Curvularia*, *Drechslera/Bipolaris*, *Epicoccum*, *Stemphylium*, *Helminthosporium*, *Pithomyces* y *Phoma*, son observados comúnmente en estudios aerobiológicos de ambientes tanto intra como extradomiciliarios (Troutt & Levetin 2001, Pearce et al. 2009, Buss et al. 2010a, Li et al. 2010, Oliveira et al. 2010b, Hernández et al. 2012, Hsu et al. 2012, Sabariego et al. 2012, Meng et al. 2012). Los géneros meiospóricos (formadores de ascas), son informados con menor frecuencia en el aire, y su presencia es más habitual en los ambientes exteriores y en zonas rurales o semi-urbanas, lo cual se explica por la abundancia relativa de las plantas hospederas donde suelen formar sus estructuras de reproducción (Gonianakis et al. 2005, Díez et al. 2006, Magyar et al. 2006, Carisse et al. 2007, Oliveira et al. 2010b, Hernández et al. 2012, Stepalska et al. 2012, Tomassetti et al. 2013). Entre los taxones *Pleosporales* meiospóricos, los más comúnmente documentados en la aerospora son *Pleospora*, *Leptosphaeria*, *Didymella*, *Paraphaeosphaeria*, *Phaeosphaeria*, *Sporormiella*, *Massarina* y *Leptosphaerulina*. La familia *Venturiaceae* (meiospórico) y uno de sus anamórficos, *Fusicladium*, comunes en el aire de ambientes exteriores rurales, estuvieron tradicionalmente asignados a los *Pleosporales*, sin embargo recientemente fueron reposicionados y ya constituyen el nuevo orden *Venturiales* dentro de los *Dothideomycetes* (Zhang et al. 2011). Sin

embargo, para efectos prácticos de esta investigación, las esporas tipo-*Venturia* y tipo-*Fusicladium* seguirán siendo consideradas dentro del orden *Pleosporales*.

La presencia de determinados taxones de hongos (incluyendo las esporas de *Pleosporales*), en el aire exterior e interior está relacionada con diferentes factores medioambientales, tales como estacionalidad, localización geográfica, parámetros meteorológicos, humedad relativa y temperatura (Weber 2003, Jones & Harrison 2004, Gange et al. 2007, Buss et al. 2010a, Grinn-Gofroñ et al. 2011). Aunque existen grandes diferencias regionales, por lo general los mayores recuentos de esporas son encontrados en ambientes cálidos y húmedos (Amend et al. 2010). Ya que el origen primario de la aerospora son las plantas (Levetin & Dorsey 2006), el suelo, los deshechos y la materia orgánica en descomposición (Heald & Spracklen 2009), la vegetación circundante a un sitio determinado tiene un impacto positivo sobre la concentración y los taxones de hongos recuperados, principalmente por la permanente liberación de hongos fitopatógenos o saprofitos al aire (Awad 2005). Algunas esporas de patógenos de plantas presentan picos estacionales en el aire que suelen cursar paralelamente con periodos de floración o de recolección de cosecha (Levetin & Hornerb 2002).

Algunos autores han diferenciado las esporas de hongos presentes en el aire en dos tipos, esporas de aire seco (dry-air spores) y esporas de aire húmedo (wet-weather air spores) (Hjelmroos 1993, Brown 1997, Katial et al. 1997). Las esporas de aire seco incluyen las conidias de *Alternaria*, *Epicoccum*, *Drechslera*, *Pithomyces* y *Curvularia*, y prácticamente todas las esporas mitospóricas, además de otras formas asexuales de hongos y esporas del tizón (Brown 1997). Estas esporas son encontradas en altas concentraciones en la atmósfera en condiciones de baja humedad y fuertes vientos, principalmente durante las horas más cálidas de la tarde. En áreas templadas, las esporas de aire seco dominan la atmósfera desde la primavera hasta el otoño, excepto durante los periodos de lluvia (Troutt & Levetin 2001, Elbert et al. 2007). Las ascosporas y basidiosporas son las predominantes entre las esporas de aire húmedo, las cuales requieren de humedad para su liberación y presentan picos atmosféricos después de las precipitaciones, aunque cuando las lluvias son prolongadas tienden a disminuir por el efecto del lavado de la atmósfera (Rivera-Mariani & Bolaños-Rosero 2012). Las ascosporas son liberadas principalmente durante o después de las lluvias debido al incremento de la presión osmótica dentro del asca lo que provoca su expulsión. El ritmo de liberación intradiurno de las ascosporas presenta un pico en horas tempranas de la mañana y una marcada disminución por la tarde. (Troutt & Levetin 2001).

Mediciones de aerosoles fúngicos reportan concentraciones promedios a nivel del suelo de alrededor de 10.000 a 50.000 esporas/m³, excediendo algunas veces las 200.000 esporas/m³ (Levetin 1995). Estas concentraciones de esporas suelen exceder en más del doble a las concentraciones de granos de polen (1.000 - 2.000 granos/m³) (Mandrioli 1998); sin embargo, los granos de polen presentan un comportamiento estacional mientras que una amplia variedad de hongos puede ser recuperada de ambientes interiores y exteriores a lo largo del año (Platts-Mills et al. 2006). En el caso de las esporas de *Alternaria*, se ha observado que durante días secos y con viento, los conteos pueden variar entre 500 a 1000/m³ en zonas de cultivos de hierba y granos (Vijah et al. 1999), lo cual cobra gran importancia si se tiene en cuenta que conteos alrededor de 100 esporas de *Alternaria*/m³ pueden provocar síntomas clínicos en individuos con hipersensibilidad a este hongo (Gravesen 1981).

Existen diferencias importantes entre el tipo y la concentración de las esporas de *Pleosporales* dependiendo si el ambiente es interior o exterior (Burge 2002, Adams et al. 2013). Los recuentos de esporas, en general, tienden a ser superiores en ambientes extradomiciliarios, y estos niveles tienen una influencia significativa en la concentración y tipo de hongos en ambientes interiores (Shelton et al. 2002). Las condiciones específicas de lugar, como ausencia o disminución de las corrientes de aire, la protección a la luz UV y actividades que allí se realicen, van a permitir, en mayor o menor medida, la permanencia de algunos taxones en el aire interior. También van a determinar la eficiencia de deposición de aquellos más pesados sobre superficies y la proliferación de otros favorecidos por eventos puntuales del sitio (Miller 1992). También su presencia en interiores se ve favorecida cuando hay problemas de humedad y suelen encontrarse creciendo en los conductos de los sistemas de

acondicionamiento de aire y tuberías de agua; además, por su fácil adaptabilidad, suelen desarrollarse sobre plantas de interior, desechos animales y vegetales, muebles, tapicería, colchones y peluches (Li & Kendrick 1995, Katz et al. 1999). En estos ambientes interiores, los microhongos son importantes alérgenos y se encuentran durante todo el año, siendo responsables de síntomas de rinitis persistente, especialmente en los sitios húmedos y cálidos de la casa como los baños y la cocina (Jacob et al. 2002).

Especies de *Alternaria*, junto con *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium* son el principal componente de la aerospora fúngica interior alrededor del mundo (Oliveira et al. 2009, Buss et al. 2010b, Sesartic & Dallafior 2011, Sharma & Verma 2011). En el exterior, las basidiosporas y ascosporas suelen ser los representantes más comunes (Horner et al. 1998, Lehrer et al. 1994, Burge 2002, Rivera-Mariani & Bolaños-Rosero 2012), pero también es frecuente encontrar conidias de *Alternaria* y *Cladosporium*, con un aumento importante en su concentración durante el verano, y conidias de *Aspergillus* y *Penicillium* durante todo el año (Li & Kendrick 1995, Katz et al. 1999, Burge 2002, Buss et al. 2010a, Oliveira et al. 2010b). Los fragmentos de hifas y de otras estructuras de los hongos, también son componentes comunes de la aerospora representando entre el 6 y el 56% del conteo total de partículas fúngicas, sin embargo su concentración en el aire no se corresponde con los conteos de esporas (Green et al. 2006a). Tales fragmentos son producidos principalmente durante los procedimientos de siega de las cosechas, pero también suelen encontrarse muy frecuentemente en el interior de las edificaciones con problemas de humedad (Górny & Dutkiewicz 2002). Algunos estudios han determinado que tales fragmentos pueden poseer un mayor contenido de proteínas alérgicas que las conidias (Green et al. 2005). Sin embargo, a pesar de su importancia como aeroalérgenos, frecuentemente no son tenidos en cuenta en los estudios aerobiológicos, ya que por sus características morfológicas no es posible identificar a que taxón pertenecen, para lo cual sería indispensable el uso de técnicas inmunológicas como el inmunoensayo halógeno o de biología molecular la PCR (Green et al. 2006, Rivera-Mariani et al. 2011).

En las tablas 3.1 y 3.2 se presenta un listado de los géneros de *Pleosporales* más frecuentemente observados en la aerospora de ambientes interiores y exteriores y que han sido relacionados a procesos de hipersensibilidad *in vivo* o *in vitro*.

La habilidad para identificar y cuantificar la concentración de los taxones de esporas fúngicas en el material particulado atmosférico es necesario para reducir o prevenir la exposición a agentes infecciosos para plantas, animales y humanos y a alérgenos fúngicos (Madelin & Madelin 1995). Hay diversos métodos para la detección de la micoflora en la atmósfera y en medioambientes interiores. La cuantificación directa puede ser realizada por métodos microbiológicos convencionales como son la determinación y el conteo de esporas o de unidades formadoras de colonias (Portnoy et al. 2004, Li et al. 2010). Sin embargo, hay una diferencia de hasta diez veces entre el número de esporas totales intactas y los conteos de hongos cultivables (Hospodsky et al. 2010), lo que hace recomendable el uso de ambas metodologías para asegurar una cuantificación/identificación representativa de los hongos presentes en un ambiente determinado. También se han empleado más recientemente análisis basados en ácidos nucleicos (PCR cuantitativa de DNA extraído), pero con algunas limitaciones, asociadas principalmente a los costos y a la cuantificación de los taxones (Yamamoto et al. 2011a, 2011b). Métodos indirectos de cuantificación emplean química analítica para medir la presencia de biomarcadores fúngicos específicos como el ergosterol (Burshtein et al. 2011), aunque con muy baja o ninguna correlación con los resultados obtenidos por Q-PCR (Lang-Yona et al. 2012). La presencia y concentración de los micoalérgenos también ha sido estimada empleando técnicas inmunológicas como ELISA, tal es el caso de los niveles de Alt a 1 (alérgeno principal de *Alternaria alternata*) aunque con una baja correlación con la concentración de las esporas del hongo (Feo et al. 2012).

En el presente estudio se establecieron la concentración y los taxones de *Pleosporales* predominantes, durante las cuatro estaciones climáticas, en el ambiente interior y exterior de viviendas del área metropolitana de Barcelona, empleando para ello metodologías para la cuantificación e identificación de esporas totales y hongos viables, tanto en el aire como en el material

particulado depositado sobre las superficies. Adicionalmente se estimaron los niveles del alérgeno Alt a 1 como marcador de niveles de micoalérgenos en material particulado sedimentado. El propósito era caracterizar el comportamiento de los principales *Pleosporales* alergénicos para ofrecer al personal sanitario involucrado con el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes que padecen alergias a hongos, información a considerar para el establecimiento de un régimen de tratamiento adecuado para estos pacientes, evaluar la necesidad del tratamiento coestacional vs tratamiento anual permanente y la duración del tratamiento. También para transferir la información a la población, buscando facilitar el procurarse mejor calidad de vida rigiéndose por esta información para evitar tanto como sea posible la exposición a estos alérgenos.

Materiales y métodos

Descripción de la población, del entorno y de las viviendas estudiadas.

La provincia de Barcelona está ubicada al nordeste de España y ocupa el 24% del territorio de la Comunitat Autònoma de Catalunya (7733 km²). Consta de 311 municipios y una población para el 2010 de 5.511.147 habitantes, asentada principalmente en los grandes cascos urbanos (alrededor del 90%). La ciudad de Barcelona (capital provincial) se extiende por 101,35 km² y su población para el 2010 era de 1.619.337 con una distribución por edades de 13,2% para menores de 14 años, 66,7% para edades comprendidas entre los 15 y los 64 años, y el 20,1% para mayores de 65 años. El 48% eran hombres y el restante 52% mujeres (Anuario estadístico de Cataluña, <http://www.idescat.cat>).

La situación geográfica de Barcelona, cerca del mar, favorece un clima templado denominado marítimo subhúmedo de tendencia marítima (**Bolós 1962**). La temperatura media anual es de 16,5 °C, la temperatura media de las mínimas 9,4 °C (Enero) y la media de las máximas 24,4 °C (Julio). Las precipitaciones son moderadas, 595 mm de promedio anual, y tienen lugar mayoritariamente en primavera y otoño (**Roldán 1985**). El resumen de las condiciones meteorológicas para la zona de Barcelona durante el periodo de estudio según el Servei Meteorològic de Catalunya se presenta en la tabla N° 3.3.

Tabla N° 3.3. **Promedios de los parámetros meteorológicas para la ciudad de Barcelona durante los años 2010 y 2011 (Servei Meteorològic de Catalunya).**

Parámetro	2010	2011
Temperatura media anual (°C)	17,2 (0,7 - 39,3)	18,2 (2,4 - 33,8)
Humedad relativa (%)	62	67
Precipitación acumulada (mm)	718,5	925,0
Velocidad media del viento a 10m (m/s)	2,1 (dirección dominante SW)	2,0 (dirección dominante E)
Media de radiación solar global diaria (MJ/m ²)	15,5	16,0

mm: milímetros; m/s: metros por segundo; SW: Suroeste; E: Este; MJ/m²: Megajulios por metro cuadrado.

Con respecto a la vegetación, Barcelona y su entorno se hallan en el dominio climácico del encinar litoral, que se encuentra muy empobrecido por la fuerte y continuada intervención humana, siendo frecuentes sus series de degradación, garrigas, brollas (a menudo con recubrimiento de pinos), yermos y prados secos. También se da vegetación ruderal y arvense, y vegetación de ribera (olmedas, saucedas y choperas) (**Belmonte et al. 1998**).

Este estudio fue iniciado en el verano de 2010 y finalizado en la primavera de 2011. Se estudiaron en total 60 viviendas ubicadas en la provincia de Barcelona. La población se dividió en dos grupos, y cada individuo fue asignado al grupo correspondiente de acuerdo a si cumplía o no los siguientes criterios: **grupo SA** (sensibilización a *Alternaria*) incluyó a los individuos con sensibilización a *Alternaria* mediante la prueba cutánea (SPT: *skin prick test*) con alérgenos para *A. alternata* o por medición de Ig E específica para el hongo y que presentaban manifestaciones clínicas de alergia respiratoria tipo rinitis, conjuntivitis o asma, clasificadas de acuerdo a los criterios GINA o ARIA,

algunos con pruebas adicionales de provocación al alérgeno; el otro grupo denominado **grupo ND** (no sensibilizados a *Alternaria*) incluyó a los individuos sin sensibilización a alérgenos de *Alternaria*, aunque 9 de ellos fueron atópicos con manifestaciones clínicas de alergia respiratoria (rinitis, conjuntivitis o asma).

Con el fin de confirmar la sensibilización y ubicar correctamente a los participantes en cada grupo, se procedió a la realización del test ImmunoCAP™ Rapid Asthma/Rhinitis Adults (Pharmacia Diagnostics) a todos los individuos mayores de 16 años de ambos grupos. Como criterio de exclusión se consideraron la intención de cambio de vivienda antes de un año (tiempo de duración de estudio) y trabajos de construcción de importancia (eliminación o levantamiento de muros, ampliación de la vivienda) durante el tiempo de duración del estudio. De las 60 viviendas incluidas, 31 correspondieron a los domicilios de individuos del grupo SA que consultaban a diferentes centros sanitarios de Barcelona (Hospital Clínic de Barcelona, Hospital Vall D'Hebron, Clínica Teknon y Hospital de Sabadell). Las 29 restantes incluían las viviendas del grupo ND. La mayor parte de viviendas estudiadas se encontraban en la ciudad de Barcelona. 21 de las viviendas del grupo SA estaban ubicadas en municipios vecinos a Barcelona capital (14 en municipios del interior - Badía del Vallès, Cerdanyola del Vallès, Granollers, L'Hospitalet de Llobregat, Ripollet, Rubí, Sabadell, Sant Boi de Llobregat, Sant Fost de Capsentelles, Sentmenat y Terrassa; y 6 en municipios costeros - Badalona, Calella, Mongat, Premiá de Mar y Teià) y 2 del grupo ND (todos en municipios del interior - Cerdanyola del Vallès y Terrassa). De cada vivienda se estudió el aire y el material particulado depositado sobre las superficies (polvo) de la habitación del participante y el ambiente exterior a la vivienda en cuatro momentos del año (verano, otoño, invierno y primavera). Se anotaron la ubicación rural, semi-urbana o urbana de la vivienda, tipo de vivienda (casa o apartamento), piso en el que se ubica la vivienda, las características de la habitación (tipo de suelo, presencia de alfombras o moquetas, presencia de ventanas, ubicación interior o exterior), métodos de ventilación o calefacción, presencia de plantas de interior, presencia de humedad en paredes, nivel de tráfico vehicular y trabajos de construcción o demolición en el área circundante. También se indagó por la frecuencia y el tipo de aseo de la habitación. Para cada individuo del grupo SA se completó un cuestionario con los datos más relevantes consignados en sus historias clínicas (datos suministrados por los centros sanitarios participantes) que incluía el tipo de diagnóstico de alergia, clasificación clínica de la alergia, antecedentes personales y familiares. Adicionalmente para todos los participantes se completó un cuestionario relacionado con los diagnósticos previos de alergia (o sensibilización), tipos de síntomas relacionados a la alergia, frecuencia de los síntomas y los factores que favorecían la aparición de los síntomas.

Pruebas diagnósticas utilizadas con los participantes.

Para corroborar el diagnóstico de alergia a *Alternaria*, se procedió a realizar el test ImmunoCAP™ Rapid Asthma/Rhinitis Adults (Pharmacia Diagnostics) tanto a los miembros del grupo SA como el ND que eran mayores de 16 años. Se siguieron las indicaciones del fabricante y los resultados de todos los 10 alérgenos probados fueron consignados en la ficha de cada participante. Adicionalmente, se recolectó la información correspondiente a los diagnósticos y pruebas realizadas a todos los pacientes alérgicos accediendo a su historia clínica en el centro sanitario donde suelen consultar.

Estudio aerobiológico y del material particulado sedimentado sobre las superficies.

Análisis de muestras de aire - Para establecer la concentración y diversidad de taxones fúngicos en el interior y exterior de cada habitación se procedió a la toma de muestras de aire empleando dos métodos diferentes: uno para esporas totales y uno para hongos viables.

Muestreo de esporas totales en el exterior - Para establecer la concentración y taxones de *Pleosporales* en el aire exterior de las viviendas, se emplearon las muestras diarias de los colectores volumétricos tipo Hirst (Hirst 1952; Lanzoni VPPS 2000, Bologna, Italia) de la Xarxa Aerobiològica de Catalunya (XAC) que estuvieran más cercanos a cada vivienda. Se utilizaron los datos de las estaciones de Barcelona, Bellaterra y Manresa las cuales se encuentran instaladas entre los 15 a 25 metros sobre el nivel del suelo.

Tabla N° 3.1. Taxones de *Pleosporales* observados en la aerospora en diferentes estudios alrededor del mundo (métodos para el conteo e identificación de esporas).

Autor/es Año	Aira et al. 2013	Ataygul et al. 2007	Atkinson et al. 2006	Baxter et al. 2005*	Diez et al. 2006	Docampo et al. 2010	Erkara et al. 2008	Escudero et al. 2010	Gillum & Levettin 2008	Gioulekas et al. 2004	Gonianakis et al. 2005	Grinn-Gofroñ & Mika 2008	Hasnain et al. 2012	Hernández et al. 2012	Ibañez et al. 2001	Kaprzyk & Worek 2006	Li & Kendrick 1995**	Magyar et al. 2009	Oliveira et al. 2009b
País	España-Portugal	Turquía	Inglaterra	USA	España	España	Turquía	España	USA	Grecia	Grecia	Polonia	Pakistán	España	Chile	Polonia	Canadá	Italia	Portugal
Años de estudio N° y entorno áreas estudio	17 años 12 áreas urbanas	1 año. 1 área urbana	2 años. 1 área urbana	Muestreo único. 265 edificios urbanos	1 año. 1 área urbana	2 años Ambiente natural (caverna)	2 años. 4 áreas diferentes	3 años. 1 área rural	1 año 1 área rural de compost	15 años 1 área urbana	2 años. 1 área urbana	3 años 1 área urbana	1 año. área urbana	2 años. 1 área urbana.	1 año. 1 área urbana.	2 años 1 área urbana	2 años 15 residencias urbanas	3 años 1 área rural	3 años. 2 áreas rural y urbana
Outdoor/Indoor Método de muestreo	OD Hirst 22,3	OD Hirst 17,8	OD Hirst	OD ID Air O cell ~58 ~34 ^a ~54 ^b	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD Hirst	OD ID Samplair 74 74 V V	OD Hirst	OD Hirst
Alternaria	P-V	P-V-O	127,4		5,6	P-V	67,5 V	161	46,7 PVO		58,2 PVO					27,5 V-O	74 74 V V	7,7 O	7,8 P-V
Bipolaris					< 1								14,1 O-I 6,4 O						
Curvularia		< 1		< 1	< 1	37			9										
Drechslera		< 1	12,4	< 1	1,9	209			13							10,2 P-V-O			< 1
Epicoccum		2,2 PV	35,8	< 1	< 1	72			25	1,8 V-O					10 O	22,3 V-O	20 7	5,6 O	1,2 P-V
Helminthosporium/ Drechslera					< 1					6,6 P-V-O					2 V			4,6 O	
Pithomyces		< 1		< 1		65			6						< 1	1,4 VO			< 1
Phoma										< 1 V-O					1,3 IV				< 1
Stemphylium		< 1	16,6	< 1	< 1	77										1,6 V			
Ulocladium				< 1															
Delitschia						95													
Diapleelia																			
Didymella			343,3			8339													
Leptosphaeria			137,8		9,0	5415				5,9 P-V-O	14,3 P	295 V-O 172,4 P-V-O		18 I-P			547 182 V V	81,6 V	1,3 P-V
Leptosphaerulina					< 1	31					< 1								
Massarina						33										1,3 O			
Melanomma															< 1	< 1			
Paraphaeosphaeria					< 1										< 1			12 V	< 1
Phaeosphaeria						324													
Pleospora			3,6		9,3 P-O	655				2,8 P-O	< 1					8,6 I-P		6,2 V	
Sporormiella					< 1	10					< 1								
Venturia						734										3,4 P-V-O			1,1 P-V
Fragmentos hifas dematiáceas																			
Otras esporas						<i>Fusicladium</i>							<i>Comocliathris</i> <i>Exserohilum</i> <i>Tetraploa</i> <i>Sporidesmium</i> <i>Corynespora</i>						<i>Dendryphon</i> <i>Lophiostoma</i> <i>Rebentischia</i> <i>Sporidesmium</i> <i>Tetraploa</i>

* Air O-cell or Allergenco Sampl-Air MK-3 impaction sampler

** Samplair –MK1 y Samplair –MK2

^a Ambiente interior limpio

^b Ambiente interior con problemas de mohos

V-Verano, O-Otoño, I-Invierno, P-Primavera: Periodos con los mayores recuentos de la espora.

Los valores corresponden a la media diaria (esporas/m³). Cuando las concentraciones son inferiores a 1 esporas/m³ se presenta como <1.

Otras esporas incluye a otros taxones de *Pleosporales* que fueron observadas ocasionalmente en los estudios.

Tabla N° 3.2. Taxones de *Pleosporales* observados en la aerospora en diferentes estudios alrededor del mundo (métodos para el conteo e identificación de UFC).

Autor/es Año	Amigot et al. 2000	Aringoli et al. 2008	Awad et al. 2013	El-Morsy 2006	Filipello-Marchisio et al. 1997	Garret et al. 1997	Gómez de Ana et al. 2006	Hameed et al. 2009	Herbarth et al. 2003	Mota et al. 2008	Negrín et al. 2007	Pirry et al. 2007	Ren et al. 2001	Shelton et al. 2002	Torno-Molina et al. 2012	Zuraimi et al. 2009									
País	España	Argentina	Egipto	Egipto	Italia	Australia	España	Egipto	Alemania	USA	Argentina	Grecia	USA	USA	España	Singapur									
Años de estudio N° y entorno áreas estudio	Muestras únicas. 24 áreas semi-urbanas con cerdos	Invierno y verano. 75 hogares urbanos.	1 año 26 hogares urbanos y suburbanos	Muestra única 20 edificios en area urbana	1 año Area suburbana	4 estaciones climáticas 80 hogares urbanos	4 estaciones climáticas 22 hogares urbanos	1 año Area urbana	4 años Area urbana	4 estaciones climáticas 50 hogares urbanos	4 estaciones climáticas 5 áreas (1 rural y 4 urbana)	1 año 2 áreas urbanas	3 años 1000 hogares urbanos	Muestra única 1717 edificios urbanos	2 años Ambiente hospitalario urbano	Muestra única 104 ambientes escolares urbanos									
Outdoor/Indoor	OD	ID	OD	ID	OD	ID	OD	ID	OD	ID	OD	ID	OD	ID	OD	ID									
Método de muestreo	S.A.S.	RCS	TE10-160	STA-101	S.A.S. 1N	Andersen 1N	Microflow	Slit sampler	M.A.S. 100	TE 10-860 2N	SKC	Burkart portable	Burkart portable	Anderse 6N	Burkart portable	Andersen 6N									
Medio de cultivo	SAB	MEA	MEA	Czapek	PDA	MEA	MEA, RBM	RBM	DG18	MEA	DG18	PDA	MEA - DG18	MEA, RBM	SAB	RBA									
<i>Alternaria</i>	44 (16,6)	(8,7)	2,1 (2,2)* 8,4 (2,0)** P	1,3 (1,4)* 5,9 (2,4)** P	(9,3)	(15,5)	34,9 V	(0,4)	(0,5)	4,7 (9,7) VO	(9,0)	63,4	36,1	2,3	2,3	(6,7) I 34 (6,3)	8,9	20,3	53,8	(21,7)	(11,1)	1,0	1,3		
<i>Bipolaris</i>								(0,1)	< 1	< 1					2	3,1	(< 0,1) I		< 1						
<i>Curvularia</i>		(3,5)			(1,2)	(1,6)	< 1			< 1							(< 0,1) P	< 1	17,5	31,8			7,7	7,5	
<i>Drechslera</i>	4,0 (1,5)	(1,3)	< 1	(1,2)			< 1			< 1								< 1			(0,1)				
<i>Epicoccum</i>					(1,6)	(1,6)	79,5 V	(1,0)	(0,7)	< 1							(1,0) I	1,6 (0,3)		23,8	40,3	(0,35)	(0,2)		
<i>Phoma</i>						(0,8)	3,8 O	(0,2)	(0,2)						4,4	2,4			< 1			(0,4)	(0,2)		
<i>Pithomyces</i>																	(0,1) O		< 1						
<i>Stemphylium</i>	1 (0,4)								< 1								(0,1) I					(0,2)	(0,2)	5,2	9,3
<i>Ulocladium</i>	12 (4,5)		< 1	(2,9)					< 1						4	3,4		3,0 (0,6)	< 1	< 1		(0,1)			
Micelio estéril dematiáceo	5,0 (1,9)						21,0 VO															(0,6)			

* Area urbana

** Area suburbana

V-Verano, O-Otoño, I-Invierno, P-Primavera: Periodos con los mayores recuentos del taxón.

Los valores corresponden a la media de UFC/m³ y/o al porcentaje de cada taxón con respecto al total de UFC (cifras entre paréntesis). Cuando las concentraciones son inferiores a 1 UFC/m³ se presenta como <1.

El muestreador captador tipo Hirst opera continuamente, filtrando el aire a 10 litros/minuto, y atrapa las esporas de hongos en una superficie adherente siliconada sobre una cinta Melinex que un mecanismo de relojería hace avanzar a razón de 2 mm/hora. La cinta es luego cortada en fragmentos correspondientes a cada día, cada fragmento es colocado sobre una lámina portaobjetos de vidrio y coloreado empleando una solución de gelatina y fucsina como fijador y colorante de contraste. Se tomaron las preparaciones diarias de la XAC correspondientes a los días de muestreo y en ellas se localizó el área coincidente con el muestreo domiciliario (30 minutos), que fue analizado empleando, como es habitual, microscopía óptica con un aumento de 600X, identificando y contando las esporas siguiendo un barrido transversal continuo en la zona central de la franja horaria correspondiente. La identificación de las esporas se realizó empleando los atlas disponibles (**Ellis 1971, Basset et al. 1978, Käärik et al. 1983, Barnet & Hunter 1998, Smith 1990, de Hoog et al. 2000, Kaap's 2000, Lacey & West 2006, Silvera 2011**). Los taxones reconocidos fueron agrupados en *Pleosporales* meiospóricos (*Comoclathris* spp, *Cucurbitodithis* spp, *Delitschia* spp, *Diapleella* spp, *Didymella* spp, *Leptosphaerulina* spp, *Leptosphaeria* spp, *Lewia* spp, *Lophiostoma* spp, *Massarina* spp, *Melanomma* spp, *Paraphaeosphaeria* spp, *Phaeosphaeria* spp, *Pleospora* spp, *Rebentischia* spp, *Sporormiella* spp, Tipo-Venturia), *Pleosporales* mitospóricos (*Alternaria* spp, *Bipolaris* spp, *Corynespora* spp, *Curvularia* spp, *Dendryphion* spp, *Drechslera* spp, *Embellisia* spp, *Epicoccum* spp, *Exserohilum* spp, *Fusicladium* spp, *Helminthosporium* spp, *Pithomyces* spp, *Sporidesmium* spp, *Stemphylium* spp, *Tetraploa* spp, *Ulocladium* spp), además de ascosporas bicelulares y multicelulares pigmentadas (ya que pueden incluir algunas ascosporas de *Pleosporales* no identificadas) y fragmentos de hifas dematiáceas. Simultáneamente se realizó la identificación y conteo de los demás taxones (diferentes a *Pleosporales*) presentes en las muestras a excepción de las ascosporas transparentes, las ascosporas unicelulares pigmentadas y las basidiosporas hialinas. La sumatoria de los *Pleosporales* más los otros taxones observados en las muestras se denominó esporas totales (sumatoria de todas las esporas, los fragmentos de micelio no fueron tenidos en cuenta en este total).

Muestreo de hongos totales en el interior - Para el conteo e identificación de los hongos en el interior de las viviendas se utilizó un colector volumétrico Hirst portátil (VPPS 1000, Lanzoni s.r.l., Bologna, Italia) con un principio de funcionamiento equivalente en el anterior, pero las muestras son impactadas directamente sobre un portaobjetos untado con la solución siliconada. El periodo muestreado fueron 30 minutos y el análisis microscópico fue llevado a cabo de igual manera que para el método exterior. Para ambos ambientes los resultados son expresados en número de esporas por m³ de aire.

Muestreo de los hongos cultivables en interior y exterior - Se utilizó el muestreador microbiológico de aire Microflow® (Microflow 60 A.P. Buck, Inc. Orlando, Florida, USA), el cual consiste en un método volumétrico cuantitativo, que capta las esporas de hongos por impactación sobre una placa (Tipo Rodac®, Nunc, Roksilde site, Denmark) con un medio de cultivo que va a permitir el desarrollo de aquellas que son viables. Como medio de cultivo se empleó el agar extracto de malta por permitir una mejor esporulación de las colonias de hongos y el aislamiento de una mayor variedad de taxones. Para los ambientes interiores se analizaron 180 litros de aire, mientras que para los de exterior, para evitar la saturación de las placas, se tomaron 90 litros. Los muestreos fueron hechos a nivel respiratorio (aproximadamente 1,50 cm del suelo) ubicando el equipo en el centro de la habitación. En el método viable de exterior la muestra fue tomada en el sitio más próximo a la entrada del aire a la habitación. Después de la toma de muestras, las placas Rodac fueron retiradas del equipo e incubadas a 20 – 23°C en oscuridad (con periodos de dos horas diarias de exposición a luz blanca) durante 5 a 7 días para permitir el crecimiento y esporulación de las colonias. Cumplido este periodo se procedió con el conteo y posterior identificación de las colonias por sus características macroscópicas y por las de sus estructuras microscópicas, que se estudiaron después de montar preparaciones con celo y azul de lactofenol como líquido aclarante y de observarlas con el microscopio óptico y confirmar la identificación a nivel de género de todos los hongo recuperados. Para la identificación morfológica se utilizaron las descripciones y claves micóticas disponibles (ya referenciadas anteriormente). Los resultados del total de colonias y de cada género fue expresado en Unidades Formadoras de Colonias por metro cúbico de aire (UFC/m³). La sumatoria de todos los taxones recuperados se denominó UFC totales.

Análisis de material particulado sedimentado sobre superficies (polvo sedimentado) - El polvo sedimentado de dos superficies representativas en el interior y el exterior de las habitaciones fue estudiado de igual manera empleando un método para esporas totales y otro para hongos viables. Ya que estos métodos no aseguran la captura de todos los especímenes presentes en la muestra, no pueden ser considerados totalmente cuantitativos, sin embargo con el fin de hacer correlación con los hallazgos de los estudios del aire, los resultados son expresados en concentración por unidad de superficie (Esporas o UFC por centímetro cuadrado). *Para las esporas totales* se empleó el método de la cinta engomada, en el cual una porción de 1 x 1 centímetros de la cinta puesta directamente en contacto de la parte engomada con la superficie a estudiar es colocada sobre un portaobjetos al que se agrega solución de gelatina con fucsina para hacer una observación similar a la de las muestras de los colectores Hirst. Se cubre la preparación con un cubreobjetos y se procede con el análisis por microscopía de luz del total de la superficie de 1 cm² con un aumento de 600X. El total de esporas observadas es expresado como esporas/cm² y la identificación de los taxones es llevada a cabo siguiendo los mismos criterios empleados para el método de esporas totales en aire. Para el estudio de los *hongos viables* se empleó el método del aplicador, usando un bastoncillo de algodón esterilizado con el cual se barrió un área de 10 cm² de las superficies a estudiar, y luego se extendió sobre el medio de cultivo (agar extracto de malta) en una placa de Petri. Las placas con el medio de cultivo fueron procesadas de igual manera que las muestras de aire. Los resultados son expresados en UFC/cm².

Todas las muestras fueron tomadas por duplicado a excepción de las de esporas totales con el colector Hirst (muestras XAC) para las cuales solo se disponía de una muestra.

Determinación de niveles del alérgeno Alt a 1 en material particulado - Para la cuantificación del alérgeno Alt a 1, el polvo sedimentado sobre superficies del interior de las habitaciones en las estaciones de verano y primavera fue tomado empleando el sistema dustreamTM collector (Indoor Biotechnologies Inc, Charlottesville, VA, USA) unido a la boquilla de una bomba de vacío. Múltiples superficies, incluyendo alfombras y moquetas, fueron aspiradas hasta asegurar la cantidad de polvo necesario para la realización de la prueba. Se siguió el protocolo descrito por **Asturias et al. (2003)**, con algunas modificaciones. En resumen, 100 miligramos de polvo fueron tratados con PBS-Tween 20 0,05% (1:10 peso/volumen), sometidos a agitación fuerte por un periodo de 5 minutos y posteriormente dejados durante toda la noche (aproximadamente 12 - 14 horas) en una placa agitadora. Posteriormente se procedió a la centrifugación de las muestras a 6000 rpm por 5 minutos y el sobrenadante fue recuperado. Para la determinación de Alt a 1 se empleó el kit Alt a 1 ELISA (BIAL-Arístegui Laboratory, Bilbao, España) siguiendo las indicaciones del fabricante. Los resultados son expresados en microgramos de Alt a 1 por miligramo de polvo (µg/mg).

Variables ambientales - Para cada sitio de muestreo la temperatura y la humedad relativa, tanto del ambiente interior como del exterior, fue medida utilizando un registrador de temperatura y humedad relativa (Testo 175-H2 logger, Testo AG, Lenzkirch, Alemania). Las condiciones meteorológicas, como eventos de precipitación durante o previa al muestreo, viento y nubosidad, fueron proporcionados por el Servei Meteorològic de Catalunya (Meteocat).

Base de datos y análisis estadístico:

Se establecieron correlaciones entre las concentraciones de UFC, conidias y ascosporas de los *Pleosporales* seleccionados, y de fragmentos de hifas dematiáceas con las variables medioambientales incluyendo la temperatura horaria media, máxima y mínima; pluviosidad horaria (como mm y evento de lluvia) y la humedad relativa horaria media, máxima y mínima. Las correlaciones fueron obtenidas empleando el test de correlación de Spearman con niveles de significancia (α) de 0.001, 0.01 y 0.05.

La comparación de valores promedio en variables cuantitativas se efectuó mediante la prueba T de Student (para datos independientes), U de Mann-Whitney, (en el caso de una distribución no normal), o la prueba de Kruskal-Wallis (en los casos de comparaciones múltiples).

Se calculó la relación interior/externo (I/O) para deducir la posible ubicación del foco emisor de las esporas.

Para los análisis estadísticos se empleó el software SPSS v 17 (SPSS Inc., Chicago).

El software Excel fue utilizado para confección de los gráficos.

Resultados

Descripción de la población estudiada:

El 37% (22) de la población estudiada fueron hombres y el 63% (38) mujeres. El grupo SA correspondió al 51,7% (31), de los cuales el 51,6% (16) eran mujeres y el restante 48,4% (15) hombres. La distribución por edades se presenta en la figura N° 3.1. De los sujetos menores de 20 años dentro del grupo SA, 5 eran menores de 10 años (todos hombres). En el grupo ND (48,3%), el 27,6% (8) correspondió a hombres y 72,4% (21) a mujeres. En este grupo no se contó con ningún individuo menor de 20 años. Con respecto a los cuadros clínicos presentados por los individuos estudiados, el 65% (39) presentó alguna manifestación alérgica respiratoria. Dentro del grupo SA, el 96,8% (39) presentaba rinitis, en contraste con el 31% (9) del grupo ND. El asma afectó al 71% (22) de la población del grupo SA y a un solo individuo del grupo ND (3,5%). La conjuntivitis solo se presentó en 12 individuos del grupo SA (38,7%) y en 2 del grupo ND. En la tabla N° 3.4 se muestra el porcentaje de individuos que presentaron cada manifestación clínica o combinaciones de estas. La clasificación de los tipos de rinitis o asma que presentó la población estudiada según los criterios internacionales ARIA y GINA, respectivamente, se resumen en la tabla N° 3.5.

La prueba cutánea SPT consignada en las historias clínicas del grupo SA permite establecer que de los 27 pacientes (del total de 31) que disponían de estos resultados, 3 podían ser clasificados como monosensibilizados a *Alternaria alternata* (11,1%) y 24 como polisensibilizados (88,9%) a *Alternaria* y ácaros, algún tipo de polen o epitelios de animales. La prueba de *ImmunoCAP™ Rapid Asthma/Rhinitis Adult* (Farmacia Diagnostics) realizada a los individuos del grupo SA mayores de 18 años (18 pacientes) y a todos los individuos del grupo ND (29) permitió clasificar como monosensibilizados a *Alternaria* a 2 individuos del grupo SA (11,1%) y monosensibilizados a alérgenos de gramíneas o ácaros a otros dos individuos del grupo ND (28,6%). Por otra parte, el 88,9% del grupo SA estaban polisensibilizados frente a un 71,4% (5) del ND (ver tabla N° 3.6). 22 individuos del grupo ND no presentaron reacción positiva frente a los alérgenos probados. En las tablas N° 3.7 y N° 3.8 se presentan las distribuciones de la positividad a los alérgenos en los pacientes polisensibilizados por ambos métodos. 14 de los pacientes (45,2%) tenían adicionalmente títulos positivos de IgE específica contra *A. alternata* y solo 3 pacientes (9,7%) presentaban resultados positivos de la prueba de provocación nasal frente a alérgenos de *A. alternata*.

Características de las viviendas analizadas

La ubicación urbana, semi-urbana o rural de la vivienda se presenta en la figura N° 3.2. Para el grupo ND, el 100% de las viviendas (29) estuvieron ubicadas en ambientes urbanos, al igual que para el 67,7% (21 viviendas) del grupo SA. El 29% del grupo SA se ubicaron en áreas semi-urbanas y solo una vivienda (3,2%) en un ambiente completamente rural. El tráfico vehicular alrededor de las viviendas, en un alto porcentaje, 41,9 % (13) en el grupo SA y 41,4 % (12) en el grupo ND, era en zonas de alto tráfico, el 19,4 % (5) del grupo SA y el 44,8 % (13) del grupo ND en área de bajo tráfico y el 38,7 % (12) del grupo SA y 13,8 % (4) del grupo ND, en zonas sin tráfico vehicular.

Tabla N° 3.4. **Clasificación clínica de la población estudiada de acuerdo a los síntomas de alergia respiratoria.**

grupo	Diagnóstico de						
	Solo rinitis	Solo conjuntivitis	Solo asma	Rinitis-conjuntivitis	Rinitis-asma	Conjuntivitis-asma	Rinitis-conjuntivitis-asma
SA (n=31)	25,8 (8)	0	3,2 (1)	3,2 (1)	32,3 (10)	0	35,5 (11)
ND (n=29)	20,7 (6)	0	0	6,9 (2)	3,5 (1)	0	0

Se presentan los valores porcentuales y, entre paréntesis, los valores totales. La rinitis fue la presentación clínica más frecuente (68%, 39 individuos) entre la población estudiada, ya fuera exclusiva o en combinación con otros cuadros clínicos, seguido del asma que afectó al 42% (23 individuos). La conjuntivitis se presentó como cuadro único o asociado a otras manifestaciones clínicas de alergia respiratoria en el 23% (14 individuos) de la población estudiada.

Tabla N° 3.5. **Clasificación de la rinitis según criterios ARIA y del asma según criterios GINA para la población de estudio.**

Clasificación (ARIA/GINA)	Rinitis (Grupo SA) n=30	Rinitis (Grupo ND) n=9	Asma (Grupo SA) n=22	Asma (Grupo ND) n=1
1	16,7 (5)	44,4 (4)	40,9 (9)	100,0 (1)
2	16,7 (5)	0	36,4 (8)	0
3	23,3 (7)	55,6 (5)	9,1 (2)	0
4	43,3 (13)	0	13,6 (3)	0

Los datos se expresan en porcentaje. En paréntesis se anota el número de afectados por grupo.

Criterios ARIA (Bousquet et al. 2008a): 1) Rinitis intermitente leve; 2) Rinitis intermitente moderada-severa; 3) Rinitis persistente leve; 4) Rinitis persistente moderada-severa. **Criterios GINA (Masoli et al. 2004):** 1) Intermitente; 2) Persistente leve; 3) Persistente moderada; 4) Persistente severa. Se presentan los valores porcentuales y entre paréntesis los valores totales.

Tabla N° 3.6. **Tipo de sensibilización alérgica de la población estudiada.**

Prueba	Prueba cutánea SPT		ImmunoCAP rapid	
	Grupo SA n= 27	Grupo ND n=0	Grupo SA n=18	Grupo ND n=7
Clasificación				
Monosensibilizado	11,0 (3)	-	11,1 (2)	28,6 (2)
Polisensibilizado	88,9 (24)	-	88,9 (16)	71,4 (5)

Se presentan los valores porcentuales y, entre paréntesis, los valores totales.

Monosensibilizados: En el grupo SA a *A. alternata* positivos para el alérgeno Alt a 1; en el grupo ND a *A. alternata* positivos a un solo alérgeno diferente a Alt a 1. **Polisensibilizados:** En grupo SA prueba positiva para más de un alérgeno incluyendo Alt a 1; para el grupo ND, pruebas positivas para más de un alérgeno diferente a Alt a 1.

Tabla N° 3.7. **Distribución de los resultados a la prueba cutánea SPT y el ImmunoCAP Rapid en el grupo SA a *Alternaria alternata*.**

Prueba diagnóstica		Acaros	Epitelios de animales	Polen de gramíneas	Otros pólenes	<i>Alternaria alternata</i>
Prueba cutánea SPT n=26	N	13	19	14	13	26
	%	50,0	73,1	53,9	50,0	100,0
ImmunoCAP n=18	N	12	11	6	6	18
	%	66,7	61,1	33,3	33,3	100,0

Se presenta el número total de casos (N) y el porcentaje al que corresponde (%).

Acaros: *Dermatophagoides pteronissimus*, *Dermatophagoides farinae*. Epitelios de animales: Pelo y escamas de gatos (*Felis domesticus*), pelo de perro (*Canis familiaris*) y escamas de cucaracha (*Blattella germanica*). Polen de gramíneas: *Phleum sp.* Otros pólenes: *Parietaria judaica*, *Artemisia vulgaris*, *Salsola kali*, *Olea europaea*, *Platanus acerifolia*, *Cupressus arizonica*, *Betula verrucosa*. Se presentan los valores porcentuales y, entre paréntesis, los valores totales.

Tabla Nº 3.8. Distribución de los resultados a las pruebas ImmunoCAP Rapid en el grupo SA.

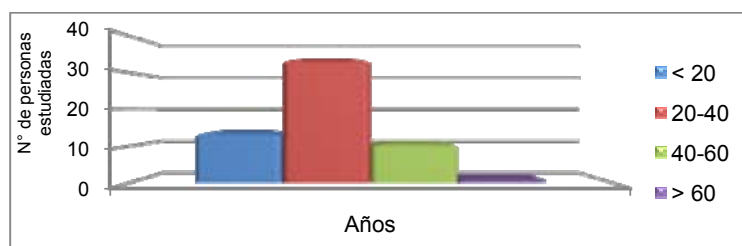
		Acaros	Epitelios de animales	Polen de gramíneas	Otros pólenes	<i>Alternaria alternata</i>
ImmunoCAP	N	5	1	4	3	0
n=29	%	17,2	3,5	13,8	10,3	0

Se presenta el número total de casos (N) y el porcentaje al que corresponde (%).

Acaros: *Dermatophagoides pteronissimus*. Epitelios de animales: Pelo y escamas de gatos (*Felis domesticus*), pelo de perro (*Canis familiaris*) y escamas de cucaracha (*Blatella germanica*). *Parietaria judaica*, *Artemisia vulgaris*, *Olea europaea*, *Betula verrucosa*. Se presentan los valores porcentuales y, entre paréntesis, los valores totales.

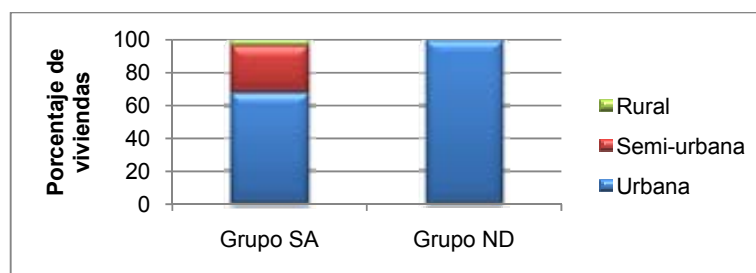
Para el grupo SA, el 51,6% (16) de las viviendas correspondieron a apartamentos frente al 96,6% (28) para el grupo ND. El porcentaje restante 48,4 (15) y 3,4 (1) correspondieron a casas. De estas viviendas (casas y apartamentos) el mayor porcentaje, 51,6 % en las del grupo SA y 48,3% del grupo ND, tenían suelo de madera. De igual manera un 45,2% y el 44,8 %, respectivamente, tenían suelo de cerámica y solo el 3,2 % de las casas del grupo SA y el 6,9% del grupo ND, tenían el suelo alfombrado. Con respecto a los métodos de ventilación de la habitación estudiada en cada vivienda, el mayor porcentaje, tanto en el grupo SA como del grupo ND, correspondió a la ventilación natural (ventanas abiertas) con el 54,8% (17) y el 69% (20), respectivamente; seguido por el uso de aire acondicionado en el 32,3% (10) de las viviendas del grupo SA frente al 31% (7) del grupo ND. Solo en el 12,9% (4) de las viviendas del grupo SA empleaban el ventilador como método de enfriamiento del aire.

Figura Nº 3.1. Distribución porcentual de la población estudiada por intervalos de edad.



De los 60 individuos incluidos en el estudio, 23% (todos del grupo SA), fueron menores de 20 años; 57% se encontraban en el rango de edad de 20 a 40 años; 18% entre 40 y 60 y solo un paciente (2%), perteneciente al grupo SA, tenía más de 60 años.

Figura Nº 3.2. Distribución porcentual de las viviendas estudiadas de acuerdo a la ubicación en el área metropolitana de Barcelona.



Todos los individuos pertenecientes al grupo ND residían en el área urbana, frente al 68% del grupo SA. Solo un individuo del grupo SA a *A. alternata* residía en un ambiente rural (3%) y el porcentaje restante (29%) tenían su vivienda en ambientes semi-urbanos, con abundantes zonas boscosas o cultivadas en los alrededores de la vivienda.

El aseo de las habitaciones se hacía habitualmente con periodicidad semanal en el 58,1% (18) de las casas del grupo SA y el 48,3 % (14) en las del grupo ND, seguido por el aseo cada dos semanas en el 3,3 % (1) y el 34,5 % (10) respectivamente. Frecuencias de aseo más cortas fueron comunes en las habitaciones del grupo SA, el 25,8 % (8) solían hacerla diariamente frente al 6,9 % (2) del grupo ND, y día por medio en el 12,9 % (4) frente al 10,4 % (3), respectivamente. Para limpiar el polvo de las superficies el método más empleado en la casa del grupo SA es el paño húmedo con agua en el 48,4 % de los casos (15), frente al 27,6% (8) en las casas del grupo ND, sin embargo en el grupo ND preferían la limpieza con productos comerciales desinfectantes en el 48,3 % (14) frente al 35,5 % (11)

en las casa del grupo SA. En un 16,1 % (5) de las casas del grupo SA y en el 24,1 % (7) del grupo ND la limpieza de las superficies se hacía con una toalla seca.

El 12,9 % (4) de las viviendas del grupo SA y el 10,3 % (3) del grupo ND presentaron, al menos durante una de las épocas de muestreo, problemas evidentes de humedad en las paredes.

Con respecto a la presencia de mascotas, el 32,3% del grupo SA tenían algún tipo de mascota, principalmente perros (60%) y gatos (10%), otros tenían pájaros o hámsteres (30%). Para el grupo ND el porcentaje de viviendas con mascotas solo fue del 24,1%, siendo los perros con un 42,9% y los gatos con el 57,1%, las únicas mascotas presentes.

Recuentos de esporas y unidades formadoras de colonias.

En total por el método Hirst se identificaron 33 esporas diferentes de *Pleosporales*, además de los fragmento de hifas dematiáceas y ascosporas bicelulares y multicelulares pigmentadas. Por el método Microflow se identificaron 44 taxones diferentes, 11 de los cuales correspondieron a géneros de *Pleosporales*, además de mohos dematiáceos no esporulados (micelio estéril). En las tablas N° 3.9 y 3.10 se presentan las sumatorias de los promedios de esporas totales y UFC totales y las sumatorias de los taxones de *Pleosporales*, ascosporas bi y multicelulares pigmentadas, y fragmentos de hifas dematiáceas/micelio estéril dematiáceo en el aire y las superficies del interior y el exterior de las habitaciones de la población estudiada.

Pleosporales correspondieron al 4,1% (5200 esporas) del total de esporas observadas en el aire interior, frente al 6,3% (14494 esporas) del total del exterior (este cálculo corresponde a la sumatoria de las esporas totales y total de esporas de *Pleosporales* del grupo SA y grupo ND), sin embargo es de resaltar que los recuentos de esporas de *Pleosporales* en el exterior superaron en tres veces a los del interior (I/O: 0,36). Con respecto a las superficies, las esporas de *Pleosporales* correspondieron al 14,9% (947 esporas) en las superficies de interior, mientras que en las superficies exteriores representaron el 28,3% (7529 esporas) del total de esporas identificadas. En este caso la diferencia fue aún mayor comparada con la encontrada en el aire, ya que la concentración de las esporas de *Pleosporales* de las superficies exteriores superó en 8 veces la del interior (I/O: 0,12). En lo relacionado a las UFC, las colonias de *Pleosporales* fueron el 5,1% (1402 UFC) del total de UFC del aire interior en contraste con el 9,4% (4798 UFC) del aire exterior. Las colonias de *Pleosporales* en el exterior superaron en más de 3 veces las del interior (I/O: 0,29). Las superficies del exterior tuvieron concentraciones mayores de colonias de *Pleosporales* con un 13,4% (363 UFC) del total de UFC, mientras en las del interior correspondieron al 7,9% (73 UFC). La diferencia en concentración entre ambos sitios fue menos que en los casos anteriores, ya que las superficies del exterior solo superó en 1,7 veces la del interior (I/O: 0,20).

Alternaria spp fue el género más comúnmente recuperado, tanto en el aire como en las superficies de los dos grupos estudiados y con ambas metodologías de muestreo. Para el interior de las viviendas del grupo SA, las esporas de *Alternaria* correspondieron al 44,4% (1291,1 conidias) del total mientras que en las de grupo ND fue el 56% (1192,8 conidias). Los recuentos de conidias de *Alternaria* en el exterior de las viviendas del grupo SA significaron el 43,4% (3758 conidias) y para el grupo ND fue el 47,8% (2788 conidias). Con respecto a las UFC, las colonias de *Alternaria* también representaron el taxón predominante en el aire interior, con un 91,1% (718 UFC) en el grupo SA y un 89,7% (551 UFC) en el grupo ND. Para los ambientes exteriores las UFC de *Alternaria* correspondieron al 90,2% (2548 UFC) del total de UFC en el grupo SA frente al 85,3% (1684 UFC) en el grupo ND. En el aire ambiente tanto del grupo SA como del grupo ND, las UFC de *Alternaria* en el exterior superaron en más de tres veces las del interior (I/O: 0,28 y 0,32, respectivamente). Del total de colonias de *Pleosporales* recuperadas de las superficies, *Alternaria* contribuyó con el 90,9% de las UFC en los ambientes interiores del grupo SA y con el 82,8% del grupo ND. En los ambientes exteriores las UFC de *Alternaria* constituyeron el 66% en el grupo SA y el 60,8% en el grupo ND. La diferencia exterior/interior fue cercana a 4 veces en las superficies del grupo SA (I/O: 0,25) y de 3,4 veces en las del grupo ND (I/O: 0,30).

Las ascosporas de *Leptosphaeria* spp fueron el segundo taxón más frecuentemente observado en el aire ambiente interior de ambos grupos. Representó el 20,3% (590 esporas) y el 11,4% (261 esporas) del total de esporas de *Pleosporales* del aire de las viviendas del grupo SA y ND, respectivamente. En el aire exterior el segundo taxón en importancia fue *Pleospora* spp representando el 11,2% (972 esporas) en los ambientes del grupo SA y solo el 5,5% (319 esporas) en los del grupo ND. Ningún taxón meiospórico de *Pleosporales* fue recuperado en el método para hongos viables. En contraste, el segundo taxón de *Pleosporales* observado en las superficies de ambos grupos fue *Epicoccum* spp que representó el 8,6% (81 esporas) de las esporas de *Pleosporales* en el interior frente al 13,6% (1023 esporas) en el exterior, y el 11,2% (8 UFC) de las colonias en el interior y 32,1% (117 UFC) en el exterior. Otras esporas de *Pleosporales* en orden decreciente en el aire interior de ambos grupos fueron Tipo-*Venturia* (5%), *Pleospora* (5%), *Epicoccum* (4,8), *Paraphaeosphaeria* (4%), *Stemphylium* (3,1%), *Lophiostoma* (3%), *Melanomma* (1,8%), *Drechslera* (1,7%), *Massarina* (1,6%), *Pithomyces* (1,2%), los demás taxones correspondieron a menos del 1% o estuvieron ausentes en el aire ambiente interior. Para el exterior las otras esporas que se presentaron en frecuencias mayores al 1% fueron *Leptosphaeria* (8,6%), *Epicoccum* (8,2%), Tipo-*Venturia* (6,7%), *Paraphaeosphaeria* (6,1%), *Stemphylium* (4,3%), *Massarina* (4,2%), *Drechslera* (2,9%), *Cucurbitodthis* (1,1%). Sobre las superficies del interior, además de esporas de *Alternaria* y *Epicoccum*, predominaron las esporas de *Pleospora* (5,5%), *Stemphylium* (4,5%), *Leptosphaeria* (3,6%), *Paraphaeosphaeria* (2,25), *Lophiostoma* (2,2%), *Pithomyces* (2,0%), *Drechslera* (1,9%), *Melanomma* (1,0%). En las superficies exteriores se encontraron *Stemphylium* (7,2%), *Pleospora* (6,2%), *Drechslera* (2,1%), *Leptosphaeria* (1,9%), Tipo-*Venturia* (1,7%), *Paraphaeosphaeria* (1,4%), *Lophiostoma* (1,2%), *Pithomyces* (1,2%) y *Bipolaris* (1,0%). Con respecto a las UFC, solo *Phoma* alcanzó un porcentaje por encima del 1,5% en el aire ambiente exterior, los taxones restantes no superaron el 0,2%. En el ambiente interior, además de *Alternaria* y *Epicoccum*, ningún otro taxón superó el 1%. En el caso de las superficies exteriores, solo *Phoma* (1,8%) y *Stemphylium* (1,3%), superaron las frecuencias de 1%.

Las correlaciones entre las mediciones de las variables ambientales en el interior y el exterior de las viviendas se muestran en la tabla N° 3.11. Los parámetros meteorológicos exteriores (temperatura y humedad relativa) tienen una influencia directa positiva sobre los interiores, es decir a mayor temperatura exterior aumenta la temperatura y la humedad relativa interior. El mismo comportamiento tiene la humedad relativa exterior, pero su efecto sobre la temperatura interior es menos marcado. En cambio, la temperatura exterior tiene un efecto contrario sobre la humedad relativa exterior, ya que su aumento genera la disminución de este último parámetro.

Las correlaciones entre los recuentos totales de esporas y UFC con las variables meteorológicas como temperatura (interior y exterior) y humedad relativa (interior y exterior) se presentan en la tabla N° 3.12. La temperatura interior se correlacionó positivamente con los recuentos de esporas totales en el aire y de esporas en las superficies interiores: sin embargo su efecto sobre las UFC totales en estos ambientes no fue significativo. La humedad relativa interior solo estuvo correlacionada positivamente con los recuentos de esporas totales en el aire. La temperatura y la humedad relativa exterior estuvieron correlacionadas positivamente con los recuentos de esporas y UFC en el aire y las superficies interiores al igual que en las UFC y esporas de las superficies exteriores, sin embargo solo tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre el total de esporas del aire en los ambientes exteriores, pero no sobre las UFC. La humedad relativa exterior se correlacionó negativamente con las esporas totales y las UFC, tanto en el aire interior como exterior, y tuvo el mismo efecto sobre las esporas totales de las superficies interiores.

El efecto de los parámetros ambientales (temperatura y humedad relativa) sobre cada uno de los taxones incluidos en el estudio fue medido aplicando el test de correlación de Spearman (tabla N° 3.13). La temperatura interior y la exterior se correlacionaron positiva y significativamente con las concentraciones en el interior de las viviendas de las ascosporas de *Pleospora* y las conidias de *Alternaria*, *Bipolaris* y *Epicoccum*, también con las ascosporas bi y multicelulares y los fragmentos de hifas dematiáceas/micelio dematiáceo estéril. De igual manera ambas temperaturas se correlacionaron en menor medida con las ascosporas de *Leptosphaeria*, *Drechslera* y *Pithomyces*. Específicamente, la temperatura interior también tuvo un efecto positivo pero menos significativo

sobre las ascosporas de *Leptosphaerulina* y Tipo-*Venturia*; y la temperatura exterior se correlacionó positiva y significativamente con las de *Leptosphaerulina*, *Paraphaeosphaeria*, Tipo-*Venturia* y *Stemphylium*. La humedad relativa interior se correlacionó positiva y de manera significativa con las ascosporas de *Leptosphaeria*, *Lophiostoma*, *Melanomma*, *Pleospora* y tipo-*Venturia*, además de con *Alternaria* y el grupo de las ascosporas multicelulares; también se correlacionó, pero con menor significancia, con *Leptosphaerulina*, *Massarina*, *Paraphaeosphaeria* y *Stemphylium* en el interior de las viviendas. La humedad relativa exterior solo tuvo un efecto positivo, pero con baja significancia estadística, con las ascosporas de *Melanomma* en el interior, sin embargo tuvo un efecto negativo significativo sobre *Alternaria* y *Sporidesmium*, y, en menor medida, sobre *Epicoccum*. Con respecto a los taxones recuperados en los ambientes extradomiciliarios, la temperatura tuvo un efecto positivo marcado sobre las ascosporas Tipo-*Venturia*, las conidias de *Alternaria*, *Bipolaris*, *Stemphylium* y las ascosporas bi y multicelulares; en menor medida tuvo efectos positivos sobre ascosporas de *Comoclathris*, *Cucurbitodhis*, *Leptosphaeria*, *Massarina*, *Melanomma* y sobre las conidias de *Fusicladium*. Por último, la humedad relativa exterior, tuvo un efecto negativo estadísticamente significativo sobre las concentraciones de *Alternaria*, *Bipolaris* y *Epicoccum* en los ambientes exteriores, y negativo pero con menor significancia con *Sporidesmium* y *Stemphylium*. También tuvo un efecto positivo pero con baja significancia sobre *Phoma* y *Tetraploa*.

Las diferencias estadísticamente significativas entre las viviendas de los grupos SA y ND en las diferentes estaciones climáticas dependiendo del método de muestreo, el ambiente interior o exterior y el entorno (aire o superficies) son presentadas en la tabla N° 3.14. Las conidias de *Alternaria* spp y *Epicoccum* spp, junto con el grupo de *Pleosporales* y los fragmentos de hifas septadas dematiáceas fueron los taxones que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las estaciones climáticas. Esta diferencia no fue tan común con los métodos para hongos viables.

Para identificar el reservorio potencial de los hongos se emplearon las comparaciones interior (indoor) y exterior (Outdoor) I/O. En el anexo N° 3.1 se presentan las comparaciones entre interior y exterior (relación I/O) para las esporas y UFC totales y para las esporas de cada uno de los taxones de *Pleosporales* identificados.

Con respecto al comportamiento de las esporas totales, los taxones de *Pleosporales* y los fragmentos de hifas dematiáceas en el interior de las viviendas del grupo SA (figura N° 3.3), se observa que los mayores recuentos de esporas totales en el aire se presentaron durante el verano (30160 esporas) y la primavera (24680), cayendo significativamente durante el invierno (9260). Las concentraciones de conidias de *Pleosporales* fueron igualmente mayores en el verano (689 conidias), disminuyendo en la primavera (432) y el otoño (211) y cayendo a los niveles más bajos durante el invierno (120). Estas concentraciones altas durante el verano y la primavera se presentaron a expensas de las conidias de *Alternaria* (figura N° 3.4b). Un comportamiento similar presentaron las ascosporas de *Pleosporales* (figura N° 3.4a) con una concentración de 495 ascosporas en verano, 446 en otoño, 86 en invierno y 265 en primavera. Los fragmentos de hifas dematiáceas fueron también más frecuentes durante el verano (2405). La figura N° 3.3 también permite observar el efecto positivo de la temperatura interior y exterior y la humedad relativa interior sobre los niveles de esporas y fragmentos de hifas y el efecto negativo de la humedad relativa exterior.

Para las conidias de *Alternaria* spp, *Epicoccum* spp, *Stemphylium* spp, *Drechslera* spp, *Pleospora* spp y las ascosporas tipo-*Venturia*, se puede apreciar un comportamiento estacional (referido previamente para los *Pleosporales* como grupo), con niveles altos durante el verano, cayendo los valores durante el otoño, alcanzando las concentraciones más bajas durante el invierno y subiendo nuevamente durante la primavera (figuras N° 3.4a y 3.4b). Sin embargo, la estación con los mayores niveles difiere entre los taxones, siendo superiores durante el verano para *Alternaria* spp y tipo-*Venturia*, y durante la primavera para los demás. Las ascosporas de *Leptosphaeria* spp, aunque tienen también un marcado comportamiento estacional, presentan concentraciones mayores durante el otoño.

Tabla N° 3.9. **Sumatorias de los promedios de esporas y fragmentos de hongos en el aire y las superficies de las habitaciones y el ambiente exterior de los grupos SA y ND (método Hirst).**

	Grupo SA						Grupo ND					
	Aire			Superficies			Aire			Superficies		
	Interior	Exterior	I/O	Interior	Exterior	I/O	Interior	Exterior	I/O	Interior	Exterior	I/O
Total esporas	76162,0	124611,0	0,61	2252,0	16613,0	0,14	51573,0	105328,0	0,49	4124,0	10037,0	0,41
Total esporas Pleosporales	2905,0	8663,0	0,34	265,0	4684,0	0,06	2294,0	5830,0	0,39	682,0	2845,0	0,24
Pleosporales mitospóricos	1632,0	4924,0	0,33	209,0	3881,0	0,05	1500,0	4105,0	0,37	564,0	2462,0	0,23
<i>Alternaria</i>	1291,1	3758,0	0,34	164,0	2684,5	0,06	1192,8	2787,9	0,43	429,6	1681,7	0,26
<i>Bipolaris</i>	4,8	0,0	4,80	0,5	53,0	0,01	14,4	4,8	3,00	4,0	24,5	0,16
<i>Corynespora</i>	0,0	0,0	0,00	0,0	1,0	0,00	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,00
<i>Curvularia</i>	14,4	0,0	14,4	1,0	8,0	0,13	24,0	9,6	2,50	3,0	4,0	0,75
<i>Dendryphon</i>	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,00	0,0	4,8	0,00	0,5	2,0	0,25
<i>Drechslera</i>	52,8	254,4	0,21	7,0	100,0	0,07	33,6	172,8	0,19	11,0	55,0	0,20
<i>Embellisia</i>	0,0	0,0	0,00	0,0	2,0	0,00	4,8	14,4	0,33	1,0	2,0	0,50
<i>Epicoccum</i>	144,2	487,0	0,30	18,0	599,5	0,03	105,6	702,3	0,15	63,0	423,5	0,15
<i>Exserohilum</i>	0,0	0,0	0,00	0,0	2,5	0,00	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,00
<i>Fusicladium</i>	0,0	24,0	0,00	0,0	7,0	0,00	0,0	19,2	0,00	4,0	3,0	1,33
<i>Helminthosporium</i>	0,0	12,0	0,00	0,5	8,5	0,06	0,0	14,4	0,00	2,0	8,5	0,24
<i>Pithomyces</i>	28,8	50,4	0,57	1,5	53,0	0,03	33,6	60,0	0,56	17,0	35,0	0,49
<i>Sporidesmium</i>	14,4	4,8	3,00	0,5	14,0	0,04	0,0	4,8	0,00	0,5	9,0	0,06
<i>Stemphylium</i>	81,6	333,7	0,24	15,5	335,5	0,05	81,6	285,6	0,29	27,0	207,1	0,13
<i>Tetraploa</i>	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,00	4,8	0,0	4,8	0,5	0,0	0,50
<i>Ulocladium</i>	0,0	0,0	0,00	0,0	12,5	0,00	4,8	24,0	0,20	1,0	7,0	0,14
Pleosporales meiospóricos	1273,2	3739,3	0,34	56,5	802,5	0,07	794,4	1725,6	0,46	118,0	382,5	0,31
<i>Comoclathris</i>	0,0	9,6	0,00	0,0	8,5	0,00	0,0	0,0	0,00	2,5	4,0	0,63
<i>Cucurbitodithis</i>	0,0	141,6	0,00	0,0	39,0	0,00	0,0	24,0	0,00	4,5	2,5	1,80
<i>Delitschia</i>	24,0	7,2	3,33	0,0	49,0	0,00	4,8	4,8	1,00	3,5	15,0	0,23
<i>Diapleella</i>	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,00	19,2	4,8	4,00	0,0	0,0	0,00
<i>Didymella</i>	0,0	0,0	0,00	0,0	12,0	0,00	33,6	0,0	0,00	0,0	8,5	0,00
<i>Leptosphaerulina</i>	14,4	4,8	3,00	2,5	8,0	0,31	0,0	38,4	0,00	4,5	3,5	1,29
<i>Leptosphaeria</i>	590,4	811,2	0,73	13,0	104,5	0,12	281,6	439,2	0,60	21,5	39,0	0,55
<i>Lewia</i>	9,6	62,4	0,15	1,5	6,0	0,25	14,4	33,6	0,43	1,5	3,5	0,43
<i>Lophiostoma</i>	53,6	2,4	22,33	9,0	67,0	0,13	100,8	0,0	100,8	11,5	21,5	0,53
<i>Massarina</i>	38,4	465,6	0,08	1,0	2,5	0,40	43,2	148,8	0,29	0,5	1,5	0,33
<i>Melanomma</i>	33,6	38,4	0,88	3,5	27,5	0,13	57,6	4,8	12,00	6,0	15,0	0,40
<i>Paraphaeosphaeria</i>	115,6	638,4	0,18	5,5	81,5	0,07	91,2	244,8	0,37	15,0	22,5	0,67
<i>Phaeosphaeria</i>	19,2	2,4	8,00	1,5	15,5	0,10	0,0	0,0	0,00	2,0	6,0	0,33
<i>Pleospora</i>	192,0	972,0	0,20	16,0	333,5	0,05	67,2	319,2	0,21	36,0	134,5	0,27
<i>Rebentischia</i>	4,8	50,4	0,10	0,0	5,0	0,00	9,6	4,8	2,00	2,0	3,0	0,67
<i>Sporormiella</i>	4,8	0,0	4,8	0,5	12,0	0,04	4,8	14,4	0,33	1,5	2,0	0,75
<i>Tipo Venturia</i>	172,8	532,9	0,32	2,5	31,0	0,08	86,4	444,0	0,19	5,5	100,5	0,05
Ascosporas bicelulares color	129,6	1116,0	0,12	7,5	78,0	0,10	115,2	720,0	0,16	17,0	48,0	0,35
Ascosporas multicelulares color	1281,2	5992,8	0,21	58,5	367,0	0,16	1022,4	3681,6	0,28	57,0	166,0	0,34
Fragmentos de hifas dematiáceas	4233,3	7202,6	0,59	244,0	2463,0	0,10	3472,8	6213,6	0,56	537,1	1606,7	0,33

Esporas totales* (Esp), esporas de taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hongos en el aire y en el material particulado sedimentado sobre las superficies. Los resultados corresponden a las sumatorias de los recuentos obtenidos durante todo el estudio. I/O: Relación interior/exterior. Valores superiores a 1 expresan la presencia de una fuente de contaminación en el interior de la vivienda para ese taxón en particular.

* No incluyen ascosporas y basidiosporas transparentes ni ascosporas unicelulares pigmentadas.

Tabla N° 3.10. **Sumatorias de los promedios de unidades formadoras de colonias en el aire y las superficies de las habitaciones y el ambiente exterior de viviendas de los grupos SA y ND.**

	grupo SA						grupo ND					
	Aire			Superficies			Aire			Superficies		
	Interior	Exterior	I/O	Interior	Exterior	I/O	Interior	Exterior	I/O	Interior	Exterior	I/O
Total esporas	15436,0	29269,0	0,53	454,0	1378,0	0,33	11984,0	21795,0	0,55	474,0	1321,0	0,36
Total Pleosporales	788,0	2825,0	0,28	33,0	179,0	0,18	614,0	1973,0	0,31	40,0	184,0	0,22
<i>Alternaria</i>	718,1	2548,0	0,28	30,0	118,2	0,25	550,8	1683,7	0,33	33,1	111,8	0,30
<i>Bipolaris</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,00	0,0	0,0	0,00	0,2	0,4	0,50
<i>Curvularia</i>	2,8	0,0	0,0	0,0	0,1	0,00	5,6	0,0	0,00	0,0	0,1	0,00
<i>Drechslera</i>	0,0	0,0	0,0	0,1	0,6	0,17	2,8	11,1	0,25	0,2	2,1	0,10
<i>Epicoccum</i>	50,4	238,7	0,21	2,5	57,0	0,04	49,6	228,6	0,22	5,7	59,6	0,10
<i>Exserohilum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,00
<i>Helminthosporium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,00	0,0	0,5	0,00
<i>Phoma</i>	5,6	22,2	0,25	0,1	2,2	0,05	2,8	50,0	0,06	0,4	4,2	0,10
<i>Pithomyces</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,00	0,0	0,1	0,00
<i>Stemphylium</i>	8,4	5,6	1,50	0,2	0,2	1,00	2,4	0,0	0,00	0,0	4,4	0,00
<i>Ulocladium</i>	2,8	11,1	0,25	0,0	0,1	0,00	0,0	0,0	0,00	0,2	0,7	0,29
Micelio estéril dematiáceo	70,0	216,5	0,32	1,75	3,4	0,51	76,8	210,6	0,36	1,5	24,0	0,06

UFC de hongos en el aire y micelio estéril dematiáceo en el material particulado sedimentado sobre las superficies. Los resultados corresponden a las sumatorias de los recuentos obtenidos durante todo el estudio.

I/O: Relación interior/exterior. Valores superiores a 1 expresan la presencia de una fuente de contaminación en el interior de la vivienda para ese taxón en particular.

Tabla N° 3.11. **Correlaciones entre variables ambientales durante el periodo de muestreo (Rho de Spearman).**

	Temperatura interior	Temperatura exterior	Humedad relativa interior	Humedad relativa exterior
Temperatura interior	-	0,850**	0,427**	0,046*
Temperatura exterior	-	-	0,414**	-0,158**
Humedad relativa interior	-	-	-	0,447**

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

n= 1885

Tabla N° 3.12. **Correlación entre recuentos totales de UFC, esporas o niveles de Alt a 1 y variables meteorológicas (Rho de Spearman).**

Método	Ambiente	Entorno	Temperatura interior	Temperatura exterior	Humedad relativa interior	Humedad relativa exterior	n
Microflow (UFC)	Interior	Aire	0,125	0,191**	0,030	-0,165*	236
Aplicador (UFC)	Interior	Superficie	-0,112	-0,133*	-0,037	0,012	237
Microflow (UFC)	Exterior	Aire	-	0,002	-	-0,298**	236
Aplicador (UFC)	Exterior	Superficie	-	-0,464**	-	-0,029**	237
Hirst (Esporas)	Interior	Aire	0,410**	0,492**	0,282**	-0,129*	236
Cello-tape (Esporas)	Interior	Superficie	0,328**	0,366**	0,100	-0,225**	234
Hirst (Esporas)	Exterior	Aire	-	0,366**	-	-0,225**	234
Cello-tape (Esporas)	Exterior	Superficie	-	0,237**	-	-0,025	235

** La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

** La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

n = Total de casos válidos para cada método.

Se resaltan (negrilla) los valores que presentan correlaciones estadísticamente significativas.

El test fue aplicado sobre las sumatorias de UFC o esporas para ambos métodos (viables y no viables) y los parámetros meteorológicos medidos al momento del muestreo.

El comportamiento de los taxones en los ambientes exteriores de las viviendas del grupo SA fue similar al observado en los ambientes interiores (aunque con niveles más altos), con una tendencia al aumento de las concentraciones que coincide con las temperaturas más altas y los niveles de humedad relativa más bajos (figura N° 3.5). Nuevamente los niveles y el patrón estacional de *Pleosporales* mitospóricos son condicionados principalmente por las concentraciones de conidias de *Alternaria* spp (76% de las conidias) con los mayores recuentos durante el verano (1850 conidias), cayendo en casi cuatro veces para el otoño y alcanzando los niveles inferiores (351) en el invierno, para luego subir significativamente su concentración (casi cinco veces) durante la primavera. Con respecto a las conidias de *Epicoccum* spp y *Stemphylium* spp, se observaron diferencias con este comportamiento estacional debido a que presentaron las mayores concentraciones durante el otoño (161) y la primavera (182), respectivamente (figura 3.6b). En contraste, los *Pleosporales* meiospóricos presentaron una biodiversidad mayor a la observada en el interior, con niveles significativos de *Leptosphaeria* spp, *Massarina* spp, *Paraphaeosphaeria* spp y *Pleospora* spp, principalmente durante el verano (figura 3.6a).

En las superficies de los ambientes interiores, los taxones observados fueron mayormente los mismos que los encontrados en suspensión en el aire y reflejaron el comportamiento estacional y la respuesta a los parámetros ambientales de la aerospora de interior, desapareciendo casi en su totalidad durante el invierno y con las mayores concentraciones durante el verano seguido de la primavera pero con diferencias hasta de 3 veces (figuras N° 3.7, 3.8a y 3.8b).

La predominancia de los taxones sobre las superficies en el exterior de las viviendas del grupo SA fue similar a la observada en el aire exterior, sobresaliendo las ascosporas de *Pleospora* spp y las conidias de *Alternaria* spp, *Epicoccum* spp y *Stemphylium* spp (figuras N° 3.10a y 3.10b). Sin embargo, las concentraciones en las superficies presentaron cambios importantes en el patrón estacional, ya que a pesar de que el verano sigue siendo la época con mayores recuentos tanto para

las esporas totales, grupos de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas, se presentó una disminución paulatina en cada estación, alcanzando los valores más bajos durante la primavera, a excepción de las ascosporas que presentaron la mayor caída de los niveles durante el invierno (figura N° 3.9).

Tabla N° 3.13. Efecto de la temperatura y la humedad relativa sobre las concentraciones de los taxones de *Pleosporales* en ambientes intra y extradomiciliarios de las viviendas de los SA y ND (Rho de Spearman).

Taxones	Ambientes interiores				Ambientes exteriores	
	Temperatura interior	Temperatura exterior	Humedad relativa interior	Humedad relativa exterior	Temperatura exterior	Humedad relativa exterior
<i>Comoclathris</i>	0,003	-0,004	0,028	0,013	0,051*	-0,004
<i>Cucurbitodithis</i>	0,026	0,028	0,027	-0,011	0,063*	-0,009
<i>Delitschia</i>	-0,036	-0,039	-0,026	0,008	-0,009	-0,007
<i>Diapleella</i>	-0,001	-0,017	0,042	0,032	-0,017	0,032
<i>Didymella</i>	0,028	0,029	0,046	0,032	-0,017	-0,026
<i>Leptosphaeria</i>	0,049*	0,064*	0,065**	0,012	0,062*	0,025
<i>Leptosphaerulina</i>	0,061*	0,071**	0,055*	0,022	0,036	0,028
<i>Lewia</i>	0,019	0,034	-0,009	-0,032	0,007	0,045
<i>Lophiostoma</i>	0,019	0,025	0,059*	0,032	-0,008	0,038
<i>Massarina</i>	-0,008	0,005	0,049*	0,008	0,057*	0,025
<i>Melanomma</i>	0,038	0,030	0,072**	0,050*	0,053*	0,021
<i>Paraphaeosphaeria</i>	0,047	0,056*	0,062*	0,020	0,014	0,044
<i>Phaeosphaeria</i>	0,034	0,029	0,027	-0,007	-0,013	-0,035
<i>Pleospora</i>	0,077**	0,070**	0,063*	0,002	0,030	0,032
<i>Rebentischia</i>	-0,040	-0,041	0,023	0,022	0,001	0,004
<i>Sporormiella</i>	-0,011	-0,008	0,016	0,011	0,026	0,011
Tipo-Venturia	0,059*	0,086**	0,063*	0,005	0,110**	0,006
<i>Alternaria</i>	0,223**	0,247**	0,113**	-0,064**	0,125**	-0,127**
<i>Bipolaris</i>	0,086**	0,086**	0,042	0,012	0,099**	-0,098**
<i>Corynespora</i>	-	-	-	-	-0,034	0,025
<i>Curvularia</i>	-0,023	-0,005	-0,003	-0,024	0,037	0,006
<i>Dedryphion</i>	0,034	0,029	0,032	0,012	0,021	0,002
<i>Drechslera</i>	0,050*	0,057*	0,045	-0,001	0,050*	0,039
<i>Embellisia</i>	-0,029	-0,029	-0,035	-0,023	-0,026	0,020
<i>Epicoccum</i>	0,079**	0,085**	0,025	-0,056*	-0,043	-0,111**
<i>Exserohilum</i>	-	-	-	-	-0,003	-0,025
<i>Fusicladium</i>	0,040**	0,038	0,021	0,004	0,050*	-0,044
<i>Helminthosporium</i>	-0,010	-0,021	-0,039	-0,030	-0,005**	-0,034
<i>Phoma</i>	-0,013	-0,023	0,015	0,011	0,018**	0,054*
<i>Pithomyces</i>	0,055*	0,059*	0,048	0,010	0,058*	0,009
<i>Sporidesmium</i>	0,008	0,024	-0,033	-0,069**	0,019	-0,051*
<i>Stemphylium</i>	0,083**	0,091**	0,049*	-0,014	0,087**	-0,057*
<i>Tetraploa</i>	0,020	-0,002	0,025	0,015	0,017	0,050*
<i>Ulocladium</i>	-0,020	-0,014	0,015	0,017	0,039	-0,043
Ascosporas bicelulares color	0,136**	0,146**	0,048	-0,045	0,081**	-0,048
Ascosporas multicelulares	0,151**	0,162**	0,106**	0,014	0,103**	0,002
Fragmentos de hifas dematiáceas/micelio estéril dematiáceo	0,115**	0,116**	0,038	-0,006	0,099**	-0,035

** . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

- . Ausencia del taxón.

n = 1631

Tabla N° 3.14. Prueba de Mann-Whitney para las concentraciones medias de los rangos de los totales de esporas y UFC, taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas o micelio dematiáceo estéril entre los ambientes del grupo SA y ND con respecto al método y al entorno.

	Esporas y fragmentos de hifas dematiáceas (métodos no viables)				UFC (métodos viables)			
	Aire interior	Superficie interior	Aire exterior	Superficie exterior	Aire interior	Superficie interior	Aire exterior	Superficie exterior
Verano	Sin diferencias estadísticamente e significativas	Sin diferencias estadísticamente significativas	<i>Cucurbitdothis</i> (3,88 - 0,17) HSD (114,24 - 45,38)	<i>Leptosphaerulina</i> (0,13 - 0) <i>Paraphaeosphaeria</i> (0,69 - 0,14) <i>Phaeosphaeria</i> (0,15 - 0) <i>Bipolaris</i> (1,23 - 0,38) <i>Helminthosporium</i> (0,10 - 0) <i>Sporidesmium</i> (0,15 - 0) <i>Stemphylium</i> (4 - 2,17) Ascosporas bicelulares (0,97 - 0,95) Ascosporas multicelulares (4,18 - 1,41)	Sin diferencias estadísticamente e significativas	UFC/cm ² (4,03 - 3,45) HSD (0,03 - 0)	UFC/m ³ (229,06 - 117,69)	<i>Bipolaris</i> (0,01 - 0) <i>Epicoccum</i> (0,07 - 0) HSD (0,06 - 0)
Otoño	<i>Alternaria</i> (4,82 - 8,6) HSD (22,91 - 43,5)	<i>Bipolaris</i> (0,08 - 0) <i>Epicoccum</i> (0,03 - 0,86) <i>Pithomyces</i> (0 - 0,21) HSD (1,07 - 4,86) Pleosporales totales (1,52 - 7,89)	UFC (911,13 - 1362,97) <i>Alternaria</i> (16,17 - 35,72) HSD (40,09 - 108,2)	<i>Comoclathris</i> (0,10 - 0) <i>Delitschia</i> (0,34 - 0,10) <i>Leptosphaeria</i> (1,18 - 0,1) <i>Lophiostoma</i> (1 - 0,28) <i>Paraphaeosphaeria</i> (0,92 - 0,17) <i>Pleospora</i> (2,13 - 0,62) <i>Sporormiella</i> (0,18 - 0) <i>Curvularia</i> (0,11 - 0) <i>Drechslera</i> (0,42 - 0,10)	<i>Epicoccum</i> (0 - 0,82)	UFC (4,23 - 5,59) <i>Epicoccum</i> (0,011 - 0) Pleosporales totales (0,16 - 0,41)	<i>Epicoccum</i> (1,21 - 6,04)	Sin diferencias estadísticamente significativas
Invierno	<i>Alternaria</i> (3,21 - 3,75)	UFC/cm ² (4,68 - 7,81) Ascosporas bicelulares (0,12 - 0)	Sin diferencias estadísticamente significativas	<i>Paraphaeosphaeria</i> (0,45 - 0,11) <i>Delitschia</i> (0,66 - 0,04) <i>Leptosphaeria</i> (0,52 - 0,04) <i>Lophiostoma</i> (0,45 - 0,11) <i>Drechslera</i> (0,16 - 0)	Sin diferencias estadísticamente e significativas	<i>Alternaria</i> (0,09 - 0,34)	Sin diferencias estadísticamente e significativas	Sin diferencias estadísticamente significativas
Primavera	Sin diferencias estadísticamente e significativas	<i>Stemphylium</i> (0,16 - 0)	UFC/m ³ (1304,17 - 906,41) <i>Fusicladium</i> (0,80 - 0) <i>Epicoccum</i> (3,62 - 1,56) HSD (55,94 - 30,59) Pleosporales totales (84,40 - 43,19)	<i>Delitschia</i> (0,33 - 0,04) <i>Leptosphaeria</i> (0,64 - 0,25) <i>Lophiostoma</i> (0,22 - 0) <i>Paraphaeosphaeria</i> (0,53 - 0,14) <i>Bipolaris</i> (1,05 - 0,32)	Sin diferencias estadísticamente e significativas	<i>Alternaria</i> (0,25 - 0) <i>Epicoccum</i> (0,02 - 0)	<i>Alternaria</i> (23,74 - 12,57) Pleosporales totales (29,93 - 14,75)	<i>Epicoccum</i> (0,37 - 0,21)

Se presentan los taxones para los cuales se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sus medias para cada estación climática. Entre paréntesis se anota la media de esporas o UFC para las viviendas del grupo SA y del grupo ND

Tabla N° 3.15. Cuantificación de los niveles de la proteína Alt a 1 en muestras de polvos sedimentado sobre las superficies interiores de las viviendas en Barcelona.

		Viviendas grupo SA	Viviendas grupo ND
Niveles de Alt a 1		32,3%	10,3%
Ambiente	Urbano	80%	100%
	Semiurbano	20%	0
	Rural	0	0
Concentración promedio:		5,6 ng/g (0,5 - 16,9; ds 6,4)	0,5 ng/g (ds 0).
Estación con niveles detectables	Verano	60%	100%
	Primavera	0%	0%
	Ambos	40%	0%

Los datos se presentan en porcentaje de todas de viviendas por grupo. Grupo SA n=31, grupo ND n=29.

Los recuentos de esporas totales, taxones de *Pleosporales* mitospóricos y fragmentos de hifas dematiáceas en el aire interior de las viviendas del grupo ND conservan el patrón estacional y de respuesta a los parámetros medioambientales observado en los ambientes del grupo SA, sin

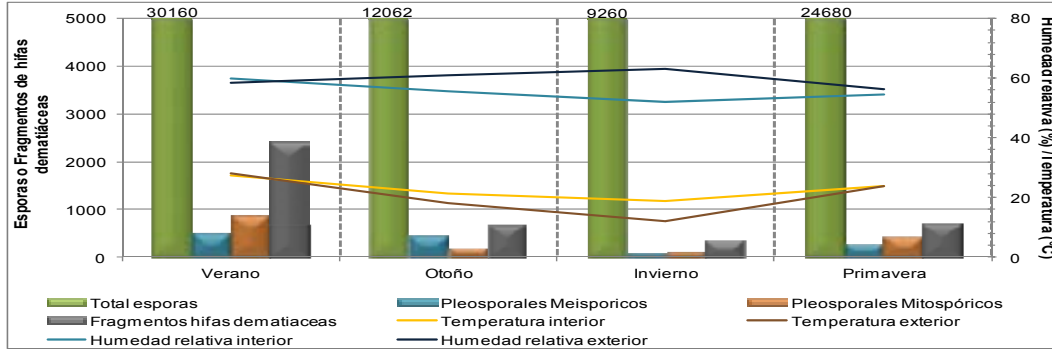
embargo, las concentraciones para varios de estos presentan cambio significativos. Un caso es el de las concentraciones de esporas totales, que presentan valores casi de la mitad de aquellos encontrados durante el verano (15163 vs 30160) y la primavera (15115 vs 24680), pero que durante el otoño muestran un ligero aumento (incluyendo un aumento de las hifas dematiáceas) y en el invierno una disminución no tan marcada (figura N° 3.11). Los *Pleosporales* mitospóricos mantuvieron diversidad y concentraciones similares, en contraste con los taxones de *Pleosporales* meiospóricos que presentaron cambios en su concentración y patrón estacional (figura N° 3.12b). Las ascosporas presentaron niveles de casi la mitad de los observados en los interiores del grupo SA, además se observó modificación de comportamiento estacional en *Pleospora* spp (que presentó los niveles más altos durante el invierno, 43 ascosporas) y tipo-*Venturia* (que mantuvo niveles similares en verano, otoño y primavera y estuvieron ausentes del aire durante el invierno) (figura N° 3.12a).

Los niveles del alérgeno Alt a 1 fueron medidos durante el verano y la primavera en el polvo depositado sobre las superficies en ambientes interiores en ambos grupos. Solo en 10 viviendas del grupo SA y en 3 del grupo ND se encontraron niveles detectables. En 4 casas del grupo SA se presentaron niveles durante las dos estaciones, los cuales permanecían estables o tendían a disminuir de verano a la siguiente primavera, solo en un caso del grupo SA se observó un incremento de significativo (alrededor de 40 veces) entre estaciones. En la tabla N° 3.15. se presentan los hallazgos más relevantes de esta medición.

El comportamiento estacional en el aire exterior de las viviendas del grupo ND presenta un cambio substancial con respecto al observado en los ambientes del grupo SA, ya que los niveles durante el otoño fueron los más altos durante el periodo de estudio (verano en el caso del grupo SA), y valores muy inferiores en la primavera. Las concentraciones de esporas totales en los ambientes exteriores del grupo ND fueron menores durante el periodo de verano (29638 vs 42740) y primavera (24473 vs 39125) comparados con los del grupo SA, mientras durante el otoño los niveles fueron muy superiores (39527 vs 28244) y en invierno ligeramente superiores (14502 vs 11690) (figura N° 3.13). Esta diferencia también se ve reflejada en las concentraciones de *Pleosporales* meiospóricos y mitospóricos que fueron mucho menores durante el verano y la primavera. Sin embargo, durante el otoño y el invierno las ascosporas mostraron valores similares entre los ambientes exteriores de ambos grupos, en contraste las conidias tuvieron concentraciones mayores durante estas estaciones. Los fragmentos de hifas dematiáceas también presentaron concentraciones inferiores durante el verano y la primavera en los ambientes exteriores del grupo ND comparado con los del grupo SA, con excepción de los niveles durante el otoño que fueron mayores y en el invierno que manejaron concentraciones similares. Con respecto a taxones de *Pleosporales* individuales también se observaron diferencias en cuanto al patrón estacional y las concentraciones de esporas en cada estación al compararlos con los ambientes exteriores del grupo SA (figuras N° 3.14a y 3.14b). *Leptosphaeria* spp presentó el patrón usual de mayores concentraciones durante el verano, con disminución en el otoño, niveles más bajos en el invierno, para aumentar nuevamente para la primavera, no obstante, se observan diferencias con respecto al mismo ambiente en el grupo SA ya que las concentraciones en verano y primavera fueron inferiores comparadas con dicho ambiente, pero durante el otoño fueron mayores y similares en el invierno. Para *Paraphaeosphaeria* spp y *Pleospora*, también se observaron cambios en el patrón estacional, presentándose niveles muy inferiores en primavera (por debajo de los observados en invierno), pero comparados con los del grupo SA todas las concentraciones fueron menores, a excepción de las de invierno que fueron similares. Las ascosporas tipo-*Venturia* tuvieron un patrón estacional y concentraciones similares en ambos ambientes, exceptuando las de otoño que fueron inferiores. Para las conidias de *Pleosporales* el patrón estacional y las concentraciones también fueron diferentes a los del ambiente exterior del grupo SA. *Alternaria* spp presentó las mayores concentraciones durante el otoño (verano en el caso del grupo SA) cayendo a la mitad durante el invierno y permaneciendo estable a través de la primavera, para luego incrementar nuevamente en el verano. Comparando las concentraciones, verano y primavera presentaron valores significativamente inferiores a los del grupo SA, pero fueron superiores en otoño e invierno. En el caso de *Epicoccum* spp las mayores concentraciones fueron en el otoño, coincidiendo con el patrón observado en el grupo SA, sin embargo los niveles fueron tres veces mayores en el grupo ND, durante las otras estaciones los niveles fueron similares entre los dos

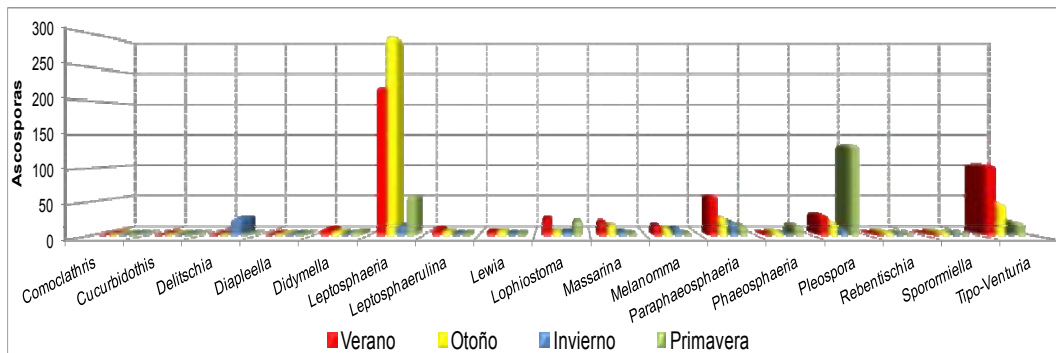
grupos. Para las conidias de *Epicoccum* spp el cambio es significativo, ya que estas prácticamente están ausentes durante todo el año en estos ambientes.

Figura N° 3.3. Distribución de los recuentos totales de esporas, taxones de *Pleosporales* e hifas dematiáceas en el aire interior de las viviendas del grupo SA. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



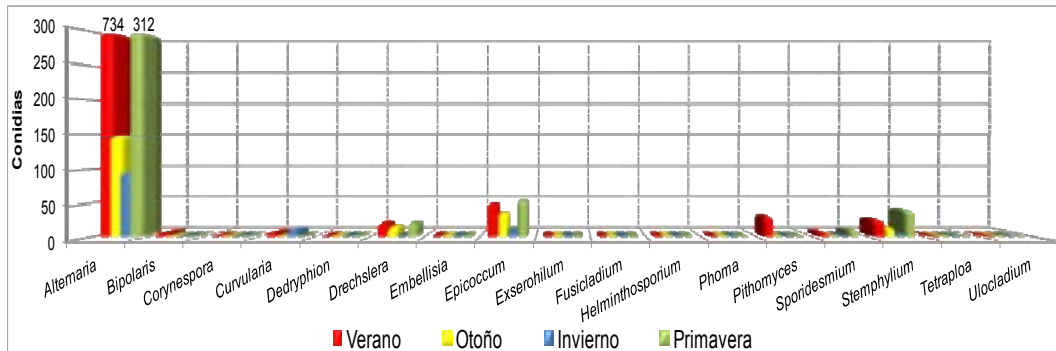
Las barras representan la sumatoria de los totales de esporas, grupos de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.4a. Distribución de las sumatorias de los recuentos de ascosporas de *Pleosporales* en el aire interior de las viviendas del grupo SA en las cuatro estaciones climáticas.



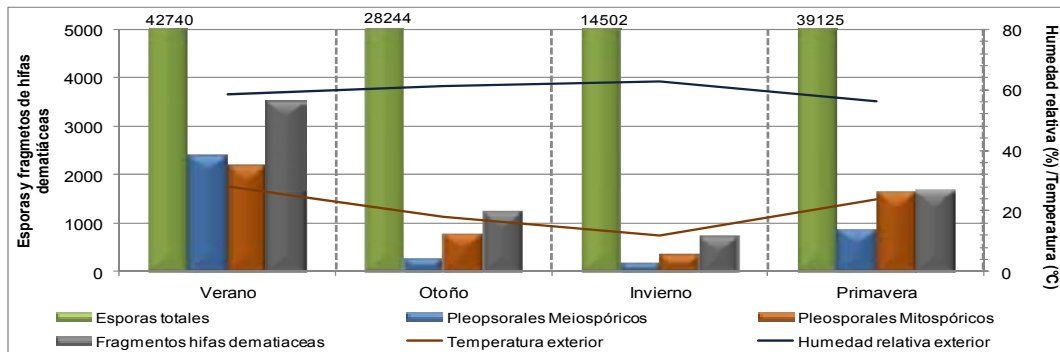
Las barras representan la sumatoria de las ascosporas para cada estación climática.

Figura N° 3.4b. Distribución de las sumatorias de los recuentos de conidias de *Pleosporales* en el aire interior de las habitaciones del grupo SA en las cuatro estaciones climáticas.



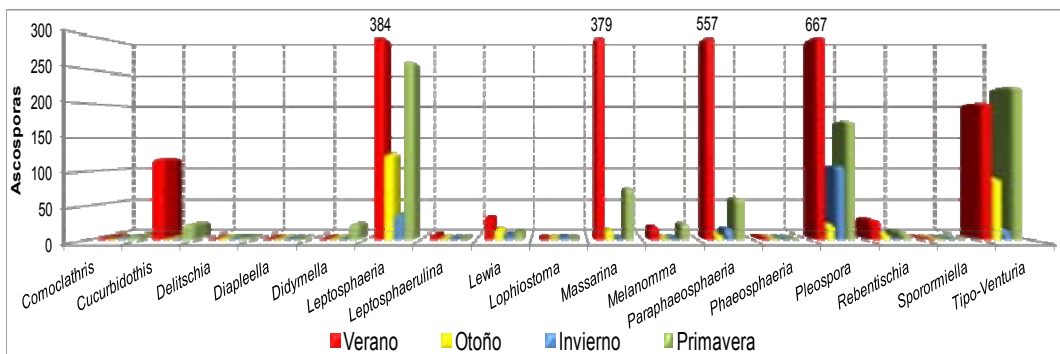
Las barras representan la sumatoria de las conidias para cada estación climática. Para los valores que exceden las 300 conidias se anota la concentración en el extremo superior.

Figura Nº 3.5. Distribución de los recuentos totales de esporas, taxones de *Pleosporales* e hifas dematiáceas en el aire exterior de las viviendas del grupo SA. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



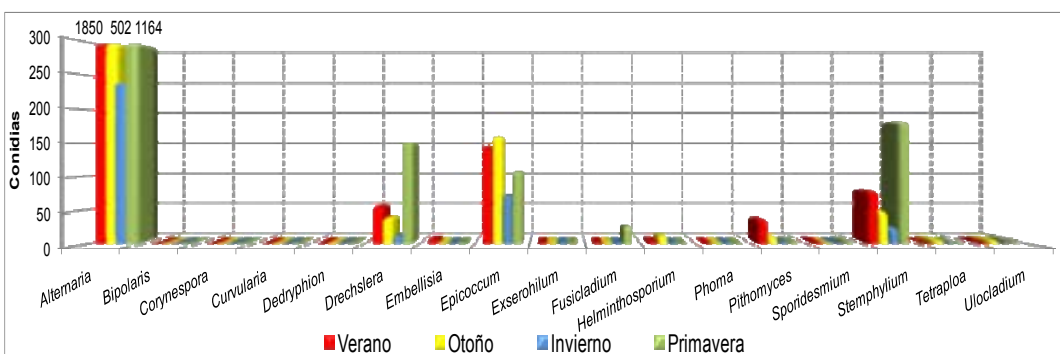
Las barras representan la sumatoria de los totales de esporas, grupos de taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura Nº 3.6a. Distribución de las sumatorias de los recuentos de ascosporas de *Pleosporales* en el aire exterior de las viviendas del grupo SA en las cuatro estaciones climáticas.



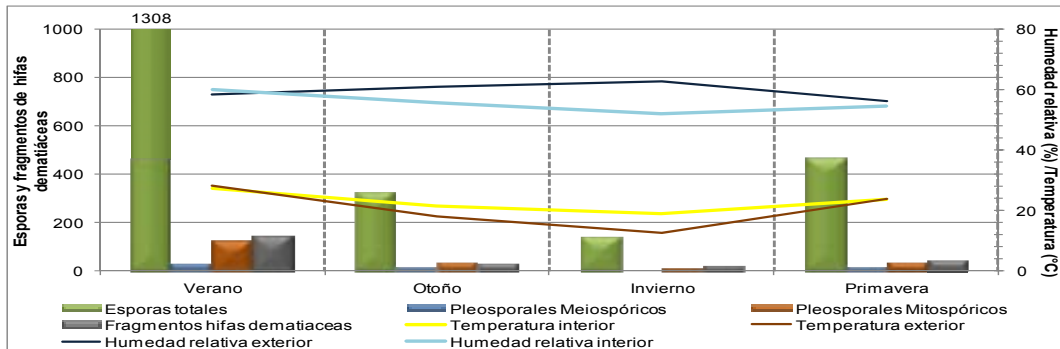
Las barras representan la sumatoria de las ascosporas para cada estación climática. Para los valores que exceden las 300 ascosporas se anota la concentración en el extremo superior.

Figura Nº 3.6b. Distribución de las sumatorias de los recuentos de conidias de *Pleosporales* en el aire exterior de las viviendas del grupo SA en las cuatro estaciones climáticas.



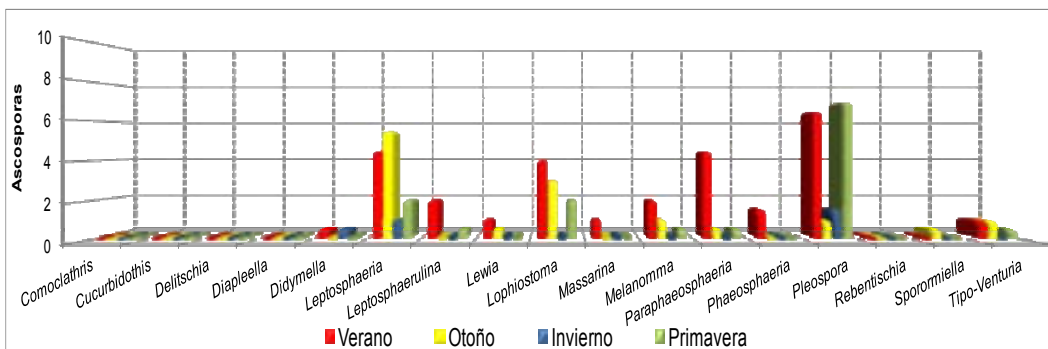
Las barras representan la sumatoria de las conidias para cada estación climática. Para los valores que exceden las 300 conidias se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.7. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de esporas, taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas en las superficies en el interior de las viviendas del grupo SA. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



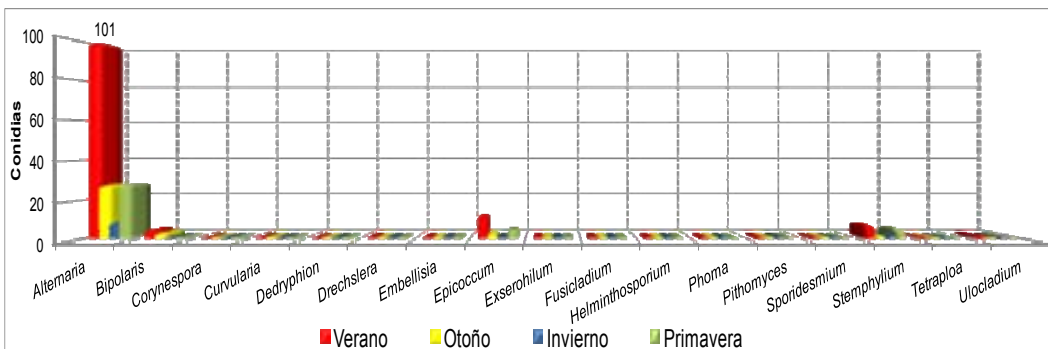
Las barras representan la sumatoria de los totales de esporas, grupos de taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.8a. Distribución de las sumatorias de los recuentos de ascosporas de *Pleosporales* en las superficies en el interior de las habitaciones del grupo SA.



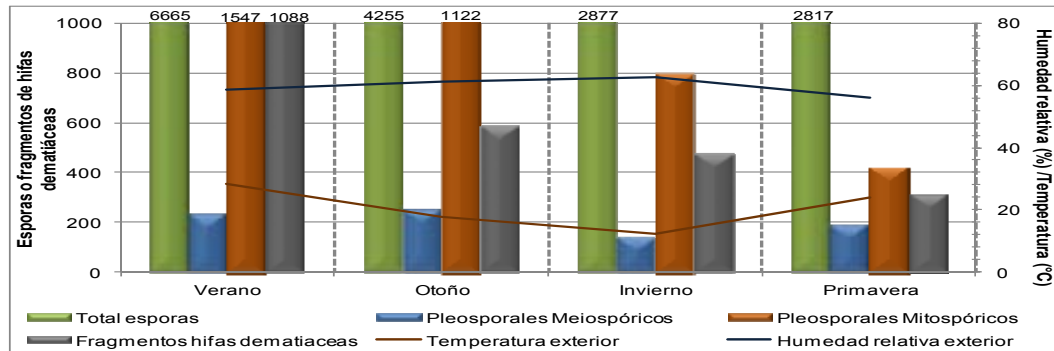
Las barras representan la sumatoria de las ascosporas para cada estación climática.

Figura N° 3.8b. Distribución de las sumatorias de los recuentos de conidias de *Pleosporales* en las superficies en el interior de las habitaciones del grupo SA en las cuatro estaciones climáticas.



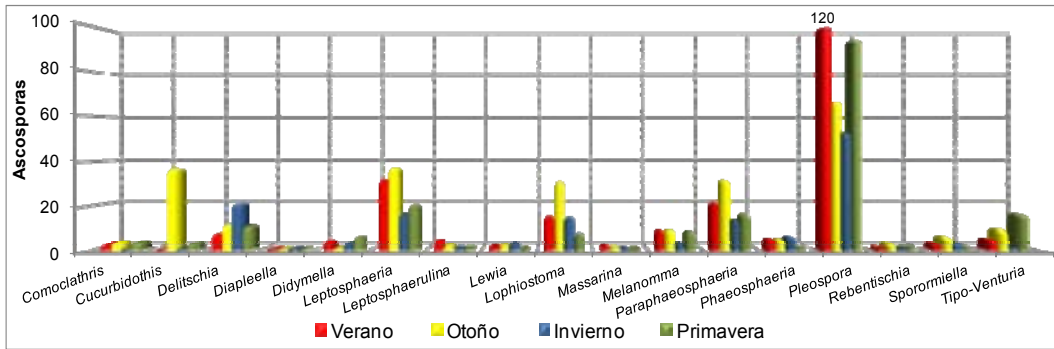
Las barras representan la sumatoria de las conidias para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 conidias se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.9. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de esporas, taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas en las superficies en el exterior de las viviendas del grupo SA. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



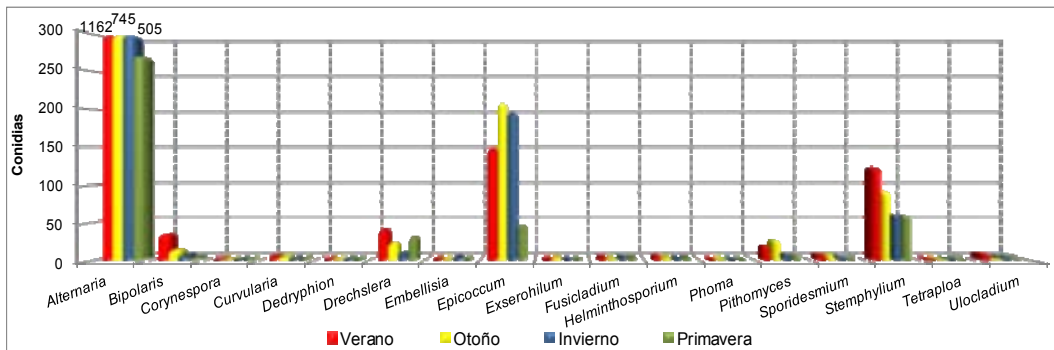
Las barras representan la sumatoria de los totales de esporas, grupos de taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos. Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.10a. Distribución de las sumatorias de los recuentos de ascosporas de *Pleosporales* en las superficies del exterior de las viviendas del grupo SA en las cuatro estaciones climáticas.



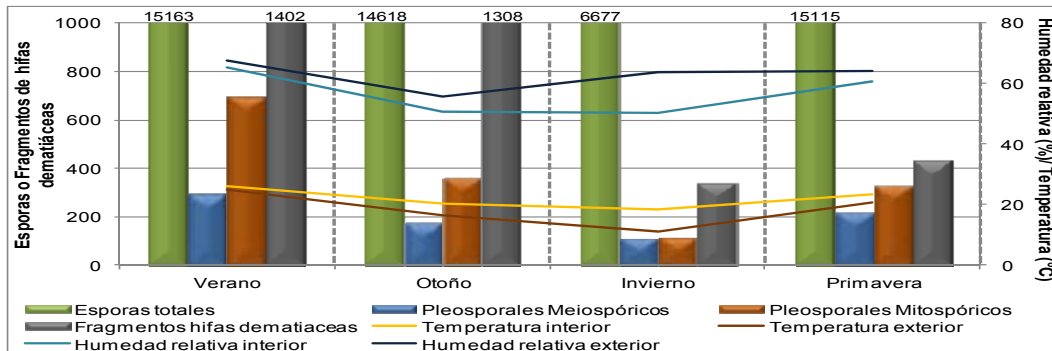
Las barras representan la sumatoria de las ascosporas para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 esporas se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.10b. Distribución de las sumatorias de los recuentos de conidias de *Pleosporales* en las superficies del exterior de las viviendas del grupo SA en las cuatro estaciones climáticas.



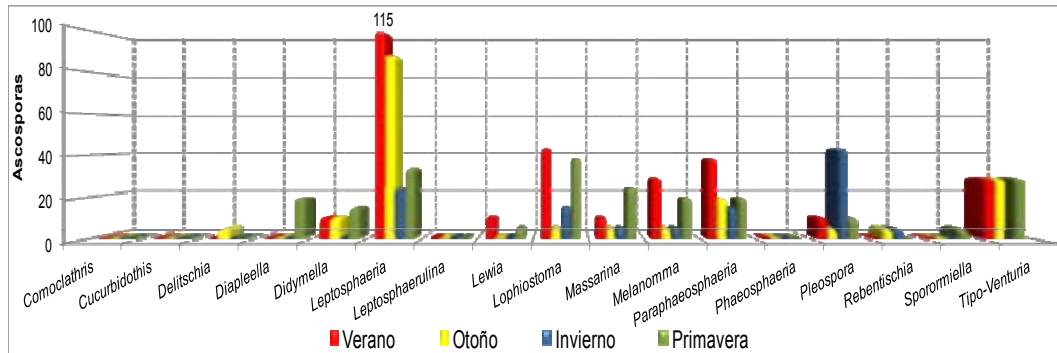
Las barras representan la sumatoria de las conidias para cada estación climática. Para los valores que exceden las 300 conidias se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.11. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de esporas, taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas en el aire interior de las viviendas del grupo ND. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



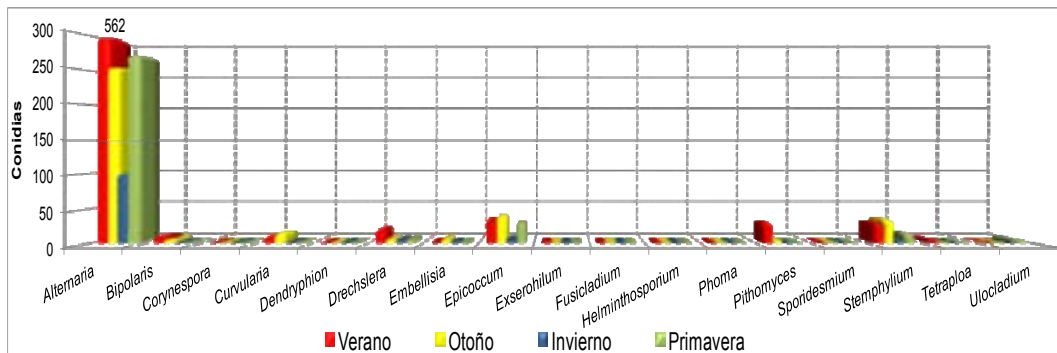
Las barras representan la sumatoria de los totales de esporas, grupos de taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figuras N° 3.12a. Distribución de las sumatorias de los recuentos de ascosporas de *Pleosporales* en el aire interior de las viviendas del grupo ND, en las cuatro estaciones climáticas.



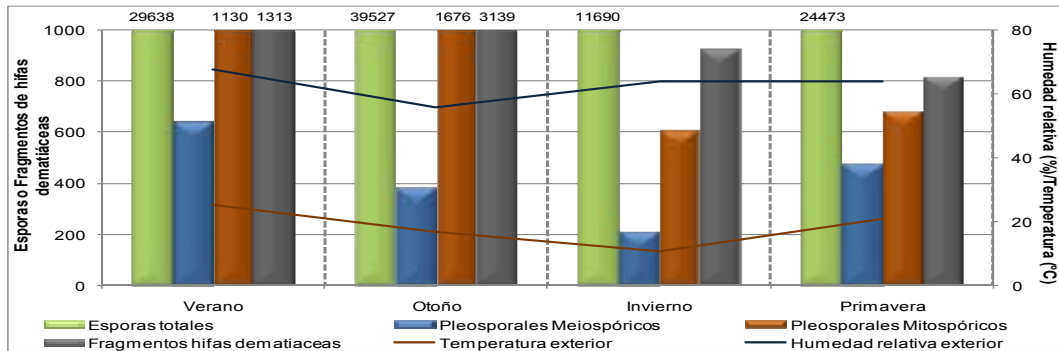
Las barras representan la sumatoria de las ascosporas para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 esporas se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.12b. Distribución de las sumatorias de los recuentos de conidias de *Pleosporales* en el aire interior de las viviendas del grupo ND, en las cuatro estaciones climáticas.



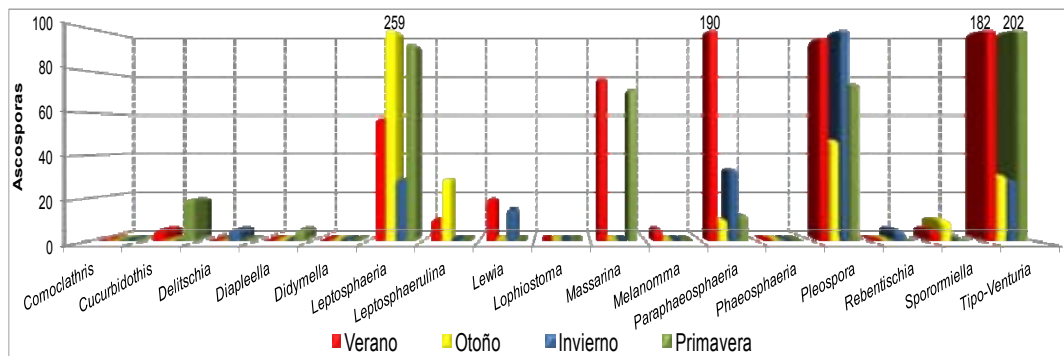
Las barras representan la sumatoria de las conidias para cada estación climática. Para los valores que exceden las 300 conidias se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.13. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de esporas, taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas en el aire exterior de las viviendas del grupo ND. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



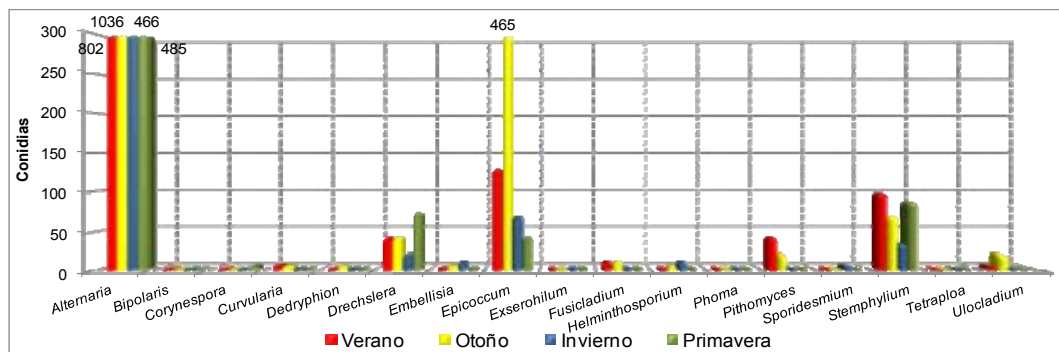
Las barras representan la sumatoria de los totales de esporas, grupos de taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos. Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.14a. Distribución de las sumatorias de los recuentos de ascosporas de *Pleosporales* en el aire exterior de las viviendas del grupo ND.



Las barras representan la sumatoria de las ascosporas para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 esporas se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.14b. Distribución de las sumatorias de los recuentos de conidias de *Pleosporales* en el aire exterior de las viviendas del grupo ND.



Las barras representan la sumatoria de las conidias para cada estación climática. Para los valores que exceden las 300 conidias se anota la concentración en el extremo superior.

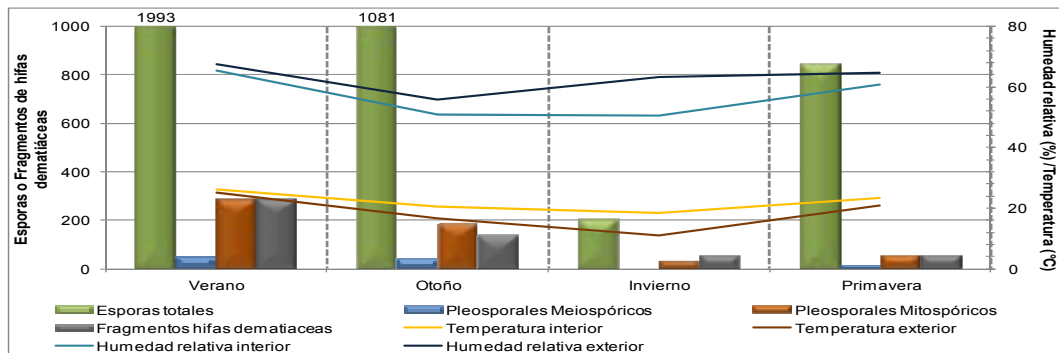
Las superficies interiores en el grupo ND mostraron prácticamente los mismos taxones observados en las superficies del grupo SA pero en concentraciones mayores. El patrón estacional para el total de esporas fue similar entre los dos ambientes, aunque durante el otoño los valores fueron

significativamente mayores (pero menores que en el verano). Entre las esporas de *Pleosporales*, las ascosporas presentaron unos niveles y un comportamiento estacional parecidos a los del grupo SA, mientras las conidias de *Pleosporales* presentaron concentraciones mucho mayores durante el verano, ligeramente superiores en el otoño, pero similares en el invierno y la primavera. Este mismo comportamiento se presentó con los fragmentos de hifas dematiáceas (figura N° 3.15). Para los taxones individuales, se resalta entre las ascosporas de *Pleosporales* la presencia de valores ligeramente superiores durante el verano y el otoño, pero prácticamente iguales en invierno y primavera (figura 3.16a). Para las conidias de *Alternaria* spp y *Epicoccum* spp se observó el mismo patrón estacional con niveles altos durante el verano y el otoño, más bajos en invierno y un ascenso leve en primavera, pero sus concentraciones fueron mayores a las observadas en las superficies interiores del grupo SA (figura 3.16b).

En la figura N° 3.17 se presenta la distribución de la sumatoria de los recuentos totales de esporas, taxones agrupados de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas (método cello-tape) en cada estación climática y según la temperatura y la humedad relativa en las superficies en el exterior de las viviendas del grupo ND. El patrón estacional de valores superiores durante el verano, con disminución paulatina durante el otoño y el invierno, llegando a los niveles menores para la primavera es conservado para los recuentos de esporas totales, esporas de *Pleosporales* y los fragmentos de hifas dematiáceas, sin embargo las concentraciones fueron cercanas a la mitad de las encontradas en estas mismas superficies en el grupo SA. Las ascosporas de *Leptosphaeria* spp, *Pleospora* spp y *Paraphaeosphaeria* spp presentaron concentraciones más bajas en estos ambientes, mientras las del Tipo-*Venturia* fueron similares en verano, otoño e invierno, pero muy superiores para la primavera (figura 3.18a). De igual manera las conidias de *Alternaria* spp y *Epicoccum* spp mostraron el mismo comportamiento estacional visto en el grupo SA, pero con concentraciones muy inferiores (figura 3.18b).

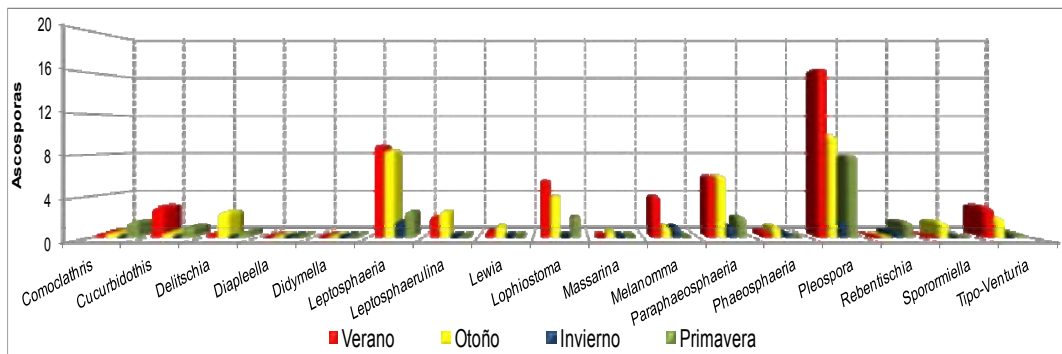
La aplicación de las pruebas U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis a los datos obtenidos por las metodologías para no viables (tabla N° 3.16) permiten establecer que en el aire de los ambientes interiores, las esporas totales fueron más frecuentes durante el verano ($p < 0,001$); las concentraciones de esporas totales de *Pleosporales* fueron mayores en el interior de viviendas del grupo ND ($p < 0,005$) y se encontraron más relacionadas con viviendas de los individuos con diagnóstico de asma ($p < 0,05$) y con el verano ($p < 0,001$); las esporas de los estadios mitospóricos fueron más frecuentes en el interior durante el verano; *Alternaria* fue más común en las habitaciones de viviendas del grupo ND ($p < 0,001$), especialmente las ubicadas cerca de exteriores ($p < 0,05$), durante el verano ($p < 0,001$) y en días secos nublados ($p < 0,05$), cuando hay presencia de polvo sobre las superficies ($p < 0,005$) y cuando se mantienen las ventanas abiertas por periodos superiores a 8 horas ($p < 0,001$). En ambientes exteriores, las concentraciones de esporas totales están más relacionadas con los alrededores de viviendas rurales ($p < 0,05$) durante el verano ($p < 0,001$), de igual manera los *Pleosporales* totales presentaron diferencias estadísticamente significativas en áreas rurales ($p < 0,001$) durante el verano ($p < 0,001$). Las esporas de *Pleosporales* meiospóricos fueron más frecuentes en el exterior de viviendas del grupo SA, en áreas semiurbanas. En cuanto a las esporas de los *Pleosporales* mitospóricos, fueron más frecuentes en áreas rurales. Específicamente, las esporas de *Alternaria* se presentaron con mayor frecuencia en áreas exteriores rurales ($p < 0,001$) durante el verano ($p < 0,001$) en días secos nublados ($p < 0,001$). Los niveles de Alt a 1 fueron mayores en viviendas del grupo SA ($p < 0,001$) en áreas semiurbanas ($p < 0,001$) sin tráfico ($p < 0,001$) durante el verano ($p < 0,001$) y están asociados a los ambientes interiores de individuos con diagnóstico de rinitis alérgica ($p < 0,001$), conjuntivitis ($p < 0,005$) y asmáticos ($p < 0,001$) (tabla N° 3.16). En el anexo N° 1 se presentan el valor de las medias y el error típico de los valores obtenidos por el método no viable que presentan diferencias estadísticamente significativas en los test de análisis de varianza no paramétrica de U de Mann-Whitney (dos muestras independientes) y Kruskal-Wallis (más de dos muestras independientes).

Figura Nº 3.15. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas en las superficies en el interior de las viviendas del grupo ND. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



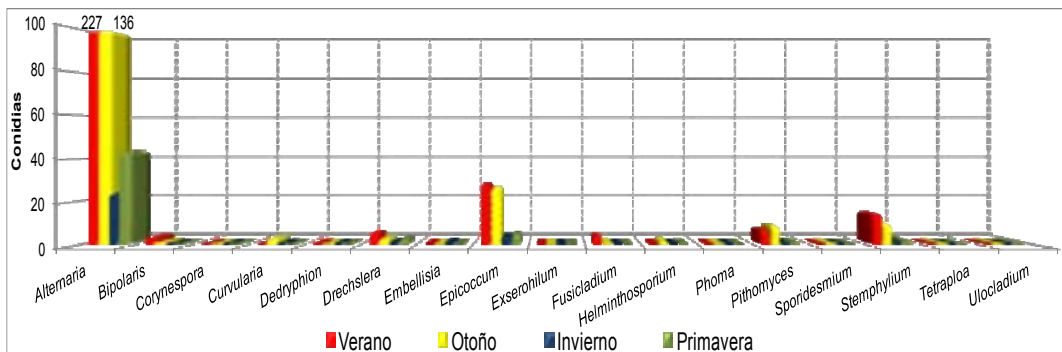
Las barras representan la sumatoria de los totales de esporas, grupos de taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figuras Nº 3.16a. Distribución de las sumatorias de los recuentos de ascosporas de *Pleosporales* en las superficies en el interior de las viviendas del grupo ND.



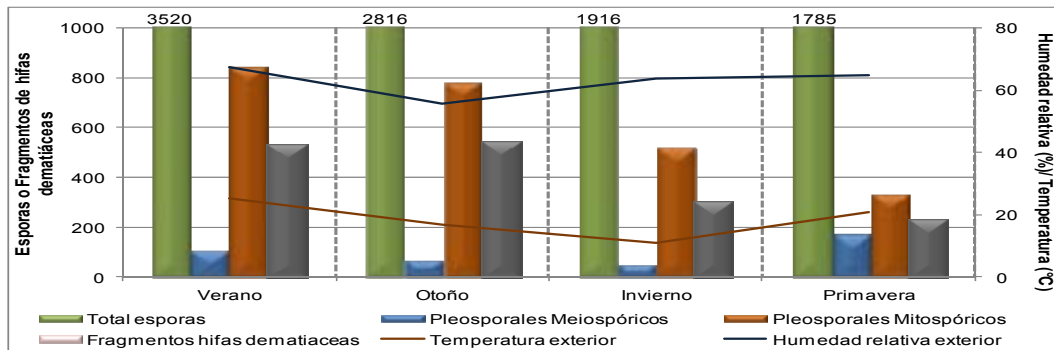
Las barras representan la sumatoria de las ascosporas para cada estación climática.

Figura Nº 3.16b. Distribución de las sumatorias de los recuentos de conidias de *Pleosporales* en las superficies en el interior de las viviendas del grupo ND.



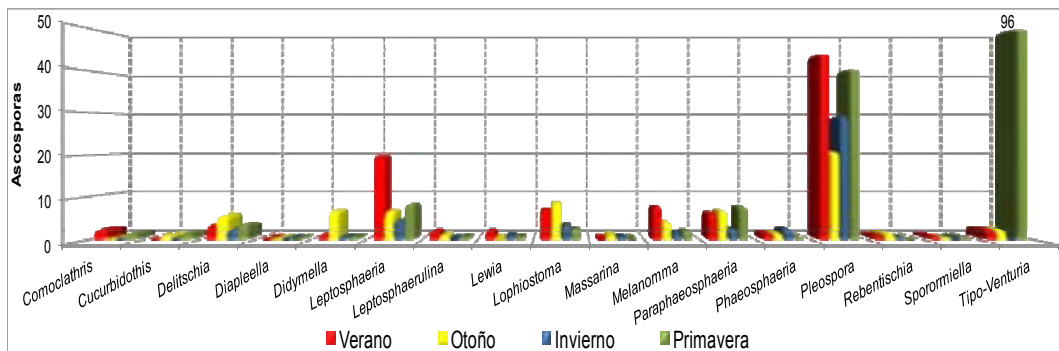
Las barras representan la sumatoria de las conidias para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 conidias se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.17. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de esporas, taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas en las superficies en el exterior de las viviendas del grupo ND. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



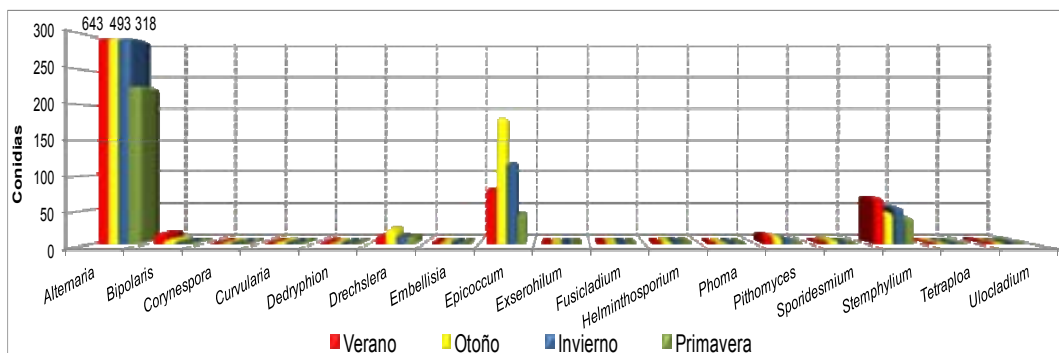
Las barras representan la sumatoria de los totales de esporas, grupos de taxones de *Pleosporales* y fragmentos de hifas dematiáceas (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.18a. Distribución de las sumatorias de los recuentos de ascosporas de *Pleosporales* en las superficies en el exterior de las viviendas del grupo ND.



Las barras representan la sumatoria de las ascosporas para cada estación climática. Para los valores que exceden las 50 esporas se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.18b. Distribución de las sumatorias de los recuentos de conidias de *Pleosporales* en las superficies en el exterior de las viviendas del grupo ND.



Las barras representan la sumatoria de las conidias para cada estación climática. Para los valores que exceden las 300 conidias se anota la concentración en el extremo superior.

Tabla N° 3.16. Resultados de pruebas U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis para el total de esporas/m³ de aire, taxones de *Pleosporales*, fragmentos de hifas dematiáceas y niveles de Alt a 1 en el interior y exterior de las viviendas en ambos grupos de estudio.

		Ambiente interior			Ambiente exterior		
		p<0,05	p<0,005	p<0,001	p<0,05	p<0,005	p<0,001
Características del individuales							
grupo	SA	<i>Phaeosphaeria</i>		Niveles Alt a 1	<i>Fusicladium</i> <i>Lewia</i> <i>Rebentischia</i> <i>Bipolaris</i> <i>Sporidesmium</i>	<i>Comoclathris</i> <i>Cucurbitothis</i> <i>Phaeosphaeria</i> <i>Pleospora</i>	<i>Delitschia</i> <i>Leptosphaeria</i> <i>Lophiostoma</i> <i>Melanomma</i> <i>Paraphaeosphaeria</i> <i>Drechslera</i>
	ND		<i>Pleosporales</i> totales	<i>Alternaria</i>	<i>Leptosphaerulina</i> Tipo- <i>Venturia</i> <i>Helminthosporium</i>		
Vivienda paciente con diagnóstico de:	Rinitis			Niveles Alt a 1	<i>Fusicladium</i> <i>Leptosphaeria</i> <i>Lewia</i> ABP <i>Stemphylium</i>	<i>Melanomma</i>	
	Conjuntivitis	<i>Sporidesmium</i>	<i>Phaeosphaeria</i>	Niveles Alt a 1	<i>Lewia</i> <i>Melanomma</i> <i>Exserohilum</i>	<i>Comoclathris</i> <i>Cucurbitothis</i> <i>Delitschia</i> <i>Lophiostoma</i> <i>Bipolaris</i>	<i>Leptosphaeria</i> <i>Leptosphaerulina</i>
	Asma	<i>Phaeosphaeria</i> <i>Pleosporales</i> totales		Niveles Alt a 1	<i>Comoclathris</i> <i>Delitschia</i> <i>Fusicladium</i> <i>Lophiostoma</i> <i>Rebentischia</i> <i>Bipolaris</i>	<i>Leptosphaeria</i> <i>Curvularia</i>	
Características físicas de la vivienda							
Tipo de vivienda	Casa			Niveles Alt a 1	<i>Lewia</i> <i>Sporidesmium</i>	<i>Delitschia</i> <i>Leptosphaeria</i> <i>Lophiostoma</i> <i>Melanomma</i> <i>Pleospora</i> <i>Drechslera</i> <i>Ulocladium</i>	<i>Paraphaeosphaeria</i>
	Apartamento Urbana	<i>Epicoccum</i>					
Ubicación de la vivienda	Semiurbana	<i>Ulocladium</i>		Niveles Alt a 1	<i>Sporormiella</i> ABP AMP	<i>Epicoccum</i> <i>Exserohilum</i>	<i>Comoclathris</i> <i>Leptosphaeria</i> <i>Melanomma</i> <i>Paraphaeosphaeria</i> <i>Pleospora</i>
	Rural	<i>Lophiostoma</i> ABP	<i>Pleospora</i>	<i>Curvularia</i>	Esporas/m ³ <i>Fusicladium</i> FHD		<i>Delitschia</i> <i>Didymella</i> <i>Alternaria</i> <i>Drechslera</i> <i>Helminthosporium</i> <i>Sporidesmium</i> <i>Stemphylium</i> <i>Ulocladium</i> <i>Pleosporales</i> totales
Tipo de tráfico en los alrededores	Ninguno		<i>Lewia</i>	Niveles Alt a 1	<i>Cucurbitothis</i>	<i>Delitschia</i> <i>Didymella</i> <i>Melanomma</i>	
	Bajo				<i>Lophiostoma</i>		
	Alto						
Tipo de suelo	Baldosa			Niveles Alt a 1			
	Madera						
Ubicación de la habitación	Moqueta	<i>Cucurbitothis</i> <i>Didymella</i> FHD	<i>Lophiostoma</i> <i>Melanomma</i> <i>Epicoccum</i>	<i>Sporormiella</i>			
	Interior						
Ubicación de la habitación	Exterior	<i>Alternaria</i>	<i>Epicoccum</i> <i>Stemphylium</i>				
	Características ambiente interno						
Plantas de interior	Si		<i>Lewia</i>				
	No						
Horas de sol directa en la habitación	Nunca						
	< 2 horas	<i>Paraphaeosphaeria</i>	<i>Tetraploa</i>				
	2 – 6 horas		<i>Lophiostoma</i> <i>Massarina</i> <i>Melanomma</i> Niveles Alt a 1				
Humedad en paredes	8 horas	ABP <i>Stemphylium</i>					
	Si	<i>Massarina</i>					
Presencia de mascotas	No						
	Perro	<i>Sporormiella</i> Niveles Alt a 1					
	Gato	<i>Ulocladium</i>					
	Otros (pájaros, hamsters)	<i>Drechslera</i>					
Características de aseo							
Frecuencia de aseo	Diaria						
	Día por medio	<i>Ulocladium</i> Niveles Alt a 1					
	Semanal						
	Cada 2 semanas		<i>Epicoccum</i>				
Tipo de limpieza de pisos	Barrido	<i>Leptosphaeria</i> <i>Pleosporales</i> totales					
	Trapeado		Niveles Alt a 1				
	Aspirado						
	Combinación			<i>Didymella</i>			
Tipo limpieza de superficies	Seca						
	Húmeda (agua)						
Frecuencia cambio ropa de cama	Húmeda (limpiadores comerciales)						
	Diaria						
	Semanal						
	Cada 2 semanas						
Frecuencia cambio ropa de cama	Mensual						

Tabla N° 3.16. (continuación).

		Ambiente interior			Ambiente exterior		
		p<0,05	p<0,005	p<0,001	p<0,05	p<0,005	p<0,001
Características ambientales durante el muestreo							
Estación climática	Verano	<i>Lophiostoma</i> <i>Bipolaris</i> Niveles Alt a 1	<i>Paraphaeosphaeria</i> <i>Drechslera</i>	Esporas/m ³ Tipo-Venturia ABP AMP <i>Alternaria</i> <i>Epicoccum</i> <i>Pithomyces</i> <i>Stemphylium</i> FHD <i>Pleosporales</i> totales	<i>Cucurbitodithis</i> <i>Leptosphaeria</i> <i>Melanomma</i> <i>Pleospora</i> <i>Melanomma</i> <i>Bipolaris</i> <i>Curvularia</i>	<i>Massarina</i>	Esporas/m ³ AMP <i>Alternaria</i> FHD <i>Pleosporales</i> totales
	Otoño				<i>Lophiostoma</i> <i>Sporormiella</i>		<i>Epicoccum</i>
	Invierno						
	Primavera	<i>Pleospora</i>				<i>Stemphylium</i>	Tipo-Venturia <i>Drechslera</i> FHD
Clima durante el muestreo	Seco soleado				<i>Stemphylium</i>		
	Seco nublado	<i>Alternaria</i> <i>Drechslera</i>					<i>Alternaria</i>
	Lluvioso				<i>Comoclathris</i> <i>Leptosphaerulina</i> <i>Melanomma</i> <i>Rebentischia</i>	<i>Massarina</i> <i>Pleospora</i>	<i>Paraphaeosphaeria</i>
Lluvia	No lluvia		<i>Alternaria</i>		<i>Pithomyces</i>	<i>Drechslera</i> <i>Stemphylium</i>	<i>Alternaria</i> <i>Epicoccum</i> FHD
	Solo durante el muestreo					<i>Leptosphaerulina</i> <i>Massarina</i>	
	Previa y durante el muestreo			<i>Melanomma</i>	<i>Rebentischia</i>	<i>Pleospora</i>	<i>Paraphaeosphaeria</i> AMP
	Solo previa al muestreo	<i>Diapleella</i> <i>Leptosphaeria</i> <i>Lophiostoma</i> AMP		<i>Massarina</i>	<i>Lewia</i>		
	Día previo al muestreo	<i>Massarina</i>	Tipo-Venturia	<i>Melanomma</i>	<i>Diapleella</i> <i>Massarina</i> <i>Embellisia</i>	<i>Lewia</i>	<i>Rebentischia</i>
	Dos días previos al muestreo	<i>Melanomma</i>					<i>Pleospora</i>
Viento durante el muestreo	Si	<i>Epicoccum</i>					
	No				<i>Pithomyces</i> <i>Sporidesmium</i>		<i>Bipolaris</i>
Condiciones de la vivienda durante el muestreo							
Limpieza más reciente	Minutos antes						
	Horas antes						
	Días antes						
Polvo sobre superficies	Si	<i>Epicoccum</i>	<i>Alternaria</i>				
	No	<i>Pithomyces</i> <i>Pleosporales</i> totales Niveles Alt a 1					
Ventilación (época cálida)	Natural (ventanas abiertas)	<i>Leptosphaeria</i> <i>Phaeosphaeria</i>	<i>Didymella</i> <i>Massarina</i>	<i>Lophiostoma</i> AMP <i>Pleosporales</i> totales			
	Ventilador	<i>Lophiostoma</i>					
	Aire acondicionado	<i>Drechslera</i>					
Ventanas abiertas época cálida (duración)	Nunca						
	< 1 hora diaria						
	1 – 8 horas diarias	<i>Didymella</i> Tipo-Venturia	<i>Rebentischia</i>				
Calefacción (época fría)	> 8 horas diarias	<i>Paraphaeosphaeria</i> ABP	<i>Drechslera</i>	Esporas/m ³ <i>Phaeosphaeria</i> <i>Alternaria</i> FHD			
	Encendida						
Ventanas abiertas época fría (duración)	Apagada	ABP <i>Epicoccum</i> <i>Stemphylium</i>	<i>Leptosphaeria</i> FHD	Esporas/m ³ AMP <i>Alternaria</i> <i>Pleosporales</i> totales			
	Nunca	<i>Diapleella</i>					
Personas en el sitio	< 1 hora diaria						
	1-8 horas diarias						
	> 8 horas diarias		<i>Ulocladium</i> Niveles Alt a 1				
Trabajos de construcción	Desde minutos antes						
	Desde horas antes						
	Desde días antes		<i>Dydimella</i>				
Trabajos de construcción	Si	<i>Pleosporales</i> totales	<i>Dydimella</i>		<i>Delitschia</i> <i>Bipolaris</i>	<i>Lophiostoma</i>	

ABP (ascosporas bicelulares pigmentadas), AMP (ascosporas multicelulares pigmentadas), FHD (fragmentos hifas dematiáceas)

En la tabla solo se presentan las condiciones frente a las cuales se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p<0,05, p<0,005, p<0,001) cuando se emplearon en los test de análisis de varianza no paramétrica de U de Mann-Whitney (dos muestras independientes) y Kruskal-Wallis (más de dos muestras independientes).

Las UFC totales en el aire interior de las viviendas del grupo SA muestran un comportamiento estacional asociado al aumento de la temperatura y disminución de la humedad relativa (figura N° 3.19), pero a diferencia de lo observado con el método para esporas totales, aquí es evidente el cambio del patrón ya que los mayores niveles se encuentran durante la primavera (6990 UFC), duplicando los valores observados en el verano (3490), y casi triplicando los de otoño (2490) e invierno (2466). En los métodos viables no fue posible el aislamiento de estadios meióspóricos de *Pleosporales*. Para los estadios conidiales (figura N° 3.20), se observó un comportamiento estacional similar al observado con el método Hirst, con los niveles mayores de colonias durante la primavera

(307) y el verano (302 UFC), cayendo a aproximadamente la mitad en el otoño (134) y llegando a niveles muy bajos en el invierno (45). Este patrón estacional es definido por *Alternaria* spp, que es el taxón que corresponde al 90% de las colonias de *Pleosporales* aislados. También se evidenciaron los recuentos más altos de UFC de *Epicoccum* spp durante la primavera (48). El resto de taxones se presentaron en niveles muy bajos, lo cual no permite dilucidar un comportamiento estacional.

En el ambiente exterior de las viviendas del grupo SA se observa nuevamente el patrón estacional descrito para el interior, con las concentraciones de UFC totales, de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo más altas durante la primavera, seguida por las del verano, cayendo significativamente en el otoño para tener una caída más leve durante el invierno (figura N° 3.21). Pero es de resaltar, que en el caso del ambiente exterior, las concentraciones de *Pleosporales* mitosporicos triplican las halladas en el interior a expensas de *Alternaria* spp (99% de las colonias de *Pleosporales*). Las colonias de *Epicoccum* spp fueron muy poco abundantes en este ambiente, observándose el incremento en las UFC de *Phoma* spp con los niveles más altos durante el otoño y primavera, y los más bajos en el invierno (figura N° 3.22).

El análisis de la distribución de la sumatoria de los recuentos totales de UFC, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo en las superficies (método del aplicador de algodón) en el interior de las viviendas del grupo SA permite determinar que las concentraciones del total de UFC y *Pleosporales* no muestran un patrón estacional sobre estas superficies, ya que permanecieron estables durante todo el periodo de estudio; solo se percibe una ligera disminución (no significativa) durante el invierno (figura N° 3.23). *Pleosporales* estuvieron representados mayoritariamente por colonias de *Alternaria* spp (91% de las colonias de *Pleosporales*), y de *Epicoccum* spp (8%). El micelio dematiáceo estéril fue recuperado ocasionalmente de las superficies (figura N° 3.24).

Las UFC recuperadas en las superficies de los ambientes exteriores del grupo SA presentan niveles que duplican y en algunos casos exceden en más veces las encontradas en los ambientes interiores (figura N° 3.25). El comportamiento de las concentraciones de UFC totales tuvo un cambio substancial ya que los mayores recuentos se observaron durante el otoño (428 UFC) y el invierno (330) y los más bajos en el verano (118). Este patrón fue similar para las UFC de *Pleosporales*, aunque en ellos las concentraciones mayores se presentaron durante el invierno (64 UFC), seguido del otoño (47), primavera (36) y por último verano (34). Las colonias de micelio estéril siguieron con bajos niveles, pero estos permanecieron constantes durante todas las estaciones (menos de 7 UFC). Las UFC de *Alternaria* spp fueron más comunes durante el otoño (35 UFC) y el invierno (33) seguido por el verano (28), y estuvieron ausentes durante la primavera. *Epicoccum* spp fue más frecuente sobre las superficies de estos ambientes y los mayores niveles se presentaron durante el invierno (30 UFC), con concentraciones muy bajas en otoño y verano y ausentes en la primavera (figura N° 3.26).

La distribución de la sumatoria de las UFC totales, de taxones de *Pleosporales* y de micelio estéril dematiáceo en el aire interior de las viviendas del grupo ND (método Microflow) demuestran el mismo comportamiento estacional descrito para las UFC en el aire interior del grupo ND, sin embargo se evidencia un incremento moderado de las concentraciones de UFC totales durante el otoño y una disminución significativa para las demás estaciones. Las colonias de *Pleosporales* mostraron niveles similares en ambos ambientes, excepto durante el verano que fueron ligeramente inferiores en el grupo ND. Las UFC de micelio estéril dematiáceo, fueron más frecuentes en estos ambientes, sin embargo siguieron presentando niveles bajos (figura N° 3.27). *Alternaria* spp y *Epicoccum* spp también presentaron un comportamiento similar pero con una leve disminución en sus niveles durante el verano y la primavera, y un ligero aumento para las UFC de *Epicoccum* spp en el otoño (figura N° 3.28).

El patrón estacional de las UFC totales en las superficies exteriores de las viviendas del grupo ND (figura 3.29), con un máximo de UFC durante el otoño (7420 UFC), seguido de las concentraciones de la primavera (6929) y el verano (3413), presentó un cambio significativo comparado con el observado en los del grupo SA (figura 3.25) donde los valores prácticamente se duplican. El mismo comportamiento se observó para las colonias de *Pleosporales* (a expensas de *Alternaria* spp, 85%),

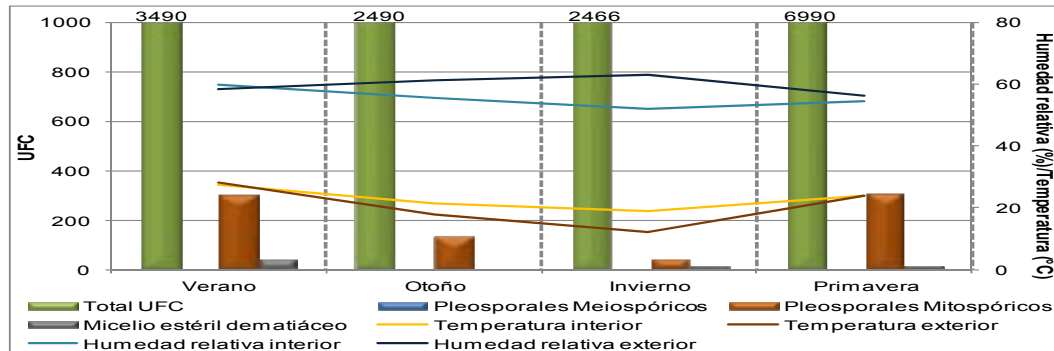
mientras las UFC de micelio estéril dematiáceo presentaron máximos en verano, seguidos de otoño y, con valores similares, en invierno y primavera (figura N° 3.29). *Epicoccum* spp fue más frecuente en este ambiente que en el grupo SA, con los mayores recuentos durante el otoño (167 UFC), seguido por la primavera (50) y el invierno (12), pero no fue observado en el verano. *Phoma* spp también se encontró en concentraciones similares a las halladas en el otro ambiente, a excepción del verano donde hubo un aumento significativo en sus UFC (39 UFC) (figura N° 3.30).

El comportamiento estacional de las UFC totales en las superficies del interior de las viviendas del grupo ND fue ligeramente diferente al encontrado en las superficies del exterior, con un sutil incremento de las UFC totales durante el otoño y el invierno y una leve disminución durante el verano, y con valores similares entre los dos grupos en la primavera (figura N° 3.31). Las concentraciones de las *Pleosporales* (y de colonias de *Alternaria* spp) fueron similares entre ambos sitios, excepto durante la primavera cuando se observó una ligera disminución. *Epicoccum* spp fue el otro taxón de *Pleosporales* recuperado en estas superficies aunque en bajas concentraciones, con los mayores niveles durante el otoño y el invierno (2 UFC) (figura N° 3.32).

Para las superficies de los ambientes exteriores del grupo ND, el comportamiento de las UFC fue ligeramente diferente comparado con los ambientes del grupo SA. Las mayores concentraciones se presentaron durante el invierno (552 UFC), seguido por el otoño (378), la primavera (253) y las más bajas en el verano (140), además estas concentraciones (exceptuando la del verano que fue superior), fueron menores en estos ambientes comparadas con las del grupo SA. El comportamiento fue similar para las UFC de *Pleosporales*, sin embargo en éstas las menores concentraciones se presentaron en la primavera (24 UFC), y las mayores en el invierno (80) y el otoño (50). El micelio estéril dematiáceo se recuperó con poca frecuencia, solo durante el otoño incrementaron levemente los niveles (21 UFC) (figura N° 3.33). Las colonias de *Alternaria* spp presentaron el mismo patrón de las superficies interiores, con los mayores niveles en otoño e invierno (33 y 37 UFC, respectivamente) y los más bajos durante la primavera (16). Igualmente *Epicoccum* spp mostró un patrón similar con los mayores recuentos en el invierno (37 UFC) y los menores en verano (2 UFC). En estas superficies también se observó una mayor diversidad de géneros de *Pleosporales* spp, con presencia de colonias de *Drechslera* spp, *Phoma* spp, *Stemphylium* spp, *Bipolaris* spp, *Helminthosporium* spp y *Ulocladium* spp pero en concentraciones muy bajas (figura N° 3.34).

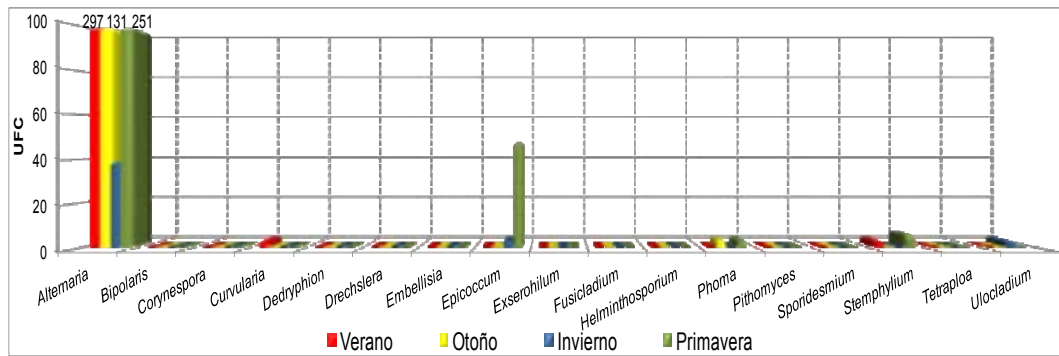
Los análisis de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis sobre los datos obtenidos por los métodos para hongos viables permiten establecer que los valores de UFC totales estuvieron estadísticamente relacionados con la primavera ($p < 0,005$) en el interior de viviendas con polvo acumulado sobre las superficies ($p < 0,05$). En ambientes exteriores los hongos viables fueron más frecuentes en áreas rurales ($p < 0,005$) durante la primavera ($p < 0,005$). Las UFC de *Pleosporales* estuvieron relacionadas con ambientes interiores durante el verano ($p < 0,005$), en días secos soleados ($p < 0,05$), en el exterior con casas ($p < 0,001$) en áreas rurales ($p < 0,001$) sin tráfico ($< 0,05$), durante días secos soleados ($p < 0,05$). Las UFC de *Alternaria* presentaron una correlación estadísticamente significativa con los ambientes interiores de casas ($p < 0,05$) del grupo SA ($p < 0,05$) en áreas rurales ($p < 0,005$) durante el verano ($p < 0,001$) en días secos soleados ($p < 0,05$). En el exterior, las UFC de *Alternaria* estuvieron correlacionadas con los ambientes alrededor de casas ($p < 0,005$) en áreas rurales ($p < 0,001$) sin tráfico ($p < 0,05$) durante el verano ($p < 0,05$) en días secos soleados ($p < 0,001$) (tabla N° 3.17). En el anexo N° 1 se presentan el valor de las medias y el error típico de los valores obtenidos por el método viable que presentan diferencias estadísticamente significativas en los test de análisis de varianza no paramétrica de U de Mann-Whitney (dos muestras independientes) y Kruskal-Wallis (más de dos muestras independientes).

Figura Nº 3.19. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de UFC, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo en el aire interior de las viviendas del grupo SA. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



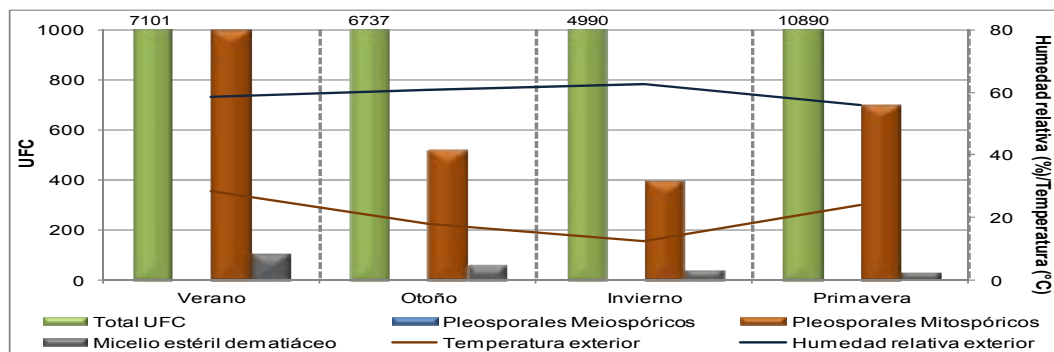
Las barras representan la sumatoria de los UFC totales, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura Nº 3.20. Distribución de las sumatorias de los recuentos de UFC de los taxones de *Pleosporales* en el aire interior de las viviendas del grupo SA.



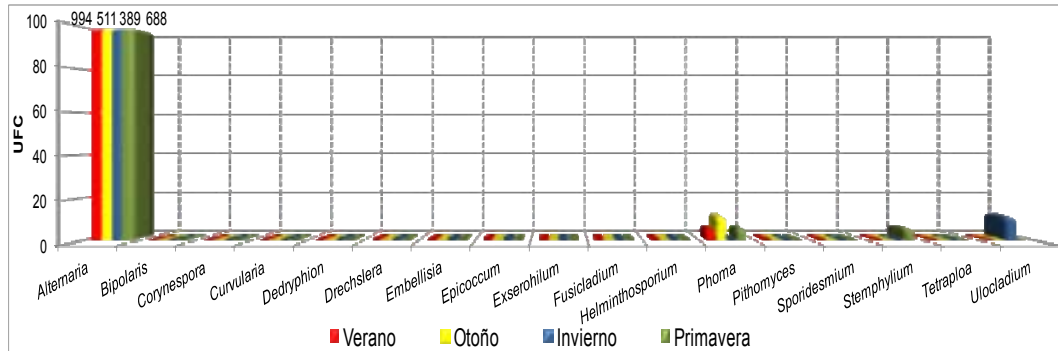
Las barras representan la sumatoria de las UFC para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 UFC se anota la concentración en el extremo superior.

Figura Nº 3.21. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de UFC, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo en el aire exterior de las viviendas del grupo SA. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



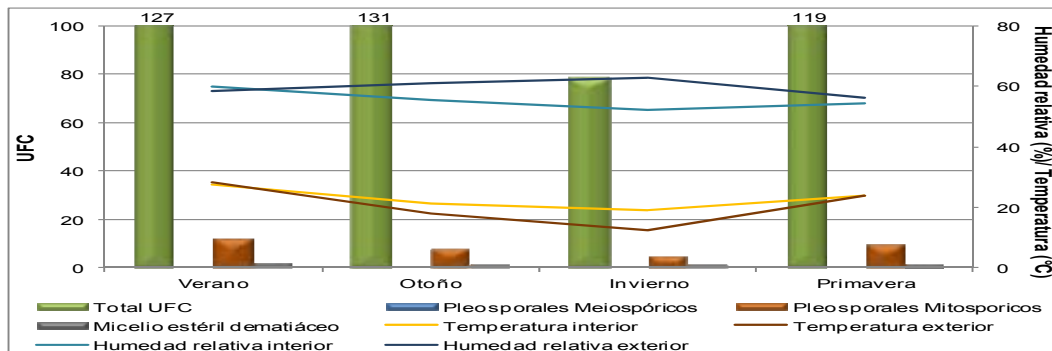
Las barras representan la sumatoria de los UFC totales, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.22. Distribución de las sumatorias de los recuentos de UFC de taxones de *Pleosporales* en el aire exterior de las viviendas del grupo SA.



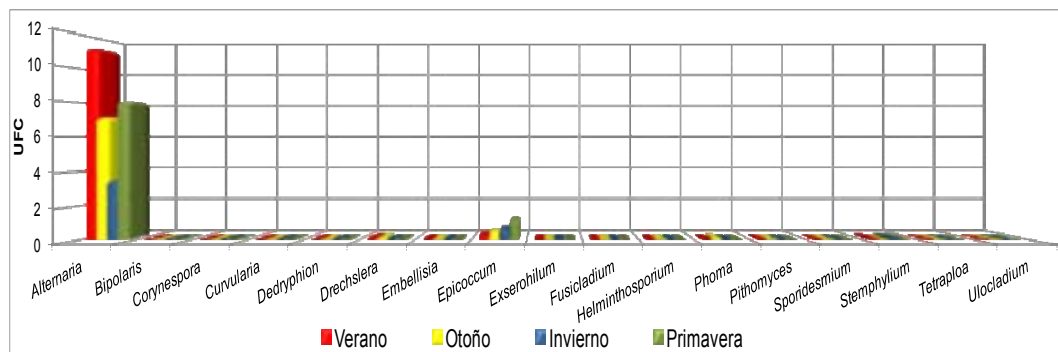
Las barras representan la sumatoria de las UFC para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 UFC se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.23. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de UFC, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo en las superficies del interior de las viviendas del grupo SA. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



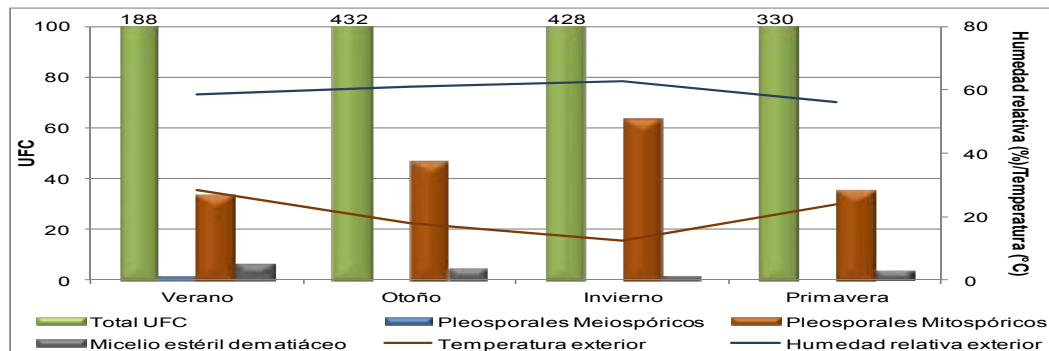
Las barras representan la sumatoria de las UFC totales, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 100 UFC, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.24. Distribución de las sumatorias de los recuentos de UFC de *Pleosporales* en las superficies del interior de las viviendas del grupo SA.



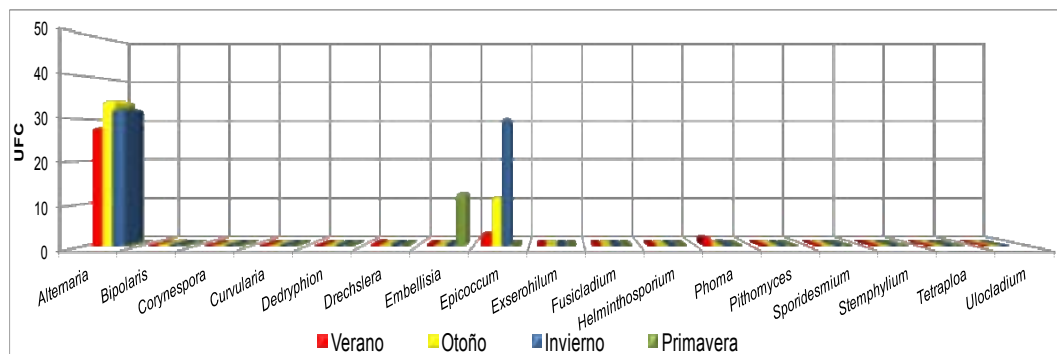
Las barras representan la sumatoria de las UFC para cada estación climática.

Figura Nº 3.25. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de UFC, taxones de *Pleosporales* y micelio dematiáceo estéril en las superficies del exterior de las viviendas del grupo SA. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



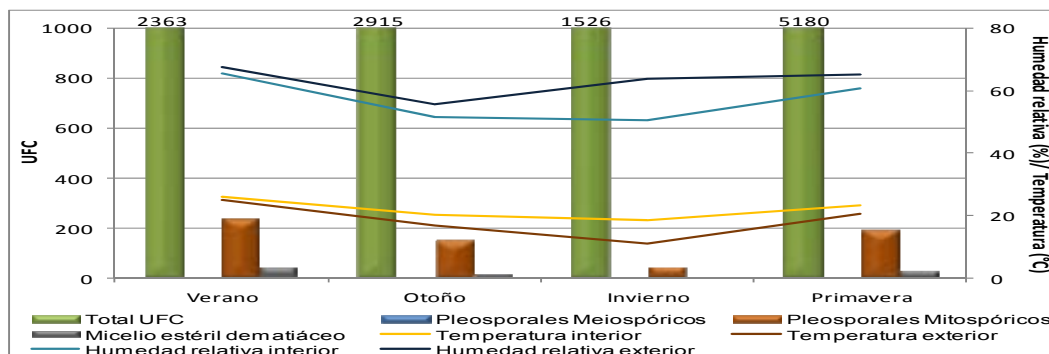
Las barras representan la sumatoria de las UFC totales, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 100 UFC, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura Nº 3.26. Distribución de las sumatorias de los recuentos de UFC de *Pleosporales* en las superficies del exterior de las viviendas del grupo SA.



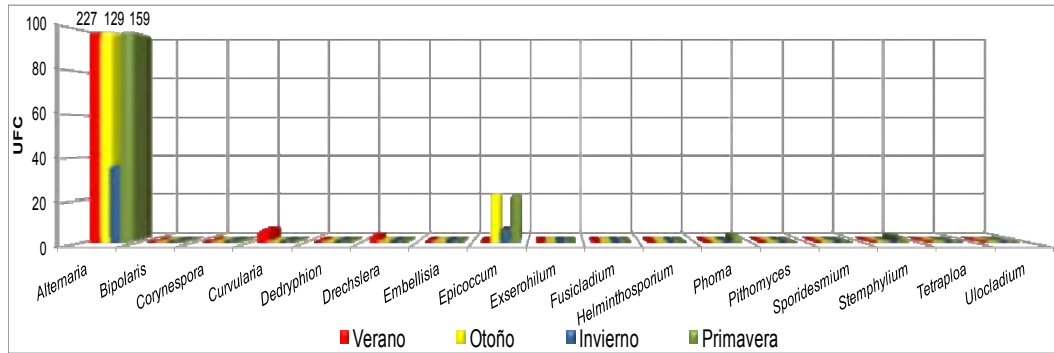
Las barras representan la sumatoria de las UFC para cada estación climática.

Figura Nº 3.27. Distribución de las sumatorias de los recuentos de UFC totales, de taxones de *Pleosporales* y de micelio estéril dematiáceo en el aire del interior de las viviendas del grupo ND. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



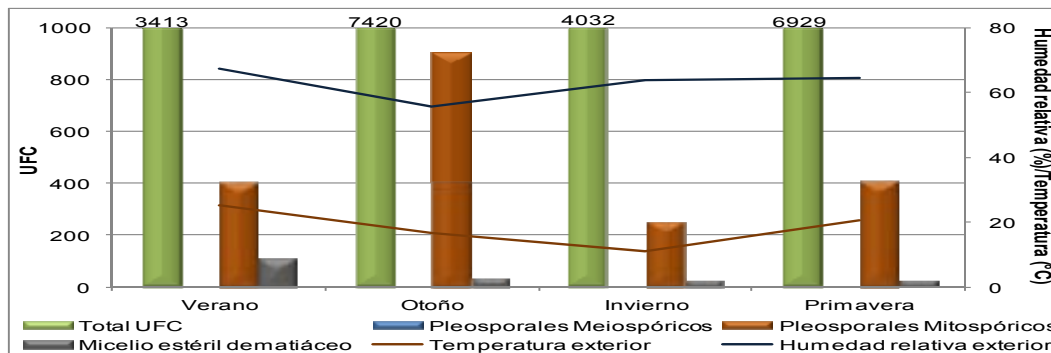
Las barras representan la sumatoria de las UFC totales, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000 UFC, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.28. Distribución de las sumatorias de los recuentos de UFC de *Pleosporales* en el aire interior de las viviendas del grupo ND.



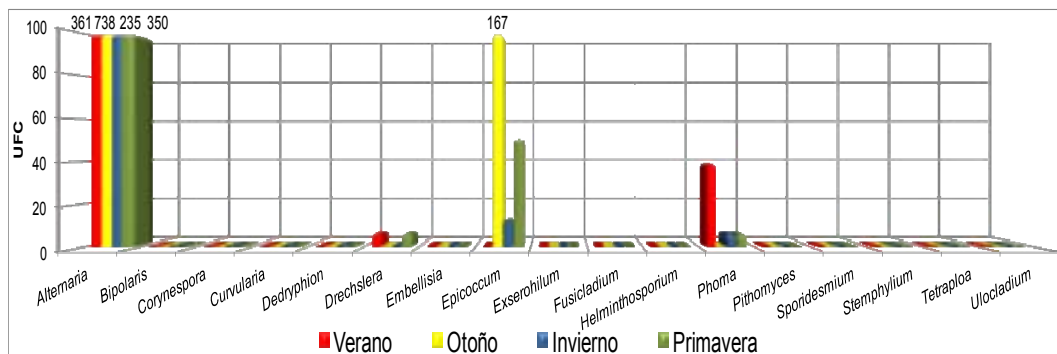
Las barras representan la sumatoria de las UFC para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 UFC se anota la concentración en el extremo superior.

Figura N° 3.29. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de UFC, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo en el aire del exterior de las viviendas del grupo ND. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



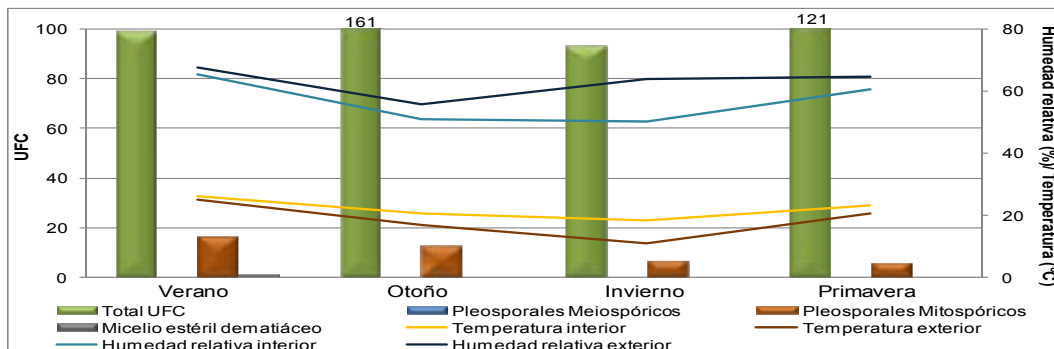
Las barras representan la sumatoria de las UFC totales, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 1000 UFC, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.30. Distribución de las sumatorias de los recuentos de UFC de *Pleosporales* seleccionados en el aire exterior de las viviendas del grupo ND.



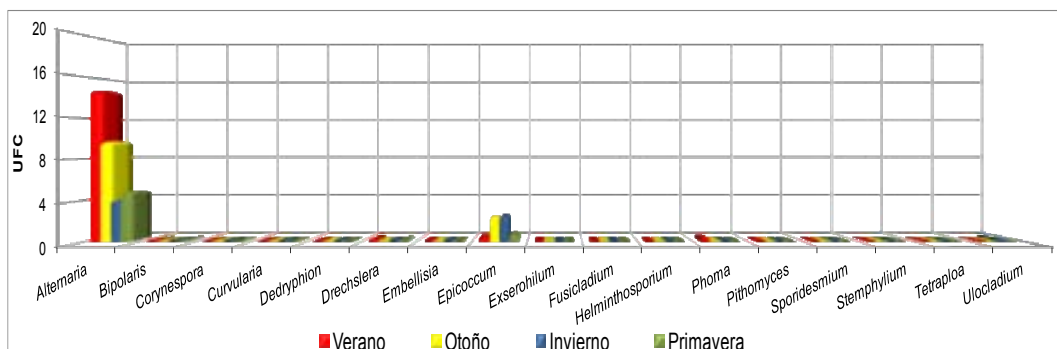
Las barras representan la sumatoria de las UFC para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 UFC se anota la concentración en el extremo superior.

Figura Nº 3.31. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de UFC, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo en las superficies del interior de las viviendas del grupo ND. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



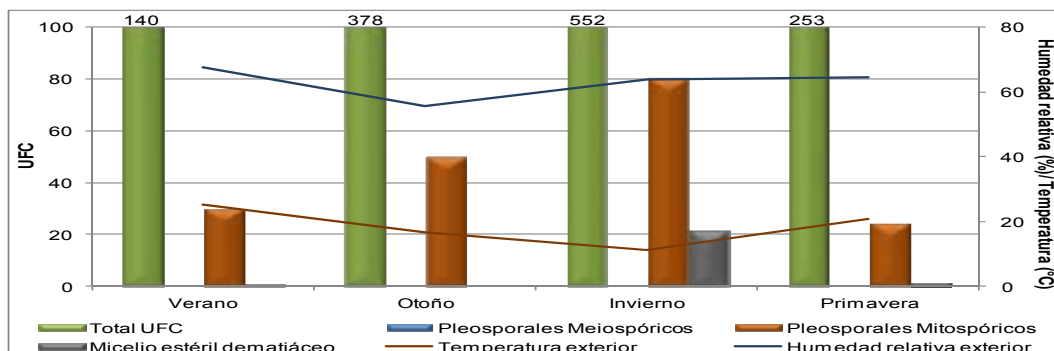
Las barras representan la sumatoria de las UFC totales, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 100 UFC, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura Nº 3.32. Distribución de las sumatorias de los recuentos de UFC de *Pleosporales* en las superficies del interior de las viviendas del grupo ND.



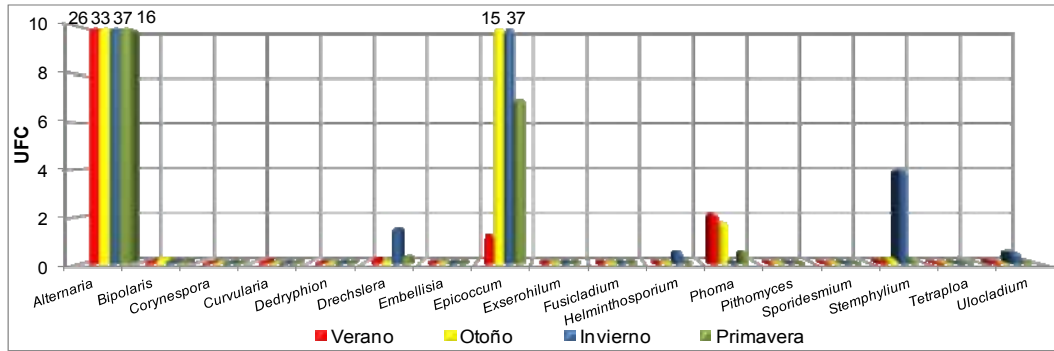
Las barras representan la sumatoria de las UFC para cada estación climática.

Figura Nº 3.33. Distribución de las sumatorias de los recuentos totales de UFC, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo en las superficies del exterior de las viviendas del grupo ND. Comportamiento de las variables ambientales, temperatura y humedad relativa, en las cuatro estaciones climáticas.



Las barras representan la sumatoria de las UFC totales, taxones de *Pleosporales* y micelio estéril dematiáceo (eje izquierdo) y las líneas los promedios de los parámetros meteorológicos (eje derecho). Para los valores que superan 100 UFC, se anota la concentración correspondiente en el extremo superior.

Figura N° 3.34. Distribución de las sumatorias de los recuentos de UFC de *Pleosporales* en las superficies del exterior de las viviendas del grupo ND.



Las barras representan la sumatoria de las UFC para cada estación climática. Para los valores que exceden las 100 UFC se

Tabla N° 3.17. Resultados de pruebas U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis para el total de UFC/m³ de aire, taxones de *Pleosporales*, micelio estéril dematiáceo en el interior y exterior de las viviendas en ambos grupos de estudio.

		Ambiente interior			Ambiente exterior		
		p<0,05	p<0,005	p<0,001	p<0,05	p<0,005	p<0,001
Características del individuales							
Grupo	SA	<i>Alternaria</i>					
	ND	MDE					
Vivienda paciente con diagnóstico de	Rinitis						
	Conjuntivitis	<i>Epicoccum</i>					
	Asma	MDE	MDE		<i>Stemphylium</i>		
Características físicas de la vivienda							
Tipo de vivienda	Casa	<i>Alternaria</i>			<i>Epicoccum</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Pleosporales</i> totales
	Apartamento	<i>Ulocladium</i>					
Ubicación de la vivienda	Urbana					<i>Drechslera</i>	
	Semiurbana						
Tipo de tráfico en los alrededores	Rural	<i>Epicoccum</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Epicoccum</i>	UFC/m ³	<i>Alternaria</i> <i>Pleosporales</i> totales
	Ninguno	<i>Epicoccum</i>			<i>Alternaria</i>	<i>Pleosporales</i> totales	
Tipo de tráfico en los alrededores	Bajo	MDE					
	Alto						
	Baldosa						
Tipo de suelo	Madera						
	Moqueta						
	Interior						
Ubicación de la habitación	Interior						
	Exterior						
Características ambiente interior							
Presencia de plantas de interior	Si						
	No						
Horas de sol directa en la habitación	Nunca						
	< 2 horas						
	2 – 6 horas	MDE					
	8 horas	<i>Alternaria</i>					
Problemas de humedad en techo o paredes	Si	<i>Epicoccum</i>					
	No						
Presencia de mascotas	Perro						
	Gato						
	Otros (pájaros, hámsteres)	<i>Alternaria</i>					
	No						
Características de aseo							
Frecuencia de aseo	Diaria						
	Día por medio	MDE					
	Semanal						
	Cada 2 semanas						
Tipo de limpieza de pisos	Barrido						
	Trapeado						
	Aspirado						
	Combinación						
Tipo de limpieza de superficies	Seca						
	Húmeda (agua)						
	Húmeda (limpiadores comerciales)						
Frecuencia de cambio de ropa de cama	Diaria			MDE			
	Semanal						
	Cada 2 semanas						
	Mensual						

Tabla N° 3.17. (continuación).

		Ambiente interior		Ambiente exterior	
		p<0,05	p<0,005	p<0,05	p<0,005
Características ambientales durante el muestreo					
Estación climática	Verano		MDE	<i>Alternaria</i> Pleosporales totales	<i>Alternaria</i> MDE
	Otoño				
	Invierno				
Clima durante el muestreo	Primavera		UFC/m ³	<i>Stemphylium</i> <i>Epicoccum</i>	UFC/m ³ <i>Epicoccum</i>
	Seco soleado		<i>Alternaria</i> <i>Epicoccum</i> Pleosporales totales		Pleosporales totales <i>Alternaria</i>
	Seco nublado				
Lluvia	Lluvioso		<i>Ulocladium</i>		<i>Phoma</i>
	No lluvia		<i>Alternaria</i> Pleosporales totales		<i>Alternaria</i>
	Solo durante el muestreo				
	Previa y durante el muestreo		<i>Ulocladium</i>		<i>Phoma</i>
	Solo previa al muestreo				
	Día previo al muestreo				<i>Phoma</i>
Viento durante el muestreo	Si				
	No				
Condiciones de la vivienda durante el muestreo					
Limpieza más reciente	Minutos antes				<i>Alternaria</i>
	Horas antes				
	Días antes				
Polvo sobre las superficies	Si		UFC/m ³		
	No			MDE	
Ventilación (época cálida)	Natural (ventanas abiertas)		<i>Drechslera</i>		
	Ventilador				
	Aire acondicionado				
Ventanas abiertas época cálida (duración)	Nunca				
	< 1 hora diaria				
	1 – 8 horas diarias		<i>Curvularia</i>		
	> 8 horas diarias			<i>Alternaria</i> Pleosporales totales	<i>Alternaria</i>
Calefacción (época fría)	Encendida				
	Apagada			<i>Alternaria</i> Pleosporales totales	
Ventanas abiertas época fría (duración)	Nunca		<i>Curvularia</i>		
	< 1 hora diaria				
	1-8 horas diarias				
	> 8 horas diarias				
Personas en el sitio	Desde minutos antes				
	Desde horas antes				
	Desde días antes				
Trabajos de construcción	Si				

MDE (micelio dematiáceo estéril)

En la tabla solo se reflejan resultados cuando se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p<0,05, p<0,005, p<0,001) al aplicar los test de análisis de varianza no paramétrica de U de Mann-Whitney (dos muestras independientes) y Kruskal-Wallis (más de dos muestras independientes).

Discusión

Características de la población y los ambientes estudiados.

Alrededor del mundo hay grandes diferencias en la prevalencia del asma, la rinitis alérgica y la atopia, observándose, por lo general, bajas tasas en los países en vías de desarrollo y un mayor número de afectados en países industrializados. Ya que tales diferencias en la prevalencia se presentan entre el mismo grupo étnico (a pesar del evidente componente genético en el desarrollo de estas patologías), se sugiere que estas condiciones también son favorecidas por un componente ambiental (**Gruchalla et al. 2012**).

Se han formulado múltiples teorías sobre los factores que desencadenan el incremento en la prevalencia de las alergias, sin embargo la “teoría de la higiene”, el efecto de la contaminación del aire y el estilo de vida sedentario que ha asumido la población en la actualidad, son las más aceptadas (**Eder et al. 2006**). La exposición a alérgenos también ha sido asociada al desarrollo de la sensibilización y posterior aparición de los cuadros clínicos de alergia entre individuos sensibilizados,

no obstante, esta relación es compleja y puede estar determinada por el tipo de alérgeno, tiempo, patrón, dosis y tipo de la exposición, además de la interacción de otros factores (incluyendo los genéticos) (**Gruchalla et al. 2005**). Los alérgenos tienen naturaleza y origen muy diversos y pueden entrar en contacto con el individuo de formas muy variadas, y será la ruta de exposición, además de la concentración y el tipo de alérgeno, lo que determinará los órganos comprometidos y la severidad del cuadro clínico. La exposición a las fuentes de alérgenos puede ser ocasional o permanente, en casos especiales se considera de tipo ocupacional. Esta exposición puede ser por contacto directo, por ingestión, y sin duda la más común, por vía aérea (**Platts-Mills et al. 2006**). Entre los alérgenos transportados por el aire (aeroalérgenos), los más importantes son las esporas de hongos y los granos de polen con un diámetro entre los 2 y los 60 μm (**Ring 2005**). Los granos de polen producidos por plantas anemófilas como *Parthenium hysterophorus*, *Holoptelea integrifolia*, *Casuarina equisetifolia*, *Ricinus communis*, *Amaranthus*, *Chenopodium*, *Mimosa pudica*, *Cynodon dactylon*, entre otras y las esporas de hongos representan los de mayor riesgo de exposición en ambientes exteriores, mientras que en los interiores es común encontrar una mezcla esporas y polen más alérgenos de ácaros del polvo, cucarachas y otros insectos, así como escamas y pelos de mascotas (**Singh & Kumar 2002**). Las reacciones alérgicas ocurren en el sitio de la deposición del alérgeno, es así como aquellos de mayor tamaño al ser inhalados se depositan en la nasofaringe y se asocian a síntomas nasales u oculares, los menores de 10 μm (especialmente los de menos de 5 μm) ingresan hasta el tracto respiratorio inferior donde pueden desencadenar asma (**Horner et al. 1995**). En España y Portugal, los ácaros y el polen de gramíneas son en general los alérgenos más relevantes, no obstante entre los 10 y 20 años, los hongos suelen ser los más importantes (**Pereira et al. 2006**).

Se estima que entre el 30 y el 40% de la población mundial sufre de algún tipo de alergia, y que para países industrializados esta prevalencia puede estar alrededor del 20% (**Pawankar et al. 2011**). Para España se estima que el 21,6% de la población mayor de 10 años sufre algún tipo de alergia, siendo las mujeres entre 18 a 24 años y los habitantes de centros urbanos de más de 500 mil habitantes la población más afectada (**Gaig et al. 2004**). Las principales enfermedades alérgicas, incluyendo la rinitis alérgica, el asma, las alergias alimentarias y la urticaria, son crónicas y causan incapacidad con altos costos individuales y sociales. Según **Bousquet et al. (2008b)**, España presenta una baja prevalencia de alergias con manifestaciones nasales comparada con otros países europeos, con un 21,5% de afectados en población general y 28,4% en población atópica específicamente en Barcelona. En un estudio realizado por **Buss et al. (2010c)** en una población joven estudiante universitaria en Barcelona se encontró una incidencia de 9,5% de asma, 12,5% de rinitis alérgica y 10% de conjuntivitis. Se resalta, además, que en España la presencia de síntomas de rinitis no se asocia claramente con la exposición a los alérgenos, tal y como se ha observado en atópicos de Bélgica, Francia, Italia y Suecia. En nuestro estudio, la rinitis alérgica, como único cuadro alérgico o asociada a otras manifestaciones, afectó al 97% de la población atópica (grupo SA) y al 31% del grupo ND. En España, la rinitis entre el rango de los 10 a 50 años es más frecuente en mujeres (53%) (**Pereira et al. 2006**). Entre los niños de 6 a 7 años la rinitis alérgica tiene un rango de prevalencia entre 10,5 y 18,7%, y entre los 13 a 14 años el rango es de 6,6 a 11,1% (**Asher et al. 2006**). En nuestra población atópica, el 52% de los individuos con rinitis fueron mujeres, sin embargo, el rango de edad no puede ser establecido ya que la población no estuvo distribuida homogéneamente. De acuerdo a la clasificación ARIA de la rinitis alérgica, en España el 36% de los pacientes riniticos presentan manifestaciones intermitentes, de estos el 82% son del tipo intermitente leve y el 18% moderada/severa. Dentro de la forma persistente, el 44% son del tipo leve y el 56% del tipo moderado/severo (58% en el caso de la zona mediterránea). Al emplear la clasificación clásica el 37% de estos individuos presentaban una rinitis estacional y el 63% una perenne (**Pereira et al. 2006**). Nuestros datos permiten clasificar al 23% de los individuos dentro de la forma intermitente leve, al 13% como intermitente moderada/severa, al 31% como persistente leve y al 33% como persistente moderada/severa. Con respecto al asma, la Organización Mundial de la Salud estima que más de 300 millones de personas están afectadas alrededor del mundo (**Pawankar et al. 2011**). En España se presume que existen 1,58 millones de personas afectadas (4,8% de la población general) (**Demoly et al. 2009**), en Portugal la prevalencia es mayor afectando al 6,8% de la población (**Sa-Sousa et al. 2012**). En la población infantil de España entre los 6 a 7 años la prevalencia del asma está entre 7,1 y

13,7%, y para los de 13 a 14 años oscila entre 7,1 y 12,4%; En población adulta, la prevalencia es del 5% (**Asher et al. 2006**). En cuanto al sexo y edad, en preadolescentes la relación hombre:mujer es 2:1, sin embargo en adultos es 1:2 (**Fuhlbrigge et al. 2002**). En nuestro estudio el 71% de los atópicos (grupo SA) sufrían de asma, frente al 4% del grupo ND, de estos el 57% eran mujeres (todas las mujeres del estudio eran adultas), frente al 44% de hombres (30% menores de 10 años). Con relación a la clasificación del asma según los criterios GINA, el 44% de los individuos del estudio sufrían asma intermitente, el 35% persistente leve, el 9% la forma persistente moderada y el 13% la severa. En el estudio realizado por **Pereira et al. (2006)** se encontró que el 49% de los pacientes con alergias respiratorias en España presentaban concomitantemente rinitis y asma. En nuestro estudio este fenómeno se presentó en el 28% de los casos.

Un rango amplio de microorganismos (incluyendo actinomicetos termofílicos, hongos, bacterias, amebas y nematodos) son fuente de alérgenos. La sensibilización a proteínas de estos microorganismos es ahora más prevalente en el interior de las viviendas que en los ambientes exteriores. Los alérgenos de ambientes interiores son el factor de riesgo más importante para el desarrollo de asma en niños, en particular para la sensibilización durante los tres primeros años de vida (**Carrer et al. 2001**). La mayoría de las personas que viven en áreas urbanas pasan la mayor parte del tiempo en ambientes cerrados (alrededor del 90%). Sumado a este hecho, los ambientes domiciliarios han cambiado significativamente en las últimas décadas y es frecuente encontrar sistemas de acondicionamiento de aire (aires acondicionados y calefacción), pisos alfombrados y moquetas, adicionalmente las rutinas de aseo se han modificado y el empleo de aspiradoras y limpiadores de origen químico es más común (**Richardson et al. 2005**). Además, la proporción de recambio de aire domiciliario (intercambio por aire fresco) es mucho menor a los acostumbrados hace 30 años, lo cual favorece el incremento de la humedad relativa y la acumulación de contaminantes químicos y alérgenos, muchos de los cuales han penetrado en el interior de las viviendas a través de ventanas, puertas o los sistemas de ventilación, y otros se han originado en el interior mismo (**Carrer et al. 2001**).

Las esporas de hongos son ubicuas en el aire, tanto en el interior como en el exterior de las edificaciones. Su tamaño varía entre 2 a 50 μm , pero las más alérgicas miden entre 3 y 10 μm . Son el componente biológico dominante en el aire y contribuyen con el 4 - 10% del carbono orgánico, el 2 - 5% de las PM10 y el 23% de las emisiones primarias totales y 7% del modo fino de aerosoles orgánicos (**Heald & Spracklen 2009**). Su principal origen es la vegetación, pero prácticamente pueden adaptarse a cualquier medio ambiente que le suministre oxígeno, agua y una fuente de carbohidrato. Su crecimiento se ve favorecido por temperaturas entre 18 y 32 °C, humedades relativas superiores al 65% y condiciones de viento calmadas (**Fröhlich-Nowoisky et al. 2012, Di Filippo et al. 2013**). Más de 80 géneros de hongos se han asociado con síntomas de alergia respiratoria, pero solo en 23 de estos ha sido posible identificar las proteínas alérgicas (**Simon-Nobbe et al. 2008**). La incidencia de alergia a hongos varía de 6 a 24% en la población general, hasta el 44% en atópicos y 80% en asmáticos (45% en niños y 70% en adultos), y es probable que la prevalencia de sensibilización sea aún mucho mayor (**Simon-Nobbe et al. 2008**). La sensibilización a hongos es un factor importante en pacientes con alergias respiratorias y juega un papel clave en el desarrollo, persistencia y severidad de las manifestaciones clínicas, particularmente en el asma (**Knutsen et al. 2012**). Los hongos alérgicos más estudiados pertenecen a los Ascomycota anamórficos, principalmente especies de *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium* y *Penicillium* (**Horner et al. 1995**). De acuerdo a la revisión realizada por **Knutsen et al. (2012)** varios estudios reportan un prevalencia de sensibilización a hongos entre atópicos del 12 al 42%, incluso algunos presentan valores tan altos como el 80%. En España se estima que el 3% de la población general es alérgica a hongos (**Gaig et al. 2004**). Sin duda *Alternaria* spp y *Cladosporium* spp son los dos hongos alérgicos más relacionados a la exacerbación de los síntomas de alergia, incluso se ha observado que las formas más severas de asma se asocian la sensibilización a estos dos taxones (**Zureik et al. 2002**). En USA el 12,9% de la población entre 6 a 59 años presenta una prueba cutánea SPT positiva para especies de *Alternaria* (**Arbes et al. 2005a**). En España se estima que esta sensibilización ronda el 1%, mientras en Barcelona se presume que es el 1,8% en población general (**Bousquet et al. 2007**). **Bartra et al. (2009)**, también en España, encontró una prevalencia

del 78% de sensibilización a especies de *Alternaria* entre individuos con alergia respiratoria. En el estudio ibérico de sensibilización a aeroalérgenos en rinitis alérgica, **Pereira et al (2006)** encontraron que el 10% de los pacientes riniticos que participaron en el estudio dieron positivos para alérgenos de *Alternaria* (12% en zonas del Mediterráneo), entre estos el 28% de aquellos con diagnóstico de rinitis intermitente leve (32% en el Mediterráneo), 4% con rinitis intermitente moderada/grave (5% en el Mediterráneo), 34% con la forma persistente leve (29% en el Mediterráneo) y 15% con la persistente moderada/grave (34% en el Mediterráneo). Recientemente **Torres-Rodríguez et al. (2012)** encontraron entre pacientes sensibilizados a hongos en la ciudad de Barcelona, que 23,4% estaban monosensibilizados (dentro de estos el 76% a *Alternaria*) y el 76,6% restante estaban sensibilizados a otros alérgenos como ácaros, polen o epitelios animales. Todos los individuos del grupo SA en nuestro estudio estaban sensibilizados a *Alternaria*, en ellos la prevalencia de monosensibilización a alérgenos de *Alternaria* fue del 11%, en el grupo ND el 24% dio positivo para al menos un alérgeno de la batería probada, dos individuos estaban monosensibilizados a gramíneas o ácaros, los restantes presentaban polisensibilización con los alérgenos probados.

Efecto de las condiciones ambientales sobre los niveles de Pleosporales en el aire y las superficies en ambientes de Barcelona.

Encuestas aerobiológicas demuestran que algunos taxones de hongos están presentes en la atmósfera durante todo el año, mientras otros enseñan picos de aparición de acuerdo a la estación climática, influenciados por las variaciones en la temperatura y la humedad relativa ambiental, además de las horas diarias de luz solar y la velocidad y dirección de los vientos (**Weber 2003**). Durante el periodo de estudio la temperatura promedio del exterior de las viviendas fue 19,3 °C (4,8 - 37), con las mayores temperaturas durante el verano (20,9 - 37,0 °C) y las más bajas durante el invierno (4,8 - 21,2 °C) y el otoño (7,5 - 25,0 °C). La humedad relativa promedio fue 61,1 % (24 - 97), siendo el verano el periodo más seco y el invierno el más húmedo. El periodo con mayor pluviosidad fue el invierno de 2011 (con un acumulado de 207,4 mm durante el mes de marzo que presentó un incremento de tres veces con respecto a los años anteriores), seguido por el otoño de 2010. Todas estas condiciones meteorológicas permiten el desarrollo de la mayoría de los taxones encontrados comúnmente en la aerospora. En nuestro estudio la temperatura interior estuvo correlacionada de manera positiva con los recuentos de esporas totales en el aire y las superficies del interior de las viviendas. La temperatura exterior también tuvo efectos sobre la micoflora de interior influenciando positivamente las UFC y las esporas totales en el aire y las esporas totales en las superficies, no obstante tuvo un efecto negativo sobre las UFC de las superficies. La temperatura exterior también tuvo efecto positivo sobre las esporas totales en el aire y las superficies del exterior y negativo sobre las UFC. La humedad relativa del interior tuvo efecto positivo solo sobre el total de esporas en el aire interior, mientras la humedad relativa exterior se relacionó negativamente con las UFC y las esporas en el aire y las superficies en el interior e igualmente negativamente con las UFC y las esporas totales en el aire en el exterior.

Con respecto a las estaciones climáticas, éstas están asociadas con la temperatura y la humedad relativa interior. En verano y otoño tienden a tener temperaturas mayores que la primavera y el invierno, lo cual favorece el crecimiento de hongos. En nuestro estudio el verano se correlacionó con significancia estadística con las UFC totales/m³ en el exterior, también se asoció con las ascosporas bi y multicelulares, los niveles de Alt a 1, fragmentos de hifas dematiáceas, las concentraciones de esporas de los principales *Pleosporales* mitospóricos (*Alternaria*, *Epicoccum*, *Stemphylium*, *Pithomyces* y *Drechslera*) y las UFC de *Alternaria* spp, *Pleosporales* totales y las colonias de micelio dematiáceo estéril, principalmente en ambientes interiores. El otoño se correlacionó también con las UFC y las esporas totales en las superficies y las esporas totales en el aire en el interior, adicionalmente con los *Pleosporales* totales en las superficies de interior. La primavera estuvo relacionada con las esporas totales en el aire y las UFC en las superficies en el interior, además de los niveles de *Pleospora*, *Stemphylium Drechslera* y *Epicoccum* en el exterior. El invierno solo estuvo significativamente correlacionado con las esporas totales/cm² en el interior. Este comportamiento estacional de las UFC es similar al observado por otros autores como **Dharmage et al. (1999)**, **Ren et al. (2001)**, **Medrela-Kuder (2003)**, **Haas et al. (2007)**, **Roussel et al. (2008)**, **Frankel et al. (2012)**

Las condiciones ambientales también mostraron efectos sobre las concentraciones y tipos de *Pleosporales* en el aire. El clima seco y soleado se correlacionó significativamente con las concentraciones de esporas de *Stemphylium* y fragmentos de hifas dematiáceas y débilmente con las UFC de *Alternaria* y *Pleosporales* totales en el aire exterior y con las UFC de *Alternaria* y *Pleosporales* totales en el interior. El clima seco y nublado estuvo asociado débilmente con los niveles de Alt a 1 y de esporas de *Drechslera* en el interior y muy fuertemente con las esporas de *Alternaria* en el exterior. Los días lluviosos favorecieron la liberación de ascosporas y *Phoma* spp y el incremento de su concentración en ambientes exteriores, además tuvo un efecto positivo sobre las UFC de *Ulocladium* en el interior. Las lluvias los días previos al día del muestreo se asociaron con un incremento de las concentraciones de algunas ascosporas en el interior y el exterior de las viviendas y sobre las UFC de *Phoma* spp.

Niveles de esporas y UFC totales y de Pleosporales en el aire de ambientes exteriores en Barcelona (durante el muestreo de domicilios)

Las concentraciones de esporas totales en el exterior oscilan entre 230 y 10⁶ esp/m³ (D'Amato & Spietsma 1995); un rango muy amplio que refleja la diversidad existente entre la aerospora de diversos sitios geográficos y el efecto de las condiciones climáticas sobre la proliferación de los hongos y la liberación de sus propágulos en el aire. En nuestro estudio, la concentración promedio de esporas totales en el aire exterior medida mientras se efectuaban los muestreos domiciliarios fue de 982,6 esp/m³ (con valores que oscilaron entre 33,6 y 6045,6 esp/m³), promedio similar o ligeramente superior a los hallados en otros ambientes urbanos y suburbanos por Adhikari et al. (2004a) en ambientes agrícolas de Calcuta (India), Oliveira et al. (2005) en la zona urbana de Oporto (Portugal), Lee et al. (2006b) y Niemeier et al. (2006) en la ciudad de Cincinnati y Harley et al. 2009 en una región agrícola de California (USA), Díez et al. (2006) y Sabariego et al. (2006) en áreas urbanas de Madrid (España), Das & Gupta-Bhattacharya (2008) en una zona semiurbana en Bengala Occidental (India) Hameed et al. (2009) en la ciudad de Helwan (Egipto), Sharma et al. (2011) en la zona urbana de Nueva Delhi (India) y Tormo-Molina et al. (2012) en un hospital de la zona urbana de Badajoz (España). Nuestro promedio y rango de esporas/m³ en ambientes exteriores de Barcelona, fue superior (duplicando los valores promedios) a los encontrados por Goh et al. (2000) en el área urbana de Singapur, y muy inferior a los reportados por Delfino et al. (1997) en San Diego (USA), Ibáñez et al. (2001) en Santiago (Chile), Radon et al. (2002) en varios ambientes agrícolas de Dinamarca, Suiza, Alemania y España, Ho et al. (2005) en Hualien (Taiwán), Das & Gupta-Bhattacharya (2008) en West Bengala (India), Fairs et al. (2010) y Pashley et al. (2012) en Leicester (Reino Unido), Degobbi et al. (2011) en Sao Pablo (Brasil), Hasnain et al. (2012) en Karachi (Pakistán); sin embargo debe resaltarse que los taxones contados y reportados no fueron iguales en todos los ambientes, como en nuestro caso que no se incluyeron las ascosporas transparentes, las ascosporas unicelulares dematiáceas y las basidiosporas hialinas (constituyentes comunes y numerosos de la aerospora). Las épocas del año con mayores recuentos de esporas fueron el verano e inicios de otoño (Ho et al. 2005, Oliveira et al. 2005) o el otoño (Ibáñez et al. 2001, Lee et al. 2006b, Das & Gupta-Bhattacharya 2008), comportamiento similar al observado en Barcelona, sin embargo nuestros niveles fueron del 29% en otoño y primavera, ligeramente superior en verano (31%) con una caída drástica de las concentraciones durante el invierno (7,4%). Con respecto a las UFC en el aire exterior, la concentración promedio en el área de Barcelona fue 218 UFC/m³ (8,4 - 1231,1), con una relación viable/no viable de 0,4 que cae dentro del rango de 0,29 y 7,61 observado por otros autores (Adhikari et al. 2004a, Lee et al. 2006b). Esta variación entre las concentraciones de hongos viables y no viables en muestras tomadas simultáneamente puede deberse a múltiples factores, entre los que se resaltan las exigencias nutricionales de algunos taxones por lo que requieren de un substrato que les aporte determinados compuestos (Morrison et al. 1983, Wu et al. 2000), la presencia de contaminantes químicos que disminuyen la viabilidad de las partículas microbianas suspendidas en el aire (Sousa et al. 2010, Grinn-Gofroñ et al. 2011, Hameed et al. 2012), el efecto de los rayos del sol (luz ultravioleta), la desecación y las altas temperaturas sobre las conidias y los fragmentos de hifas (Tan 2009), condiciones particulares del ciclo de vida del hongo, especialmente en los estados meiospóricos (Rivera-Mariani & Bolaños-Rosero 2012), efecto inhibitorio del crecimiento entre taxones de hongos (Ej: *Trichoderma* spp, *Chrysonilia* spp,

algunos géneros de zigomicetos, y *Penicillium* spp tienen un periodo de desarrollo rápido, cubriendo rápidamente las placas de Petri y evitando el desarrollo de taxones de crecimiento lento) (Kung'u 2004) y características propias del equipo muestreador (Mehta et al. 1996, Stewart & Griffiths 1998). Los promedios de UFC en exteriores hallados en el presente estudio solo fueron comparables con los hallados en estudios llevados a cabo en zonas del Mediterráneo por Calvo et al. (1980), Roses-Codinachs et al (1992) y Gómez de Ana et al. (2006) en el área urbana de Barcelona, Pyrri & Kapsanaki-Gotsi (2007) en una zona densamente poblada de Atenas (Grecia), Kalyoncu (2010) en varias zonas urbanas y rurales de la ciudad de Manisa (Turquía), Raisi et al. (2010) en una zona semiurbana de Creta (Grecia), Fernández et al. (2011) y Tormo-Molina et al. (2012) en un ambiente urbano de Badajoz (España), Pinheiro et al. (2011) en ambientes urbanos de Lisboa y Evora (Portugal), Pegas et al. (2012) en zonas urbanas y semiurbanas de Aveiro (Portugal), Hameed et al. (2012) zonas urbanas y semiurbanas del Cairo (Egipto) y Raisi et al. (2013) en un ambiente urbano de Creta (Grecia), y en otros sitios de Europa por Medrela-Kuder (2003) en el área urbana de Cracovia (Polonia), Jovanovic et al. (2004) en ambientes rurales y urbanos de Alemania, Hass et al (2007) en la ciudad de Estiria (Austria), Dassonville et al. (2008) en ambientes urbanos de París (Francia) y Frankel et al. (2012) en áreas exteriores de viviendas urbanas de Copenhague (Dinamarca); de Asia como Adhikari et al. (2004b) en ambientes agrícolas de Calcuta (India), Lee & Jo (2006) en zonas aledañas a edificios de apartamentos en Daegu (Corea), Li et al. (2011) en una zona costera de Qingdao (China); y de América como los reportados por Mota et al. (2008) en una zona urbana árida de El Paso (USA). Las concentraciones promedio y/o el rango de UFC/m³ de aire en el exterior encontradas en nuestro estudio fueron ligeramente inferiores a las halladas por Vilavert et al. (2011) en los alrededores de una planta de incineración de residuos en Tarragona (España), y muy inferiores a los encontrados en otros por otros autores como Koch et al. (2000) en ambientes urbanos de Erfurt (este de Alemania) y Hamburgo (oeste de Alemania), La-Serna et al. (2002) en una zona residencial de Islas Canarias (España), Radon et al. (2002) en zonas agrícolas de Dinamarca, Suiza, Alemania y España, Herbarth et al. (2003) en viviendas de Leipzig (Alemania), Lugauskas et al. (2003) en zonas urbanas de alto tráfico en 5 ciudades de Lituania, Medrela-Kuder (2003) en la zona céntrica de Cracovia (Polonia), Ross et al. (2004) en área urbana de Londrina (Brasil), Solanza et al. (2007) en un ambiente laboral en Barcelona, Lis et al. (2008) en zonas agrícolas y viviendas urbanas de Alta Silesia (Polonia), O'Gorman & Fuller (2008) en Dublín (Irlanda), Grisoli et al. (2009) en una planta de compostaje y de tratamiento de aguas negras en Pavia (Italia), Muñoz et al. (2010) en un área rural de Badajoz (España), Ponce-Caballero et al. (2010) en áreas urbanas de Mérida (México), Pyrri & Kapsanaki-Gotsi (2012) en el área urbana de Atenas (Grecia) y Awad et al. (2013) en zonas densamente pobladas del Cairo (Egipto). En nuestro estudio las mayores concentraciones de UFC totales en el exterior de las viviendas se dio durante la primavera (312,6 UFC/m³, rango 16,7 - 1232,1), seguido por el otoño (236,0 UFC/m³) y el verano (175,2 UFC/m³). El invierno fue la época con menores concentraciones de UFC (152,9 UFC/m³). Sin embargo, estos resultados difieren con todos los hallazgos de todos los autores citados quienes encontraron que las mayores concentraciones se presentaban durante el verano y ocasionalmente durante el otoño, pero si coincidió con todos en cuanto a que los valores más bajos fueron recuperados durante el invierno. Las esporas observadas con mayor frecuencia en el ambiente exterior fueron las ascosporas hialinas y las basidiosporas, seguidas por *Cladosporium* spp, esporas tipo *Aspergillus/Penicillium* y *Alternaria* spp, datos que están acorde con la mayoría de los inventarios de la aerospora publicados. Con respecto a las esporas de *Pleosporales*, además de *Alternaria* spp, que correspondió al 2,9% del total de esporas y al 45% de las esporas de *Pleosporales* por nosotros halladas, también se observaron conidias de *Drechslera* spp (2,9%), *Epicoccum* spp (8,2%), *Stemphylium* spp (2,9%) y otras que no superaban individualmente el 1% dentro de los *Pleosporales* como *Bipolaris* spp, *Curvularia* spp, *Dendryphon* spp, *Embellisia* spp, *Fusicladium* spp, *Helminthosporium* spp, *Pithomyces* spp, *Sporidesmium* spp y *Ulocladium* spp. Las ascosporas de *Pleosporales* observadas en el exterior incluyeron a *Pleospora* spp (8,9%), *Leptosphaeria* spp (8,6%), tipo-*Venturia* (6,7%), *Massarina* spp (4,2%), *Paraphaeosphaeria* spp (1,8%), *Cucurbitothris* spp (1,1%) y otras que no superaban el 1% individualmente (*Comoclathris* spp, *Delitschia* spp, *Diapleella* spp, *Didymella* spp, *Leptosphaerulina* spp, *Lewia* spp, *Lophiostoma* spp, *Melanomma* spp, *Phaeosphaeria* spp, *Rebentischia* spp y *Sporormiella* spp). Los fragmentos de hifas dematiáceas fueron un componente común en la

aerospora de ambientes exteriores de Barcelona, de igual manera como fue observado por **Li & Kendrick (1995)**, **Green et al. (2005)** y **Pyrri & Kapsanaki-Gotsi (2007)**. Las colonias más frecuentemente recuperadas en los ambientes exteriores correspondieron a las de *Cladosporium* spp, Levaduras, *Alternaria* spp y *Penicillium* spp, resultados acordes a los hallados en la mayoría de los estudios realizados en ambientes extradomiciliarios (**Garret et al. 1997**, **Amigot et al. 2000**, **Shelton et al. 2002**, **Spicer & Gangloff 2005**, **Gómez de Ana et al. 2006**, **Kasprzyk & Worek 2006**, **Oliveira et al. 2009a**). Dentro de *Pleosporales*, las UFC más frecuentemente correspondieron a *Alternaria* spp (88%), *Epicoccum* spp (9,8%) y *Phoma* spp (1,5%); *Drechslera* spp y *Stemphylium* spp representaron menos del 1% individualmente.

Niveles de esporas y UFC totales y de Pleosporales en el aire de ambientes interiores en Barcelona

El aire del interior de viviendas y edificios no industriales por lo general refleja una mezcla de los contaminantes del exterior (**Adams et al. 2013**), no obstante el tipo de contaminantes en estos ambientes dependerá en gran medida del nivel socioeconómico de quienes habiten allí, de la localización geográfica y de los determinantes culturales individuales (**Asmed et al. 2010**, **Carazo et al. 2012**). En la actualidad, las tendencias arquitectónicas, el grado de industrialización (incluyendo el aumento en el parque automotor), los materiales de construcción y los sistemas de ventilación y acondicionamiento del aire influyen directamente la calidad del aire interior y pueden favorecer la permanencia o permitir el desarrollo de ciertos grupos de microorganismos (**Flannigan et al. 2011**). Otros factores asociados al tipo y concentración de microorganismos dentro de las viviendas son la presencia de plantas de interior, actividades de construcción y mantenimiento de las edificaciones, procedimientos de limpieza, y la temperatura y la humedad relativa en el interior (**Lehtonen et al. 1993**, **Shelton et al. 2002**). Durante el periodo de estudio, la temperatura promedio interior de las viviendas fue 22,5 °C (rango 12 - 30,1 °C), siendo el verano el periodo con los registros más altos (22,6 - 30,0 °C), seguido de la primavera (19,0 - 28,0 °C), el otoño (12,0 - 23,8 °C) y el invierno con los más bajos (12,0 - 23,8 °C). La humedad relativa osciló entre 16,6 y 79,3% (promedio 56,1 %), con los promedios más altos durante el verano (62,2%) y la primavera (57,4%) y los más bajos durante el invierno (51,2%) y el otoño (53,2%), lo cual se debe principalmente a que durante los meses más cálidos las ventanas de las viviendas suelen permanecer abiertas durante más horas al día, lo que permite la mayor circulación del aire desde el exterior en el interior, mientras que en los meses más fríos las ventanas suelen permanecer cerradas y se emplean con frecuencia sistemas de calefacción. Las temperaturas del exterior son óptimas para el desarrollo microbiano, sin embargo los valores de humedad relativa por debajo de 60% suelen ser un factor protector, ya que la mayoría de los hongos prefieren desarrollarse en ambientes con humedad relativa superior al 65% (**Di Filippo et al. 2013**).

Las concentraciones de esporas y UFC de hongos en ambientes interiores son muy variables, por lo que a la fecha no existen valores de referencia que permitan clasificar el riesgo de acuerdo a los niveles de exposición. En múltiples meta-análisis que pretenden establecer los niveles y taxones de hongos “normales” y “anormales” en ambientes interiores domiciliarios y ambientes laborales con o sin contaminación visible por hongos, se han encontrado valores de esporas y UFC que oscilan entre 0 y 449800 (**Górny & Dutkiewicz 2002**, **Kolstad et al. 2002**, **Shelton et al. 2002**, **Gots et al. 2003**, **Eduard 2009**, **Mandal & Brandl 2011**, **Khan & Karuppayil 2012**). Sin embargo, a la fecha, solo son considerados válidos los propuestos por varias agencias gubernamentales en Norte América y Europa, las cuales los denominan valores merecedores de atención como indicadores de riesgo tanto para la salud humana como para los enseres que se encuentren en ambientes intramurales (tabla N° 3.18).

En el aire interior de las viviendas estudiadas los valores de esporas totales oscilaron entre 38,4 y 9249,6 esp/m³ (media 541,2), similares a los hallados por **Lee et al. (2006b)** en viviendas de Cincinnati (USA), **Codina et al (2008)** en viviendas durante la estación lluviosa en Florida (USA) y **Meng et al. (2012)** en viviendas de zonas urbanas de Kansas City (USA), **Tormo-Molina et al. (2012)** en un ambiente hospitalario en Badajoz (España); superiores a los observados por **Goh et al. (2000)** en Singapur, **Amigot et al. (2000)** en Aragón (España), **Osborne et al. (2006)** en viviendas urbanas

de alérgicos de Cincinnati (USA), **Oliveira et al. (2009b)** en Oporto (Portugal) y **Kalwasińska et al. (2012)** en Toruń (Polonia), y muy inferiores a los niveles encontrados por **Stock & Morandi (1988)** en Houston (USA), **Stern et al. (1999)** en tres localidades del Reino Unido, **Pei-Chih et al. (2000)** en viviendas urbanas y semiurbanas de Taiwán, **Macintosh et al. (2006)** en edificios de varias ciudades de USA y **Nasir et al. (2012)** en aéreas rurales y urbanas de la provincia de Punjab (Pakistán). **Meng et al. (2012)**, comparando viviendas de niños alérgicos (88) y no alérgicos (85) en la ciudad de Kansas (USA), reportaron valores similares a los encontrados en nuestro estudio, además pudieron establecer que los valores de esporas totales en el interior de las habitaciones de los pacientes asmáticos eran significativamente superiores a las de no asmáticos (rango asmáticos 53,5 - 15787,5 y rango no asmáticos 56,5 - 5533 esp/m³). **Baxter et al. (2005)** en edificaciones limpias y contaminadas por mohos de California (USA) encontró que los niveles promedio en los edificios residenciales duplicaban los de edificios comerciales, además las casas con problemas de mohos presentaban niveles de esporas/m³ significativamente superiores, que superaban, además, los niveles hallados en el exterior. **Garret et al. (1997)** en viviendas de Latrobe Valley (Australia) encontró un promedio de 7778 esporas/m³ (667 a 118222). **Fairs et al. (2010)**, en Leicestershire (Reino Unido), estudiaron 100 viviendas sin problemas de mohos ni humedades con el fin de generar valores de referencia de esporas de hongos y las condiciones de la vivienda que favorecen su aumento, encontrando un promedio de 1135 esp/m³. Este valor duplica el encontrado en las viviendas de Barcelona (541,2), y pasa igual con el valor máximo del rango (25 a 18067) que también duplicó el observado en nuestro estudio (9249,6). En viviendas que sufrieron inundaciones, los niveles tienden a ser mucho mayores que en aquellas con problemas de humedades, tal es el caso observado por **Hsu et al. (2012)** en viviendas de Taiwán después del tifón Morakot, donde los promedios de concentraciones de esporas de hongos estuvieron entre 221536 y 201582 esp/m³. En este sentido, **Chew et al. (2006)** encontró niveles de esporas entre 82381 y 634651/m³ en viviendas afectadas por las inundaciones del Huracán Katrina en New Orleans (USA).

Tabla N° 3.18. Niveles de esporas o UFC de hongos merecedores de atención en el aire de ambientes interiores.

Nivel	Unión Europea ¹	WHO ²	The National Allergy Bureau ³	CEC ⁴
Muy bajo	< 50 m ³	< 50 m ³	-	< 25
Bajo	< 200 m ³	< 200 m ³	0-6499	< 100
Medio	< 1000 m ³	< 1000 m ³	6500 a 12,999	< 500
Alto	< 10000 m ³	< 10000 m ³	13,000 a 49,999	< 2000
Muy alto	> 10000 m ³	> 10000 m ³	50,000	> 2000

¹. **SBM-2008**. Supplement to the Standard of Building Biology Testing Methods. Building Biology Evaluation Guidelines for Sleeping Areas.

². **Nevalainen & Morawska (2009)**. Health Guidelines on Biological Agents in the Indoor Environment. World Health Organization (WHO). Valores para UFC referidos cuando los niveles del exterior están por debajo de 500 UFC/m³.

³. **American Academy of Allergy, Asthma & Immunology**. Valores para esporas o UFC.

⁴. **ECA Working Group 5 (1993)**. Indoor air quality & its impact on man. Biological particles in indoor environments. Commission of European Communities. Report 12.

Nota: Para la WHO ningún nivel de esporas o UFC de hongos patógenos o toxigénicos no son aceptables en el aire interior; 50/m³ de una sola especie micótica requiere identificar el origen; una mezcla de hongos comunes (ej. *Cladosporium*) puede ser tolerada hasta 500/m³. Para **Senkpiel & Ohgke (1992)** concentraciones en el interior que superen en 100/m³ a las del exterior indican un problema (German Environmental Protection Agency).

En las viviendas estudiadas en Barcelona, las concentraciones más altas de esporas en el interior se presentaron durante el verano (35,5%), seguido por la primavera (31,1%) y el otoño (20,9%), durante el invierno se presentaron los valores más bajos (12,5%), lo cual se explica por el ingreso de partículas desde el ambiente exterior a través de las ventanas que suelen dejarse abiertas por largos periodos durante el días (incluso la noche) como mecanismo de ventilación natural durante los meses más cálidos. Debido al bajo número de estudios que emplean metodologías para la medición de hongos no viables en ambientes interiores, y que de los pocos existentes la mayoría se limitan a muestreos puntuales, solo es posible comparar nuestros hallazgos con los obtenidos por **Garret et al. (1997)** que encontraron los niveles más altos durante el verano e inicios de la primavera, **Macintosh et al. (2005)** que muestrearon durante el verano y el invierno, observando las mayores concentraciones en la época más cálida y los de **Stock & Morandi (1988)** en Houston, USA, que

también trabajaron con dos estaciones (en este caso, verano y otoño) encontrando, a diferencia de nuestros resultados y los de Macintosh, los mayores niveles en otoño. En estos ambientes, las ascosporas transparentes y las basidiosporas no fueron tan comunes como en los ambientes exteriores, pero las conidias de *Cladosporium* spp continuaron como el taxón más abundante (51% del total de esporas), seguidas por las tipo *Aspergillus/Penicillium* (27,4%) y las de *Alternaria* spp (2,9% del total y 55,1% de los *Pleosporales*). Otras esporas de *Pleosporales* observadas fueron *Leptosphaeria* spp (14,3% de las esporas de *Pleosporales*), tipo-*Venturia* (5,7%), *Paraphaeosphaeria* spp (4,1%), *Epicoccum* spp (3,5%), *Pithomyces* spp (2,5%), *Stemphylium* spp (2,2%), *Drechslera* spp (1,6%), *Pleospora* spp (1,6%), *Massarina* spp (1,2%) y, representando menos del 1% individualmente, *Bipolaris* spp, *Curvularia* spp, *Didymella* spp, *Leptosphaerulina* spp, *Lewia* spp, *Lophiostoma* spp, *Melanomma* spp, *Sporidesmium* spp y *Tetraploa* spp. Nuestros hallazgos se refieren a una mayor diversidad de esporas, ya que en los otros estudios (**Garret et al. 1997**, **Stern et al. 1999**, **Baxter et al. 2005**, **Macintosh et al. 2006**, **Codina et al. 2008**) solo identificaron conidias de *Alternaria*, *Epicoccum*, *Stemphylium*, *Drechslera/Bipolaris*, *Pithomyces* y *Curvularia*. Sin embargo, todos ellos encontraron esporas de *Ulocladium* en el aire interior, taxón no observado en nuestras muestras.

De acuerdo a **Hunter et al. (1988)** los recuentos de UFC/m³ de hongos en ambientes interiores varían entre < 12 a $4,5 \times 10^5$. En el interior de viviendas y escuelas, las concentraciones de UFC/m³ de aire suelen estar entre 10^2 y 10^4 /m³ en zonas cálidas (**Su et al. 2001**) y sobre un promedio de 10^2 /m³ en climas fríos subárticos (**Reponen et al. 1992**). En edificaciones con problemas de mohos, los niveles de UFC tienden a exceder las 10^4 /m³, mientras que en las casas sin contaminación aparente, los recuentos rara vez son superiores a 200 UFC/m³ y suelen predominar las colonias de *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Alternaria* (**Lagauskas et al. 2003**). Con respecto a nuestro estudio de hongos viables en el aire interior del área de Barcelona, el promedio del total de UFC fue 116,2/m³ (5,6 - 943,6). Estos niveles fueron ligeramente inferiores a los promedios y/o rangos de UFC/m³ encontrados en esta misma región por otros autores como **Gómez de Ana et al. (2006)** en su estudio de 22 viviendas (para este autor los valores oscilaron entre 0 y 1666 UFC/m³) y muy similares a los niveles hallados por **Buss et al (2010a, 2010b)** en ambientes interiores universitarios (con promedios entre 86 y 163 UFC/m³) en esta misma región. También fueron similares a los encontrados por **Jovanovic et al. (2004)** en viviendas rurales y urbanas de niños alérgicos y no alérgicos en Alemania, **Soto et al. (2009)** en ambientes universitarios de la Ciudad de Murcia (España), **Pinheiro et al. (2011)** en archivos de una biblioteca en la ciudad de Lisboa y Evora, **Pegas et al (2012)** en viviendas urbanas y semiurbanas de Aveiro y **Nunes et al. (2013)** en el ambiente interior del edificio de archivo de la Universidad de Coimbra, todos en Portugal, **Frankel et al. (2012)** en viviendas en zonas urbanas de Copenhague (Dinamarca) y por **Tormo-Molina et al. (2012)** en un ambiente hospitalario en Badajoz (España). **Solans et al (2007)**, en el interior de una planta de tratamiento de residuos en Barcelona, encontraron niveles muy superiores a los hallados en nuestro estudio (entre 1060 y más de 12000 UFC/m³). Comparando nuestros resultados de ambientes interiores con los de otros países europeos **Herbarth et al. (2003)** y **Hansen et al. (2008)** en Alemania; **Medrela-Kuder (2003)** y **Kalwasińska et al. (2012)** en Polonia; **Haas et al. (2007)** en Austria; **Salonen et al. (2007)** en Finlandia; **Dassonville et al. (2008)** y **Roussel et al. (2008)** en Francia; **Bonetta et al. (2010)** en Italia; **Raisi et al. (2013)** en Grecia y países de otros continentes, **Kemp et al. (2003)** en Australia y USA; **Ren et al. (2001)**, **Green et al. (2003)**, **Stark et al. (2005)** y **Lee et al. (2006c)**, en USA, **Le & Jo (2006)** en Corea, **Ross et al. (2004)** en Brasil, **Adhikari et al. (2004b)**, en India, **Cheong et al. (2004)** y **Zhang et al. (2012)** en Australia, **Basílico et al. (2007)** en Argentina, se observa que a pesar de que nuestro promedio es inferior al observado en estos sitios, el rango de UFC/m³ fue muy similar. Nuestros valores fueron significativamente menores a los encontrados en viviendas rurales y urbanas de Pakistán (**Nasir et al. 2012**) y urbanas en USA (**Ryan & Beaucham 2013**). En la revisión sistemática sobre los aerosoles bacterianos y micóticos en ambientes interiores en países del centro y Este de Europa realizado por **Górny & Dutkiewicz (2002)**, se estableció que en viviendas sin problemas de contaminación por hongos, las concentraciones de UFC estaban entre 0-1997 UFC/m³, mientras que en aquellas con daños por hongos estaban entre 49-16968 UFC/m³. En estudios muy similares al nuestro, realizados en viviendas de Nueva Delhi, India, y El Cairo (Egipto) por **Sharma et al. (2011)** y **Awad et al. (2013)** el rango excedía entre 7 y 30 veces el encontrado en los ambientes

domiciliarios de Barcelona. **Dharmage et al. (1999)** en Melbourne, Australia, estudiaron 485 viviendas de individuos alérgicos y no alérgicos donde observaron que el 55% de las viviendas excedían las 500 UFC/m³, con un promedio de 549 (rango 37–7619). En Latrobe Valley, Victoria, Australia, **Garret et al. (1997)** estudió 80 viviendas de pacientes asmáticos y no asmáticos, encontrando un promedio de UFC/m³ de 812 (< 20 a 54749 CFU/m³), que en algunos casos excedían los niveles del exterior. **Lis et al. (2008)** observó valores similares a nuestro promedio cuando estudiaba el interior de viviendas urbanas, sin embargo estos recuentos ascendían a más del doble cuando se trataba de granjas. **Meng et al. (2012)**, en viviendas de pacientes asmáticos y no asmáticos de áreas urbanas, semiurbanas y rurales de Kansas City (USA), observó niveles de UFC/m³ similares a los hallados por nosotros en Barcelona. Cabe destacar que, al emplear un método para el recuento de esporas totales, estos autores encontraron una diferencia significativa entre las concentraciones de esporas en las viviendas de los dos grupos estudiados, pero que esta diferencia no existió cuando se utilizó un método para hongos viables (rango asmáticos 50 - 1333, rango no asmático 27 - 1333 UFC/m³). Igual comportamiento observaron **Pei-Chih et al. (2000)** en viviendas urbanas y semiurbanas en Taiwán durante el verano y el invierno, donde encontraron valores promedio superando más de 30 veces los observados en las viviendas urbanas de Barcelona (3608,3 UFC/m³), y más de 60 veces las semiurbanas (7302,7 UFC/m³) durante el verano, y alrededor de 80 veces comparado con ambos ambientes durante el invierno (9099,7 y 8333,2 UFC/m³, respectivamente). **Niemeier et al. (2006)** encontraron en casas con problemas de mohos, al igual que cuando utilizó el método para esporas totales, concentraciones de UFC/m³ muy superiores a las informadas en otros estudios (y que excedían las del exterior). **Pyrri & Kapsanaki-Gotsi (2007)** encontraron un promedio más de tres veces por encima del hallado en Barcelona, cuando estudiaron un edificio de oficinas en una zona céntrica y densamente poblada de Atenas (Grecia). En el perfil de hongos en el aire de 1717 edificios y ambientes exteriores a través de USA, **Shelton et al. (2002)** encontraron un rango muy amplio (0 a más de 10000 UFC/m³), sin embargo los niveles promedios (80 UFC/m³) fueron similares a los hallados en Barcelona. **Ponce-Caballero et al (2010)** en viviendas de Mérida (México), también encontraron niveles ligeramente superiores cuando se comparan los promedios del interior, pero muy superiores en los valores máximos (264 a 17788 UFC/m³). **Soleimani et al. (2013)** estudiaron el ambiente de escuelas, universidades y hospitales en Ahvaz (Irán) y encontraron promedios que superaban los hallados en Barcelona, siendo mayores para las escuelas y los hospitales comparados con las universidades, además observaron que tales niveles se incrementaban hasta 3 veces durante las tormentas de arena que suelen afectar a la ciudad. **Karbowska-Berent et al. (2011)**, al estudiar los niveles de microorganismos en 4 grandes bibliotecas y un edificio de archivo en Polonia antes y después de trabajos de corrección de problemas de humedad, encontró niveles inferiores a los nuestros en 4 de los 5 ambientes, tanto antes como después de los trabajos (28 a 202 UFC/m³ previos y 19 a 86 UFC/m³ posterior al trabajo). De igual manera, **Fabian et al. (2005)**, en casas con problemas visibles de humedad y colonización por hongos, encontraron promedios entre $1,6 \times 10^3$ y $1,0 \times 10^4$ UFC/m³ (rango $4,3 \times 10^2$ and $6,9 \times 10^3$ UFC/m³) los cuales fueron por lo general superiores a los hallados en los ambientes exteriores (promedio $1,8 \times 10^2$ y $2,9 \times 10^3$ UFC/m³, rango $5,5 \times 10^2$ y $5,0 \times 10^4$ UFC/m³). En este mismo sentido, **Hsu et al. (2011)**, estudiaron los niveles de hongos en viviendas que fueron afectadas durante el tifón Morakot en Taiwán, encontrando concentraciones promedio entre 13440 y 18181 UFC/m³ supremamente altas comparadas con las encontradas por este mismo autor (**Hsu et al. 2012**) en la misma zona al caracterizar los bioaerosoles del interior de 39 sitios públicos, con un rango entre 62 y no contables UFC/m³ (alrededor de 5000 UFC/m³), siendo los centros de tutoría, colegios, jardines escolares y edificios de oficinas, los ambientes con mayores recuentos y los teatros, los de menor. De igual manera, **Chew et al. (2006)** encontraron niveles entre 22000 y 515000 UFC/m³ en el interior de viviendas en el área de New Orleans (USA) afectadas por el huracán Katrina en el año 2005, los cuales disminuyeron hasta alcanzar concentraciones similares a las de los ambientes exteriores (aproximadamente 4000 UFC/m³) después de los trabajos de remediación. En nuestro estudio, la primavera (44,3%) fue la época del año con mayores recuentos de UFC en el interior de las viviendas, seguido por el verano (21,4%) y el otoño (19,8%), con los valores más bajos durante el invierno (14,6%). Este comportamiento fue diferente al observado por **Gómez de Ana et al. (2006)** también en esta ciudad mediterránea, quienes encontraron las mayores concentraciones durante el otoño, seguido por el verano, al igual que lo reportado por **Torno-Molina**

et al. (2012) en el interior de España, sin embargo nuestros resultado estuvieron acorde con los de otros ambientes interiores en zonas mediterráneas (Pyrri & Kapsanaki-Gotsi 2012, Nunes et al. 2013, Raisi et al. 2013). En otras latitudes, el comportamiento estacional es significativamente diferente, como en el caso de los ambientes intramurales en países del centro y el norte de Europa donde los mayores recuentos de UFC/m³ se presentan durante el verano, seguidas por el otoño y la primavera (Koch et al. 2000, Medrela-Kuder 2003, Haas et al. 2007 y 2010, Dassonville et al. 2008, Hansen et al. 2008, Frankel et al. 2012); este comportamiento de niveles altos durante las épocas más cálidas, también ha sido observado en las viviendas de países del oriente asiático (Pei-Chih et al. 2000, Lee & Jo 2006) y en zonas más australes como Argentina (Basilico et al. 2007) y Australia (Garret et al 1997, Cheng et al. 2004). En zonas del sur de Asia las concentraciones más elevadas se presentan durante el invierno, aunque debe anotarse las diferencias de las temperaturas del invierno entre países ecuatoriales y zonas templadas, además el invierno en estas zonas de Asia es precedido de la mayor época de lluvias (Adhikari et al. 2004a, Sharma et al. 2011, Soleimani et al. 2013). En viviendas de Norteamérica las mayores concentraciones se encontraron en otoño seguido por el verano (Ren et al. 2001, Shelton et al. 2002, Chew et al. 2003, Lee et al. 2006b, Mota et al. 2008). Es común denominador que las concentraciones más bajas se presenten durante los periodos más fríos (invierno en zonas templadas debido al efecto de la nieve que cubre y congela las superficies y el suelo en el exterior impidiendo la resuspensión de las partículas micóticas), también que estos patrones estacionales cambien significativamente cuando se presentan problemas de humedad en el interior de las edificaciones (ya que objetos afectados por la humedad se convierten en fuente de contaminación del ambiente sin importar la estación climática) (Niemeier et al. 2006, Haas et al. 2007, Salonen et al. 2007, Bonneta et al. 2010). Los taxones viables más frecuentemente recuperados en ambientes interiores en todo el mundo corresponden a especies de *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Alternaria*. Dentro de *Pleosporales*, además de *Alternaria* spp, *Epicoccum* y *Ulocladium* spp son informados con mayor frecuencia, otros como *Drechslera* spp, *Stemphylium* spp, *Pithomyces* y *Phoma* spp también suelen informarse. *Curvularia* spp y *Helminthosporium* spp son comunes en viviendas de América y Asia, especialmente en zonas tropicales, pero también suelen encontrarse con frecuencia en el interior de edificaciones con problemas de humedad.

Niveles de esporas y UFC totales y de Pleosporales en superficies de ambientes exteriores en Barcelona

Debido a que el muestreo del aire no proporciona una información completa de la carga y/o tipo de partículas microbianas de un ambiente específico, y las concentraciones y microbiota sedimentada pueden ser diferentes a las que se encuentren en el aire, todo análisis aerobiológico debe incluir un estudio de superficies (Niemeier et al. 2006). Además, el análisis del material sedimentado sobre las superficies permite determinar las áreas más contaminadas y esclarecer el origen de los contaminantes (Duchaine & Mériaux 2001). Cada ambiente tiene fuentes naturales potenciales que liberan bajos niveles de esporas en el aire por efecto de la actividad humana o de movimientos de aire. Entre estas fuentes de contaminación se incluyen plantas de interior, mascotas y sus camas, viveres, productos alimenticios y polvo doméstico. Prácticamente sobre toda superficie humedecida temporalmente (sin importar la humedad relativa del aire) pueden formarse microcolonias de hongos que liberan esporas en el aire y desaparecen una vez la superficie se seca (Pasanen et al. 1992). En nuestro estudio empleamos dos métodos para evaluar semicuantitativamente la concentración y el tipo de hongos presentes en los ambientes interiores y exteriores. El método de cello-tape (cinta engomada) permitió establecer que las superficies del exterior presentaban un promedio de 113,4 esporas/cm² (rango 0,0 - 690,0). El verano fue la época con mayores niveles de esporas sobre las superficies exteriores (38,0%), seguido por el otoño (26,5%), mientras el invierno y la primavera presentaron recuentos similares (18,0 y 17,3%, respectivamente), coincidiendo con los recuentos de esporas en el aire. Los taxones más comunes reflejaron el contenido del aire, predominando las conidias de *Cladosporium* spp (43,6%), *Alternaria* spp (16,4%) y *Epicoccum* spp (3,8%). Dentro de los *Pleosporales* observados, además de *Alternaria* spp (58%) y *Epicoccum* spp (13,6%), se incluyen *Drechslera* spp (7,0%), *Pleospora* spp (6,2%), *Leptosphaeria* spp (1,9%), tipo-*Venturia* (1,8%), *Paraphaeosphaeria* spp (1,4%), *Pithomyces* spp (1,2%), *Lophiostoma* spp (1,2%), *Bipolaris* spp

(1,0%), y otras taxones que individualmente no superan el 1% (incluyen especies de *Comoclathris*, *Corynespora*, *Cucurbitodithis*, *Curvularia*, *Delitschia*, *Dendryphion*, *Didymella*, *Embellisia*, *Exserohilum*, *Fusicladium*, *Helminthosporium*, *Leptosphaerulina*, *Lewia*, *Massarina*, *Phaeosphaeria*, *Rebentischia*, *Sporidesmium*, *Sporormiella*, *Tetraploa* y *Ulocladium*). Los fragmentos de hifas dematiáceas se observaron con frecuencia, correspondiendo a un 13% del total de estructuras micóticas sobre estas superficies. El número reducido de estudios que emplearan este método para la identificación de esporas no viables sobre superficies, impiden una comparación más provechosa de nuestros resultados. En el estudio de hongos toxigénicos en ambientes recreacionales, **Zudakin & Fallah (2008)** encontraron entre las principales esporas de *Pleosporales* en ambientes exteriores a Tipo-*Phoma*, *Pleospora* spp, *Epicoccum* spp, *Alternaria* spp, *Phaeosphaeria* spp, *Curvularia* spp y Tipo-*Bipolaris*. En contraste, la cuantificación e identificación de hongos sobre superficies empleando métodos viables suele ser más extendida. Nosotros empleamos la técnica del escobillón estéril, que a pesar de que no ofrece resultados tan fiables como cuando se emplea un método de captura del material sedimentado por dispositivos que emplean vacío, permite caracterizar la micoflora presente en las superficies de una manera comparable (**Lignell 2008**). En las superficies exteriores estudiadas el promedio de UFC/cm² fue 11,4 (rango 0,0 - 108,0). El invierno fue el periodo cuando se encontraron las mayores concentraciones de UFC/cm² (36,3%), mientras que durante el otoño y la primavera los recuentos fueron más bajos (30,0 y 21,5%, respectivamente), el verano presentó los niveles más bajos (12,2%), debido principalmente al efecto germicida del sol que es más prolongado sobre las células depositadas sobre una superficie y a la mayor desecación durante esta época. Estos resultados son opuestos a lo hallado en el aire, donde los recuentos mayores se presentaron en la primavera y los menores en el invierno. Los taxones más frecuentemente recuperados en estos ambientes fueron *Cladosporium* spp (64,3%), *Alternaria* spp (8,0%), *Penicillium* spp (6,5%), *Epicoccum* spp (4,1%) y levaduras (5,5%). Entre los *Pleosporales* adicionales a *Alternaria* spp (59,5%) y *Epicoccum* spp (30,2%), también se aislaron colonias de *Phoma* spp (1,7%) y *Stemphylium* spp (1,2%). Otros taxones recuperados y que no superaban individualmente el 1% fueron *Bipolaris* spp, *Curvularia* spp, *Drechslera* spp, *Helminthosporium* spp, *Pithomyces* spp y *Ulocladium* spp. **Levetin & Dorsey (2006)** encontraron que sobre las hojas de plantas en el exterior (filoplano) predominan, además de las UFC de *Cladosporium* spp, *Aureobasidium* spp y levaduras, especies de *Phoma*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Drechslera*, *Curvularia* y *Pithomyces* y a pesar de que los picos más altos se presentaron durante el verano, fueron más comunes durante la primavera y el otoño. De igual manera **Sudakin & Falla (2008)** y **Viegas et al. (2011)**, en superficies del exterior de las edificaciones de zonas urbanas, encontraron colonias de *Alternaria* spp, *Epicoccum* spp y *Phoma* spp, sin embargo, ninguno de estos autores estudió el comportamiento estacional.

Niveles de esporas y UFC totales y de Pleosporales en superficies de ambientes interiores en Barcelona

Con respecto a la contaminación de superficies por hongos en el interior de las viviendas, **Horner et al. (2004)** estableció que en condiciones normales, es decir sin problemas de humedad evidentes, las concentraciones serán de $3,1 \times 10^5$ UFC/gramo de polvo (valores extremos $2,7 \times 10^4$ a $5,2 \times 10^5$ UFC/g). Poco se ha legislado sobre este aspecto, pero existen niveles de hongos merecedores de especial atención en habitaciones de viviendas o de ambientes laborales (tabla N° 3.19).

Tabla N° 3.19. **Niveles de esporas de hongos merecedores de atención en superficies de ambientes interiores.**

	Unión Europea ¹	OSHA ²
Sin riesgo	< 20 UFC/dm ²	-
Riesgo leve	20 – 50 UFC/dm ²	-
Riesgo alto	50 – 100 UFC/dm ²	-
Anormal extremo	> 100 UFC/dm ²	> 1,000,000 UFC/g

Los valores se refieren a superficies que están sujetas a prácticas de limpieza comunes.

¹. **SBM-2008**. Supplement to the Standard of Building Biology Testing Methods. Building Biology Evaluation. Guidelines for Sleeping Areas.

². **OSHA 3304-04N (2006)**. Occupational Safety and Health Administration. USA.

Las esporas totales en las superficies de las viviendas de Barcelona presentaron un promedio de 3,9 esp/cm² (rango 0,0 a 49,8). Nuestros resultados fueron muy inferiores a los informados por **Niemier et al. (2006)**, sin embargo hay que destacar que el promedio de 82 UFC/cm² reportado por este autor fue recuperado de viviendas con problemas de humedad. Múltiples autores han estudiado los niveles de esporas y UFC de hongos en el polvo sedimentado, sin embargo los resultados numéricos no son comparables (si los taxones aislados), ya que han empleado técnicas de captura del polvo por medio de vacío y por tanto expresan los resultados en UFC/gramo de polvo. A pesar de los bajos recuentos, se observa un cierto patrón estacional, siendo el otoño la estación con mayores recuentos (31,4%), seguido por la primavera (25,8%), el verano (24,3%) y el invierno (18,5%). Este patrón difiere del observado para las UFC en el aire interior, donde las mayores concentraciones se presentaron durante la primavera, seguidas por niveles de casi la mitad en verano. Nuevamente, las UFC de *Cladosporium* spp fueron las más frecuentemente recuperadas (44,4%), también predominaron las colonias de *Penicillium* spp (27,6%), levaduras (11,5%), *Alternaria* spp (6,8%) y *Aspergillus* spp (4,3%). Dentro de los *Pleosporales*, *Alternaria* spp correspondió al 87% de las UFC y *Epicoccum* spp al 11,2%. Otros taxones de *Pleosporales* observados sobre las superficies del interior de las viviendas pero que no superaron el 1% en los recuentos fueron *Bipolaris* spp, *Drechslera* spp, *Phoma* spp, *Stemphylium* spp y *Ulocladium* spp. Estos taxones se corresponden con los observados en el polvo depositado en el interior de las edificaciones en otros estudios, aunque hay diferencias en la frecuencia de aparición, ya que en la mayoría de los casos predominan las colonias de *Penicillium* spp (**Pasanen et al. 1997**, **Chao et al. 2001**, **Chew et al. 2003**, **Hicks et al. 2005**, **Niemier et al. 2006**, **Lignell et al. 2008**).

Relación I/O para esporas y UFC totales y de Pleosporales en la ciudad de Barcelona

Debido a que los niveles de hongos pueden ser influenciados por una gran variedad de condiciones medioambientales y humanas que se presentan en el momento de muestreo y puede haber grandes variaciones entre domicilios, se recomienda la aplicación de la proporción Indoor/Outdoor (I/O) a los datos aerobiológicos que pretendan establecer la calidad microbiológica del aire en ambientes intramurales (**Meldrum et al. 2002**). La proporción I/O es un buen indicativo ya que tiene en relación las concentraciones del exterior e interior. Una proporción I/O menor o igual a 1 en ambientes residenciales sin problemas generalmente indica un balance fúngico “sano” en el interior, con buena ventilación natural y señala a los hongos del exterior como el principal origen de hongos intradomiciliarios (**Cheong et al. 2004**). I/O mayores a 1 indican generalmente que los niveles del exterior no están contribuyendo (al menos únicamente) a los niveles del interior y que no se puede descartar un origen interior de hongos. Los resultados de nuestro estudio mostraron una relación I/O general de 0,6 para el conteo total de esporas en el aire, mientras que para las UFC totales fue de 0,5. En cuanto a las superficies, para las esporas totales fue de 0,2 y para las UFC totales 0,3. Con respecto al comportamiento estacional, tanto las esporas totales como las UFC en el aire tuvieron una relación I/O entre 0,4 y 0,7, siendo menor durante el otoño (0,4) y mayor durante la primavera (0,7). Para las superficies, la relación I/O fue muy baja, con un valor mínimo de 0,1 para las esporas totales durante el invierno y máximo de 0,7 para las UFC en el verano. A nivel de viviendas, el 10% de éstas presentaron una relación I/O superior a 1 durante el verano para esporas totales, y el 13,3% para UFC totales. Con respecto a la sumatoria de los *Pleosporales*, durante el verano la relación I/O en las viviendas fue superior a 1 en el 18,3% de los casos para las esp/m³ y en el 11,7% de los casos para las UFC/m³. Todas estas viviendas se encontraban ubicadas en el ambiente urbano y la mayoría pertenecían al grupo ND. Durante el otoño, el 15,0% de las viviendas presentaron una relación I/O superior a 1 para esporas totales y el 13,3% para las UFC totales; y el 15,0% para esporas y el 10% para UFC de *Pleosporales*. En el invierno, el 18,3% de las viviendas tuvieron una relación I/O superior a 1 para las esporas totales y el 16,7% para UFC totales; en cambio para esporas y UFC de *Pleosporales* el porcentaje de viviendas con una relación I/O menor a 1 fueron del 21,7% y 13,3%, respectivamente. Finalmente, durante la primavera, las viviendas con una relación I/O superior a 1 fueron el 20% para las esporas totales y el 18,3% para las UFC totales, mientras que para *Pleosporales* fue 13,3% para las esp/m³ y 20% para las UFC/m³. Cabe destacar que las viviendas con I/O superiores a 1 por el método para esporas totales no eran las mismas que las de I/O mayor a 1 con el método para UFC totales, pero que si se observó correspondencia entre I/O superiores a 1 de

esporas y/o UFC totales con esporas y/o UFC de *Pleosporales*, respectivamente. No se halló correspondencia con la ubicación urbana, semiurbana o rural de la vivienda; fue más común en las viviendas del grupo ND.

Relación entre características de las viviendas y niveles de hongos:

Las características de las viviendas tienen una influencia importante en los niveles de hongos en el interior, sin embargo hay que enfatizar el papel preponderante del ambiente exterior circundante sobre el tipo y concentración de propágulas micóticas intramurales. Un gran número de variables han sido tenidas en cuenta en múltiples estudios como posibles predictores de los niveles de hongos, entre ellos la presencia de humedad sobre techos, paredes o superficies, el tipo de construcción (material de construcción), ubicación de la vivienda (entorno urbano, semiurbano o rural), tipo de ventilación (natural o mecánica), tenencia de mascotas, presencia de plantas de interior y uso de tapetes o moquetas (Li & Hsu 1997, Dharmage et al. 1999, Yazicioglu et al. 2004, Roussel et al. 2008). En nuestro estudio, las viviendas tipo casa del grupo SA ubicadas en ambientes semiurbanos o rurales están asociadas a mayores concentraciones de algunos taxones de ascosporas, UFC de *Alternaria* spp y niveles de Alt a 1 en el interior, mientras que en el exterior se asocia nuevamente con mayores concentraciones de ascosporas, además de conidias de *Bipolaris* spp y *Drechslera* spp. En ambientes exteriores rurales y semiurbanos, se encontraron mayores niveles de esporas totales/m³, UFC totales/m³, fragmentos de hifas dematiáceas, esporas y conidias de *Pleosporales* y UFC de *Alternaria* spp, *Epicoccum* spp y *Pleosporales* totales. Las viviendas tipo apartamento solo estuvieron relacionadas con las concentraciones de UFC de *Epicoccum* spp, tal como ha sido observado por otros autores que encontraron que este tipo de viviendas estuvieron significativamente menos contaminados que las casas (Chew et al. 2003). La ausencia o bajos niveles de tráfico vehicular en áreas aledañas a las viviendas se relacionó significativamente con los niveles del alérgeno Alt a 1, algunas ascosporas y con las concentraciones de UFC totales y *Epicoccum* spp en el interior, y UFC de *Alternaria* spp y *Pleosporales* totales. El piso de la vivienda tipo baldosa influyó los niveles de Alt a 1, mientras el tipo moqueta se asoció con las concentraciones de ascosporas, los fragmentos de hifas dematiáceas y conidias de *Epicoccum* spp, sin embargo no fue posible determinar un cambio significativo en la flora asociado al tipo de piso, tal y como ha sido observado en otros estudios (Chew et al. 2003) debido a principalmente al bajo número de viviendas con moquetas o alfombras incluidas en nuestro estudio. La aparición de problemas de humedad sobre paredes o techo se relacionó levemente con las UFC de *Epicoccum* spp, no obstante el bajo número de viviendas (2) que presentaron problemas de humedad durante el estudio no permite establecer ninguna correlación entre este factor y la presencia de hongos tal como se ha demostrado en otros trabajos (Garrett et al. 1998). En cuanto a la frecuencia de aseo de las habitaciones, solo cuando se realizaba día por medio se observó correlación con las concentraciones de Alt a 1 y las conidias de *Ulocladium* spp; frecuencias de aseo más largas se asociaron con los niveles de UFC de *Epicoccum* spp, debido principalmente a la acumulación del polvo sobre las superficies; a diferencia de otros estudios donde encontraron disminución en los niveles de marcadores de contaminación micótica como el ergosterol cuando la frecuencia de limpieza era menor a una vez por semana (Sordillo et al. 2011). El barrido del piso fue el método de limpieza más utilizado en ambos grupos y se correlacionó con los *Pleosporales* totales. El trapeado estuvo levemente correlacionado con los niveles de Alt a 1. Otras actividades de limpieza no mostraron un efecto estadísticamente significativos sobre los niveles y tipos de hongos tal como ha sido observado por otros autores, y el número de viviendas que empleaban la aspiradora como método de limpieza fueron muy escasas en nuestro estudio, por lo que no fue posible establecer su correlación de disminución en los recuentos de esporas y niveles de alérgenos (Dharmage et al. 1999, Nambu et al. 2009). Tener mascotas, principalmente perros, estuvo ligeramente relacionado con los niveles de Alt a 1, lo que puede asociarse a la acumulación de polvo y humedad sobre las camas de los animales y la entrada de polvo desde el exterior en el pelaje de los animales tal como se ha observado en otros estudios (Dharmage et al. 1999, Ren et al. 2001, Sordillo et al. 2011), sin embargo no se encontró asociación con las concentraciones de *Alternaria* como si fue observado por Chew et al. (2003). El tener gatos se asoció con los niveles de esporas de *Ulocladium* spp, y otro tipo de mascotas (pájaros o hámsteres) se relacionaron con las esporas de *Drechslera*. Las horas directas de sol llegando a la habitación, principalmente cuando excedían las 2

horas, tuvieron un efecto sobre los niveles de Alt a 1, ascosporas bicelulares y conidias de *Stemphylium* spp. Las ventanas abiertas (ventilación natural) fue el método de enfriamiento del aire más empleado, sin embargo periodos prolongados de ventanas abiertas se asociaron con el incremento de la concentración de ascosporas y conidias de *Drechslera* y *Curvularia* en el interior, comportamiento similar al observado por **Dharmage et al. (1999)** y **Nambu et al. (2009)** que observaron que las ventanas cerradas y el uso de otros sistemas de enfriamiento del aire como el ventilador o el aire acondicionado tenían un efecto protector contra los hongos. Trabajos de construcción en el interior de las viviendas o en zonas aledañas, se vieron relacionados con los recuentos de esporas de *Pleosporales* totales y *Didymella* spp en el interior y con las concentraciones de esporas de *Delitschia* spp, *Lophiostoma* spp y *Bipolaris* spp en el exterior, sin embargo no presentaron ninguna relación con las de UFC. En nuestro estudio no se encontró correlación entre la presencia de plantas de interior y los niveles ni tipos de hongos en el interior de las viviendas, a diferencia de lo encontrado en otros estudio (**Roussel et al. 2008**).

Concentraciones de Alt a 1 en ambientes interiores en Barcelona.

Alt a 1 es el alérgeno mayor de *Alternaria alternata*, capaz de despertar una respuesta tipo IgE en más del 80% de los individuos sensibilizados a este hongo (**Asturias et al. 2005**). Por esta razón, las conidias y colonias de este género suelen ser las más comúnmente incluidas en los análisis aerobiológicos de hongos, tanto en el interior como en el exterior de las edificaciones (**Peternel et al. 2004**, **Gómez de Ana et al. 2006**, **Oliveira et al. 2010a**, **Feo et al. 2012**, **Skjøth et al. 2012**, **Aria et al, 2013**). No obstante, esta proteína no es exclusiva de *A. alternata*, ya que se ha podido identificar su presencia en otras especies de este género y en otros géneros relacionados, inclusive en concentraciones superiores a las descritas para esta especie (**Hong et al. 2005**, **Martínez et al. 2006**, **Sáenz de Santamaría et al. 2006**, **Gutiérrez-Rodríguez et al. 2011**, **Postigo et al. 2011**). En adultos se ha demostrado que la severidad del asma está asociada con la sensibilización a *Alternaria* y *Cladosporium* (**Zureik et al. 2002**). Diversos estudios han tratado de establecer los niveles de Alt a 1 en muestras de aire y en polvo empleando la técnica de ELISA, tratando de asociarlos con la aparición y la severidad de los síntomas en individuos sensibilizados a *A. alternata* (**Flückiger et al. 2000**, **Barnes et al. 2001**, **Salo et al. 2005**, **Prester & Macan 2010**, **Feo et al. 2012**, **Grimsley et al. 2012**), encontrando relación entre los niveles de Alt a 1 y el aumento de los síntomas, pero no en todos los casos se encontró relación directa entre los conteos de esporas o UFC del hongo y los niveles del alérgeno. **Feo et al. 2012**, en un estudio realizado en Ciudad Real (España), encontró que los síntomas en pacientes sensibilizados a *A. alternata* muestran una asociación significativa con los conteos del hongo y los niveles de Alt a 1 en muestras de aire en el exterior, con la mayor exacerbación de los síntomas durante el mes de mayo cuando los niveles de Alt a 1 en el aire alcanzaron una concentración de 20,7 pg/m³. En este mismo estudio se determinó que un incremento de 10 pg/m³ en los de niveles de Alt a 1 puede causar un aumento en la cantidad de síntomas en un lapso de 3 días, por lo cual estos autores concluyen que la determinación de los niveles de Alt a 1 en el aire pueden predecir el riesgo de síntomas respiratorios en los individuos sensibilizados a este hongo, aunque no es posible correlacionar los conteos bajos de *Alternaria* con niveles bajos del alérgeno. **Grimsley et al. (2012)** observaron altos niveles del alérgeno Alt a 1 en viviendas que sufrieron daños por el huracán Katrina en New Orleans, sin embargo no encontraron correlación con la exacerbación de los síntomas en los individuos que vivían allí. En nuestro estudio, los niveles de Alt a 1 en las muestras de polvo del interior de las viviendas estuvieron en el rango de 0,5 - 16,6 ng/g, con un promedio de 5,6 ng/g, muy por debajo del observado por otros autores en guarderías, viviendas con problemas de humedad y granjas de aves de corral (**Arbes et al. 2005**, **Salo et al. 2005**, **Prestler & Macan 2010**, **Grimsley et al. 2012**) y superior al informado por **Barnes et al. (2001)** en edificios aparentemente libres de problemas de humedad. En contraste, varios estudios informan la ausencia de Alt a 1 (niveles por debajo de los límites de detección), en algunos casos a pesar de encontrar niveles significativos de esporas o UFC de *Alternaria* en las muestras de polvo (**Mi et al. 2002**, **Asturias et al. 2003**), esto puede ser debido a la baja sensibilidad de la técnica de medición de Alt a 1. También ha sido informado el comportamiento contrario, cuando se detectan niveles de los alérgenos de *Alternaria* a pesar de la ausencia de UFC del hongo en el aire (**Peters et al. 2008**). Estos resultados están asociados al uso exclusivo de métodos viables, basados en cultivo, para la

búsqueda del hongo en el aire y las superficies, lo que infravaloraría aquellas conidias no viables pero que conservan su capacidad alergénica o los bajos niveles de *Alternaria* en el ambiente pero la presencia de otros *Pleosporales* en cantidad significativa. En nuestro estudio, los niveles de Alt a 1 se correlacionaron significativamente con las viviendas tipo casa ubicadas primordialmente en áreas urbanas, tal y como fue descrito por **Salo et al. (2005)**, quien encontró relación significativa entre los niveles del alérgeno, las edificaciones unifamiliares y el grado de urbanización. Adicionalmente, Alt a 1 fue detectada principalmente en los hogares de individuos alérgicos, resultados similares a los hallados por **Barnes et al. (2001)** que cita mayores niveles de este alérgeno en casas de pacientes asmáticos comparados con casas de no asmáticos. A pesar de que en nuestro estudio solo se muestreó Alt a 1 durante las épocas de verano y primavera, se observaron diferencias entre los niveles en ambas estaciones, siendo significativamente superiores durante el verano y correlacionándose con los niveles de *Alternaria* spp en el aire, a diferencia de los hallazgos de **Feo et al. (2012)** que encontró los mayores niveles de esporas del hongo durante el verano pero las mayores concentraciones del alérgeno en la primavera y el otoño. Nuestros resultados también difieren del hallazgo de niveles más elevados de Alt a 1 en otoño y mínimos durante la primavera de **Cho et al. (2006)** en USA. Es importante aclarar que, aunque coinciden los periodos de mayores niveles de *Alternaria*, *Stemphylium*, *Drechslera* y casi todas las ascosporas de *Pleosporales* observadas con los mayores niveles de Alt a 1, los tests estadísticos empelados no demostraron significancia estadística. La frecuencia de aseo del tipo día por medio fue la más asociada con los niveles de Alt a 1, a diferencia de la semanal observada por **Salo et al. (2005)**. El poseer mascotas, principalmente perro, también se asoció a los niveles de Alt a 1, tal y como lo observó **Salo et al. (2005)** y **Cho et al. (2006)**. De igual manera como sucedió con las esporas y las UFC de *Alternaria*, la ventilación natural, con periodos de más de ocho horas de ventanas abiertas, se correlacionaron positivamente con los niveles de Alt a 1 en el interior de la vivienda. No se encontró asociación entre la presencia de plantas de interior ni problemas de humedad en paredes y techo con los niveles de Alt a 1, al igual que lo reportado por **Cho et al. (2006)**. Es de resaltar que **Cho et al. (2006)** encontró niveles superiores del alérgeno Alt a 1 en otras partes de las viviendas diferentes a las habitaciones, sin embargo en nuestro estudio esta determinación solo se realizó en la habitación del individuo participante en el estudio.

Comportamiento aerobiológico de los taxones de Pleosporales observados en ambientes interiores y exteriores de la ciudad de Barcelona.

Comoclathris. De este taxón no existen evidencias de su compromiso en enfermedad alérgica, sin embargo su cercanía filogenética a *A. alternata*, sugiere la presencia de proteínas homólogas a los alérgenos descritos para este taxón. Por su similitud con *Pleospora* suele informarse dentro del grupo tipo-*Pleospora* (**Hernández et al. 2012**), lo cual conlleva su subregistro y subvaloración de su importancia real como componente de la flora micótica del aire. Ascosporas del tipo *Comoclathris* han sido informadas como componentes de la aerospora en Pakistán en niveles que no superan el 1% del total de esporas (**Hasnain et al. 2012**). En nuestro estudio en Barcelona, *Comoclathris* no fue encontrada en el aire en el interior de las viviendas, mientras que en el exterior correspondió solo al 0,07% de las esporas de *Pleosporales* (0,004% del total de esporas). Sobre las superficies aportó solo el 0,26% (0,04% del total) y 0,17% (0,047% del total) de las esporas de *Pleosporales* en las superficies interiores y exteriores, respectivamente. Fue recuperada exclusivamente en ambientes semiurbanos y más comúnmente en el exterior de las viviendas del grupo SA, en especial de aquellos que sufrían asma y conjuntivitis. Este taxón presentó una correlación positiva baja con la temperatura en el exterior y fue más común durante los días lluviosos. Sus bajos niveles no permiten dilucidar su comportamiento estacional.

Cucurbitidhis. No se ha descrito la prevalencia de sensibilización a este agente ni su relación con cuadros alérgicos, tampoco se conoce de la presencia en su genoma de secuencias homólogas con alérgenos de otros *Pleosporales*. No hay registro de su presencia en la aerospora. En nuestro estudio no se presentó en el aire de ambientes interiores y en exteriores correspondió al 1,1% de las esporas de *Pleosporales* (0,07% del total de esporas), mientras que en las superficies significó el 0,5% en interiores (0,07% del total) y el 0,55% en las superficies exteriores (0,15% del total). Los niveles de

ascosporas de *Cucurbitodithis* presentaron una leve correlación positiva con la temperatura exterior. Sus concentraciones fueron mayores en el exterior de las viviendas del grupo SA, principalmente de los que tenían diagnóstico de conjuntivitis. Sus esporas se presentaron principalmente en verano. En las superficies interiores se asociaron a la presencia de moqueta.

Delitschia. Sus ascosporas han sido reportadas ocasionalmente y en bajos niveles en monitoreos aerobiológicos, principalmente de ambientes exteriores. **Docampo et al. (2010)** la encontraron haciendo parte de la aerospora de una cueva turística en España, **Magyar et al. (2009)** en la atmósfera de viñedos en Italia y **Hasnain et al. (2012)** la recuperó del aire exterior en la ciudad de Karaki en Pakistán, en todos los casos correspondiendo a menos del 1% del total de esporas. En Barcelona las ascosporas de *Delitschia* representaron el 0,55% (0,02% del total) y el 0,21% (0,005% del total) de los *Pleosporales* en el aire interior y exterior, respectivamente. En superficies correspondieron al 0,37% (0,05% del total) en interiores y 0,85% (0,24% del total) en exteriores. Este taxón no se correlacionó significativamente con ninguna variable atmosférica durante el periodo de estudio. Sus concentraciones fueron mayores en el aire de los ambientes exteriores de las casas del grupo SA en áreas rurales y en las superficies de ambientes exteriores durante el otoño, el invierno y la primavera. Sus bajas concentraciones no permiten establecer un patrón estacional.

Diapleella. Esta spora es de aparición ocasional en el aire y rara vez se informa en los monitoreos aerobiológicos. **Magyar et al. (2009)** la reportó siendo menos del 1% de las esporas recuperadas durante tres años en una zona de viñedos en Italia (101 esporas durante todo el periodo). En nuestro estudio solo fue encontrada en la atmósfera del grupo ND, representando el 0,37% (0,015% del total de esporas) de los *Pleosporales* totales en aire interior y el 0,3% (0,002% del total) en el exterior. *Diapleella* spp solo estuvo correlacionada débilmente en ambos ambientes con la lluvia previa al muestreo.

Didymella. *Didymella* ha sido asociado con manifestaciones alérgicas, principalmente con el asma de finales de verano en Inglaterra (**Frankland & Gregory 1973, Harries et al. 1995**). Las concentraciones descritas para este taxón en diferentes zonas geográficas varían significativamente, desde aparición ocasional o menor a 1 UFC/m³ (**Gonianakis et al. 2005, Oliveira et al. 2010**), valores cercanos a 300 esp/m³ en zonas urbanas (**Atkinson et al. 2006, Grinn-Gofroñ et al. 2008**) y hasta 8339 esp/m³ en un ambiente rural (**Docampo et al. 2010**). **Fairs et al. (2010)** encontró ascosporas de *Didymella* como uno de los taxones más frecuentes, tanto en el interior como en el exterior de viviendas en Leicestershire (Reino Unido), resaltando la marcada diferencia entre las concentraciones mínimas y máximas, que van desde cercanas a cero esporas/m³ a más de 40000 esp/m³/día, las cuales tendieron a desaparecer rápidamente del aire. En nuestro estudio *Didymella* spp solo representó el 0,65% (0,026% del total) de la aerospora de *Pleosporales* en interiores y el 0,27% (0,09% del total) de las esporas de *Pleosporales* sobre superficies en el exterior. Con respecto a su asociación con las variables ambientales, se ha descrito un aumento de sus niveles en el interior y el exterior relacionado con alta humedad y periodos de lluvia (**Corden & Millington 1994, Fairs et al. 2010**), adicionalmente se ha observado una correlación negativa con la temperatura (**Oliveira et al. 2009, Fairs et al. 2010, Stępańska et al. 2012**). Ninguna de estas asociaciones fue encontrada en nuestro estudio debida a los bajos niveles encontrados en estos ambientes. En el estudio realizado por **Fairs et al. (2010)** los mayores niveles se presentaron en el verano y los más bajos durante el invierno, aunque en el otoño y la primavera fueron ligeramente superiores a los observados en el invierno. En Barcelona, los niveles fueron constantemente bajos, ligeramente más elevados durante la primavera y el verano. Para **Fairs et al. (2010)** existió correlación entre los niveles de las ascosporas de *Didymella* y las viviendas tipo casa, lo cual no se observó en nuestro estudio, en cambio nosotros observamos una relación significativa con el ambiente rural y menos clara con la presencia de moquetas, las horas de ventilación natural de la habitación y los trabajos de construcción en zonas aledañas. **Fairs et al. (2010)** también encontró relación de los niveles de *Didymella* en el aire intramural con la presencia de gatos en la vivienda, característica no hallada en nuestro estudio.

Leptosphaerulina. Es muy escasa la evidencia directa sobre la relación de antígenos de este género y el desarrollo de alergia (Burge et al. 1986), no obstante, Green et al. (2005) empleando el inmunoensayo halógeno, demostró la presencia de alérgenos en sus ascosporas. Este *Pleospora* es informado con relativa frecuencia en la atmósfera de diversas zonas geográficas, pero debido a su morfología, algunos autores la han incluido dentro del grupo de esporas tipo-*Pleospora* (Hernández et al. 2012) de ahí el subregistro de su verdadera prevalencia en el aire. Díez et al. (2006) reportaron que el 0,02% de esporas en el aire de Madrid (España) son *Leptosphaerulina* y que se presentó en el 0,8% de los días en el año 2003. Gonianakis et al. (2005) la encontraron ocasionalmente en el aire exterior de la ciudad de Creta, Grecia. En Melbourne (Australia), Mitatakis & Guest (2001) representó el 0,03% de la aerospora. Empleando qPCR y análisis de secuencias, Yamamoto et al. (2012) estableció que la abundancia relativa de *Leptosphaerulina* en el aire de New Heaven, Connecticut (USA) era del 4,9% del total de *Ascomycota*, siendo inclusive más frecuente que *Cladosporium* y *Epicoccum*. Empleando también técnicas moleculares, Amend et al. (2010) estableció en muestras de polvo del interior de edificaciones de todos los continentes, que *Leptosphaerulina* se encuentra en todas las latitudes, sin embargo es más común en zonas tropicales. En este mismo sentido, Pitkäranta et al. (2011) encontró que este taxón era uno de los grupos dominantes en las muestras de polvo del interior de edificios en Finlandia. En nuestro estudio las ascosporas de *Leptosphaerulina* representaron el 0,28% de las esporas de *Pleosporales* en el interior de las viviendas (0,011% del total) y el 0,29% del exterior (0,019% del total). Con respecto a las superficies, este hongo correspondió al 0,74% (0,11% del total) de los *Pleosporales* sedimentados en el interior y al 0,15% en el exterior (0,036% del total). Sus ascosporas en el interior estuvieron leve pero positivamente correlacionadas con la temperatura y la humedad relativa, pero altamente y positivamente influenciadas por la temperatura exterior. Los niveles de *Leptosphaerulina* estuvieron correlacionados levemente con los ambientes exteriores del grupo ND y fueron más altos cuando el clima era lluvioso durante el muestreo, además fueron significativamente mayores durante el verano en las superficies exteriores. Debido a los bajos recuentos no fue posible determinar algún patrón estacional.

Leptosphaeria. Su asociación con manifestaciones alérgicas ha sido descrita desde 1931, apoyada principalmente en los conteos aerobiológicos de sus ascosporas combinados con la incidencia regional de enfermedades alérgicas, particularmente el asma bronquial de finales de verano y otoño (Hasnain 1993b). También en México los niveles altos de *Leptosphaeria* han sido relacionados con el incremento de visitas a los servicios de urgencias de niños asmáticos (Rosas et al. 1998). Se ha demostrado la presencia de una secuencia homóloga de Alt a 1 en el genoma de *Leptosphaeria* con una identidad de 63,2% y similitud de 85,8% con la Alt a 1 nativa de *A. alternata* (Chruszcz et al. 2012). La presencia de este taxón en la aerospora varía enormemente entre los diferentes ambientes, principalmente asociado a las zonas de cultivo susceptibles a la infección. En España, *Leptosphaeria* fue la ascospora más frecuente en el aire de Mérida con una media diaria de 54 esp/m³ (Fernández et al. 2012); en un cultivo irrigado en Badajoz, esta ascospora alcanzó medias entre 20 - 83 esp/m³ (Muñoz et al. 2010) y en Madrid correspondió al 1,48% del total de esporas (Díez et al. 2006). En Portugal correspondió al 1% de las esporas, tanto en el interior como en el exterior, en Oporto (Oliveira 2009a) y al 0,16% del total de esporas, en dos áreas, rural (media 2,1 esp/m³) y urbana (media 0,5 esp/m³) (Oliveira et al. 2010a y 2010b). En Italia un ambiente rural con viñedos el promedio de esta ascospora fue de 6,7 esp/m³ (Magyar et al. 2009). En Grecia representó el 6,54% de las ascosporas en el aire, con una concentración promedio de 14,3 esp/m³ en la isla de Creta (Gonianakis et al. 2005) y correspondió al 1,23% del total de esporas en Thessaloniki (Gioulekas et al. 2004). En un área semiurbana de India, las ascosporas de *Leptosphaeria* significaron el 0,3% del total (Das & Gupta-Bhattacharya 2008) mientras que en el exteriores de una zona industrial fue el 0,18% del total (Gaikwad & Sonawane 2012). En la ciudad de Karachi (Pakistán), *Leptosphaeria* fue menos del 1% del total de esporas (Hasnain et al. 2012). En Melbourne (Australia) correspondió al 14,9% de la aerospora (Mitatakis & Guest 2001). En ambientes interiores, Tormo-Molina et al. (2012) reportó que las ascosporas de este taxón representaron el 3,4% del total de esporas en un ambiente hospitalario, comparado con el 4,2% que representó en los ambientes exteriores de este mismo sitio. En nuestro estudio en Barcelona, *Leptosphaeria* spp correspondió al 16,39% de los

Pleosporales totales (0,67% del total de esporas) en el aire interior y al 8,5% de los *Pleosporales* totales (0,54% del total de esporas) en el exterior. En superficies este taxón no es usualmente informado, pero en nuestro estudio correspondió al 2,28% de los *Pleosporales* en el interior (0,541% del total) y al 1,91% en el exterior (0,539% del total), siendo significativamente más abundante en las superficies exteriores. Con respecto a la estacionalidad, *Leptosphaeria* spp no presenta un patrón bien establecido, no obstante alcanzó sus valores máximos durante la primavera en Barcelona, lo cual está acorde a los hallazgos de **Hernández et al. (2012)** en España y **Oliveira et al. (2010a y 2010b)** en Portugal, quienes encontraron que las concentraciones incrementaban durante la primavera y el otoño y **Gonianakis et al. (2005)** en Grecia quienes las observaron durante la primavera. En Nueva Zelanda este patrón difiere con los nuestros ya que los mayores niveles se observaron en a finales de verano e inicios de otoño (**Hasnain 1993a**). Estos niveles de esporas suele correlacionarse positivamente con los eventos de lluvia (**Gonianakis et al. 2005, Oliveira et al. 2009b y 2010a, Hernández et al. 2012**), tanto previa al muestreo (**Hasnain 1993**) como hasta 3 días después (**Oliveira et al. 2010a**). En nuestro caso solo se observó una correlación positiva, pero leve, entre la lluvia y las concentraciones de *Leptosphaeria* en el aire interior. Se ha descrito una correlación negativa entre la temperatura y la liberación de estas ascosporas (**Oliveira et al. 2009b, Hernández et al. 2012**), efecto contrario al observado en nuestro estudio, ya que se observó una correlación débil entre la temperatura interior y exterior con los niveles de *Leptosphaeria* en el aire de interiores y exteriores, adicionalmente encontramos una relación alta entre la humedad relativa en el interior y los niveles en el aire interior, similar a lo observado por **Oliveira et al. (2009b) y Hernández et al. (2012)** pero en exteriores. En nuestros hallazgos podemos resaltar que las concentraciones de *Leptosphaeria* spp fueron significativamente mayores en los ambientes exteriores de las viviendas tipo casa del grupo SA en ambientes semiurbanos. Para **Hasnain (1993)** y **Oliveira et al. (2010b)** los recuentos fueron mayores en áreas rurales, sin embargo en nuestro estudio no es posible confirmar este hallazgo por solo tener una vivienda ubicada en este tipo de ambientes.

Lewia. No hay informes de la prevalencia de sensibilización a este hongo, pero se ha demostrado la presencia de una secuencia homóloga de Alt a 1 en su genoma con una identidad de 66,9% y similitud de 84,5% con la Alt a 1 nativa de *A. alternata* (**Chruszcz et al. 2012**). **Fairs et al. (2010)** informa la presencia de ascosporas de *Lewia* en bajas concentraciones, tanto en interiores como exteriores, sin embargo la incluye dentro del grupo *Pleospora/Lewia* sin aclarar si existían diferencias entre estos dos taxones. **Amend et al. (2010)** reporta que el ADN de este taxón es frecuente en el polvo del interior de edificios alrededor del mundo, especialmente en zonas tropicales. En Barcelona, las ascosporas de *Lewia* se presentaron en bajas concentraciones durante todo el año, tanto en el interior como en el exterior de las viviendas. Este tipo de esporas correspondieron al 0,46% (0,019% del total) y al 0,65% (0,042% del total) de los *Pleosporales* totales en el aire interior y exterior, respectivamente. Sobre las superficies representaron el 0,31% en interiores (0,047% del total) y el 0,13% en exteriores (0,036% del total). Los niveles de *Lewia* no se correlacionaron con las variables ambientales, no obstante sus recuentos se vieron ligeramente influenciados con la lluvia un día antes y horas previas al muestreo. *Lewia* fue más común en ambientes exteriores a las casas del grupo SA y se asoció levemente con la presencia de plantas en el interior de la vivienda.

Lophiostoma. No hay registros de prevalencia de sensibilización a *Lophiostoma* ni proteínas alergénicas asociadas. Sus características morfológicas similares a otros taxones, ha sido la causa de que este hongo presente un subregistro en la aerospora. **Hernández et al. (2012)** la ha incluido dentro del tipo-*Pleospora* en su estudio realizado en Mérida (España). **Díez et al. (2006)** la informó como taxón individual en el aire de Madrid correspondiendo a menos del 0,01% de las esporas totales y presentándose solo en el 0,3% de los días muestreados. **Magyar et al. (2009)** también observó este tipo de esporas en una zona rural con viñedos en Italia representando menos del 1% de las esporas totales. **Gaikwad & Sonawane (2012)** lo identificaron en el aire de una zona urbana industrial en la India donde representó el 0,57% de las esporas totales. En este mismo país, **Kotwal et al. (2010)** lo observó en ambientes interiores y exteriores en un área urbana residencial correspondiendo al 1,58% y el 0,54% del total de esporas, respectivamente. Las esporas de taxón también ha sido observadas en las nubes de polvo originadas en el Sahara (**Schlesinger et al. 2006**). En nuestro estudio, *Lophiostoma* spp representó el 2,97% de los *Pleosporales* totales en el interior (0,120% del total) y el

0,02% en el exterior (0,001% del total), y sobre las superficies el 2,17% en interiores (0,321% del total) y el 1,18% en exteriores (0,332% del total). Con relación a las variables ambientales, los niveles de *Lophiostoma* en el interior solo tuvieron una correlación baja con la humedad relativa interior y con la lluvia previa al muestreo. Las concentraciones de este tipo de ascospora estuvieron más relacionadas con casas rurales del grupo SA, con piso tipo moqueta, y que recibían entre 2 a 6 horas de luz solar directa en el día. Los recuentos fueron ligeramente mayores durante el verano en interiores y en el otoño en ambientes exteriores. Los trabajos de construcción influenciaron los niveles del hongo en ambientes exteriores.

Massarina. No hay registro de sensibilización a este hongo, ni alérgenos relacionados con él. Las ascosporas de *Massarina* fueron observadas esporádicamente en el aire de exteriores en la Isla de Creta (**Gonianakis et al. 2005**) y representando menos del 1% de la aerospora de Karachi en Pakistán (**Hasnain et al. 2012**). En Barcelona representó el 1,57% de los *Pleosporales* totales en el interior (0,064% del total) y el 4,18% en el exterior (0,267% del total). Con respecto a las esporas sedimentadas, correspondió al 0,16% en interiores (0,024% del total) y al 0,05% en exteriores (0,015% del total). La humedad relativa en el interior tuvo una correlación baja con los niveles de *Massarina* en el aire. En cuanto al clima durante el muestreo, los niveles se relacionaron con la lluvia previa. Las horas de ventilación natural también tuvieron un efecto positivo sobre la concentración de las ascosporas de este taxón.

Melanomma. No hay reportes de la capacidad alérgica de este género. Las ascosporas de *Melanomma* han sido informadas en la aerospora exterior de Karachi (Pakistán) representando menos del 1% del total de esporas (**Hasnain et al. 2012**), de Mérida (España) con un promedio de 0,15 esp/m³ (**Hernández et al. 2012**) y de aparición esporádica en viñedos de Ourense (España) (**Reinera et al. 1998**). En ambientes interiores fue informado en una planta de procesamiento de semillas en Polonia con un promedio de 40 esp/m³ (**Szopińska et al. 2008**). En nuestro estudio, en atmósferas interiores alcanzó el 1,75% de los *Pleosporales* totales (0,071% del total) frente al 0,29% de las exteriores (0,019% del total). En superficies de estos mismos ambientes fueron el 1,0% (0,149% del total) y el 0,56% (0,16% del total), respectivamente. Las esporas de *Melanomma* spp en el interior presentaron una correlación positiva alta con la humedad relativa en el interior y baja con la exterior, datos opuestos a los hallados por **Hernández et al. (2012)** quien reportó una relación negativa con este parámetro ambiental. En exteriores, los niveles se correlacionaron débilmente con la temperatura, sus niveles fueron significativamente más altos durante el verano y su presencia en el aire fue favorecida por la lluvia previa y simultánea con el muestreo, también con lluvias 1 o 2 días previos. Este taxón se asoció significativamente con el exterior de viviendas tipo casa en áreas semiurbanas del grupo SA ubicadas en zonas sin tráfico. En el interior se correlacionó con la presencia de moquetas y exposición solar directa de entre 2 a 6 horas.

Paraphaeosphaeria. No se han descrito moléculas alérgicas en este taxón ni prevalencias sobre sensibilización. *Paraphaeosphaeria* ha sido incluida generalmente dentro de las esporas tipo *Leptosphaeria*, por tal razón no se conoce bien su distribución en la aerospora mundial. En España, **Hernández et al. (2012)** en Mérida encontró niveles medios diarios de 0,15 esp/m³ y **Díez et al. (2006)** observó que era de aparición ocasional (solo 1,9% de los días muestreados) y no superaba el 0,01% del total de esporas. En otros sitios de Europa ha sido reportada por **Oliveira et al. (2010a)** en dos zonas geográficamente diferentes de Portugal, donde representó el 0,10% del total de esporas, con una concentración promedio de 0,9 esp/m³ en ambientes rurales y 0,5 esp/m³ en urbanos y estuvo presente en el aire de ambas regiones en aproximadamente el 30% de los días. En Italia, en una zona de viñedos, **Magyar et al. (2009)** encontró concentraciones promedios de 2,25 esp/m³. En Melbourne, Australia, **Mitatakis & Guest (2001)** reportan que las ascosporas de *Paraphaeosphaeria* representaron el 0,7% del total de esporas. En Caixas do Sul, en Brasil eran entre el 0,98% y el 1,27% del total de la aerospora (**Zoppas et al. 2006**). Su ADN fue encontrado en las nubes de polvo transportadas por corredor del Atlántico medio (**Griffin et al. 2006**). En nuestro estudio, este tipo de ascospora aportó el 1,78% de las esporas de *Pleosporales* en el aire interior (0,162% del total) y el 6,01% en el exterior (0,384% del total). En las superficies correspondió al 2,17% en el interior (0,322% del total) y el 1,16% en el exterior (0,39% del total). El comportamiento estacional de este

taxón es poco definido. En Portugal los mayores niveles se presentaron en otoño (**Oliveira et al. 2010a**), mientras que en Brasil fue durante el verano (**Zoppas et al. 2006**), con las concentraciones más bajas durante el invierno, en contraste con lo observado en Australia, donde los recuentos más altos se dieron durante el invierno (**Mitatakis & Guest 2001**). En nuestro estudio los mayores niveles en el interior de las viviendas se relacionaron con el verano, además se halló correlación significativa pero baja de los recuentos en el interior con la temperatura exterior y la humedad relativa interior. La lluvia previa y simultánea al muestreo se asoció de forma significativa con los niveles en el exterior. Los niveles fueron significativamente mayores en los ambientes externos a las viviendas tipo casa del grupo SA en zonas semiurbanas, similar a los hallazgos realizados por **Oliveira et al. (2010a)** quienes hallaron los recuentos más bajos en ambientes rurales. Las horas de luz directa en las habitaciones estuvieron débilmente relacionadas con los niveles, cuando no excedía las 2 horas, al igual que la ventilación natural con ventanas abiertas por más de 8 horas.

Phaeosphaeria. No se conoce sobre prevalencia de la sensibilización a este hongo, pero se ha demostrado la presencia de una secuencia homóloga de Alt a 1 en su genoma con una identidad de 31,7% y similitud de 56,1% con la Alt a 1 nativa de *A. alternata* (**Chruszcz et al. 2012**). Las ascosporas de este taxón, al igual que *Paraphaeosphaeria*, son incluidas generalmente dentro del tipo-*Leptosphaeria* (**Hernández et al. 2012**), lo cual podría explicar los bajos niveles reportados o su ausencia en los estudios sobre la aerospora en diferentes zonas geográficas. Sus concentraciones suelen ser altas en áreas vecinas a las zonas de cultivo de cereales durante la estación del crecimiento, e incrementan significativamente en la época de cosechas (**Arseniuk et al. 1998**). **Allit (2000)** encontró niveles inusualmente altos de esta ascospora durante tormentas fuertes. **Kausrud et al. (2005)** y **Pitkäranta et al. (2008)**, empleando técnicas moleculares, demostraron la presencia de ADN de este microorganismo en el aire de bosques boreales y en el polvo depositado en el interior de edificios en Finlandia, respectivamente. En el aire de Barcelona correspondió al 0,34% de los *Pleosporales* totales en ambientes interiores (0,015% del total) y al 0,02% en exteriores (0,001% del total), y en las superficies al 0,37% (0,055% del total) y al 0,29% (0,081% del total) en interiores y exteriores, respectivamente. En nuestro estudio, debido a los bajos niveles, no fue posible determinar el efecto de las variables ambientales sobre los niveles del hongo. Las ascosporas de *Phaeosphaeria* estuvieron correlacionadas de manera leve con los ambientes interiores del grupo SA.

Pleospora. Las ascosporas de este microorganismo son consideradas alergénicas debido a la relación entre el aumento en su concentración y el incremento de los ingresos por cuadros asmáticos en servicios de urgencia (**Newson et al. 2000**). En *Pleospora herbarum* se ha identificado el alérgeno *Ple h 1* relacionado a *Alt a 1* (**Simon-Nobbe et al. 2008**), además en *Pleospora tarda* se ha identificado una secuencia homóloga de Alt a 1 con una identidad del 81% y similitud de 94.2% con respecto a la nativa de *A. alternata* (**Chruszcz et al. 2012**). En Mérida (España), *Pleospora* spp fue la tercera ascospora más frecuente en el aire durante el periodo estudiado, con una concentración promedio de 27 esp/m³ (**Hernández et al. 2012**), mientras que en el aire de Madrid correspondió al 1,52% de la aerospora y fue observada durante el 71,2% de los días (**Díez et al. 2006**). En un área de cultivos irrigados en Badajoz, las concentraciones oscilaron entre 8 - 21 esp/m³ (**Muñoz et al. 2010**). **Tormo-Molina et al. (2012)**, también reportó las ascosporas de *Pleospora* como un componente común del aire interior y exterior en la zona de Badajoz. En Portugal, los niveles de *Pleospora* en el aire fueron similares entre ambientes urbanos y rurales representando el 0,09% del total de esporas en el aire y presente durante el 26% de los días estudiados (**Oliveira et al. 2010a**). En el aire de una zona de viñedos en Italia, **Magyar et al. (2009)** encontró este tipo de ascosporas en un promedio de 28 esp/m³. **Waisel et al. (2008)** encontraron concentraciones que oscilaron entre 0,6 y 0,9 esp/m³ en el polvo que cruza el Mediterráneo desde Israel a Turquía, de igual manera **Smith et al. (2012)** encontró el ADN de este microorganismo en el 97% de las muestras del polvo que atraviesa el océano desde Asia a Norteamérica. En una zona industrial de India correspondió al 0,22% del total de esporas (**Gaikwad & Sonawane 2012**), mientras que en una zona suburbana en este mismo país representó solo el 0,1% (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008**). En zona urbana de Chile *Pleospora* correspondió al 8% del total de esporas con una concentración promedio diaria de 11 esp/m³ (**Ibáñez et al. 2001**), mientras que en Brasil, también en área urbana, esta ascospora correspondió entre el 0,52% y el 0,65% del total de esporas del aire (**Zoppa et al. 2009**). En Melbourne (Australia),

el 0,9% del total de la aerospora pertenecía a *Pleospora* spp (**Mitatakis & Guest 2001**). En Barcelona las ascosporas de este taxón aportaron el 5% de los *Pleosporales* totales (0,202% de la aerospora total) en el aire interior y el 8,79% (0,562% de la aerospora total) en el exterior. Sobre las superficies interiores y exteriores, este hongo correspondió al 5,49% (0,816% del total) y al 6,21 (1,756% del total), respectivamente. En nuestro estudio las ascosporas de *Pleospora* spp en el interior de las viviendas se correlacionaron significativamente con la temperatura interior y exterior y en menor medida con la humedad relativa interior, sin embargo en los ambientes exteriores este comportamiento no fue observado, adicionalmente existió asociación entre la lluvia previa y simultánea al muestreo y hasta dos días antes. Un comportamiento similar fue reportado por **Hernández et al. (2012)** y **Oliveira et al. (2009b)**, aunque en ambientes exteriores de Mérida (España), Oporto y Amares (Portugal) donde este tipo de ascospora se correlacionó negativamente con la temperatura, pero positivamente con la humedad relativa y la lluvia. En España fueron más frecuentes durante el invierno y la primavera en Mérida (**Hernández et al. 2012**) y entre primavera y otoño en Madrid (**Díez et al. 2006**). En Portugal estos niveles se dieron desde finales de invierno, la primavera y el otoño (**Oliveira et al. 2010a**). No obstante, nosotros encontramos correlaciones débiles, entre los niveles de *Pleospora* en el interior con la primavera y en el exterior con el verano. En las viviendas de Barcelona se observó relación entre los niveles de este taxón y el ambiente exterior de las casas del grupo SA ubicadas en áreas semiurbanas.

Rebentischia. No hay informes de prevalencia de sensibilización a este hongo, ni anotaciones de secuencias homólogas con alérgenos conocidos. Este hongo es ocasionalmente informado en la aerospora. **Magyar et al. (2009)** lo encontró en concentraciones menores a 1 esp/m³ en el aire de viñedales de Italia. En Barcelona el 0,28% (0,011% del total) y el 0,38% (0,024% del total) de las esporas de *Pleosporales* totales en atmósferas interiores y exterior, respectivamente, fueron clasificadas como *Rebentischia* spp. Sobre las superficies este taxón correspondió al 0,21% en interiores (0,031% del total) y al 0,11% en exteriores (0,03% del total). Estas ascosporas fueron más frecuentes en ambientes en el exterior de las viviendas del grupo SA durante los días lluviosos. Sus bajos niveles durante el año, no permiten establecer un patrón estacional.

Sporormiella. No hay evidencia científica sobre la asociación de este taxón con sensibilización y desarrollo de alergias. Su informe dentro de la aerospora ha sido ocasional en Creta, Grecia (**Gonianakis et al. 2005**), en Karachi, Pakistán (**Hasnain et al. 2013**) y en Mérida, España (**Hernández et al. 2012**). En Madrid significó solo el 0,01% del total de la aerospora y estuvo presente durante el 2,7% de los días evaluados (**Díez et al. 2006**), en zona rural con viñedos en Italia representó menos de 1 esp/m³ (**Magyar et al. 2009**) y en Melbourne (Australia) correspondió al 0,07% del total de la aerospora. En nuestro estudio las ascosporas de *Sporormiella* sumaron el 0,19% de *Pleosporales* totales en el aire en el interior (0,007% del total) de las viviendas y el 0,10% en el exterior (0,006% del total). En las superficies fueron el 0,21% (0,031% del total) y el 0,19% (0,052% del total) en interiores y exterior, respectivamente. Para **Hernández et al. (2012)** estas ascosporas son más frecuentes en el otoño, coincidiendo con nuestros hallazgos. Sus niveles se correlacionaron levemente con los exteriores de ambientes semiurbanos, y en las casas que tenían moqueta.

Tipo-Venturia. En este grupo se incluyeron algunos géneros presentes en la aerospora y que presentan una morfología similar a *Venturia* spp, incluyendo *Macroventuria* spp, *Munkovalsaria* spp y géneros similares. No se ha informado sobre prevalencias de sensibilización a este grupo de hongos, ni estudios moleculares que determinen la presencia de secuencias homólogas a alérgenos conocidos. Este grupo es frecuentemente detectado en la aerospora de ambientes rurales. Correspondió a la segunda ascospora más informada en el aire de Mérida, con un promedio de 51 esp/m³ (**Hernández et al. 2012**). En áreas de cultivos irrigados en Badajoz el rango de este importante fitopatógeno osciló entre 4 y 47 esp/m³ (**Muñoz et al. 2010**). En Portugal correspondió al 0,14% del total de esporas en el aire, con concentraciones promedio de 1,4 esp/m³ en ambientes rurales y 0,7 esp/m³ en zonas urbanas y estuvo presente en el 34% de los días muestreados (**Oliveira et al. 2010a**). En Italia, se encontró un promedio de 1,7 esp/m³ de esta ascospora en el aire de viñedos (**Magyar et al. 2009**). En la Ciudad de Monterrey (México), *Venturia* correspondió al 3% del total de esporas y estuvo en el aire con 178 días del año estudiado (**Rocha et al. 2013**). El

material genético de este taxón ha sido encontrado en el 98,3% de muestras obtenidas de las nubes de polvo que pasan sobre el océano desde Asia a Norteamérica (**Smith et al. 2012**). Este taxón también fue informado en ambientes interiores por **Tormo-Molina et al. (2012)**. En Barcelona representó el 5% de los *Pleosporales* totales (0,203% del total de esporas) en el aire interior y el 6,65% (0,425% de la aerospora total). Sobre las superficies fue el 0,84% en interiores (0,087% del total) y el 1,75% en exteriores (0,378% del total). Las concentraciones de las ascosporas tipo-*Venturia* en el interior se correlacionaron positiva y significativamente con la temperatura interior y exterior y en menor medida con la humedad relativa interior y las precipitaciones el día previo al muestreo, mientras que las del exterior solo se correlacionaron significativamente con la temperatura. Estos hallazgos no coinciden completamente con los reportados por otros autores, como es el caso **Oliveira et al. (2010a)** quienes encontraron correlación positiva con la humedad relativa y la precipitación y negativa con la temperatura. En contraste, **Rocha et al. (2013)** observó una correlación positiva con la temperatura, la humedad relativa y las precipitaciones. Para **Oliveira et al. (2010a)** este tipo de ascosporas no presentó un comportamiento estacional definido en Portugal, sin embargo resaltaron que los valores más bajos se presentaron durante el verano. **Hernández et al. (2012)** reportó que las mayores concentraciones se presentaron durante el otoño y en mayo asociados a lluvias. En nuestro estudio los niveles en el interior fueron significativamente mayores durante el verano mientras que el exterior se presentaron en la primavera y más frecuentemente en los alrededores de las viviendas del grupo ND.

Alternaria. Este taxón es el más representativo dentro de los *Pleosporales*. *Alternaria alternata* es el hongo alergénico más importante, con una incidencia de sensibilización en pacientes atópicos de 3,6 a 39,4% (**Simon-Nobbe et al. 2008**) y se asocia con alergias tipo I y neumonitis por hipersensibilidad tipo III. Se han identificado 13 alérgenos en *Alternaria* (**Knutsen et al. 2012**), siendo Alt a 1 el mayormente asociado a las exacerbaciones de los cuadros alérgicos y es compartido ampliamente por otros hongos dentro del orden *Pleosporales* (**Hong et al. 2005**). *Alternaria* hace parte del filoplano y se considera uno de los taxones más comunes en los ambientes donde existan plantas (**Levetin & Dorsey 2006**). Su presencia en la aerospora interior y exterior ha sido documentada en todas las zonas geográficas, con diferencias significativas en sus niveles de acuerdo a factores ambientales y locativos y es considerado dentro del grupo de esporas de ocurrencia superior al 50% junto con *Botrytis*, *Cladosporium*, *Epicoccum* y *Ganoderma* (**Kasprzyk et al. 2004, Oliveira et al. 2009a**). En España las conidias de *Alternaria* spp han sido reportadas durante todo el año (**Infante et al. 1999**). En las zonas Atlánticas (Lugo, Santiago, Ourense y Vigo) publicaciones recientes reportan concentraciones medias diarias que oscilan entre 3 y 6 esp/m³, en la zona central (Alcalá, Madrid, Toledo, Valladolid) entre 4,4 y 12,4 esp/m³, en la zona Mediterránea (Albacete, Almería, Cartagena, Granada, Málaga Mérida y Sevilla) entre 4,4 y 109 esp/m³, con los niveles más altos en Mérida (53 esp/m³) y Sevilla (109 esp/m³) (**Díez et al. 2006, Sánchez et al. 2009, De Linares et al. 2010, Maya-Manzano et al. 2012, Sabariego et al. 2012, Aira et al. 2013**) y en la zona insular de Canarias (Isaño y Santa Cruz de Tenerife) entre 3 y 4 esp/m³ (**De Linares et al. 2010**). Específicamente en la zona de Cataluña, **De Linares et al. (2010)** analizaron las bases de datos de 8 estaciones aerobiológicas distribuidas en la región, observando que las concentraciones medias diarias de conidias de *Alternaria* spp oscilaron entre 4 y 94 esp/m³, con los mayores valores en las zonas más interiores (Manresa 60, Lleida 94) y los menores en zona interior fría (Vielha 4), fenómeno que se repite en otras zonas geográficas de la Península Ibérica (**Aira et al. 2008, Oliveira et al. 2010a**). En Barcelona la media diaria de conidias de *Alternaria* fue 25 esp/m³ (máximo 471 esp/m³) y en Bellaterra la media diaria fue 34 esp/m³ (máximo 927 esp/m³). En otras zonas de Europa, **Oliveira et al. (2010a)** al estudiar dos ambientes, uno rural y el otro urbano en Portugal, encontraron que las conidias de *Alternaria* spp correspondieron al 1% del total de esporas de ambos sitios, con una media diaria de 9,6 esp/m³ en el área rural y 5,9 esp/m³ en el área urbana. Además determinaron que estuvo presente en el 76% de días al año. En Polonia, **Grinn-Gofroń & Strzelczak (2009)** detectaron niveles de 196,8 esp/m³ en un área urbana, mientras que **Kasprzyk & Worek (2006)** hallaron que entre el 2,1 y el 2% de las esporas en zonas urbanas correspondían a *Alternaria* frente al 1,5 a 5,3% en zonas rurales. En India, el 2,7% de las esporas en ambiente semiurbano de West Bengala pertenecían a *Alternaria* (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008**), mientras que en ambientes urbanos el 13,1% del total

de esporas del interior y el 15% de las del exterior en Nueva Delhi (**Sharma et al. 2012**) correspondieron a esporas de este taxón. En América, *Alternaria* correspondió al 6% de las esporas totales en la ciudad de Monterrey (México) (**Rocha et al. 2013**) y en Chile el promedio de esporas de *Alternaria* fue 40 esp/m³ (**Ibáñez et al. 2001**). En Sidney, Australia, las esporas de *Alternaria* oscilaron entre 0 y 1125 esp/m³ (**Stennett & Beggs 2004**). En nuestro estudio en Barcelona, las esporas de *Alternaria* spp significaron el 47,78% de los *Pleosporales* totales (1,945% del total) en ambientes interiores y el 44,55% (2,847% del total) en exteriores con un recuento promedio de 10,45 esp/m³ y 27,9 esp/m³, respectivamente.

Con respecto a la fracción viable, en ambientes interiores de Barcelona, *Alternaria* estuvo presente en el 100% de las casas estudiadas durante el verano y el otoño, en primavera e invierno solo en el 54% y 55%, respectivamente, presentando diferencias estadísticamente significativas entre interior y exterior. En interiores la concentración promedio fue 4,07 UFC/m³ (**Gómez de Ana et al. 2006**). En Oporto (Portugal) las UFC de *Alternaria* correspondieron al 1% del total de colonias recuperadas del aire (**Oliveira et al. 2009b**), mientras que en Atenas el promedio fue 32 UFC/m³ (**Pirry & Kapsanaki.Gotsi 2012**). En Egipto, las UFC de *Alternaria* significaron el 9,03% del total de UFC en el aire exterior de una zona industrial (**Awad et al. 2013**). En Hong Kong en edificios con aire acondicionados, las UFC de *Alternaria* presentaron un promedio de 24 UFC/m³ (23,8 % del total de UFC) en el exterior y estuvo ausente en el interior (**Wong et al. 2009**). En Estados Unidos las UFC de *Alternaria* en edificios presentaron pocas diferencias entre los rangos en el interior (18 - 23 UFC/m³) mientras que en exteriores fueron ligeramente más variable (26 - 70 UFC/m³) (**Shelton et al. 2002**). En Argentina, en ambientes interiores en la ciudad de Santafé, **Basílico et al. (2007)** encontraron que *Alternaria* aportó el 8,68% de las UFC totales (39,81 UFC/m³), mientras que en ambientes exteriores de Fortaleza, Brasil, el promedio fue 2,4 UFC/m³ (**Menezes et al. 2004**). En Australia, las UFC de *Alternaria* correspondieron al 0,4% del total de UFC en el aire en el interior de viviendas en la ciudad de Victoria frente al 0,3% del exterior (**Garret et al. 1997**). Las UFC de *Alternaria*, fueron más frecuentes en el polvo en el interior de las viviendas en climas tropicales comparadas con las zonas templadas (**Amend et al. 2010**). Los valores promedios y la frecuencia de las UFC en nuestro estudio en el aire de Barcelona fueron 5,38 UFC/m³ correspondiendo al 90,5% de los *Pleosporales* totales en interiores (4,63% del total de UFC) y 17,95 UFC/m³ que equivalió al 88,2% de los *Pleosporales* totales (8,29% del total) en ambientes exteriores.

En general, los mayores niveles de *Alternaria* en ambientes exteriores se presentan en el verano relacionado con el aumento de la temperatura, la velocidad del viento y la ausencia de precipitaciones. (**Hjelmroos 1993, Paternen et al. 2004, Aira et al. 2008**). En la zona del Mediterráneo, **Maya-Manzano et al. (2012)** establecieron que la temperatura y la humedad relativa tuvieron un efecto positivo sobre los niveles de conidias de *Alternaria*, mientras que el de la humedad relativa y la lluvia fue negativo, aunque humedades relativas inferiores a 55% también tuvieron un efecto negativo. Con respecto a la estacionalidad, se ha determinado que *Alternaria* presento dos patrones, en uno la estación de esporulación inicia a mediados de la primavera hasta el otoño y es común para el NE de España, en el segundo hay dos periodos definidos (primavera y otoño) y se presenta en el SE de España; en Islas Canarias hay una presencia constante y uniforme durante todo el año (**De Linares et al. 2010**). En otros países Europeos también se presenta el patrón estacional de uno o dos picos, dependiendo de la ubicación de la estación de muestreo. En zonas de influencia Mediterránea es más común un patrón de dos picos, uno en primavera y otro a finales de verano y comienzos de otoño (**Rizzi-Longo et al. 2009, Aira et al. 2013**). En nuestro estudio *Alternaria* en ambientes interiores se correlacionó positiva y significativamente con la temperatura interior y la exterior, con la humedad relativa interior y negativamente con la exterior. En ambientes exteriores, los niveles de *Alternaria* se correlacionaron de forma positiva con la temperatura y negativa con la humedad relativa. En el aire interior los niveles de esporas de *Alternaria* fueron significativamente mayores durante el otoño y el verano asociado principalmente a periodos prolongados de ventanas abiertas, mientras que en exteriores fueron mayores durante el otoño. Para las UFC de *Alternaria*, los niveles fueron mayores durante la primavera.

Con respecto a los ambientes específicos, los recuentos más altos de UFC se presentaron en la primavera, en viviendas de individuos asmáticos (27,1%) y no asmáticos (37,8%) y los más bajos durante el verano, con una relación I/O ≤ 1 en el 69% de las viviendas en primavera (Su et al. 2001). En viviendas de pacientes riniticos en Boston (USA) el promedio de UFC/m³ de *Alternaria* fue 233 (Stark et al. 2005). Meng et al. (2012) en Kansas (USA) encontró los mismos niveles de esporas de *Alternaria* en ambientes interiores de viviendas de niños asmáticos y no asmáticos (promedio diario 3 esp/m³) y una ligera diferencia en la concentración de UFC, siendo de 4 UFC/m³ en las de asmáticos y 3,6% en la de no asmáticos. En un estudio similar en la India, las UFC de *Alternaria* aportaron el 13.1% de las UFC en los ambientes interiores y el 15% de los exteriores en las viviendas de individuos alérgicos comparado con el 12,5% en interiores y el 15,4% en exteriores en las viviendas de los no alérgicos (Sharma et al. 2011). En Barcelona, encontramos que los niveles de esporas de *Alternaria* en el interior se correlacionaron con las viviendas del grupo ND y con los exteriores rurales, mientras que las UFC estuvieron relacionadas con las viviendas tipo casa de los alérgicos, ubicadas principalmente en áreas rurales. La presencia de esporas de *Alternaria*, tanto en el interior como en el exterior, fue más común durante los días secos nublados, mientras que las UFC se correlacionaron con los días secos y soleados. En ambos casos, el efecto es negativo cuando hay lluvia.

Alternaria se ha documentado comúnmente en el polvo acumulado sobre las superficies en el interior de las viviendas en casas sin problemas de humedad aparente (Hicks et al. 2005). ADN frecuente en el polvo en el interior 71,6% y en exterior 100% (Adams et al. 2012). En las superficies de Barcelona, las conidias de *Alternaria* correspondieron al 62,68% de los *Pleosporales* (9,32% del total) en el interior y al 56,66% (16,00% del total) en el exterior, con recuentos promedios de 2,55 esp/m³ y 18,77 esp/m³, respectivamente. Con relación a las UFC, éstas tuvieron una concentración promedio de 0,27 UFC/cm² en interiores y 0,90 UFC/cm² en exteriores, que significaron el 86,4% de los *Pleosporales* (6,8% del total) y 63,36% (8,52% del total), respectivamente. En superficies de Barcelona, se encontró correlación en el exterior con el invierno y los mayores niveles se asociaron con la presencia de polvo acumulado.

Bipolaris. Entre individuos atópicos se han encontrado frecuencias de sensibilización a *Bipolaris* de 23,1%, 30,7% y 36,8% (Lim et al. 1995, Corey et al. 1997) y en población no alérgica 6,6 % (Chew et al. 2000), todos en Estados Unidos y países de Asia. Su concentración en el aire no es fácil de establecer debido a las similitudes morfológicas entre las esporas de este género con otras dentro de los *Pleosporales*, e incluso de otros órdenes. Por lo general, en los monitoreos aerobiológicos, las esporas de *Bipolaris* se incluyen dentro del grupo tipo *Drechslera/Bipolaris/Helminthosporium/Exserohilum*. Como taxón individual ha sido informado en Madrid (España) representando menos del 0,01% del total de esporas y presentándose en el 0,6% de los días muestreados (Díez et al. 2006). En una zona de viñedos en Italia significó menos del 1% del total de esporas (Magyar et al. 2009). En Egipto representó el 0,1% del total de esporas (Haamed et al. 2009), mientras que en Karachi (Pakistán) se presentó con relativa frecuencia, correspondiendo al 4,5% del total de esporas y sus concentraciones fueron mayores durante el otoño (Hasnain et al. 2012). En Victoria (Australia), las colonias de *Bipolaris* se presentaron en el interior de las viviendas estudiadas en una concentración de 0,1% del total de UFC/m³ mientras que estuvieron ausentes en el exterior (Garrett et al. 1997). En Texas (USA), *Bipolaris* se encontró en principalmente durante el verano en el 96,1% de las casas estudiadas con un promedio de 1 UFC/m³, siendo los valores más bajos durante el otoño, encontrándose solo en el 26,2% de las viviendas en un promedio de 2 UFC/m³ (Mota et al. 2008). También fue informado por Horner et al. (2004) en el aire y el polvo en el interior de casas sin problemas de humedades en Pensilvania (USA), pero no se presentaba su abundancia. Como grupo ha sido informado en el aire de la Florida (USA) durante la época de lluvias, representando el 6% de las esporas en interiores y el 12 % en exteriores (Codina et al. 2008), y también en Estados Unidos, en un estudio de vigilancia de edificios de oficinas a través del país, el grupo *Drechslera/Bipolaris* se encontró en el 5% de los interiores y el 7% de los exteriores (MacIntosh et al. 2006). Meng et al. (2012) en USA, identificó en el interior de las casas de individuos asmáticos un promedio de 3,4 esp/m³ no observando esporas en las viviendas de los no asmáticos, en este estudio el grupo *Drechslera/Bipolaris* correspondió al 0,6% de las colonias recuperadas. En Barcelona, este taxón fue considerado como género individual correspondiendo al 0,37% de las esporas de *Pleosporales*

totales (0,015% del total de esporas) en el interior y al 0,03% (0,002% del total) en ambientes exteriores, con un promedio de 0,08 esp/m³ y 0,02 esp/m³, respectivamente. No se obtuvo crecimiento de colonias de *Bipolaris* en ninguno de los dos ambientes durante el tiempo de muestreo. Con relación a las superficies, las esporas de *Bipolaris* aportaron el 0,48% de los *Pleosporales* totales (0,071% del total) en el interior y 1,02% (0,2915 del total) en el exterior con un promedio de 0,02 esp/m³ y 0,33 esp/m³, respectivamente. Los niveles de *Bipolaris* en el interior de las viviendas se correlacionaron positiva y significativamente tanto con la temperatura interior como con la exterior, en exteriores se correlacionaron positivamente con la temperatura y negativamente con la humedad relativa. Las esporas de *Bipolaris* se relacionaron principalmente con los ambientes exteriores de las viviendas del grupo SA y los valores más altos se presentaron durante el verano, tanto en interiores como en exteriores. Los niveles en exteriores se correlacionaron débilmente con los trabajos de construcción en zonas cercanas. No se observó ningún tipo de correlación entre las UFC de *Bipolaris* y las variables estudiadas.

Corynespora. Este género no es referenciado como un alérgeno, sin embargo, **Chew et al. (2000)** encontró una sensibilización del 7,9% en individuos no alérgicos y de 30,7% en atópicos, al ser evaluados con extractos de este hongo. A pesar de ser un fitopatógeno común y estar ampliamente distribuido, sus esporas son rara vez informadas en los estudios aerobiológicos. Las esporas de *Corynespora* fueron reportadas por **Hasnain et al. (2012)** representando menos del 1% del total de la aerospora en Karachi (Pakistán). **Das & Gupta-Bhattacharya (2012)** lo encontraron en Kolkata, India, como el 0,25% del total de esporas. También en India, **Adhikari et al. (2004)**, lo encontró solo entre los meses de abril a septiembre en una concentración promedio de 11,17 esp/m³, correspondiendo al 0,45% del total de esporas del aire en West Bengala y **Nayak et al. (1998)** reportaron que las conidias de *Corynespora* representaron menos del 1% del total de esporas en Ganjam. En Barcelona, las conidias de *Corynespora* se encontraron solamente en las superficies exteriores representando el 0,01% de los *Pleosporales* totales (0,003% del total de esporas) con un promedio de 0,004 esp/m³ y no fue posible su recuperación en los métodos para hongos viables. Los bajos niveles de este taxón no permiten establecer correlaciones con las variables analizadas.

Curvularia. Es un importante hongo alergénico, del cual se han identificado 9 proteínas capaces de despertar una respuesta tipo IgE (**Simon-Nobbe et al. 2008**), además, se ha descrito en su genoma la presencia de una secuencia homóloga para Alt a 1 (**Hong et al. 2005**) y se ha comprobado la producción de la proteína aunque en bajos niveles (**Sáenz de Santamaría et al. 2006**). La prevalencia de sensibilización a alérgenos de *Curvularia* se estima en 18,4% (**Corey et al. 1997**) en pacientes con rinitis alérgica en USA, 28% (**Pimhirun et al. 1997**) también en riniticos en Tailandia y entre 26,0 y 31,6% en individuos atópicos en una cohorte en Singapur (**Chew et al. 2000**). En un grupo de granjeros en USA, **Endres et al. (2012)** encontró una prevalencia de sensibilización de 5% en individuos atópicos y 1% en no atópicos. Se ha reportado la asociación entre los niveles de *Curvularia* en el aire con el incremento del número de exacerbaciones de asma que exigen hospitalización (**Niedoszytko et al. 2007**). Aunque este género ha sido asociado más a ambientes tropicales húmedos (**Shelton et al. 2002**, **Prospero et al. 2005**), es frecuente encontrarlo en la aerospora de zonas templadas, aunque en bajas concentraciones. En España, las esporas de *Curvularia* spp han sido informadas en la aerospora de Madrid representando el 0,02% del total de esporas (**Díez et al. 2006**). En Italia, en una zona rural correspondió a menos del 1% de las esporas totales (**Magyar et al. 2009**). En zonas rurales de India, las conidias de *Curvularia* aportaron el 0,52% y el 2,97% al total de esporas (**Adhikari et al. 2004**), mientras que en zonas urbanas exteriores correspondió al 1%, 1,9% y 1,57% en West Bengala (**Das-Gupta-Bhattacharya 2008**), Nueva Delhi (**Sharma et al. 2012**) y Nashik (**Gaikwad & Sonawane 2012**), respectivamente. En interiores de Nueva Delhi correspondió al 2,1% (**Sharma et al. 2012**). En Pakistán correspondió al 2,1% del total de esporas (**Hasnain et al. 2012**). En Hong Kong, el porcentaje de esporas de *Curvularia* fue 2,9% en el interior de oficinas con aire acondicionado y 2,4% en el exterior (**Wong et al. 2009**). En Estados Unidos se considera una de las esporas más comunes en interiores y exteriores. En Florida se ha reportado promedios de 4 esp/m³ (1,5% del total de esporas en interior) y 20 esp/m³ (1,1% del total de exteriores) (**Codina et al. 2008**). En Monterrey, México, este tipo de espora significó el 2% del total y

estuvo presente en el aire de la ciudad durante 189 días en el año (Rocha et al. 2013). En Tulsa el promedio de esta espora fue 13 esp/m³ (Levetin & Dorsay 2006). En Barcelona, las esporas de *Curvularia* significaron el 0,74% de los *Pleosporales* totales (0,03% del total) en los ambientes interiores y el 0,07% (0,004% del total) en exteriores con un promedio de 0,16 esp/m³ y 0,04 esp/m³, respectivamente.

En relación a las UFC de *Bipolaris*, en Atenas, Grecia, se ha informado un promedio de 0,11 UFC/m³ en el aire (Pyrrí & Kapsanaki-Gotsi 2012). En viviendas a través de Estados Unidos, las UFC de *Curvularia* fueron poco variables en el interior (12 a 28 UFC/m³) pero con un rango significativamente amplio en el exterior (14 a 590 UFC/m³) (Shelton et al. 2002). En ambientes interiores en Argentina se han informado promedios de UFC de 5 UFC/m³ (3,5% del total de UFC) (Basilico et al. 2007) y en Brasil significó el 9,8% del total de UFC (Menezes et al. 2005). En estudios similares al nuestro realizados en Kansas (USA) en casas de asmáticos, las esporas de *Curvularia* presentaron un promedio de 2,7 esp/m³ frente a un 2,1 esp/m³ en la de los no asmáticos, con respecto a las UFC en las viviendas de los asmáticos el promedio fue 3,4 UFC/m³ frente a 3,2 UFC/m³ en las de los no asmáticos (Meng et al. 2012). En casas de individuos alérgicos en India, las UFC de *Curvularia* representaron el 1,9% en interiores y el 1,2% en exteriores frente al 1,3% en interiores y 1,9% en exteriores en las viviendas de los no alérgicos (Sharma et al. 2011). En Barcelona, las colonias de este taxón estuvieron ausentes en el aire de ambientes exteriores y en las superficies de interiores. En el aire interior correspondieron al 0,06% de los *Pleosporales* totales (0,03% del total de esporas) con un promedio de 0,04 UFC/m³.

Curvularia se ha correlacionado positivamente con la humedad relativa y las precipitaciones (Rocha et al. 2013), sin embargo en nuestro estudio no se encontró ningún tipo de correlación entre los niveles de esporas y UFC de *Curvularia* con los parámetros meteorológicos.

Con respecto a la estacionalidad de este hongo, en India se han observado incrementos significativos de las concentraciones asociados a las lluvias, principalmente a mediados del Monsoon y durante el otoño, los valores más bajos se presentaron durante el invierno (Das-Gupta-Bhattacharya 2008, Sharma et al. 2011). En Pakistán fueron más frecuentes durante el verano (Hasnain et al. 2012). En USA los recuentos fueron más altos durante el verano y el otoño en el interior de viviendas y en primavera para el exterior, y más bajos durante el invierno en ambos ambientes (Shelton et al. 2002). En Argentina (Basilico et al. 2007) y México (Rocha et al. 2013), los mayores niveles de UFC se presentaron durante el verano y fueron más frecuentes en ambientes semiurbanos argentinos. Incrementos significativos en la concentración de este agente se ha asociado con huracanes y tifones (Rao et al. 2007, Hsu et al. 2011). También se ha documentado la presencia de este agente en las nubes de polvo que viajan de África a América, correspondiendo al 1,6% del total de UFC aisladas (Prospero et al. 2005). En nuestro estudio, *Curvularia* fue más frecuente durante el verano en ambos ambientes y se asoció principalmente con los ambientes interiores del área rural

En las superficies, el 0,42% de los *Pleosporales* totales (0,063% del total) en el interior pertenecieron a esporas *Curvularia* frente al 0,16% de los *Pleosporales* (0,045% del total) en el exterior con un promedio de 0,02 esp/cm² y 0,05 esp/cm², respectivamente. Las UFC de *Curvularia* correspondieron al 0,03% de los *Pleosporales* totales (0,004% del total) en las superficies exteriores con un promedio de 0,001 UFC/cm².

Dendryphion. Este taxón está incluido dentro del compendium de alérgenos de plantas, animales, alimentos y químicos presentado por Bernstein et al. (2008). Conidias de *Dendryphion* fueron informadas en Italia, en una zona de viñedos representando menos del 1% del total de esporas del aire (Magynar et al. 2009). Un porcentaje similar fue reportado por Nayak et al. (1998) en la India. Griffin et al. (2006) identificó ADN de este microorganismo en muestras de nubes de polvo que atraviesan el océano Atlántico provenientes del Sahara. En Barcelona, las esporas de *Dendryphion* estuvieron ausentes del aire interior a las viviendas y en el exterior correspondió al 0,03% de los *Pleosporales* totales (0,002% del total) con un promedio de 0,02 esp/m³, mientras que en las

superficies representaron el 0,05% de los *Pleosporales* (0,008% del total) en las interiores y 0,03% (0,008% del total) en las exteriores con un promedio de 0,002 esp/cm² y 0,009 esp/cm².

Drechslera. La capacidad alergénica de este taxón sido demostrada y se ha documentado niveles de sensibilización en atópicos en Brasil que van desde el 5% (**Menezes et al. 1998**) hasta 40% (**Hasan et al. 2003**). La reactividad de las esporas tipo *Drechslera* fue alrededor de 26% en una cohorte de niños asmáticos en Finlandia (**Koivikko et al. 1991**). Al igual que sucede con *Bipolaris*, la verdadera prevalencia de este taxón no es conocida por ser generalmente incluido dentro del grupo *Drechslera/Bipolaris/Helminthosporium/Exserohilum*. *Drechslera* fue incluida en el grupo de esporas con alta frecuencia de aparición propuesto por **Kasprzyk et al. (2004)** y en el de baja frecuencia o aparición esporádica definido por **Oliveira et al. (2009a)**. En España, las esporas de *Drechslera* representaron el 0,30% del total de esporas en el aire de Madrid (**Díez et al. 2006**), y en zonas rurales con cultivos irrigados en la zona de Badajoz el promedio diario de esporas osciló entre 23 esp/m³ y 193 esp/m³ (**Muñoz et al. 2010**). En Portugal correspondió al 0,02% del total de esporas con concentraciones similares entre áreas urbanas y rurales (0,1 esp/m³) (**Oliveira et al. 2010a**). En Polonia se observaron recuentos que oscilaban entre 0,4 y 05 esp/m³ en áreas urbanas y 1,2 y 2,5 esp/m³ en áreas rurales (**Kasprzyk & Worek 2006**). En Egipto representaron el 0,05% de las esporas observadas en una zona industrial (**Haamed et al. 2009**). En India es informada con frecuencia en muestras de aire, **Sharma et al. (2012)** encontró en nueva Delhi que las esporas de *Drechslera* correspondían al 0,5% del total de esporas en el interior de las viviendas frente al 1,3% en exteriores, **Adhikari et al. (2004)** la reportó en zonas rurales con recuentos entre 1,37 a 9,12 esp/m³ y **Das & Gupta-Bhattacharya (2008)** observó que en un área semiurbana representaba el 2,7% del total de esporas del aire. En Taiwán las concentraciones de esporas de *Drechslera* antes y después del tifón Marakot no presentaron diferencias significativas, oscilando en el interior entre 0,6 a 0,48 esp/m³ y en el exterior entre 1,07 a 0,42 esp/m³ (**Hsu et al. 2011**). El Tulsa, USA, **Levetin & Dorsay (2006)** encontraron que las esporas tipo-*Drechslera* aparecían en una concentración promedio diaria de 21 esp/m³. Este tipo de esporas en Barcelona representaron el 1,66% de los *Pleosporales* totales (0,068% del total) en aire de ambientes interiores y el 2,91% (0,186% del total) en el de exteriores con promedios de 0,36 esp/m³ y 1,82 esp/m³, respectivamente.

En Grecia las UFC de *Drechslera* fueron el 0,20% del total de esporas recuperadas del aire (**Pyrri & Kapsanaki-Gotsi 2012**). En Hong Kong, en edificios de oficinas con sistemas de aire acondicionado, las UFC de este hongo estuvieron ausentes de los ambientes interiores y en exteriores tuvieron un promedio de 1,8 UFC/m³ (**Wong et al. 2009**). **Menezes et al. (2004)** encontraron que en Fortaleza (Brasil), las UFC de *Drechslera* correspondieron al 2,6% del total de UFC recuperadas del aire y para **Basilico et al. (2007)**, en la ciudad de Santafé, Argentina, fueron el 1,26%. **Sharma et al. (2011)** encontró en la India, que las UFC de *Drechslera* representaban el 0,5% del total de UFC en el interior de las viviendas de individuos alérgicos y el 1,3% en exteriores, comparado con el 0,4% en interior y el 2,5% en el exterior de las viviendas de los no alérgicos. En nuestro estudio, las UFC de *Drechslera* correspondieron al 0,2% del total de colonias de *Pleosporales* (0,01% del total de UFC) en el aire en el interior de las viviendas y al 0,23% (0,022% del total) en el exterior con promedios de 0,01 UFC/m³ y 0,05 UFC/m³, respectivamente.

En las superficies de Barcelona, las esporas de *Drechslera* significaron el 1,9% de los *Pleosporales* totales en el interior (0,282% del total) y 2,06% (0,582% del total) en exterior, con promedios de 0,07 esp/cm² y 0,66 esp/cm², respectivamente. En cuando a las UFC en interiores correspondieron al 0,41% de los *Pleosporales* totales (0,032% del total) y en exteriores al 0,74% (0,1% del total), con promedios de 0,001 UFC/cm² y 0,005 UFC/cm² respectivamente.

En Portugal fueron más frecuente de primavera a otoño, con los mayores valores durante el verano (**Oliveira et al. 2010a**). En Polonia las conidias tipo-*Drechslera* presentan los mayores niveles entre junio y agosto, con una caída a finales de julio (**Stepalska-Wolek 2005**). En india los mayores valores se presentaron a mediados de la estación del Monsoon (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008**). Los niveles de *Drechslera* en el interior de las viviendas presentaron una correlación débil positiva con la temperatura y la humedad relativa interior, y en exteriores solo con la temperatura. En interiores fue

más común en verano, mientras que en exteriores sus niveles incrementaron durante la primavera, correlacionándose con los días secos nublados. Las esporas de *Drechslera* se correlacionaron con los ambientes exteriores de las viviendas tipo casa del grupo SA, principalmente las ubicadas en ámbitos rurales. También se observó una correlación leve con el uso de aire acondicionado. Las UFC de *Drechslera* fueron más comunes en los ambientes urbanos.

Embellisia. En su genoma se ha encontrado una secuencia homóloga en gen Alt a 1 con un 81.6% de identidad y 96.3% de similitud (Hong et al. 2005, Chruszcz et al. 2012). Sus esporas se han informado en bajos niveles en el interior de viviendas en Arabia Saudita (Bokhary & Parvez 1995) y Turquía (Centinkaya et al. 2005). En exteriores ha sido informada en Qatar, correspondiendo al 0,06% del total de esporas del aire (Al-Subai 2002). En muestras de polvo de viviendas en Arabia Saudita, se obtuvo el crecimiento de 18 UFC/g en casas poco pobladas frente a 26 UFC/m³ en aquellas densamente pobladas (Bahkali & Parvez 1999). Su ADN se ha encontrado en muestras de polvo que atraviesan el corredor Atlántico proveniente del Sahara (Griffin et al. 2006). En nuestro estudio las esporas de *Embellisia* correspondieron al 0,09% de los *Pleosporales* totales (0,004% del total de esporas) en el interior de las viviendas y al 0,1% (0,006% del total) en exteriores, con promedios de 0,02 esp/m³ y 0,08 esp/m³, respectivamente. Sobre las superficies el promedio en el interior fue 0,004 esp/cm² y correspondió al 0,11% de los *Pleosporales* totales (0,016% del total de esporas) y en el exterior el promedio fue de 0,02 esp/cm² y representó el 0,05% de los *Pleosporales* totales (0,015% del total).

Epicoccum. Horner et al. (1995) resumen la prevalencia de la sensibilización a este agente entre el 20 y el 30% en población atópica. En Europa su incidencia en esta misma población se encuentra entre el 5% y 15.4% de la población (Bisht et al. 2003, Calabria & Dice 2006). En una población de granjeros en USA, Endres et al. (2012) encontró una sensibilización del 8% en población atópica y un 2% en no atópicos. El primer alérgeno descrito para este hongo fue una glicoproteína de 33,5 kDa denominada Epi p 1, posteriormente fue descrita una glutatión S transferasa (Epi p GST) de 26 kDa (Simon-Nobbe 2008). Recientemente Kukreja et al. (2008) identificaron en *E. purpurascens* otras 16 proteínas alergénicas, de las cuales seis presentaron alta homología con proteínas anotadas en las bases de datos y para las cuales aún no existe denominación. Las esporas de *Epicoccum* son informadas prácticamente en todos los reportes aerobiológico a través del mundo y han sido incluidas entre del grupo de esporas de alta frecuencia (Kasprzyk et al. 2004, Oliveira et al. 2009b). Este taxón es frecuente en ambientes rurales y más abundante en áreas del interior comparadas con zonas costeras (Baxter et al. 2005). En España representó el 0,09% del total de esporas en el aire de Madrid (Díez et al. 2006), mientras que en zonas de cultivos en Badajoz, Muñoz et al. (2010) encontró concentraciones que oscilaban entre 30 y 309 esp/m³. En Oporto, Portugal, *Epicoccum* significó el 0,30% del total de esporas observadas en el aire (Oliveira et al. 2009a) y en áreas rurales de Portugal, Oliveira et al. (2010a) encontró niveles de esporas de 2,9 esp/m³ comparado con 1,3 esp/m³ en ambientes urbanos. En Polonia las concentraciones de esporas en ambientes urbanos oscilaron entre 1,1 y 2,2 esp/m³ y en rurales 2,1 y 3,1 esp/m³ (Kasprzyk & Worek 2006). Haamed et al. (2009) encontró en una zona industrial de Egipto que las esporas de *Epicoccum* correspondían solo al 0,04% del total de esporas. En una zona rural de India las esporas de *Epicoccum* oscilaron entre 0,43 y 12,47 esp/m³ (Adhikari et al. 2004), y en otra zona semiurbana de este país las esporas de este hongo representaron el 1% del total (Das & Gupta-Bhattacharya 2008). En Norteamérica, Levetin & Dorsay (2006) encontraron un promedio de 27,2 esp/m³ en el aire de la ciudad de Tulsa. En Chile, Ibañez et al. (2001) reportó que este tipo de esporas correspondieron al 0,5% del total de la aerospora. En Australia, Garrett et al. (1997) estableció que en el aire exterior de la ciudad de Victoria, las esporas de *Epicoccum* significaban el 1 % del total de esporas. En Barcelona, encontramos concentraciones promedios de 1,05 esp/m³ en ambientes interiores que correspondían al 4,81% de los *Pleosporales* totales (0,196% del total de esporas) y 5,11 esp/m³ en exteriores que correspondieron al 8,09% de los *Pleosporales* totales (0,517% del total).

Con respecto a la fracción viable, en Grecia se presentó un promedio de 1,20 UFC/m³ en el aire exterior de una zona densamente poblada (Pyrri & Kapsanaki.Gotsi 2012). En viviendas de Estados Unidos, el rango de UFC en el interior fue de 9 a 45 UFC/m³ y de 14 a 71 UFC/m³ en el exterior

(**Shelton et al. 2002**). En Argentina los niveles de UFC de *Epicoccum* en ambientes interiores correspondieron al 5,74% del total de UFC (promedio 5,4 UFC/m³) (**Basilico et al. 2007**), mientras en Fortaleza (Brasil) correspondieron al 0,4% del total de UFC (**Menezes et al. 2004**). En un estudio comparativo de los niveles entre viviendas de asmáticos y no asmáticos en USA, se observó que en el interior la concentración media de esporas de *Epicoccum* fue 2,4 esp/m³ y 3,5 UFC/m³ en los interiores de las viviendas de los asmáticos frente a 2,0 esp/m³ y 3,6 UFC/m³ (**Meng et al. 2012**).

En nuestro estudio, las UFC de *Epicoccum* correspondieron al 7,13% de los *Pleosporales* totales (0,365% del total de esporas) con un promedio de 0,43 UFC/m³ en interiores, para los exteriores las colonias de este agente representaron el 9,74% del total de *Pleosporales* (0,915% del total de esporas) con un promedio de 2,03 UFC/m³.

Adams et al. (2013) encontraron, al emplear técnicas moleculares como qPCR, que en viviendas de USA, el ADN de *Epicoccum* estuvo presente en el polvo en el interior del 88,1% de las viviendas estudiadas y en el 100% de los ambientes exteriores. En Barcelona, encontramos que en el polvo depositado sobre las superficies, las esporas de *Epicoccum* correspondieron al 8,55% del total de *Pleosporales* totales (1,27% de esporas totales) con un promedio de 0,34 esp/cm² en interiores y al 32,1% de los *Pleosporales* totales (4,32% del total de esporas) con un promedio de 8,55 esp/cm². En cuanto a las UFC, en el interior representaron el 11,2% de los *Pleosporales* totales (0,884% del total) con un promedio de 0,03 UFC/cm² y en el exterior el 32,1% de los *Pleosporales* totales (4,32% del total) con un promedio de 0,45UFC/cm².

Las concentraciones se vieron correlacionadas positivamente con la temperatura y negativamente con la humedad relativa y nivel de lluvias (**Oliveira et al. 2009b y 2010a**). En Italia los niveles altos se presentaron más frecuentemente en los días cálidos con condiciones secas y usualmente precedidos de días con lluvia, y se asociaron positivamente con la temperatura (media, máxima y mínima) y negativamente con la lluvia en el día del muestreo (**Rizzi-Longo et al. 2009**). En nuestro estudio, los niveles de *Epicoccum* en el interior de las viviendas se correlacionaron positiva y significativamente con la temperatura interior y exterior, y el viento y negativamente, pero de manera leve, con la humedad relativa exterior, en exteriores solo se correlacionaron negativa y significativamente con la humedad relativa. La lluvia se correlacionó negativamente con los niveles de *Epicoccum* en el aire exterior.

En lo relacionado a la estacionalidad, en Portugal y Polonia, los niveles de *Epicoccum* fueron más altos durante el verano y el otoño (**Kasprzyk & Worek 2006, Oliveira et al. 2010a**). En Italia los mayores valores se presentaron durante el verano con un pico en septiembre (ocasionalmente en julio u octubre) (**Rizzi-Longo et al. 2009**). En Estados Unidos los niveles mayores se presentan durante el otoño y los menores durante la primavera en interiores y en invierno en exteriores (**Shelton et al. 2002**). En Chile los mayores niveles se presentaron en otoño (**Ibáñez et al. 2001**). En Barcelona, los mayores niveles se presentaron durante el verano en el aire interior y en el otoño y primavera en el exterior, sobre las superficies fueron más frecuentes durante el otoño en el interior y el verano y la primavera en el exterior. Los niveles de *Epicoccum* se correlacionaron con los ambientes interiores de las viviendas tipo apartamento, la presencia de moquetas y largas frecuencias de aseo (cada dos semanas) con la acumulación visible de polvo sobre las superficies. Adicionalmente, se encontró correlación entre mayores concentraciones de *Epicoccum* y problemas de humedad en las paredes o techo.

Exserohilum. **Green et al. (2003 y 2005)** han demostrado la presencia de proteínas capaces de unir IgE en la pared de este microorganismo y el aumento en la liberación de tales proteínas cuando las conidias germinan. La prevalencia de reactividad a alérgenos de este hongo está alrededor del 30% en pacientes atópicos en los Estado Unidos (**Pontón et al. 2002**) y en Singapur se ha estimado en 17,7% en pacientes atópicos y 7,9% en no atópicos (**Chew et al. 2000**). Las conidias de *Exserohilum* han sido reportadas en bajas concentraciones (menor al 1% de total de esporas) en ambientes exteriores de Islas Canarias, España (**La-Serna et al. 2002**), Nuevo Gales del Sur, Australia (**Green et al. 2006, Wu et al. 2007**) y Karachi, Pakistán (**Hasnain et al. 2013**). Sobre un campo de maíz en

Cuba, se encontró que *Exserohilum* correspondió al 4,2% del total de UFC y este taxón fue más frecuente en el aire durante la estación del crecimiento del cultivo (Almaguer et al. 2012). En Barcelona, las esporas de *Exserohilum* solo estuvieron presentes en las superficies en el exterior de viviendas tipo casa en un área semiurbana correspondiendo al 0,03% de los *Pleosporales* totales (0,009% del total de esporas) con un promedio de 0,01 esp/cm². Este taxón no fue recuperado con el método para hongos viables.

Fusicladium. No se ha descrito la presencia de moléculas alergénicas en este hongo. Las esporas de *Fusicladium* representaron el 0,01% del total de esporas (Díez et al. 2006). En Barcelona estas esporas no se encontraron en el aire interior, en el aire exterior correspondió al 0,29% de *Pleosporales* totales (0,019% del total de esporas) con un promedio de 0,18 esp/m³. En las superficies en el interior el promedio fue de 0,02 esp/cm² representando el 0,42% de los *Pleosporales* totales (0,062% del total) mientras que para las del exterior el promedio fue 0,04 esp/cm² correspondiendo al 0,13% de los *Pleosporales* totales (0,038% de total). Según Latam (1982), sus niveles se correlacionan positivamente con la velocidad del viento, la temperatura y las lluvias y negativamente con la humedad relativa. Gottwald & Bertrand (1982) encontraron correlaciones similares, sin embargo la lluvia presentó una correlación negativa al igual que el rocío, demás reportaron que la dispersión sobre los cultivos que infecta es mayor desde finales de abril hasta noviembre, con los máximos niveles entre junio y octubre. En nuestro estudio solo se encontró una correlación positiva leve de los niveles en el exterior con la temperatura. Sus niveles en el exterior fueron mayores en los ambientes del grupo SA y más comunes en zonas rurales.

Helminthosporium. Se ha demostrado el desarrollo de hipersensibilidad a sus antígenos en el 18,8% de la población atópica (Simon-Nobbe et al. 2008). En extractos de esporas y micelios de *H. halodes* se ha demostrado la presencia de al menos 17 alérgenos de pesos moleculares que oscilan entre 14 a 94 kDa, los cuales unieron (Karlsson-Borga et al. 1989). Las conidias de este hongo suele ser incluidas dentro del grupo *Drechslera/Bipolaris/Helminthosporium/Exserohilum* por lo que suele desconocerse su verdadera prevalencia en el aire. En España han sido observadas en Madrid (Díez et al. 2006) representando menos del 0,01% de la aerospora y estuvieron presentes en el aire en el 2,2% de los días muestreados, también fueron encontradas en las Islas Canarias (La-Serna et al. 2002) correspondiendo menos del 1% del total de esporas. En la zona de L'Aquila (Italy) este taxón se encontró generalmente en concentraciones menores a 5 esp/m³, presentando sus mayores niveles en mayo (Bruno et al. 2007). En Grecia, su concentración promedio fue 0,29 esp/m³ en el aire de Atenas (Pyrris & Kapsanaki-Gotsi 2007) y en Thessaloniki significó el 1,4% del total de esporas (Gioulekas et al. 2004). En India, las esporas de *Helminthosporium* suelen informarse con frecuencia, aunque en bajos niveles, tal como lo ha descrito Nayak (1998) y Gaikwad & Sonewain (2012) en ambientes industrial donde representaron menos del 1% y el 1,2% del total de esporas, respectivamente; también en India, Adhikari et al. (2004) encontró ocasionalmente este tipo de espora en zonas agrícolas, Chakraborty et al. (2000) en diferentes zonas de West Bengala con grados variables de urbanización donde las esporas de este hongo solo estuvieron presente en el aire de zonas de cultivo de maíz, siendo más comunes durante el invierno y más baja durante el verano; en áreas residenciales de Lucknow, Khandelwal (2001) encontró bajos recuento de esporas de *Helminthosporium* en el aire durante todo el año con un promedio de 20 esp/m³, con los mayores niveles entre abril y julio que corresponde con el verano en India. Este tipo de esporas no estuvieron presentes en el aire de las viviendas en Barcelona. En el exterior correspondió al 0,18% de los *Pleosporales* totales (0,011% del total de esporas) con un promedio de 0,11 esp/m³.

Con respecto a las UFC, son menos informadas en la literatura. En West Bengala las UFC de *Helminthosporium* fueron encontradas en ambientes interiores de un edificio hospitalario y un supermercado y en exteriores de áreas residenciales encontrando concentraciones que oscilaron entre 0,46 y 8,07 UFC/m³ en los ambientes interiores y 0,48 a 6,92 UFC/m³ en exteriores, con un comportamiento estacional diferente a las esporas, ya que en este caso las mayores concentraciones de UFC se presentaron durante el verano y más bajo durante el periodo de lluvia (Chakraborty et al. 2000). En México las UFC de *Helminthosporium* estuvieron presentes en el 30% de las viviendas de pacientes asmáticos estudiadas (Rosas et al. 1997). En Barcelona no se obtuvo crecimiento de

Helminthosporium a partir de las muestras de aire. No se encontró correlación de ninguna variable medioambiental con los niveles del hongo, pero se relacionaron con los ambientes exteriores del grupo ND, principalmente en ámbitos rurales.

En las superficies en el interior las conidias de *Helminthosporium* representaron el 0,42% de los *Pleosporales* totales (0,039% del total de esporas) con un promedio de 0,01 esp/cm² y en el exterior correspondieron al 0,23% de los *Pleosporales* totales (0,064% del total) con un promedio de 0,08 esp/cm². Las UFC solo estuvieron en las superficies en el exterior y significaron el 0,14% de los *Pleosporales* totales (0,019% del total) con un promedio de < 0,001 UFC/cm².

Phoma. La sensibilización a este hongo fue descrita en una población de granjeros en USA por **Endres et al. (2012)** quienes encontraron una positividad en el 8% en individuos atópicos y 2% en la población no atópica. Es un género común en el filoplan (Levetin & Dorsey 2006) y sobre superficies húmedas en el interior de las edificaciones (Andersen et al. 2011). Sus esporas no son fáciles de diferenciar, por tal razón no suelen ser informadas en los estudios aerobiológicos clásicos. Con respecto a las UFC, colonias de *Phoma* spp han sido informadas en el interior de viviendas en Francia correspondiendo al 1,2% del total (Roussel et al 2008). En Grecia fueron encontradas en concentraciones bajas de UFC (0,09 UFC/m³) (Pyri & Kapsanaki-Gotsi 2012). En cuatro ambientes interiores en China, las UFC de *Phoma* se presentaron frecuentemente en el aire (entre el 33,3 y el 50% de las muestras) representando entre el 0,7% y 1,7% de las UFC totales, con una concentración promedio que osciló entre 3,9 y 19,7 UFC/m³ (Lou et al. 2012). En Brasil correspondió al 0,1% del total de UFC en el aire exterior de Fortaleza (Menezes et al. 2004) y en Argentina, Basílico et al. (2007) las encontró en una concentración de 1,26 UFC/m³ en el interior (0,20% del total de UFC). En Victoria, Australia *Phoma* aportó solo el 0,2% del total de UFC tanto en interiores y exteriores (Garrett et al. 1997). Su ADN fue encontrado en el aire interior del 58,2% del grupo de viviendas estudiadas en California, USA, y en el 100% de las muestras de exterior (Adams et al. 2013). En nuestro estudio, las UFC de *Phoma* en el aire interior correspondieron al 0,6% de los *Pleosporales* totales (0,031% del total de UFC) con un promedio de 0,04 UFC/m³, mientras que en el exterior representaron el 1,51% de los *Pleosporales* totales (0,141% del total) con un promedio de 0,31 UFC/m³. En las superficies del interior *Phoma* correspondió al 0,27% de los *Pleosporales* totales (0,022% del total) con un promedio de 0,002 UFC/cm² y en las del exterior significaron el 0,22% de los *Pleosporales* totales (0,03% del total) con un promedio de 0,03 UFC/cm².

Levetin & Dorsey (2006) encontraron asociación de la lluvia semanal acumulada con los niveles de *Phoma* tanto en el aire como sobre las hojas de cultivos en Tulsa, USA. En Barcelona, los niveles de *Phoma* en el exterior solo se correlacionaron levemente con la humedad relativa exterior y con los días lluviosos.

Pithomyces. Se ha demostrado la presencia de moléculas alergénicas en las conidias e hifas del hongo, pero se desconoce la reactividad de la población a estos alérgenos (Green et al. 2005). **Kasprzyk et al. (2004)** y **Oliveira et al. (2009b)** incluyeron este taxón dentro del grupo de baja frecuencia o aparición esporádica en el aire. En España, este género correspondió a menos del 0,01% del total de esporas presentes en la aerospora de Madrid (Díez e al. 2006), mientras que en cultivos irrigados en el área de Badajoz, Muñoz et al. (2010) encontró medias que oscilaron entre 8 y 46 esp/m³. En Portugal, Oliveira et al. (2009a y 2010a) encontró que este tipo de esporas correspondía al 0,04% del total, tanto en zonas rurales como urbanas (concentración promedio de 0,2 esp/m³). En Polonia la concentración promedio fue 0,1 esp/m³, tanto en ambientes rurales como urbanos (Kasprzyk & Worek 2006). En Tulsa, USA, Levetin & Dorsay (2006) estimaron que el promedio de *Pithomyces* en el aire era 16 esp/m³, correspondiendo al 0,30% del total de esporas observadas. En la zona de Karachi, Pakistán, representaron menos del 1% del total (Hasnain et al. 2012). En India, Das & Gupta-Bhattacharya (2008) encontraron que las esporas de este tipo representaban el 1,1% del total de esporas en un área semiurbana. En Barcelona, las esporas de *Pithomyces* spp en el aire interior a las viviendas estudiadas fueron el 1,2% de los *Pleosporales* totales (0,049% del total de esporas) con un promedio de 0,26 esp/m³ y en el aire exterior aportaron el 0,75% de los *Pleosporales* totales (0,048% del total) con un promedio de 0,47 esp/m³.

En un estudio comparativo entre hogares de pacientes asmáticos y no asmáticos, **Meng et al. (2012)** encontraron que en el interior de las viviendas de los primeros, la concentración de esporas era 2,4 esp/m³ y las UFC 3,5/m³ mientras que en las de no alérgicos fueron 1,8 esp/m³ y 3,9 UFC/m³. En Barcelona no se encontraron colonias de *Pithomyces* en el aire.

En las superficies interiores, *Pithomyces* correspondió al 1,95% de los *Pleosporales* totales (0,29% del total de esporas) con un promedio de 0,08 esp/cm² y en exteriores al 1,17% de los *Pleosporales* totales (0,33% del total) con un promedio de 0,38 esp/cm². Con respecto a las UFC, solo fueron recuperadas de las superficies exteriores correspondiendo al 0,013% de los *Pleosporales* totales (<0,001% del total de UFC) con un promedio de 0,0002 UFC/cm².

Para *Pithomyces*, se ha establecido un patrón estacional desde finales de verano hasta finales de otoño en Portugal (**Oliveira et al. 2010a**). **Stepalska & Worek (2005)** establecieron que en Polonia los mayores niveles se presentan entre agosto y septiembre. En India fue más frecuente a inicios del invierno (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008**). **Soleimani et al. (2013)** encontró que los niveles de UFC de *Pithomyces* incrementaban durante las tormentas de arena, en el mismo sentido **Smith et al. (2012)** han encontrado ADN del hongo en el 99,3% de las muestras de polvo que atraviesa el océano desde Asia a Norteamérica. En nuestro estudio los niveles de *Pithomyces* se correlacionaron positivamente pero de manera leve en el interior con la temperatura y la humedad relativa del interior, en exteriores también se encontró una correlación positiva leve con la temperatura. Las concentraciones de este hongo fueron más frecuentes durante el verano y en los días con viento en calma.

Sporidesmium. Este taxón está incluido dentro del compendium de alérgenos de plantas, animales, alimentos y químicos presentado por **Bernstein et al. (2008)** y **Green et al. (2005)** encontró que a nivel de la pared de las conidias se encontraban proteínas fuentes de alérgenos. Este microorganismo ha sido reportado ocasionalmente en los estudios aerobiológicos en diversas áreas geográficas. En un área de viñedos en Italia, **Magynar et al. (2009)** encontró que las esporas de *Sporidesmium* representaban menos del 1% del total de esporas recuperadas. En la ciudad de Karachi, Pakistán, también significaron menos del 1% del total (**Hasnain et al. 2012**). En India correspondieron al 0,1% del total en áreas semiurbana de West Bengala (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008**) y en zonas densamente pobladas de Kolkata (**Das & Gupta-Bhattacharya 2012**). También fueron observadas en bajos niveles en el aire de Nuevo Gales del Sur, Australia (**Green et al. 2006b**). En Barcelona las esporas de *Sporidesmium* se presentaron en un promedio de 0,06 esp/m³ correspondiendo al 0,28% de los *Pleosporales* totales (0,011% del total de esporas) en el aire interior y en el exterior un promedio de 0,04 esp/m³ que representó el 0,07% de los *Pleosporales* totales (0,004% del total). Sobre las superficies, *Sporidesmium* representó al 0,11% de los *Pleosporales* totales (0,065% del total) con un promedio de 0,04 esp/cm² en el interior y 0,31% de los *Pleosporales* totales (0,086% del total) con un promedio de 0,1 esp/cm². Los niveles de esporas de *Sporidesmium* en el interior estuvieron correlacionados negativa y significativamente con la humedad relativa en el exterior, y en ambientes exteriores se correlacionaron negativamente, pero de manera leve, con la humedad relativa. En ambientes exteriores este tipo de esporas fueron más comunes en los alrededores de las viviendas del grupo SA y en áreas rurales.

Stemphylium. En este agente se ha demostrado la presencia de una secuencia homóloga al alérgeno Alt a 1 de *Alternaria alternata* (**Hong et al. 2005**) y se ha demostrado la producción de esta proteína en concentraciones que superan las producidas por *A. alternata* (**Gutiérrez-Rodríguez et al. 2011**). Se ha informado una prevalencia de la sensibilización a *Stemphylium* de 30,7 % en pacientes atópicos con sospecha de alergia a hongos (**Corey et al. 1997**). Este hongo está incluido dentro del grupo de baja frecuencia o aparición esporádica (**Kasprzyk et al. 2004, Oliveira et al. 2009b**). En el aire de España, **Diez et al. (2006)** lo identificó en 0,04% del total de esporas en Madrid. En el área rural de Badajoz se encontraron concentraciones que oscilaron entre 32 y 282 esp/m³ (**Muñoz et al. 2010**). **Oliveira et al. (2010a)** en Portugal encontraron que las conidias de *Stemphylium* representaban el 0,08% del total de esporas en concentraciones de 0,5 esp/m³ en áreas rurales y 0,6 esp/m³ en urbanas. En Polonia se encontraron niveles que oscilaron entre 0,1 y 0,2 en áreas urbanas

y de 0,1 en rurales (**Kasprzyk & Worek 2006**). En Grecia, correspondió al 0,11% del total de UFC recuperadas en ambientes exteriores de Atenas (**Pyrri & Kapsanaki 2012**). En Pakistán fue frecuente y representó el 1,3% del total de esporas observadas en el aire de la ciudad de Karachi (**Hasnain et al. 2012**). **Levetin & Dorsay (2000)** encontraron una concentración de 8 esp/m³ en el aire de Tulsa (USA) correspondiendo al 0,14% del total de esporas. En Santiago de Chile fue el 0,5% del total de esporas (**Ibáñez et al. 2001**). En Barcelona se encontró una concentración promedio de 0,69 esp/m³ en el aire interior y representó el 3,13% de los *Pleosporales* totales (0,13% del total de esporas), mientras que en el exterior el promedio fue 2,64 esp/m³ y correspondió al 4,22% de los *Pleosporales* totales (0,269% del total).

Sus UFC aumentan durante las tormentas de arena (**Soleimani et al. 2013**). En un estudio realizado en viviendas de USA, su ADN ha sido encontrado en el 55.2% de los interiores analizados frente al 100% de los exteriores (**Adams et al. 2013**). En nuestro estudio la concentración de UFC promedio en el ambiente interior fue 0,05 UFC/m³ representando el 0,77% de los *Pleosporales* totales (0,039% del total) y en exteriores el promedio fue 0,02 UFC/m³ correspondiendo al 0,12% de los *Pleosporales* totales (0,011% del total).

En las superficies las esporas de *Stemphylium* presentaron una concentración promedio en el interior de 0,18 esp/cm² correspondiendo al 4,49% de los *Pleosporales* totales (0,67% del total) y en el exterior de 2,33 esp/cm² representando el 7,21% de los *Pleosporales* totales (2,04% del total).

Los cambios en los niveles en Italia se han asociado positivamente con la temperatura, la velocidad y ráfagas de viento, y negativamente con la humedad relativa y duración de la humedad (**Rossi et al. 2005**). En Portugal, los niveles son afectados positivamente por la temperatura y negativamente por la humedad relativa y la lluvia (**Oliveira et al. 2009b**). En Barcelona los niveles de *Stemphylium* en el interior se asociaron positiva y significativamente con la temperatura interior y exterior y en menor medida con la humedad relativa en el interior. En exteriores, los niveles se correlacionaron positiva y significativamente con la temperatura y negativamente, pero levemente, con la humedad relativa.

En Islas Canarias se encontraron niveles durante todo el año con dos picos, uno a finales de primavera y el otro en el otoño, con una disminución significativa durante el invierno (**Domínguez et al. 1996**). Los niveles más altos son frecuentes desde mediados de primavera hasta otoño, con dos picos altos en verano (**Oliveira et al. 2010a**). En Italia los mayores niveles se presentan entre abril y agosto (**Rossi et al. 2005**). En Polonia se presentan dos picos, uno desde junio hasta principio de julio y el segundo desde finales de julio a finales de agosto (**Stępańska -Worek 2005**). En Barcelona los mayores niveles se presentaron durante la primavera, especialmente durante los días soleados secos y en áreas rurales.

Tetraploa. En un estudio realizado en Singapur en población alérgica y no alérgico, **Chew et al. (2000)**, demostró una prevalencia de sensibilización a este agente en el 16% de los alérgicos y en el 6,6% de los no alérgicos. Esta espora ha sido informada en el aire alrededor del mundo, principalmente en zonas tropicales y subtropicales (**Karpińska-Kończak et al. 2010**). En zona rural de Ourense se presentó ocasionalmente en el aire pero nunca supero las 10 esp/m³ (**Reinaria et al. 1998**). En Islas Canarias fue observada en bajos niveles por **La-Serna et al. (2002)**. También fue ocasionalmente encontrada en el aire de una zona de viñedos en Italia (**Magynar et al. 2009**). En Pakistán representó menos del 1% del total de esporas encontradas en el aire de Karachi (**Hasnain et al. 2012**). En un área semiurbana y en una ciudad densamente poblada de India significó el 0,2% del total de esporas en el aire (**Das & Gupta-Bhattacharya 2008 y 2012**). En Tulsa, USA, correspondió al 0,004% del total de esporas con una concentración promedio de 0,2 esp/m³ (**Levetin & Dorsay 2006**) y en Texas menos del 0,1% del total (**Dixit et al. 2000**). En Melbourne, Australia, representó menos del 0,01% del total de esporas (**Mitatakis & Guest 2001**). A pesar de que *Tetraploa* se asocia a material vegetal y con ambientes exteriores, en nuestro estudio solo fue observada en el aire y las superficies en el interior de las viviendas. En promedio, las esporas de *Tetraploa* presentó una concentración de 0,02 esp/m³ significando el 0,09% de los *Pleosporales* totales (0,004% del total de esporas) en el aire interior y 0,01 esp/cm² en superficies representando el

0,053% de los *Pleosporales* totales (0,008% del total). Los niveles de *Tetraploa* del interior no presentaron correlación con los parámetros meteorológicos, y en el exterior solo leve pero positivamente con la humedad relativa.

Ulocladium. Es considerado uno de los mohos alergénicos más comunes en los Estados Unidos asociado a la fiebre del heno, pero la incidencia de reactividad a sus alérgenos no ha sido estimada. Proteínas alergénicas relacionadas con Alt a 1 han sido identificadas en cinco especies dentro de este género (*U. alternarie*, *U. atrum*, *U. botrytis*, *U. chartarum* y *U. cucurbitae*) (Hong et al. 2005), específicamente *U. chartarum* demostró producir concentraciones altas de Alt a 1 (Gutiérrez-Rodríguez et al. 2011). Es un hongo reportado comúnmente en la aerospora y considerado un marcador de ambientes con problemas de humedad (Andersen et al. 2011). En España, correspondió a menos del 0,01% del total de esporas de la aerospora de Madrid, (Díez et al. 2006), se encontró en bajas concentraciones (un total de 30 esporas) en todas las áreas muestreadas por Tormo-Molina et al. (2012) en el interior de un ambiente hospitalario en Badajoz. En un área industrial de Egipto correspondió al 0,14% del total de esporas del aire (Haamed et al. 2004). En un estudio de ambientes de oficina a través de los Estados Unidos, MacInstosh et al. (2006) encontró que las esporas de *Ulocladium* correspondieron al 2% del total de esporas en el interior y al 4% del total del exterior. En Santiago de Chile solo correspondió al 0,02% del total de esporas (Ibáñez et al. 2001). En Australia, las esporas de este hongo significaron menos del 0,1% en ambientes interiores y estuvieron ausentes en exteriores (Garrett et al. 1997). En Barcelona las esporas de *Ulocladium* en el aire en el interior de las viviendas correspondieron al 0,09% de las *Pleosporales* totales (0,004% del total de esporas) con una concentración promedio de 0,02 esp/m³ y representando el 0,16% de los *Pleosporales* totales (0,01% del total de esporas) con un promedio de 0,14 esp/m³ en exteriores.

Con relación a la fracción viable, en una zona de Aragón, España, con una alta densidad de cerdos, se encontró una frecuencia de UFC de *Ulocladium* de 4,5% (Amigot et al. 2000), mientras que en un ambiente hospitalario en Badajoz, los recuentos fueron bajos, alcanzando un total de UFC de solo 23, pero distribuidos en todos los sitios muestreados, tanto en el interior como en el exterior (Tormo-Molina et al. 2012). En viviendas de Francia, las UFC de *Ulocladium* se encontraron en el 7,8% de los ambientes estudiados (Roussel et al. 2008). En Grecia, las UFC de *Ulocladium* correspondió al 0,56% (Pyrrri & Kapsanaki-Gotsi 2007). En área urbana de Boston, USA, la concentración promedio de UFC de este tipo de hongo en viviendas de pacientes riniticos fue 60 UFC/m³ (Stark et al. 2005). Meng et al. (2012) encontró también en viviendas de USA, que en las de individuos asmáticos, las UFC de *Ulocladium* representaron el 4,7% del total mientras que no se obtuvo crecimiento de este taxón en la de los no asmáticos. En Argentina, la frecuencia de las UFC fue 0,57% (con una concentración promedio de 2,24 UFC/m³), siendo más común en áreas semiurbanas (Basílico et al. 2007). En ambientes escolares en Malasia, *Ulocladium* significó el 3,95% del total de UFC (Hussin et al. 2011). En Victoria, Australia, correspondió a menos del 0,1% de UFC recuperadas del aire interior y no se encontró en exteriores (Garrett et al. 1997). En las viviendas de Barcelona, las UFC en el interior presentaron un promedio de 0,1 UFC/m³ y representó un 0,2% de los *Pleosporales* totales (0,01% de las esporas totales) en el interior y 0,05 UFC/m³ en exteriores correspondiendo al 0,23% de los *Pleosporales* totales (0,022% del total de esporas).

El ADN de *Ulocladium* fue encontrado en el 100% de las muestras de polvo que atraviesa el océano pacífico desde Asia hasta Norteamérica (Smith et al. 2012). Sobre las superficies en el interior las esporas de *Ulocladium* representaron el 0,11% de los *Pleosporales* totales (0,016% de las esporas totales) con un promedio de 0,01 esp/cm² y en exteriores correspondieron al 0,26% de los *Pleosporales* totales (0,073% del total) y un promedio de 0,09 esp/cm². Con respecto a las UFC, *Ulocladium* presentó un promedio de 0,001 UFC/cm² siendo el 0,27% de los *Pleosporales* totales (0,022% de las UFC totales) en el interior y 0,001 UFC/cm² en el exterior representando el 0,22% de los *Pleosporales* totales (0,03% de las UFC totales).

Los niveles de *Ulocladium* no se correlacionaron con los parámetros meteorológicos en Barcelona durante el periodo analizado.

Las mayores concentraciones se encontraron durante el verano en Argentina (**Basilico et al. 2007**).

Ulocladium fue más frecuente en el exterior de las viviendas tipo casa en ambientes rurales, en interiores se relaciona con ambientes semiurbanos. Las UFC de *Ulocladium* en el interior se asociaron con la lluvia previa y durante el muestreo.

Los *Pleosporales* se encuentran comúnmente en la aerospora de Barcelona, tanto en el interior como en el exterior y en todas las estaciones climáticas del año. Sin embargo, la única manera de determinar su papel en la sensibilización en pacientes atópicos y su asociación con la exacerbación de las manifestaciones clínicas de alergia, sería poder identificar proteínas alergénicas a partir de sus extractos y posteriormente determinar la incidencia de sensibilización a éstas en la población general y atópica. Los resultados obtenidos en este estudio, corroboran que la utilización de una sola técnica de muestreo para determinar la micoflora ambiental, es insuficiente ya que podría infravalorar algunos taxones.

Conclusiones

Las esporas de *Pleosporales* son un componente común de la aerospora de Barcelona, siendo representadas principalmente por géneros mitospóricos como *Alternaria*, *Epicoccum* y *Stemphylium*, aunque en ambientes más rurales el aporte de *Pleosporales* meiospóricos como *Leptosphaeria*, *Pleospora* y tipo-*Venturia* también fue importante. Otros taxones suelen ser de aparición ocasional o estar limitados a determinados ambientes o estación climática (*Corynespora*, *Dendryphon*, *Diapleella*)

Los recuentos de UFC fueron significativamente menores a los de esporas, diferencia más evidente en los ambientes exteriores, debido principalmente al efecto germicida y de desecación de los rayos solares sobre las esporas, a la presencia de contaminantes químicos que afectan la viabilidad de los hongos suspendidos en la atmósfera y a la presencia en el aire de taxones incapaces de desarrollarse en medios de cultivo sintéticos.

En las superficies estudiadas, principalmente en las de ambientes exteriores, predominaron las esporas y las UFC de los hongos productores de macroconidias, lo cual corrobora la importancia del análisis de las partículas sedimentadas como complemento a los estudios de calidad de aire, para no infravalorar aquellos géneros, que por su peso y tamaño tienden a sedimentar rápidamente, pero que pueden asociarse de igual manera a procesos alérgicos, infecciosos o de colonización y daños de materiales.

Existieron diferencias significativas en el tipo y concentración de esporas y UFC de *Pleosporales* entre la atmósfera de ambientes rurales y semiurbanos donde se encontraron las mayores concentraciones y biodiversidad, comparados con los urbanos donde los niveles además de menores, contenían un número de géneros más limitado.

Se encontraron diferencias importantes entre el tipo y la concentración de *Pleosporales* entre ambientes interiores y exteriores, siendo más comunes y diversos en estos últimos.

La distancia con respecto al mar tuvo un efecto inversamente proporcional en las concentraciones de esporas o UFC de *Pleosporales*, encontrándose los mayores niveles en aquellas zonas más alejadas.

Las variables atmosféricas pueden afectar positiva o negativamente la liberación y permanencia de las esporas de hongos en el aire y la existencia de correlación dependerá de si se analiza el efecto de manera puntual o acumulativa (horario, diario, semanal o mensual). Es así como las correlaciones estuvieron ausentes o fueron muy débiles cuando se utilizaron los datos horarios e incrementaban su significancia cuando se usaban los promedios diarios y semanales.

La temperatura afectó la liberación de los *Pleosporales* mitospóricos de manera positiva permitiendo el incremento de los niveles de conidias en el aire al favorecer su maduración y facilitar su separación desde la célula conidiógena, y la de los *Pleosporales* meiospóricos de manera negativa, dificultando la liberación de las ascosporas desde las ascas al provocar una disminución de la humedad ambiental.

La humedad relativa del aire y el grado de humedad sobre las superficies, mostraron correlación positiva con los niveles de ascosporas, que como se ha dicho antes requieren de humedad para

liberarse, y negativa con las conidias, que requieren condiciones de sequedad ambiental para dispersarse.

La lluvia tuvo un efecto dual sobre los niveles de esporas de *Pleosporales* en el aire. En días previos al muestreo, se asoció a la humedad que estimula el desarrollo de los hongos, pero en el mismo día su efecto varió de acuerdo a la duración, lluvias cortas incrementaron los niveles al facilitar la liberación de esporas desde la célula conidiógena, el asca o las superficies, y lluvias prolongadas limpiaron el aire por su efecto de barrido.

La velocidad del viento favoreció los niveles de conidias de *Pleosporales* al permitir la ruptura de las cadenas de conidias o fracturar su unión a la célula conidiógena, además de resuspender las esporas sedimentadas sobre las superficies. La dirección del viento se correlacionó con altos niveles cuando provino de zonas del interior, más aún si son áreas de cultivos o boscosas, y se asoció a bajos niveles cuando viene del mar debido al efecto dilución. Sin embargo, tal relación no pudo ser soportada estadísticamente.

Para algunas esporas de *Pleosporales* fue posible establecer un patrón estacional definido. Es el caso de las conidias de *Alternaria*, tipo-*Drechslera-Helminthosporium*, *Epicoccum*, *Pithomyces* y *Stemphylium*, más comunes desde la primavera hasta el otoño, con incrementos significativos principalmente durante el verano para la mayoría. Los *Pleosporales* meiospóricos no manifestaron un patrón estacional, aunque presentaron los valores más bajos durante el invierno, a excepción del tipo-*Pleospora* que no manifestó ningún cambio significativo a través del año.

El verano fue la estación con los niveles de esporas de *Pleosporales* más altos en el aire e invierno con los más bajos, tanto en ambientes interiores como exteriores. En contraste, las UFC de *Pleosporales* fueron más abundantes durante el verano en el interior y durante el otoño en el exterior. Los niveles más bajos en exterior corresponden al verano, lo que corrobora el efecto germicida de las radiaciones solares, más prolongadas y directas en esta estación climática. Las superficies mostraron el mismo comportamiento de los niveles de esporas en el aire, con los recuentos por cm² más elevados durante el verano tanto en el interior como en el exterior, las UFC con valores máximos en verano y en el exterior se en invierno.

Diversos estudios describen que los hongos conidiales manifiestan un patrón diurno de liberación de las esporas, provocando un incremento en los niveles hacia el mediodía y los menores en la noche y la madrugada. Para los productores de ascosporas, este patrón suele describirse como nocturno, con la mayor liberación en horas de la madrugada y la menor hacia el mediodía. Sin embargo, estos patrones no fueron comunes para todos los *Pleosporales* en la atmósfera de Barcelona y manifestaron cambios importantes de acuerdo a la estación climática.

Las viviendas tipo casa ubicadas en ambientes rurales o semiurbanos presentaron recuentos de esporas más elevados y mayores niveles del alérgeno Alt a 1, así como una diversidad más amplia de taxones, tanto de esporas como de UFC totales y de *Pleosporales*, que las encontradas en las viviendas tipo apartamento o en ambientes urbanos.

Los mayores recuentos de esporas y UFC de *Pleosporales* se encontraron en las viviendas de los individuos alérgicos, aunque debe tenerse en cuenta que esto pudo deberse a la inclusión en este grupo de un mayor número de casas en ambientes urbanos o semiurbanos.

La ventilación de las viviendas por medio de las ventanas abiertas (ventilación natural), el tiempo en que permanecen abiertas y la presencia de moquetas, fueron las características locativas más relacionadas con altos niveles y diversidad de *Pleosporales* en los ambientes interiores.

El poseer mascotas, solo mostró correlación entre la tenencia de perros y los niveles de Alt a 1, y de gatos y las conidias de *Ulocladium*. Otras mascotas como hámsteres o pájaros se correlacionaron levemente con la presencia de UFC de *Alternaria*.

La presencia de plantas de interior y problemas de humedad en paredes y techos, referidas en múltiples estudios como factores favorecedores de altas concentraciones de hongos en el interior, no tuvieron efectos sobre la concentración ni la diversidad de *Pleosporales* en las viviendas de Barcelona.

Las concentraciones de esporas de *Alternaria* estuvieron por encima de los umbrales descritos por algunos autores como de riesgo para la exacerbación de los cuadros de asma (por encima de las 100 esp/m³ o niveles superiores a 50 esp/m³ a través de varias horas del día), sin embargo en el estudio no fue posible la correlación entre los recuentos altos y la aparición de los síntomas. Es necesario realizar este tipo de análisis, además de establecer los umbrales para los otros taxones de *Pleosporales* observados con frecuencia en la ciudad de Barcelona, para establecer la importancia real de estos microorganismos como alérgenos en la ciudad.

Los niveles de la proteína alergénica Alt a 1 en las muestras de polvo fueron más comunes en el interior de las viviendas de los individuos alérgicos, sin embargo no se encontró correlación entre estos niveles y la concentración de esporas o UFC de *Alternaria* o de *Pleosporales* totales cuando se emplearon los tests estadísticos. Las casas que presentaban las mayores concentraciones de Alt a 1, coincidieron con las que proporcionaron recuentos altos de esporas y UFC de *Alternaria* y otros *Pleosporales* mitospóricos.

Los fragmentos de hifas dematiáceas fueron un componente importante, tanto por su concentración como por su permanencia, en la atmósfera de Barcelona. Se observaron coincidencias entre el incremento de los niveles de *Pleosporales*, principalmente de los mitospóricos, y el aumento de los fragmento de hifas dematiáceas en el aire, lo cual sugeriría que gran parte de estas estructuras pertenecen a estos taxones.

Las concentraciones de Alt a 1 fueron significativamente superiores durante el verano, época en la que se encuentran los mayores niveles de *Pleosporales* en la atmósfera.

La sensibilización a alérgenos de *Alternaria* en Barcelona fue más común en hombres, en población menor a 14 años, y en mujeres en adultos, tal como se informa en la literatura, sin embargo, en nuestro estudio esta observación no es objetiva por el desbalance existente entre ambos sexos en cada rango de edad.

La polisensibilización es un fenómeno frecuente entre la población atópica. En Barcelona, los individuos con diagnóstico de alergia a *Alternaria* estuvieron por lo general sensibilizados a otros alérgenos, principalmente de ácaros, epitelios de animales y gramíneas.

La rinitis es la manifestación clínica más frecuente en los pacientes sensibilizados a alérgenos de *Alternaria*, seguida por el asma bronquial.

Los métodos empleados para el estudio de la sensibilización a alérgenos de *Alternaria*, skin prick test e ImmunoCap Rapid, demostraron un 100% de concordancia.

Anexos

Anexos

Anexo 1a. Relaciones I/O (Indoor/Outdoor) para los taxones de *Pleosporales* las viviendas del grupo SA con el método Hirst.

Taxones	Grupo SA método Hirst																											
	Verano							Otoño							Invierno							Primavera						
	Exterior			Interior				I/O	Exterior			Interior				IO	Exterior			Interior				IO				
Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)		DS	Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS		Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total		M (m²)	DS		
<i>Comoclathris</i>	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0			
<i>Cucurbitoidhis</i>	120.0	3.9	14.1	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	21.6	0.7	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Delitschia</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00	2.4	0.1	0.4	24.0	1.5	3.6	10.0	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Diapleella</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Didymella</i>	0.0	0.0	0.0	9.6	0.6	1.2	0.00	0.0	0.0	0.0	4.8	0.3	0.9	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	21.6	0.7	3.9	4.8	0.3	0.9	0.22
<i>Leptosphaeria</i>	384.0	12.4	33.4	220.8	13.8	14.0	0.68	127.2	4.1	10.0	297.6	18.6	32.0	2.34	36.0	1.2	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	264.0	8.8	22.3	57.6	3.7	3.0	0.22
<i>Leptosphaerulina</i>	4.8	0.2	0.9	9.6	0.6	1.7	2.00	0.0	0.0	0.0	4.8	0.3	0.9	0.00	0.0	0.0	0.0	14.4	0.9	1.5	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Lewia</i>	33.6	1.1	2.3	4.8	0.3	0.9	0.14	14.4	0.5	1.9	4.8	0.3	0.9	0.33	4.8	0.2	0.9	0.0	0.0	0.0	0.00	9.6	0.3	1.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Lophiostoma</i>	0.0	0.0	0.0	24.0	1.5	2.5	0.00	0.0	0.0	0.0	4.8	0.3	0.9	0.00	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Massarina</i>	379.2	12.2	54.0	19.2	1.2	2.7	0.05	12.0	0.4	1.8	14.4	0.9	1.9	1.20	0.0	0.0	0.0	4.8	0.3	0.9	0.00	74.4	2.5	8.2	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Melanomma</i>	16.8	0.5	1.7	14.4	0.9	1.4	0.86	0.0	0.0	0.0	9.6	0.6	1.2	0.00	0.0	0.0	0.0	4.8	0.3	0.9	0.00	21.6	0.7	3.2	14.4	0.9	1.5	0.67
<i>Paraphaeosphaeria</i>	556.8	18.0	93.8	58.0	3.6	3.7	0.10	7.2	0.2	0.7	24.0	1.5	2.2	3.33	14.4	0.5	1.9	9.6	0.6	1.8	0.67	60.0	2.0	5.8	14.4	0.9	2.6	0.24
<i>Phaeosphaeria</i>	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	4.8	0.3	0.9	0.00	0.0	0.0	0.0	19.2	1.2	1.7	0.00	0.0	0.0	0.0	134.4	8.7	19.2	0.00
<i>Pleospora</i>	667.2	21.5	104.4	28.8	1.8	2.3	0.04	21.6	0.7	1.7	19.2	1.2	2.1	0.89	108.0	3.6	7.1	0.0	0.0	0.0	0.00	175.2	5.8	9.9	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Rebentischia</i>	28.8	0.9	5.2	0.0	0.0	0.0	0.00	9.6	0.3	1.7	4.8	0.3	0.9	0.50	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00	9.6	0.3	1.8	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Sporimiella</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	4.8	0.3	0.9	0.00	0.0	0.0	0.0	9.6	0.6	1.8	0.00	0.0	0.0	0.0	19.2	1.2	1.7	0.00
<i>Tipo Venturia</i>	201.8	6.5	12.1	105.6	6.6	8.6	0.52	91.2	2.9	4.7	48.0	3.0	2.9	0.53	14.4	0.5	1.9	0.0	0.0	0.0	0.00	225.5	7.5	11.1	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Alternaria</i>	1849.8	59.7	67.3	734.3	45.9	38.7	0.40	501.6	16.2	14.6	148.8	9.3	5.0	0.30	242.4	8.1	8.6	0.0	0.0	0.0	0.00	1164.0	38.8	48.4	19.2	1.2	3.5	0.02
<i>Bipolaris</i>	0.0	0.0	0.0	4.8	0.3	0.9	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Corynespora</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	96.0	6.2	10.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Curvularia</i>	0.0	0.0	0.0	4.8	0.3	0.9	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Dedryphium</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Drechslera</i>	55.2	1.8	2.9	19.2	1.2	1.6	0.35	38.4	1.2	2.0	14.4	0.9	1.4	0.38	9.6	0.3	1.0	9.6	0.6	1.2	1.00	151.2	5.0	7.3	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Embellisia</i>	4.8	0.2	0.9	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	52.8	3.4	3.2	0.00
<i>Epicoccum</i>	146.4	4.7	4.7	48.2	3.0	3.1	0.33	160.6	5.2	4.7	33.6	2.1	2.4	0.21	72.0	2.4	4.0	0.0	0.0	0.0	0.00	108.0	3.6	3.6	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Exserohilum</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Fusicladium</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	9.6	0.6	1.2	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Helminthosporium</i>	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00	9.6	0.3	1.2	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	20.0	1.3	2.1	0.00
<i>Phoma</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Pithomyces</i>	36.0	1.2	1.9	28.8	1.8	1.9	0.80	9.6	0.3	1.2	0.0	0.0	0.0	0.00	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Sporidesmium</i>	2.4	0.1	0.4	4.8	0.3	0.9	2.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	2.4	0.1	0.4	9.6	0.6	1.2	4.00
<i>Stemphylium</i>	79.2	2.6	3.6	24.0	1.5	1.8	0.30	48.0	1.5	3.3	14.4	0.9	1.4	0.30	24.1	0.8	1.6	4.8	0.3	0.9	0.20	182.4	6.1	9.0	38.4	2.5	2.5	0.21
<i>Tetraploa</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	4.8	0.2	0.9	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
<i>Ulocladium</i>	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00	4.8	0.2	0.9	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	2.4	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.00
Ascosporas bicelulares color	794.4	25.6	83.2	67.2	4.2	3.5	0.08	79.2	2.6	5.3	24.0	1.5	3.5	0.30	67.2	2.2	5.2	4.8	0.3	0.9	0.07	175.2	5.8	18.3	33.6	2.2	2.4	0.19
Ascosporas multicelulares color	3405.6	109.9	385.6	724.8	45.3	46.3	0.21	360.0	11.6	15.5	100.8	6.3	6.2	0.28	211.2	7.0	14.1	43.2	2.8	3.8	0.20	2016.0	67.2	172.1	412.4	26.6	27.2	0.20
Fragmentos hifas dematiáceas	3541.4	114.2	102.6	2404.7	150.3	70.1	0.68	1243.2	40.1	27.9	710.2	44.4	16.5	0.57	738.9	24.6	29.1	388.8	25.1	11.4	0.53	1679.1	56.0	61.1	729.6	47.1	19.6	0.43
Esp/m²	42740	1379	1205	30160	1885	1618	0.71	28244	911	627	12062	754	255	0.34	14502	483	531	9260	597	707	0.00	39125	1304	708	24680	1592	894	0.00

Las relaciones I/O fueron calculadas con las sumatorias totales de cada taxón, en cada estación climática y por cada método y entorno.

Anexo 1b. Relaciones I/O (Indoor/Outdoor) para los taxones de *Pleosporales* las viviendas del grupo SA con el método del cello.

Taxones	Grupo SA método cello																											
	Verano						Otoño						Invierno						Primavera									
	Exterior			Interior			I/O	Exterior			Interior			IO	Exterior			Interior			IO	Exterior			Interior			IO
Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total		M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total		M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total		M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total	
<i>Comoclathris</i>	2,5	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00	3,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	3,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Cucurbitoidhis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	36,0	1,2	6,4	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	2,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Delitschia</i>	7,0	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,00	11,0	0,4	0,6	0,0	0,0	0,0	0,00	20,5	0,7	1,2	0,0	0,0	0,0	0,00	10,5	0,4	0,7	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Diaplella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Didymella</i>	3,5	0,1	0,4	0,5	0,0	0,1	0,14	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	2,5	0,1	0,3	0,5	0,0	0,1	0,20	5,5	0,2	0,8	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Leptosphaeria</i>	31,5	1,0	1,8	4,5	0,1	0,3	0,14	36,5	1,2	1,9	5,5	0,2	0,4	0,15	16,5	0,5	0,8	1,0	0,0	0,2	0,06	20,0	0,7	0,9	2,0	0,1	0,2	0,10
<i>Leptosphaerulina</i>	4,0	0,1	0,4	2,0	0,1	0,4	0,50	2,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	0,00	1,0	0,0	0,2	0,5	0,0	0,1	0,50
<i>Lewia</i>	1,5	0,0	0,2	1,0	0,0	0,2	0,67	2,0	0,1	0,2	0,5	0,0	0,1	0,25	2,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Lophiostoma</i>	15,0	0,5	1,3	4,0	0,1	0,4	0,27	30,5	1,0	1,5	3,0	0,1	0,2	0,10	14,5	0,5	0,8	0,0	0,0	0,00	0,00	7,0	0,2	0,4	2,0	0,1	0,2	0,29
<i>Massarina</i>	1,5	0,0	0,2	1,0	0,0	0,1	0,67	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Melanomma</i>	8,5	0,3	0,6	2,0	0,1	0,3	0,24	8,5	0,3	0,6	1,0	0,0	0,1	0,12	2,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,00	0,00	8,0	0,3	0,6	0,5	0,0	0,1	0,06
<i>Paraphaeosphaeria</i>	21,0	0,7	1,4	4,5	0,1	0,3	0,21	31,0	1,0	1,6	0,5	0,0	0,1	0,02	13,5	0,4	0,6	0,0	0,0	0,00	0,00	16,0	0,6	0,7	0,5	0,0	0,1	0,03
<i>Phaeosphaeria</i>	4,5	0,1	0,4	1,5	0,0	0,2	0,33	4,5	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00	5,5	0,2	0,5	0,0	0,0	0,00	0,00	1,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Pleospora</i>	120,0	3,9	6,7	6,5	0,2	0,4	0,05	66,5	2,1	2,5	1,0	0,0	0,1	0,02	52,5	1,7	2,1	1,5	0,0	0,2	0,03	94,5	3,3	6,8	7,0	0,2	0,3	0,07
<i>Rebentischia</i>	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	2,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	0,00	1,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Sporormiella</i>	2,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	5,5	0,2	0,4	0,5	0,0	0,1	0,09	3,0	0,1	0,5	0,0	0,0	0,00	0,00	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Tipo Venturia</i>	4,5	0,1	0,3	1,0	0,0	0,1	0,22	9,0	0,3	0,7	1,0	0,0	0,1	0,11	1,5	0,0	0,2	0,0	0,0	0,00	0,00	16,0	0,6	2,8	0,5	0,0	0,1	0,03
<i>Alternaria</i>	1162,0	37,5	37,9	101,0	3,3	3,6	0,09	745,0	24,0	34,6	27,0	0,9	1,3	0,04	505,0	16,3	28,5	8,5	0,3	0,5	0,02	272,5	9,4	9,2	27,5	0,9	1,4	0,10
<i>Bipolaris</i>	33,0	1,1	3,7	4,5	0,1	0,3	0,14	13,0	0,4	0,8	0,0	0,0	0,0	0,00	5,0	0,2	0,4	0,0	0,0	0,00	0,00	2,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Corynespora</i>	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Curvularia</i>	3,5	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00	3,5	0,1	0,3	0,5	0,0	0,1	0,14	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Dedryphiium</i>	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Drechslera</i>	39,5	1,3	1,7	0,0	0,0	0,0	0,00	22,0	0,7	1,3	2,5	0,1	0,2	0,11	9,0	0,3	0,7	0,0	0,0	0,00	0,00	29,5	1,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Embellisia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	2,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Epicoccum</i>	148,5	4,8	5,9	11,5	0,4	0,6	0,08	209,0	6,7	9,0	2,0	0,1	0,2	0,01	197,5	6,4	10,3	0,0	0,0	0,00	0,00	44,5	1,5	3,0	4,5	0,2	0,3	0,10
<i>Exserohilum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	2,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Fusicladium</i>	2,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	2,5	0,1	0,3	0,0	0,0	0,00	0,00	2,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Helminthosporium</i>	4,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00	2,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	0,00	1,5	0,1	0,2	0,5	0,0	0,1	0,33
<i>Phoma</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Pithomyces</i>	17,5	0,6	1,3	0,5	0,0	0,1	0,03	25,5	0,8	1,3	0,0	0,0	0,0	0,00	6,0	0,2	0,5	0,5	0,0	0,1	0,08	4,0	0,1	0,2	0,5	0,0	0,1	0,13
<i>Sporidesmium</i>	5,5	0,2	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00	5,0	0,2	0,4	0,5	0,0	0,1	0,10	2,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,00	0,00	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Stemphylium</i>	123,5	4,0	3,9	7,0	0,2	0,5	0,06	91,5	3,0	4,1	1,5	0,0	0,2	0,02	60,5	2,0	2,4	2,0	0,1	0,2	0,03	60,0	2,1	2,6	5,0	0,2	0,5	0,08
<i>Tetraploa</i>	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Ulocladium</i>	7,5	0,2	0,8	1,5	0,0	0,3	0,20	1,5	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	2,0	0,1	0,2	0,5	0,0	0,1	0,25	1,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00
Ascosporas bicelulares color	29,5	1,0	1,3	6,5	0,2	0,4	0,22	10,5	0,3	0,9	0,0	0,0	0,0	0,00	51,0	1,6	3,3	0,0	0,0	0,00	0,00	20,5	0,7	1,3	1,0	0,0	0,1	0,05
Ascosporas multigelulares color	129,5	4,2	7,4	36,5	1,2	1,6	0,28	90,5	2,9	4,5	9,5	0,3	0,8	0,10	17,5	0,6	1,1	4,0	0,1	0,3	0,23	96,0	3,3	5,7	8,5	0,3	0,6	0,09
Fragmentos hifas dematiáceas	1087,5	35,1	33,2	143,0	4,6	4,3	0,13	584,5	18,9	24,8	33,5	1,1	1,3	0,06	477,0	15,4	21,4	20,5	0,7	0,9	0,04	314,0	10,8	12,9	47,0	1,6	2,3	0,15
Esp/m³	6664,5	215,0	184,5	1307,5	42,2	45,5	0,20	4255,0	137,3	148,1	331,0	10,7	9,8	0,08	2877,0	92,8	121,1	143,0	4,6	9,4	0,05	2816,5	97,1	93,1	470,5	16,2	17,1	0,17

Las relaciones I/O fueron calculadas con las sumatorias totales de cada taxón, en cada estación climática y por cada método y entorno.

Anexo 1d. Relaciones I/O (Indoor/Outdoor) para los taxones de *Pleosporales* las viviendas del grupo SA con el método del aplicador de algodón.

Taxones	Grupo AS método aplicador de algodón																												
	Verano						Otoño						Invierno						Primavera										
	Exterior			Interior			I/O	Exterior			Interior			IO	Exterior			Interior			IO	Exterior			Interior			IO	
	Total	M (m ²)	DS	Total	M (m ²)	DS		Total	M (m ²)	DS	Total	M (m ²)	DS		Total	M (m ²)	DS	Total	M (m ²)	DS		Total	M (m ²)	DS	Total	M (m ²)	DS		
<i>Comoclathris</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Cucurbitodithis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Delitschia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Diaplella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Didymella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Leptosphaeria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Leptosphaerulina</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Lewia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Lophiostoma</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Massarina</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Melanomma</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Paraphaeosphaeria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Phaeosphaeria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Pleospora</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Rebentischia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Sporormiella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
Tipo <i>Venturia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0				
<i>Alternaria</i>	28,2	0,9	0,7	11,2	0,4	0,4	0,40	0,3	0,0	0,0	7,2	0,2	0,2	24,00	0,2	0,0	0,0	3,5	0,1	0,2	17,50	0,0	0,0	0,0	8,1	0,3	0,3	0,00	
<i>Bipolaris</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Corynespora</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Curvularia</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Dedryphium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Drechslera</i>	0,4	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,25	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Embellisia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	11,5	0,4	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	30,4	1,0	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,3	0,4	0,4	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Epicoccum</i>	2,8	0,1	0,1	0,3	0,0	0,0	0,11	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	0,0	0,1	0,00
<i>Exserohilum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Fusicladium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Helminthosporium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Phoma</i>	1,8	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Pithomyces</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Sporidesmium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Stemphylium</i>	0,2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,50	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Tetraploa</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Ulocladium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Ascosporas bicelulares color</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Ascosporas multicelulares color</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
Fragmentos hifas dematiáceas	2,1	0,1	0,2	1,2	0,0	0,1	0,57	0,3	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,67	0,4	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,50	0,6	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,50	
Esp/m ³	188,3	6,1	6,1	126,6	4,1	8,9	0,67	432,1	13,9	9,1	130,5	4,2	6,1	0,30	428,3	13,8	9,8	78,4	2,5	1,9	0,18	329,6	11,4	6,1	118,7	4,1	3,2	0,36	

Las relaciones I/O fueron calculadas con las sumatorias totales de cada taxón, en cada estación climática y por cada método y entorno.

Anexo 1f. Relaciones I/O (Indoor/Outdoor) para los taxones de *Pleosporales* las viviendas del grupo ND con el método cello.

Taxones	Grupo ND Método Cello																															
	Verano								Otoño								Invierno								Primavera							
	Exterior				Interior				I/O	Exterior				Interior				IO	Exterior				Interior				IO					
	Total	M (m²)	DS		Total	M (m²)	DS			Total	M (m²)	DS		Total	M (m²)	DS			Total	M (m²)	DS		Total	M (m²)	DS			Total	M (m²)	DS		
<i>Comoclathris</i>	2,5	0,1	0,2		0,5	0,0	0,1	0,20	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,5	0,1	0,2	1,5	0,1	0,2	1,00				
<i>Cucurbitodithis</i>	0,0	0,0	0,0		3,0	0,1	0,3	0,00	1,0	0,0	0,2	0,5	0,0	0,1	0,50	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,5	0,1	0,2	1,0	0,0	0,1	0,67				
<i>Delitschia</i>	3,5	0,1	0,3		0,5	0,0	0,1	0,14	5,5	0,2	0,5	2,5	0,1	0,3	0,45	2,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,00	3,5	0,1	0,3	0,5	0,0	0,1	0,14				
<i>Diapleella</i>	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Didymella</i>	1,0	0,0	0,1		0,0	0,0	0,0	0,00	6,5	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Leptosphaeria</i>	20,0	0,7	1,0		9,0	0,3	0,5	0,45	6,5	0,2	0,3	8,5	0,3	0,6	1,31	4,5	0,2	0,3	1,5	0,1	0,2	0,33	8,0	0,3	0,6	2,5	0,1	0,2	0,31			
<i>Leptosphaerulina</i>	2,0	0,1	0,2		2,0	0,1	0,2	1,00	1,0	0,0	0,1	2,5	0,1	0,2	2,50	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Lewia</i>	2,0	0,1	0,2		0,5	0,0	0,1	0,25	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,1	0,00	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Lophiostoma</i>	7,0	0,2	0,5		5,5	0,2	0,4	0,79	8,5	0,3	0,5	4,0	0,1	0,4	0,47	3,5	0,1	0,4	0,0	0,0	0,00	2,5	0,1	0,2	2,0	0,1	0,2	0,80				
<i>Massarina</i>	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,1	0,5	0,0	0,1	0,50	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Melanomma</i>	7,5	0,3	0,7		4,0	0,1	0,3	0,53	4,0	0,1	0,3	1,0	0,0	0,1	0,25	1,5	0,1	0,2	1,0	0,0	0,1	0,67	2,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00			
<i>Paraphaeosphaeria</i>	6,0	0,2	0,4		6,0	0,2	0,5	1,00	6,5	0,2	0,5	6,0	0,2	0,4	0,92	2,5	0,1	0,2	1,0	0,0	0,1	0,40	7,5	0,3	0,4	2,0	0,1	0,2	0,27			
<i>Phaeosphaeria</i>	1,5	0,1	0,2		0,5	0,0	0,1	0,33	1,5	0,1	0,2	1,0	0,0	0,1	0,67	2,5	0,1	0,4	0,5	0,0	0,1	0,20	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00			
<i>Pleospora</i>	44,0	1,5	2,1		16,5	0,6	1,0	0,38	21,0	0,7	1,4	10,0	0,3	0,6	0,48	29,0	1,1	1,7	1,5	0,1	0,2	0,05	40,5	1,4	1,9	8,0	0,3	0,7	0,20			
<i>Rebentischia</i>	1,0	0,0	0,1		0,0	0,0	0,0	0,00	1,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,5	0,0	0,1	1,00	0,0	0,0	0,0	1,5	0,1	0,2	0,00			
<i>Sporormiella</i>	1,0	0,0	0,1		0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	1,5	0,1	0,2	3,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Tipo Venturia</i>	2,5	0,1	0,3		3,0	0,1	0,3	1,20	2,5	0,1	0,2	2,0	0,1	0,2	0,80	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	95,5	3,4	18,0	0,5	0,0	0,1	0,01				
<i>Alternaria</i>	642,5	22,2	20,5		226,5	7,8	10,2	0,35	492,5	17,0	13,8	135,5	4,7	7,8	0,28	318,2	11,8	12,4	24,1	0,9	1,5	0,08	228,5	8,2	14,1	43,5	1,6	2,4	0,19			
<i>Bipolaris</i>	16,0	0,6	0,8		3,0	0,1	0,2	0,19	6,5	0,2	0,4	1,0	0,0	0,2	0,15	1,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Corynespora</i>	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Curvularia</i>	1,0	0,0	0,2		0,0	0,0	0,0	0,00	2,0	0,1	0,2	2,5	0,1	0,2	1,25	0,5	0,0	0,1	0,5	0,0	0,1	1,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00				
<i>Dedryphium</i>	2,0	0,1	0,3		0,5	0,0	0,1	0,25	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Drechslera</i>	12,0	0,4	0,9		5,0	0,2	0,4	0,42	21,0	0,7	0,9	2,5	0,1	0,2	0,12	11,5	0,4	0,5	1,0	0,0	0,1	0,09	10,5	0,4	0,8	2,5	0,1	0,2	0,24			
<i>Embellisia</i>	1,0	0,0	0,1		0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,2	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Epicoccum</i>	79,5	2,7	2,8		28,5	1,0	1,4	0,36	183,0	6,3	6,2	26,5	0,9	1,2	0,14	117,5	4,4	4,7	3,5	0,1	0,3	0,03	43,5	1,6	2,3	4,5	0,2	0,3	0,10			
<i>Exserohilum</i>	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Fusicladium</i>	1,0	0,0	0,1		3,5	0,1	0,4	3,50	1,0	0,0	0,1	0,5	0,0	0,1	0,50	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Helminthosporium</i>	0,5	0,0	0,1		0,0	0,0	0,0	0,00	3,0	0,1	0,2	1,5	0,1	0,2	0,50	2,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,00	2,5	0,1	0,2	0,5	0,0	0,1	0,20				
<i>Phoma</i>	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Pithomyces</i>	14,5	0,5	0,6		6,5	0,2	0,4	0,45	11,0	0,4	0,6	8,5	0,3	0,5	0,77	7,0	0,3	0,6	1,0	0,0	0,1	0,14	2,5	0,1	0,4	1,0	0,0	0,1	0,40			
<i>Sporidesmium</i>	1,0	0,0	0,1		0,0	0,0	0,0	0,00	5,5	0,2	0,4	0,5	0,0	0,1	0,09	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	1,5	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Stemphylium</i>	67,0	2,3	2,1		14,5	0,5	0,7	0,22	47,0	1,6	1,9	9,5	0,3	0,7	0,20	54,1	2,0	2,4	1,0	0,0	0,1	0,02	39,0	1,4	1,8	2,0	0,1	0,2	0,05			
<i>Tetraploa</i>	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00				
<i>Ulocladium</i>	3,0	0,1	0,3		0,0	0,0	0,0	0,00	1,5	0,1	0,2	0,5	0,0	0,1	0,33	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,00	2,0	0,1	0,2	0,5	0,0	0,1	0,25				
<i>Ascosporas bicelulares color</i>	13,0	0,4	0,9		14,0	0,5	0,9	1,08	11,0	0,4	1,0	2,0	0,1	0,3	0,18	9,5	0,4	1,4	0,0	0,0	0,00	14,5	0,5	0,9	1,0	0,0	0,1	0,07				
<i>Ascosporas multicelulares color</i>	43,0	1,5	1,9		26,0	0,9	1,2	0,60	44,0	1,5	3,2	15,0	0,5	0,8	0,34	37,0	1,4	1,9	1,5	0,1	0,2	0,04	42,0	1,5	1,7	14,5	0,5	1,0	0,35			
<i>Fragmentos hifas dematiáceas</i>	533,0	18,4	14,4		289,5	10,0	12,2	0,54	543,5	18,7	16,3	139,5	4,8	6,8	0,26	300,2	11,1	9,0	54,1	2,1	3,1	0,18	230,0	8,2	10,2	54,0	1,9	3,0	0,23			
<i>Esp/m³</i>	3520,0	121,4	99,8		1992,5	68,7	85,5	0,57	2815,5	97,1	78,7	1081,0	37,3	57,6	0,38	1916,0	71,0	58,4	205,7	7,9	9,6	0,11	1785,0	63,8	81,1	844,5	30,2	58,5	0,47			

Las relaciones I/O fueron calculadas con las sumatorias totales de cada taxón, en cada estación climática y por cada método y entorno.

Anexo 1g. Relaciones I/O (Indoor/Outdoor) para los taxones de *Pleosporales* las viviendas del grupo ND con el método Microflow.

Taxones	Grupo ND Método Microflow																															
	Verano							Otoño							Invierno							Primavera										
	Exterior			Interior				I/O	Exterior			Interior				IO	Exterior			Interior				IO								
Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)		DS	Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS		Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total		M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	IO		
<i>Comoclathris</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
<i>Cucurbitoidis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Delitschia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Diaplella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Didymella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Leptosphaeria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Leptosphaerulina</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Lewia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Lophiostoma</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Massarina</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Melanomma</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	2,8	0,1	0,5	0,00	
<i>Paraphaeosphaeria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Phaeosphaeria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Pleospora</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	7,2	0,2	1,3	0,00		
<i>Rebentischia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Sporormiella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Tipo Venturia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Alternaria</i>	360,8	12,4	16,5	226,8	7,8	10,2	0,56	738,2	26,4	23,3	128,8	4,6	6,9	0,17	235,1	8,4	11,7	36,4	1,3	2,3	0,15	349,7	12,5	15,3	158,8	5,5	5,7	0,45				
<i>Bipolaris</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Corynespora</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Curvularia</i>	0,0	0,0	0,0	5,6	0,2	0,7	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Dedryphiium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Drechslera</i>	5,6	0,2	1,0	2,8	0,1	0,5	1,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	5,6	0,2	1,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Embellisia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Epicoccum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,33	166,5	5,9	9,8	22,4	0,8	2,3	0,13	12,1	0,4	1,5	5,6	0,2	1,1	0,46	50,0	1,8	4,3	21,6	0,7	1,6	0,43				
<i>Exserohilum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Fusicladium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Helminthosporium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Phoma</i>	38,9	1,3	5,3	0,0	0,0	0,0	0,14	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	5,6	0,2	1,0	0,0	0,0	0,00	5,6	0,2	1,0	2,8	0,1	0,5	0,50					
<i>Pithomyces</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Sporidesmium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Stemphylium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Tetraploa</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Ulocladium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Ascosporas bicelulares color</i>	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Ascosporas multicelulares color</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00		
<i>Fragmentos hifas dematiáceas</i>	111,0	3,8	5,8	0,0	0,0	0,0	1,00	38,9	1,4	3,6	0,0	0,0	0,0	0,00	30,2	1,1	2,4	0,0	0,0	0,00	30,5	1,1	3,4	7,2	0,2	1,3	0,24					
<i>Esp/m³</i>	3413,3	117,7	71,5	36,4	1,3	3,3	0,71	7420,4	265,0	186,2	14,0	0,5	2,2	0,00	4032,2	144,0	92,7	5,6	0,2	0,7	0,00	6929,2	247,5	219,5	20,8	0,7	2,0	0,00				

Las relaciones I/O fueron calculadas con las sumatorias totales de cada taxón, en cada estación climática y por cada método y entorno.

Anexo 1h. Relaciones I/O (Indoor/Outdoor) para los taxones de *Pleosporales* las viviendas del grupo ND con el método del aplicador de algodón.

Taxones	Grupo ND Método aplicador de algodón																											
	Verano							Otoño							Invierno							Primavera						
	Exterior			Interior			I/O	Exterior			Interior			IO	Exterior			Interior			IO	Exterior			Interior			IO
Total	M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total		M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total		M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total		M (m²)	DS	Total	M (m²)	DS	Total	
<i>Comoclathris</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Cucurbitodithis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Delitschia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Diaplella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Didymella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Leptosphaeria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Leptosphaerulina</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Lewia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Lophiostoma</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Massarina</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Melanomma</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Paraphaeosphaeria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Phaeosphaeria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Pleospora</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Rebentischia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Sporormiella</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
Tipo <i>Venturia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Alternaria</i>	26,1	0,9	0,6	14,7	0,5	0,4	0,56	33,1	1,1	0,7	9,7	0,3	0,3	0,29	36,7	1,3	2,9	4,0	0,1	0,2	0,11	16,0	0,6	0,4	4,8	0,2	0,1	0,30
<i>Bipolaris</i>	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	1,00	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	1,00	
<i>Corynespora</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Curvularia</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Dedryphium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Drechslera</i>	0,2	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	1,00	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,5	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00	0,3	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,33	
<i>Embellisia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Epicoccum</i>	1,2	0,0	0,1	0,4	0,0	0,0	0,33	14,5	0,5	0,4	2,3	0,1	0,1	0,16	37,0	1,3	1,8	2,4	0,1	0,1	0,06	7,0	0,3	0,2	0,7	0,0	0,10	
<i>Exserohilum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Fusicladium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Helminthosporium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Phoma</i>	2,1	0,1	0,3	0,3	0,0	0,0	0,14	1,7	0,1	0,2	0,1	0,0	0,06	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Pithomyces</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Sporidesmium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Stemphylium</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	4,0	0,1	0,7	0,0	0,0	0,0	0,00	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Tetraploa</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
<i>Ulocladium</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,5	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,00	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
Ascosporas bicelulares color	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
Ascosporas multcelulares color	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	1,6	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
Fragmentos hifas dematiáceas	1,1	0,0	0,1	1,1	0,0	0,1	1,00	0,2	0,0	0,0	0,3	0,0	1,50	21,4	0,7	3,9	0,0	0,0	0,0	0,00	1,5	0,1	0,1	0,2	0,0	0,0	0,13	
Esp/m ³	139,8	4,8	2,9	99,3	3,4	2,3	0,71	377,5	13,0	7,1	160,9	5,5	3,5	0,43	551,6	19,0	20,1	93,4	3,2	1,8	0,17	252,6	9,0	6,6	120,8	4,3	2,8	0,48

Las relaciones I/O fueron calculadas con las sumatorias totales de cada taxón, en cada estación climática y por cada método y entorno.

Referencias bibliográficas

- Adams G, Gottwald T, Leach C (1986). Environmental factors initiating liberation of conidia of powdery mildews. *Phytopathology* 76:1239-1245.
- Adams R, Miletto M, Taylor J, Bruns T (2013). Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances. *ISME J* 1-12.
- Adhikari A, Sen M, Gupta-Bhattacharya S, Chanda S (2004a). Airborne viable, non-viable, and allergenic fungi in a rural agricultural area of India: a 2-year study at five outdoor sampling stations. *Sci Total Environ* 326:123-141.
- Adhikari A, Sen M, Gupta-Bhattacharya S, Chanda S (2004b). Volumetric assessment of airborne fungi in two sections of a rural indoor dairy cattle shed. *Environ Int* 29:1071-1078.
- Agashe S, Caulton E (2009). *Pollen and spores: Applications with special emphasis on aerobiology and allergy*. Enfield, New Hampshire, USA: Science Publishers. 412 p.
- Aira M, Rodríguez-Rajo F, Fernández-González M, Seijo C, Rendueles E, et al. (2013). Spatial and temporal distribution of *Alternaria* spores in the Iberian Peninsula atmosphere, and meteorological relationships: 1993–2009. *Int J Biometeorol* 57:265-274.
- Aira M, Rodríguez-Rajo F, Jato V (2008). 47 Annual records of allergenic fungi spore: predictive models from the NW Iberian Peninsula. *Ann Agric Environ Med* 15:91-98.
- Alcorn J (1983). Generic concepts in *Drechslera*, *Bipolaris* and *Exserohilum*. *Mycotaxon* 17:1-86.
- Alcorn J (1988). The taxonomy of "*Helminthosporium*" species. *Ann Rev Phytopathol* 26:37-56.
- Alergológica (1995). Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, Alergia e Inmunología Abelló, S.A. (eds). NILO Industria Gráfica Madrid, pp 81-113.
- Alergológica 2005 (2006). Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Schering-Plough. Ergraf. Luzán 5 S.A de Ediciones Madrid. 387p.
- Alexopoulos J, Mims C, Blackwell M. (1996). *Introductory mycology*. 4th Ed, New York: John Wiley & Sons, 880 p.
- Allit U (2000). Airborne fungal spores and the thunderstorm of 24 June 1994. *Aerobiologia* 16:397-406.
- Allue J (1990). *Atlas fitoclimático de España*. INIA, first ed., Madrid, Spain. 221 p.
- Almaguer M, Rojas T, Rodríguez-Rajo F, Aira M (2012). Airborne fungal succession in a rice field of Cuba. *Eur J Plant Pathol* 133:473-482.
- Al-Subai A (2002). Air-borne fungi at Doha, Qatar. *Aerobiologia* 18:175-183.

- Alt S, Kollar A (2010). Hydrodynamics of raindrop impact stimulate ascospore discharge of *Venturia inaequalis*. *Fungal Biol* 114(4):320-324.
- Amend A, Seifert K, Samson R, Bruns T (2010). Indoor fungal composition is geographically patterned and more diverse in temperate zones than in the tropics. *PNAS* 107(31):13748-13753.
- American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. The National Allergy Bureau™ (NAB™). [<http://www.aaaai.org/global/nab-pollen-counts.aspx>, Consulta: 28 de Mayo de 2013]
- Amigot J, Díez-Ticio T, González J, Lara C, Bárcena C, et al. (2000). An aerobiological study in the rural areas of Aragon (Spain) with a high population of pigs. *Grana* 39:259-265.
- Andersen B, Frisvad J, Søndergaard I, Rasmussen I, Larsen L (2011). Associations between fungal species and water-damaged building materials. *App Environ Microbiol* 77(12):4180-4188.
- Angulo-Romero J, Mediavilla-Molina A, Domínguez-Vilches E (1999). Conidia of *Alternaria* in the atmosphere of the city of Cordoba, Spain in relation to meteorological parameters. *Inter J Biometeorol* 43:45-49.
- Arbes S, Gergen P, Elliott L, Zeldin D (2005a). Prevalences of positive skin test responses to 10 common allergens in the US population: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Allergy Clin Immunol* 116:377-383.
- Arbes S, Sever M, Mehta J, Collette N, Thomas B, et al. (2005b). Exposure to indoor allergens in day-care facilities: Results from 2 North Carolina counties. *J Allergy Clin Immunol* 116:133-139.
- Arseniuk E, Goral T, Scharen A (1998). Seasonal patterns of spore dispersal of *Phaeosphaeria* spp. and *Stagonospora* spp. *Plant Dis* 82:187-194.
- Asher M, Montefort S, Björkstén B, Lai C, Strachan D, et al. (2006). Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry. Cross-sectional surveys. *Lancet* 368:733-743.
- Astray G, Rodríguez-Rajo J, Ferreiro-Lage A, Fernández-González M, Jato V, et al. (2010). The use of artificial neural networks to forecast biological atmospheric allergens or pathogens only as *Alternaria* spores. *J Environ Monit* 12:2145-2152.
- Asturias J, Arilla M, Ibarrola I, Eraso E, González-Rioja R, et al. (2003). A sensitive two-site enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of the major *Alternaria alternata* allergen Alt a 1. *Ann Allergy Asthma Immunol* 90:529-535.
- Asturias J, Ibarrola I, Ferrer A, Andreu C, López-Pascual E, et al. (2005). Diagnosis of *Alternaria alternata* sensitization with natural and recombinant Alt a 1 allergens. *J Allergy Clin Immunol* 115(6):1210-1217.
- Atkinson R, Strachan D, Anderson H, Hajat S, Emberlin J (2006). Temporal associations between daily counts of fungal spores and asthma exacerbations. *Occup Environ Med* 63(9): 580-590.
- Awad A (2005). Vegetation: A source of air fungal bio-contaminant. *Aerobiologia* 21:53-61.
- Awad A, Gibbs S, Tarwater P, Green C (2013). Coarse and fine culturable fungal air concentrations in urban and rural homes in Egypt. *Int J Environ Res Public Health* 10:936-949.
- Aylor D (1986). A framework for examining inter-regional aerial transport of fungal spores. *Agric Forest Meteorol* 38:263-288.

- Aylor D, Taylor G (1983). Escape of *Peronospora tabacina* spores from a field of diseased tobacco plants. *Phytopathol* 73:525-529.
- Bahkali A, Parvez S (1999). Fungal flora in house dust in Riyadh, Saudi Arabia. *Mycoses* 42:339-343.
- Barnes C, Tuck J, Simon S, Pacheco F, Hu F, et al. (2001). Allergenic materials in the house dust of allergy clinic patients. *Ann Allergy Asthma Immunol* 86(5):517-523.
- Barnett H, Hunter B (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 218 p.
- Barr M (1987) *Prodromus to Class Loculoascomycetes*. Amherst. Department of Botany, University of Massachusetts, 168 p.
- Bartra J, Belmonte J, Torres-Rodríguez J, Cistero-Bahima A (2009). Sensitization to *Alternaria* in patients with respiratory allergy. *Front Biosci* 14:3372-3379.
- Bashan Y, Levanony H, Reuven O (1991). Wind dispersal of *Alternaria alternata*, a cause of leaf blight of cotton. *J Phytopathol* 133:225-238.
- Basílico M, Chiericatti C, Aringoli E, Althaus R, Basílico J (2007). Influence of environmental factors on airborne fungi in houses of Santa Fe City, Argentina. *Sci Total Environ* 376:143-150.
- Basset I, Crompton C, Parmelee J (1978). *An Atlas of airborne pollen grains and common fungus spores of Canada*. Research Branch, Canada Department of Agriculture. Monograph No. 18 Ottawa, Ont, Canada Department of Agriculture.
- Bauer H, Kasper-Giebl A, Löflund M, Giebl H, Hitzemberger R, et al. (2002). The contribution of bacteria and fungal spores to the organic carbon content of cloud water, precipitation and aerosols. *Atmos Res* 64:109-119.
- Baxter D, Perkins J, McGhee C, & Seltzer J (2005): a regional comparison of mold spore concentrations outdoors and inside “clean” and “mold contaminated” Southern California buildings. *J Occup Environ Hyg* 2(1):8-18.
- Bellí N, Bau M, Marín S, Abarca M, Ramos A, Bragulat M (2006). Mycobiota and ochratoxin A producing fungi from Spanish wine grapes. *Int J Food Microbiol* 111:S40-S45.
- Belmonte J, Vendrell M, Roure J (1998). *Aerobiología en Cataluña: estación de Barcelona (1995-1996)*. REA 3:53-56.
- Bernstein L, Li J, Bernstein D, Hamilton R, Spector S, et al. (2008). Allergy diagnostic testing: An updated practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol* 100(3):S1-S148.
- Bisht V, Kukreja N, Singh B, Arora N, Sridhara S (2003). Current status of fungal allergens. *Indian J Allergy Asthma Immunol* 17:9-19.
- Black P, Udy A, Brodie S (2000). Sensitivity to fungal allergens is a risk factor for life-threatening asthma. *Allergy* 55(5):501-504.
- Blackwell M (2011). The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *Am J Bot* 98(3):426-438.
- Bokhary H, Parvez S (1995). Fungi inhabiting household environments in Riyadh, Saudi Arabia. *Mycopathologia* 130:79-87.
- Bolòs O (1962). *El paisaje vegetal barcelonés*. Universitat de Barcelona. Fac. Filosofia y Letras. Barcelona.

- Bonetta S, Bonetta S, Mosso S, Sampò S, Carraro E (2010). Assessment of microbiological indoor air quality in an Italian office building equipped with an HVAC system. *Environ Monit Assess* 161:473-483.
- Bousquet J, Khaltaev N, Cruz A, Denburg J, Fokkens W, et al. (2008a). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen); World Health Organization; GA(2)LEN; AllerGen. *Allergy* 63(S86):8-160.
- Bousquet J, Leynaert B, Neukirch F, Sunyer J, Janson C, et al. (2008b). Geographical distribution of atopic rhinitis in the European Community Respiratory Health Survey I. *Allergy* 63:1301-1309.
- Bousquet P, Chinn S, Janson C, Kogevinas M, Burney N (2007). Geographical variation in the prevalence of positive skin tests to environmental aeroallergens in the European Community Respiratory Health Survey I. *Allergy* 62:301-309.
- Bovallius A, Roffey R (1987). Aerobiology and spread of microbial diseases. *Defence Sci J* 37:185-204.
- Brandt M, Warnock D (2003). Epidemiology, clinical manifestations, and therapy of infections caused by dematiaceous fungi. *J Chemother* 15:36-47.
- Breitenbach M, Simon-Nobbe B, Breitenbach M, Cramer R, Lehrer S (2002). The Allergens of *Cladosporium herbarum* and *Alternaria alternata*. *Fungal Allergy and Pathogenicity. Chem Immunol* 81:48-72.
- Brown J (1997). Airborne inoculum. In: *Plant Pathogens and Plant Disease*. J.F. Brown & H.J. Ogle H (Eds). Rockvale Publications, Armidale, Australia. pp 207-218.
- Bruno A, Pace L, Tomassetti B, Coppola E, Verdecchia M, et al. (2007). Estimation of fungal spore concentrations associated to meteorological variables. *Aerobiologia* 23:221-228.
- Burch M, Levetin E (2002). Effects of meteorological conditions on spore plumes. *Int J Biometeorol* 46:107-117.
- Burge H (1995). Aerobiology of the indoor environment. *Occup Med* 10:27-40.
- Burge H (2002). An update on pollen and fungal spore aerobiology. *J Allergy Clin Immunol* 110(4):544-552.
- Burge H, Gold B, Mulienberg M, Solomon W (1985). Allergenicity of airborne ascospores. *J Allergy Clin Immunol* 75(1):118.
- Burshtein N, Lang-Yona N, Rudich Y (2011). Ergosterol, arabitol and mannitol as tracers for biogenic aerosols in the eastern Mediterranean. *Atmos Chem Phys* 11:829-839.
- Bush R, Prochnau J (2004). *Alternaria*-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 113:227-234.
- Bush R, Portnoy J, Saxon M, Terr A, Wood R (2006). The medical effects of mold exposure. *J Allergy Clin Immunol* 117:326-233.
- Buss M, Belmonte J, Torres-Rodríguez J (2010a). Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in two geographic areas of Barcelona. *Allergy* 65(S92):431.
- Buss M, Belmonte J, Torres-Rodríguez J (2010b). Influence of human activity on fungi diversity in university classrooms indoor environments. *Allergy* 65(S92):424.

- Buss M, Belmonte J, Torres-Rodríguez J (2010c). Cross-sectional survey sensitization to fungi in medical students, and the prevalence of fungi levels in indoor environments in Barcelona area. *Allergy* 65(S92):431.
- Calabria W, Dice J (2007). Aeroallergens sensitization rates in military children with rhinitis symptoms. *Ann Allergy Asthma Immunol* 99:161-169
- Calderon C, Lacey J, McCartney A, Rosas I (1997). Influence of urban climate upon distribution of airborne Deuteromycete spore concentrations in Mexico City. *Int J Biometeorol* 40:71-80.
- Calderón M, Demoly P, van Wijk R, Bousquet J, Sheikh A, et al. (2012). EAACI: A European Declaration on Immunotherapy. Designing the future of allergen specific immunotherapy. *Clin Transl Allergy* 2(20):1-8.
- Calvo M, Guarro J, Suarez G, Ramírez C (1980). Air-borne fungi in Barcelona city (Spain). I. A two-year study (1976-1978). *Mycopathologia* 71(2):89-93.
- Camara M, Neill N, Berkum P (2002). Phylogeny of *Stemphylium* spp. based on ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia* 94:660-672.
- Cannon P, Kirk M (2007). *Fungal families of the world*. Wallingford, Oxfordshire, UK: CAB International. 456 p.
- Cantani A, Ciaschi V (2004). Epidemiology of *Alternaria alternata* allergy: a prospective study in 6840 Italian asthmatic children. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 8:289-294.
- Carazo L, Fernández R, González-Barcala F, Rodríguez J (2013). Indoor air contaminants and their impact on respiratory pathologies. *Arch Bronconeumol* 49(1):22-27.
- Carisse O, Rolland D, Talbot B, Savary S (2007). Heterogeneity of the aerial concentration and deposition of ascospores of *Venturia inaequalis* within a tree canopy during the rain. *Eur J Plant Pathol* 117:13-24.
- Carlile M, Gooday G, Watkinson S (2001). *The Fungi*. 2 Ed. Academic Press, Michigan, 588 p.
- Carrer P, Maroni M, Alcini D, Cavallo D (2001). Allergens in indoor air: environmental assessment and health effects. *Sci Total Environ* 270:33-42.
- Cetinkaya Z, Fidan F, Unlu M, Hasenekoglu I, Tetik L, et al. (2005). Assessment of indoor air fungi in Western-Anatolia, Turkey. *Asian Pacific J Allergy Immunol* 23:87-92.
- Chakraborty S, Sen S, Bhattacharya K (2000). Indoor and outdoor aeromycological survey in Burdwan, West Bengal, India. *Aerobiologia* 16:211-219.
- Chao H, Milton D, Schwartz J, Burge H (2001). Dustborne fungi in large office buildings. *Mycopathologia* 154:93-106.
- Cheah L, Harthill W, Corbin J (1982). Ascospore release in *Pyrenopeziza brassicae*. *Trans Br Mycol Soc* 79:536-539.
- Checa J (1997). Números 1285-1411. Números 1276-1284. In: F.Pando (ed.). Bases corológicas de Flora micológica ibérica. Adiciones y números 1224-1411 *Cuad Trab Flora Micol Ibér* 12:112-180.
- Chełkowski J, Visconti A (Eds) (2002). *Alternaria*. Biology, plant diseases and metabolites. Topics in Secondary Metabolism Vol 3, Elsevier, Amsterdam, 573 p.

- Cheong C, Neumeister-Kemp H, Dinglea P, Hardyb G (2004). Intervention study of airborne fungal spora in homes with portable HEPA filtration units. *J Environ Monit* 6:866-873.
- Chew F, Lim S, Shang S, Dahlia S, Goh D, et al. (2000). Evaluation of the allergenicity of tropical pollen and airborne spores in Singapore. *Allergy* 55:340-347.
- Chew G, Wilson J, Rabito F, Grimsley F, Iqbal S, et al (2006). Mold and endotoxin levels in the aftermath of hurricane Katrina: a pilot project of homes in New Orleans undergoing renovation. *Environ Health Perspect* 114:1883-1889.
- Cho S, Reponen T, Bernstein D, Olds R, Levin L, et al. (2006). The effect of home characteristics on dust antigen concentrations and loads in homes. *Sci Total Environ* 371(1-3):31-43.
- Chruszcz M, Chapman M, Osinski T, Solberg R, Demas M, et al. (2012). *Alternaria alternata* allergen Alt a 1: A unique b-barrel protein dimer found exclusively in fungi. *J Allergy Clin Immunol* 130:241-247.
- Codina R, Fox R, Lockey R, DeMarco P, Bagg A (2008). Typical levels of airborne fungal spores in houses without obvious moisture problems during a rainy season in Florida, USA. *J Investig Allergol Clin Immunol* 18(3):156-162.
- Colás C, Antón E, Montoro J, Dávila I, Dordal M, et al. (2012). Farmacoeconomía de la rinitis. Estudio FERIN. *J Investig Allergol Clin Immunol* 22(S1):88-96.
- Corden J, Millington W (1994). *Didymella* ascospores in Derby. *Grana* 33:104-107.
- Corden J, Millington W (2001). The long-term trends and seasonal variation of the aeroallergen *Alternaria* in Derby, UK. *Aerobiologia* 17:127-136.
- Corden J, Millington W, Mullins J (2003). Long-term trends and regional variation in the aeroallergen *Alternaria* in Cardiff and Derby UK - are differences in climate and cereal production having an effect? *Aerobiologia* 19:191-199.
- Corey P, Kaiseruddin S, Gungor A (1997). Prevalence of mold-specific immunoglobulins in a Midwestern allergy practice. *Otolaryngol Head Neck Surg* 117(5):516-520.
- Corsico R, Cinti B, Feliziani V, Gallesio M, Liccardi G, et al. (1998). Prevalence of sensitization to *Alternaria* in allergic patients in Italy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 80:71-76.
- Cramer R, Lawrence C (2003). Cloning of a gene encoding and Alt a 1 isoallergen differentially expressed by necrotrophic fungus *Alternaria brassicicola* during *Arabidopsis* infection. *App Environ Microbiol* 69(4):2361-2364.
- D'Amato G, Chatzigeorgiou G, Corsico R, Gioulekas D, Jäger L, et al. (1997). Evaluation of the prevalence of skin prick test positivity to *Alternaria* and *Cladosporium* in patients with suspected respiratory allergy. *Allergy* 52:711-716.
- D'Amato G, Spieksma F (1995). Aerobiologic and clinical aspects of mould allergy in Europe. *Allergy* 50(11):870-877.
- Damialis A, Gioulekas D (2006). Airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Greece: Forecasting possibilities. *Grana* 45:122-129.
- Danuta O, Krzysztof U, Agnieszka W, Pastuszka J (2004). Microbial air quality in offices at municipal landfills. *J Occup Environ Hyg* 1:62-68.

Das S, Gupta-Bhattacharya S (2008). Enumerating outdoor aeromycota in suburban West Bengal, India, with reference to respiratory allergy and meteorological factors. *Ann Agric Environ Med* 15:105-112.

Das S, Gupta-Bhattacharya S (2012). Monitoring and assessment of airborne fungi in Kolkata, India, by viable and non-viable air sampling methods. *Environ Monit Assess* 184:4671-4684.

Dassonville C, Demattei C, Detaint B, Barral S, Bex-Capelle V, et al (2008). Assessment and predictors determination of indoor airborne fungal concentrations in Paris newborn babies' homes. *Environ Res* 108:80-85.

de Hoog G, Guarro J, Gené J, Figueras M (2000). Atlas of clinical fungi. 2da Ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures/Universitat Rovira i Virgili, 1126 p.

De Linares C, Belmonte J, Canela M, Díaz de la Guardia C, Alba-Sánchez F, et al. (2010). Dispersal patterns of *Alternaria* conidia in Spain. Modeling based on a logistic regression model. *Agr Forest Meteorol* 150:1491-1500.

Deacon J (2006). *Fungal Biology*. 4th Ed. Blackwell Publishing, Oxford, 371 p.

Degobbi C, Lopes F, Carvalho-Oliveira R, Muñoz J, Saldiva P (2011). Correlation of fungi and endotoxin with PM_{2.5} and meteorological parameters in atmosphere of Sao Paulo, Brazil. *Atmos Environ* 45:2277-2283.

Delfino R, Zeiger R, Seltzer J, Street D, Matteucci R, et al. (1997). The effect of outdoor fungal spore concentrations on daily asthma severity. *Environ Health Perspect* 105(6):622-635.

Demoly P, Paggiaro P, Plaza V, Bolge S, Kannan H, et al. (2009). Prevalence of asthma control among adults in France, Germany, Italy, Spain and the UK. *Eur Respir Rev* 18(112):105-112.

Denning D, O'Driscoll B, Hogaboa C, Bowyer B, Niven R (2006). The link between fungi and severe asthma: a summary of the evidence. *Eur Respir J* 27:615-626.

Dharmage S, Bailey M, Raven J, Mitakakis T, Thien F, et al. (1999). Prevalence and residential determinants of fungi within homes in Melbourne, Australia. *Clin Exp Allergy* 29:1481-1489.

Di Filippo P, Pomata D, Riccardi C, Buiarelli F, Perrino C (2013). Fungal contribution to size-segregated aerosol measured through biomarkers. *Atmos Environ* 64:132-140.

Díez A, Sabariego S, Gutiérrez M, Cervigón C, Morales M (2006). Study of airborne fungal spores in Madrid, Spain. *Aerobiologia* 22:135-142.

Dixit A, Lewis W, Baty J, Crozier W, Wedner J (2000). Deuteromycete aerobiology and skin-reactivity patterns: A two year concurrent study in Corpus Christi, Texas, USA. *Grana* 39:209-218.

Docampo S, Trigo M, Recio M, Melgar M, García-Sánchez J, et al. (2011). Fungal spore content of the atmosphere of the Cave of Nerja (southern Spain): diversity and origin. *Sci Total Environ* 409(4):835-843.

Domínguez M, La-Serna I (1996). Variación anual y diaria del contenido en esporas de *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium* y *Stemphylium* en la atmósfera de La Laguna (Tenerife: Islas Canarias). *Bot Macaronésica* 23:105-117.

Downs S, Mitakakis T, Marks G, Car N, Belousova E, et al. (2001). Clinical importance of *Alternaria* exposure in children. *Am J Respir Crit Care Med* 164(3):455-459.

- Duchaine C, Mériaux A (2001). The importance of combining air sampling and surface analysis when studying problematic houses for mold biodiversity determination. *Aerobiologia* 17:121-125.
- ECA Working Group 5 (1993). ECA Report no 12 - Biological particles in indoor environments. Commission of the European Communities, Luxemburgo, 82 p.
- Eder W, Ege M, von Mutius E (2006). The Asthma Epidemic. *N Engl J Med* 355:2226-2235.
- Eduard W (2009). Fungal spores: A critical review of the toxicological and epidemiological evidence as a basis for occupational exposure limit setting. *Crit Rev Toxicol* 39(10):799-864.
- Ege M, Mayer M, Normand A, Genuneit J, Cookson W, et al. (2011). Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med* 364:701-709.
- Elbert W, Taylor P, Andreae M, Pöschl U (2007). Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions. *Atmos Chem Phys* 7:4569-4588.
- Ellis M (1971). Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, U.K. CABI Publishing. 680 p.
- Endres S, Green B, Henneberger P, Germolec D, Bledsoe T, et al. (2012). Fungal and atopic sensitization are low among farmers in the Agricultural Health Study. *Allergy Clin Immunol* 130(1):267-270.
- Erkara I, Asan A, Yilmaz V, Pehlivan S, Okten S (2008). Airborne *Alternaria* and *Cladosporium* species and relationship with meteorological conditions in Eskisehir City, Turkey. *Environ Monit Assess* 144:31-41.
- Erwin E, Custis N, Ronmark E, Wickens K, Sporik R, et al. (2005). Asthma and indoor air: contrasts in the dose response to cat and dust-mite. *Indoor Air* 15(S10):33-39.
- Escuredo O, Seijo M, Fernández-González M, Iglesias I (2011). Effects of meteorological factors on the levels of *Alternaria* spores on a potato crop. *Int J Biometeorol* 55:243-252.
- Estudio Escape (2005). Estacionalidad y seguimiento de la calidad de vida en el asma pediátrica en España. Ergon. Madrid, 52 p.
- Fairs A, Wardlaw A, Thompson J, Pashley C (2010). Guidelines on ambient intramural airborne fungal spores. *J Investig Allergol Clin Immunol* 20(6):490-498.
- Feo F, Alonso A, Carnés J, Martín-Martín R, Fernández-Caldas R et al (2012). Correlation Between Alt a 1 Levels and Clinical Symptoms in *Alternaria alternata*-Monosensitized Patients. *J Investig Allergol Clin Immunol* 22(3):154-159.
- Fernández D, Valencia R, Molnar T, Vega A, Sagues E (1998). Daily and seasonal variations of *Alternaria* and *Cladosporium* airborne spores in Leon (North-West, Spain). *Aerobiologia* 14:215-220.
- Fernández S, Molina R, Silva I, Gonzalo A (2011). Two sampling methods for the Petri dish detection of airborne fungi. *Grana* 50(3):202-207.
- Fernández-González D, Suarez-Cervera M, Díaz-González T, Valencia-Barrera R (1993). Airborne pollen and spores of León (Spain). *Int J Biometeorol* 37:89-95.
- Fisher M, Henk D, Briggs C, Brownstein J, Madoff L (2012). Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature* 484:186-194.

Fitt B, McCartney H, Walklate P (1989). The role of rain in dispersal of pathogen inoculum. *Ann Rev Phytopathol* 27:241-270.

Flannigan B, Samson R, Miller D (Eds) (2011). *Microorganisms in home and indoor work environments: Diversity, health impacts, investigation and control*. CRC Press, inc. Boca Raton, Florida. 529 p.

Flückiger B, Koller T, Monn C (2000). Comparison of airborne spore concentrations and fungal allergen content. *Aerobiologia* 16:393-396.

Fothergill A (1996). Identification of dematiaceous fungi and their role in human disease. *Clin Infect Dis* 22:S179-S184.

Frankel M, Bekö G, Timm M, Gustavsen S, Hansen E, et al. (2012). Seasonal variations of indoor microbial exposures and their relation to temperature, relative humidity, and air exchange rate. *Appl Environ Microbiol* 78(23):8289-8297.

Frankland A, Gregory P (1973). Allergenic and agricultural implications of airborne ascospore concentrations from a fungus, *Didymella exitialis*. *Nature* 245:336-337.

Freye H, King J, Litwin C (2001). Variations of pollen and mold concentrations in 1998 during the strong El Niño event of 1997–1998 and their impact on clinical exacerbations of allergic rhinitis, asthma, and sinusitis. *Allergy Asthma Proc* 22:239-247.

Friesen T, Faris J, Solomon P, Oliver R (2008). Host-specific toxins: effectors of necrotrophic pathogenicity. *Cell Microbiol* 10(7):1421-1428.

Fröhlich-Nowoisky J, Burrows S, Xie Z, Engling G, Solomon P, et al (2012). Biogeography in the air: fungal diversity over land and oceans. *Biogeosciences* 9:1125-1136.

Fuhlbrigge A, Jackson B, Wright R (2002). Gender and asthma. *Immunol Allergy Clin N Am* 22:753-789.

Gaffin J, Phipatanakul W (2009). The role of indoor allergens in the development of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 9(2):128-135.

Gaig P, Ferrer M, Muñoz-Lejarazu D, Leonart R, García-Abujeta J, et al. (2004). Prevalencia de alergia en la población adulta española. *Alergol Inmunol Clin* 19:68-74.

Gaikwad K, Sonawane M (2012). Fungi as bio-indicators of air quality. *Int J Life Sci Pharma Res* 2(3):25-28.

Galán C, Cariñanos P, Alcázar P, Domínguez E (2007). *Manual de Calidad y Gestión de la Red Española de Aerobiología*. Universidad de Córdoba, España, 39 p.

Gange A, Gange E, Sparks T, Boddy L (2007). Rapid and recent changes in fungal fruiting patterns. *Science* 316:71-171.

García-Marcos L, Quirós A, Hernández C, Guillén-Grima F, Díaz C, et al. (2004). Stabilization of asthma prevalence among adolescents and increase among schoolchildren (ISAAC phases I and III) in Spain. *Allergy* 59:1301-1307.

Garrett M, Hooper B, Cole M, Hooper M (1997). Airborne fungal spores in 80 homes in the Latrobe Valley, Australia: levels, seasonality and indoor-outdoor relationship. *Aerobiologia* 13:121-126.

- Garrett M, Rayment P, Hooper M, Abramson M, Hooper B (1998). Indoor airborne fungal spores, house dampness and associations with environmental factors and respiratory health in children. *Clin Exp Allergy* 28:459-467.
- Gent J, Ren P, Belanger K, Triche E, Bracken M, et al. (2002). Levels of household mold associated with respiratory symptoms in the first year of life in a cohort at risk for asthma. *Environ Health Persp* 110(12):A781-A786.
- Gioulekas D, Damialis A, Papakosta D, Spieksma F, Giouleka P, et al. (2004). Allergenic fungi spore records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki-Greece. *J Invest Allergol Clin Immunol* 14(3):225-231.
- Goh I, Obbard J, Viswanathan S, Huang Y (2000). Airborne bacteria and fungal spores in the indoor environment. A Case Study in Singapore. *Acta Biotechnol* 20(1):67-73.
- Gómez de Ana S, Torres-Rodríguez J, Alvarado E, Mojal S, Belmonte-Soler J (2006). Seasonal distribution of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* species isolated in homes of fungal allergic patients. *Investig Allergol Clin Immunol* 16(6):357-363.
- Gonianakis M, Neonakis I, Darivianaki E, Gonianakis I, Bouros D, et al. (2005). Airborne Ascomycotina on the island of Crete: Seasonal patterns based on an 8-year volumetric survey. *Aerobiologia* 21:69-74.
- Górny R, Dutkiewicz J (2002). Bacterial and fungal aerosols in indoor environment in Central and Eastern European countries. *Ann Agric Environ Med* 9:17-23.
- Górny R, Reponen T, Willeke K, Schmechel D, Robine E, et al. (2002). Fungal fragments as indoor air biocontaminants. *Appl Environ Microbiol* 68(7):3522-3531.
- Gots R, Layton N, Pirages S (2003): Indoor health: Background levels of fungi. *AIHA J* 64(4):427-438.
- Gottwald T, Bertrand P (1982). Patterns of diurnal and seasonal airborne spore concentrations of *Fusicladium effusum* and its impact on a pecan scab epidemic. *Phytopathology* 72:330-335.
- Gottwald T, Trocine T, Trimmer L (1997). A computer controlled environmental chamber for the study of aerial fungal spore release. *Phytopathology* 87:1078-1084.
- Gravesen S (1981). On the connection between the occurrence of airborne microfungi and allergy symptoms. *Grana* 20:225-227.
- Green B, Mitakakis T, Tovey E (2003). Allergen detection from 11 fungal species before and after germination. *J Allergy Clin Immunol* 111:285-289.
- Green B, O'Meara T, Sercombe J, Tovey E (2006b). Measurement of personal exposure to outdoor aeromycota in northern New South Wales, Australia. *Ann Agric Environ Med* 13:225-234.
- Green B, Sercombe J, Tovey E (2005). Fungal fragments and undocumented conidia function as new aeroallergen sources. *J Allergy Clin Immunol* 115:1043-1048.
- Green B, Tovey E, Sercombe J, Blachere F, Beezhold D, et al. (2006a). Airborne fungal fragments and allergenicity. *Med Mycol* 44:S245-S255.
- Green C, Scarpino P, Gibbs S (2003). Assessment and modeling of indoor fungal and bacterial bioaerosol concentrations. *Aerobiologia* 19:159-169.

Griffin D, Westphal D, Gray M (2006). Airborne microorganisms in the African desert dust corridor over the mid-Atlantic ridge, Ocean Drilling Program, Leg 209. *Aerobiologia* 22:211-226.

Grimsley L, Wildfire J, Lichtveld M, Kennedy S, El-Dahr M, et al. (2012). Few associations found between mold and other allergen concentrations in the home versus skin sensitivity from children with asthma after hurricane Katrina in the head-off environmental asthma in Louisiana study. *Int J Ped* 2012:1-9.

Grinn-Gofroń A, Mika A (2008). Selected airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Szczecin, Poland, 2004-2006. *Aerobiologia* 24:89-97.

Grinn-Gofroń A, Rapiejko P (2009). Occurrence of *Cladosporium spp.* and *Alternaria spp.* spores in Western, Northern and Central-Eastern Poland in 2004–2006 and relation to some meteorological factors. *Atmos Res* 93:747-758.

Grinn-Gofroń A, Strzelczak A (2009). Hourly predictive artificial neural network and multivariate regression tree models of *Alternaria* and *Cladosporium* spore concentrations in Szczecin (Poland). *Int J Biometeorol* 53:555-562.

Grinn-Gofroń A, Strzelczak A, Wolski T (2011). The relationships between air pollutants, meteorological parameters and concentration of airborne fungal spores. *Environ Pollution* 159:602-608.

Grisoli P, Rodolfi M, Villani S, Grignani E, Cottica D, et al. (2009). Assessment of airborne microorganism contamination in an industrial area characterized by an open composting facility and a wastewater treatment plant. *Environ Res* 109:135-142.

Gruchalla R, Custovic A, von Mutius E (2012). Epidemiology of allergy and asthma. In: ST. Holgate, MK. Church, DH. Broide, FD. Martinez (Eds). *Allergy*. 4th Ed. W.B. Saunders, Edinburgh. pp 63-72.

Gruchalla R, Pongracic J, Plaut M, Evans R, Visness C et al (2005). Inner City Asthma Study: relationships among sensitivity, allergen exposure, and asthma morbidity. *J Allergy Clin Immunol* 115:478-485.

Guo X, Fernando W (2005). Seasonal and diurnal patterns of spore dispersal by *Leptosphaeria maculans* from canola stubble in relation to environmental conditions. *Plant Dis* 89(1):97-104.

Gupta R, Singh B, Sridhara S, Gaur S, Kumar R, et al. (2002). Allergenic cross-reactivity of *Curvularia lunata* with other airborne fungal species. *Allergy* 57:636-640.

Gutiérrez-Rodríguez A, Postigo I, Guisantes J, Suñén E, Martínez J (2011). Identification of allergens homologous to Alt a 1 from *Stemphylium botryosum* and *Ulocladium botrytis*. *Med Mycol* 49:892-896.

Haas D, Habib J, Galler H, Buzina W, Schlacher R, et al. (2007). Assessment of indoor air in Austrian apartments with and without visible mold growth. *Atmos Environ* 41:5192-5201.

Hameed A, Khoder M, Ibrahim Y, Saeed Y, Osman M, et al. (2012). Study on some factors affecting survivability of airborne fungi. *Sci Total Environ* 414:696-700.

Hansen D, Blahout B, Benner D, Popp W (2008). Environmental sampling of particulate matter and fungal spores during demolition of a building on a hospital area. *J Hosp Infect* 70:259-264.

Harley K, Macher J, Lipsett M, Duramad P, Holland N, et al. (2009). Fungi and pollen exposure in the first months of life and risk of early childhood wheezing. *Thorax* 64(4):353-358.

- Harries M, Lacey J, Tee R, Cayley G, Newman A (1985). *Didymella exitialis* and late summer asthma. *The Lancet* 11:1063-1066.
- Hasan S, Zollner R, Santana M (2003). Fungi allergens produced by solid-state fermentation process: optimization and allergen characterization. *Appl Biochem Biotechnol* 106(1):403-412.
- Hasnain S (1993a): Influence of meteorological factors on the air spora. *Grana* 32(3):184-188.
- Hasnain S (1993b). Allergenic implications of airborne *Leptosphaeria* ascospores. *Grana* 32(4-5):315-318.
- Hasnain S, Akhter T, Waqar M (2012). Airborne and allergenic fungal spores of the Karachi environment and their correlation with meteorological factors. *J Environ Monit* 14:1006-1013.
- Hawksworth D (1991). The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycol Res* 95:641-655.
- Heald C, Spracklen D (2009). Atmospheric budget of primary biological aerosol particles from fungal spores. *Geophys Res Lett* 36(9):1-58.
- Herbarth O, Schlink U, Müller A, Richter M (2003). Spatiotemporal distribution of airborne mould spores in apartments. *Mycol Res* 107(11):1361-1371.
- Hernández F, Muñoz-Rodríguez A, Tormo-Molina R, Silva I (2012). Airborne ascospores in Mérida (SW Spain) and the effect of rain and other meteorological parameters on their concentration. *Aerobiologia* 28:13-26.
- Hernández-Crespo J (2006). S I M I L. An on line Information System of the Iberian Fungal Diversity. Royal Botanic Garden Madrid, C.S.I.C. Research Project Flora Micológica Ibérica I-VI (1990-2008). Spanish Ministry of Education and Science. <http://www.rjb.csic.es/fmi/sim.php>
- Hicks J, Lu E, De Guzmán R, Weingart M (2005). Fungal types and concentrations from settled dust in normal residences. *J Occup Environ Hyg* 2:481-492.
- Hirst J (1952). An automatic volumetric spore-trap. *Ann Appl Biol* 39:257-265.
- Hirst J, Stedman J (1963). Dry liberation of fungus spores by raindrops. *J Gen Microbiol* 33:335-344.
- Hjelmroos M (1993). Relationship between airborne fungal spore presence and weather variables. *Grana* 32:40-47.
- Ho H, Rao C, Hsu H, Chiu Y, Liu C, et al. (2005). Characteristics and determinants of ambient fungal spores in Hualien, Taiwan. *Atmos Environ* 39:5839-5850.
- Hong S, Cramer R, Lawrence C, Pryora B (2005). Alt a 1 allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. *Fungal Genet Biol* 42:119-129.
- Hopkins J, Benham R, Kesten B (1930). Asthma due to a fungus *Alternaria*. *JAMA* 94:6-10.
- Horner W, Helbling A, Lehrer S (1998). Basidiomycete allergens. *Allergy* 53:1114-1121.
- Horner W, Helbling A, Salvaggio J, Lehrer B (1995). Fungal allergens. *Clin Microbiol Rev* 8(2):161-179.
- Horner W, Worthan A, Morey P (2004). Air- and dustborne mycoflora in houses free of water damage and fungal growth. *Appl Environ Microbiol* 70:6394-6400.

- Hospodsky D, Yamamoto N, Peccia J (2010). Accuracy, precision, and method detection limits of quantitative PCR for airborne bacteria and fungi. *Appl Environ Microbiol* 76:7004-7012.
- Hsu N, Chen P, Chang H, Su H (2011). Changes in profiles of airborne fungi in flooded homes in southern Taiwan after Typhoon Morakot. *Sci Total Environ* 409:1677-1682.
- Hsu Y, Kung P, Wu T, Shen Y (2012). Characterization of indoor-air bioaerosols in Southern Taiwan. *Aerosol Air Qual Res* 12:651-661.
- Hunter C, Grant C, Flannigan B, Bravery A (1988). Mould in building: the air spore of domestic dwellings. *Int Biodeterior* 24:81-101.
- Hussin N, Sann L, Shamsudin M, Hashim Z (2011). Characterization of bacteria and fungi bioaerosol in the indoor air of selected primary schools in Malaysia. *Indoor Built Environ* 6:607-617.
- Hyde K, McKenzie E, KoKo T (2011). Towards incorporating anamorphic fungi in a natural classification – checklist and notes for 2010. *Mycosphere* 2:1-88.
- Ianovici N, Dumbravă M (2008). Aeromycological study on *Stemphylium* conidia in four Romanian cities for 2005. *Ann Univ Craiova* 13:113-118.
- Ibáñez V, Rojas G, Roure J (2001). Airborne fungi monitoring in Santiago, Chile. *Aerobiologia* 17:137-142.
- Iglesias I, Rodríguez-Rajo F, Méndez J (2007). Evaluation of the different *Alternaria* prediction models on a potato crop in *A. limia* (NW of Spain). *Aerobiologia* 23:27-34.
- Infante F, Alba F, Caño M, Castro A, Domínguez E, et al. (1999). A comparative study of the incidence of *Alternaria* conidia in the atmosphere of five Spanish cities. *Polen* 10:5-13.
- Ingold C, Hudson H (Eds) (1993). *The biology of the fungi*. 6th Ed, Springer, Jodhpur, 232 p.
- Institut d'Estadística de Catalunya (2013). Anuario estadístico de Cataluña, <http://www.idescat.cat> [consulta: lunes 22 de abril de 2013].
- Isard S, Gage S (2001). *Flow of life in the atmosphere: An airscape approach to understanding invasive organisms*. East Lansing, Michigan USA: Michigan State, University Press.
- Ismail M, Chebon S, Nakamya R (1999). Preliminary surveys of outdoor and indoor aeromycobiota in Uganda. *Mycopathologia* 148:41-51.
- Ianovici N, Dumbravă M (2008). Aeromycological study on *Stemphylium* conidia in four Romanian cities for 2005. *Ann Univ Craiova* 13:113-118.
- Jacob B, Ritz B, Gehring U, Koch A, Bischof W, et al. (2002). Indoor exposure to molds and allergic sensitization. *Environ Health Perspect* 110:647-653.
- Jones A, Harrison R (2004). The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations - a review. *Sci Total Environ* 326(1-3):151-180.
- Jovanovic S, Felder-Kennel A, Gabrio T, Kouros B, Link B, et al. (2004). Indoor fungi levels in homes of children with and without allergy history. *Int J Hyg Environ Health* 207:369-378.
- Käärik A, Keller J, Kiffer E, Perreau J, Resinger O (1983). *Atlas of airborne fungal spores in Europe*. S. Nilsson (Eds). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 139 p.

- Kalwasińska A, Burkowska A, Wilk I (2012). Microbial air contamination in indoor environment of the university library. *Ann Agric Environ Med* 19(1):25-29.
- Kalyoncu F (2010). Relationship between airborne fungal allergens and meteorological factors in Manisa City, Turkey. *Environ Monit Assess* 165:553-558.
- Kapp's R (2000). Pollens and spores. The American Association of Stratigraphic Palynologists. Texas, 279 p.
- Karbowska-Berent J, Górny R, Strzelczyk A, Wlaz A (2011). Airborne and dust borne microorganisms in selected Polish libraries and archives. *Build Environ* 46:1872-1879.
- Karlsson-Borga A, Jonsson P, Rolfsen W (1989). Specific IgE antibodies to 16 widespread mold genera in patients with suspected mold allergy. *Ann Allergy* 63:521-526.
- Karpińska-Kołaczek M, Kołaczek P, Heise W, Worobiek G (2010). *Tetraploa aristata* Berkeley & Broome (Fungi, Pleosporales), a new taxon to Poland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 79(3):239-244.
- Kasprzyk I (2008). Aeromycology - Main research fields of interest during the last 25 years. *Ann Agric Environ Med* 15:1-7.
- Kasprzyk I, Rzepowska B, Wasylów M (2004). Fungal spores in the atmosphere of Rzeszów (South-East Poland). *Ann Agric Environ Med* 11:285-289.
- Kasprzyk I, Sulborska A, Nowak M, Szymańska A, Kaczmarek J (2013). Fluctuation range of the concentration of airborne *Alternaria* conidiospores sampled at different geographical locations in Poland (2010–2011). *Acta Agrobotanica* 66(1):65-76.
- Katial R, Zhang Y, Jones R, Dyer P (1997). Atmospheric mold spore counts in relation to meteorological parameters. *Int J Biometeorol* 41:17-22.
- Katz Y, Verleger H, Barr J, Rachmiel M, Kiwiti S, et al. (1999). Indoor survey of moulds and prevalence of mould atopy in Israel. *Clin Exp Allergy* 29:186-192.
- Kauserud H, Lie M, Stensrud Ø, Ohlson M (2005). Molecular characterization of airborne fungal spores in boreal forests of contrasting human disturbance. *Mycologia*, 97(6):1215-1224.
- Kemp P, Neumeister-Kemp H, Esposito B, Lysek G, Murray F (2003). Changes in airborne fungi from the outdoors to indoor air; large HVAC systems in nonproblem buildings in two different climates. *AIHA J* 64(2):269-275.
- Kerkhof M, Schouten J, De Monchy J (2000). The association of sensitization to inhalant allergens with allergy symptoms: the influence of bronchial hyperresponsiveness and blood eosinophil count. *Clin Exp Allergy* 30(10):1387-1394.
- Khan A, Karuppaiyl S (2012). Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi J Biol Sci* 19:405-426.
- Khandelwal A (2001). Survey of aerospora by Rotorod Sampler in Lucknow, India: qualitative and quantitative assessment. *Aerobiologia* 17:77-83.
- Kilic M, Ufuk D, Yilmaz M, Güneşer S, Bingöl G, et al. (2010). The effects of meteorological factors and *Alternaria* spore concentrations on children sensitized to *Alternaria*. *Allergol Immunopathol* 38(3):122-128.

- Kirk P, Cannon P, Minter D, Stalpers J (Eds) (2008). Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi, 10th ed. CAB International, Wallingford, U.K. 771 p.
- Knutsen A, Bush R, Demain J, Denning D, Dixit A, et al. (2012). Fungi and allergic lower respiratory tract diseases. *J Allergy Clin Immunol* 129:280-291.
- Koch A, Heilemann K, Bischof W, Heinrich J, Wichmann H (2000). Indoor viable mold spores - a comparison between two cities, Erfurt (eastern Germany) and Hamburg (western Germany). *Allergy* 55:176-180.
- Koivikko A, Viander M, Lanner A (1991). Use of the extended Phadebas RAST® panel in the diagnosis of mould allergy in asthmatic children. *Allergy* 46:85-91.
- Kolstad H, Brauer C, Iversen M, Sigsgaard T, Mikkelsen S (2002). Do indoor molds in nonindustrial environments threaten workers' health? A review of the epidemiologic evidence. *Epidemiol Rev* 24(2):203-217.
- Kosiada T (2008). Influence of temperature and daylight length on barley infection by *Pyrenophora teres*. *J Plant Protection Res* 48:9-15.
- Kothari S, Tyagi V (1993). *Alternaria* spores and bronchial asthma. *Ind J Tub* 40:149-152.
- Kotwal S, Gosavi S, Deore K (2010). Aeromycoflora of outdoor and indoor air of residential area in Nashik. *Asian J Exp Biol Sci Spl* 1:25-31.
- Kuo Y, LI C (1994). Seasonal fungus prevalence inside and outside of domestic environments in the subtropical climate. *Atmos Environ* 2:3125-3130.
- Kukreja N, Singh B, Arora N, Gaur S, Sridhara S (2008). Identification of *Epicoccum purpurascens* allergens by two-dimensional immunoblotting and mass spectrometry. *Immunobiology* 213:65-73.
- Kung'u J (2004). Limitations and considerations in air sampling, sample analysis and result interpretation for airborne mould spores. *Inoculum* 55(5):1-4.
- Kurup V, Banerjee B (2000). Fungal allergens and peptide epitopes. *Peptides* 21:589-599.
- Lacey J (1996). Spore dispersal - its role in ecology and disease: the British contribution to fungal aerobiology. *Mycol Res* 100(6):641-660.
- Lacey M, West J (2006). *The air spora: A manual for catching and identifying airborne biological particles*. Springer, Dordrecht, The Netherlands. 156 p.
- Lang-Yona N, Dannemiller K, Yamamoto N, Burshtein N, Peccia J, et al. (2012). Annual distribution of allergenic fungal spores in atmospheric particulate matter in the Eastern Mediterranean; a comparative study between ergosterol and quantitative PCR analysis. *Atmos Chem Phys* 12:2681-2690.
- La-Serna I, Dopazo A, Aira M (2002). Airborne fungal spores in the Campus of Anchieta (La Laguna, Tenerife/Canary Is.). *Grana* 41:119-123.
- Latham A (1982). Effects of some weather factors and *Fusicladium effusum* conidium dispersal on pecan scab occurrence. *Phytopathology* 72:1339-1345.
- Leach C (1975). Influence of relative humidity and red-infrared radiation on violent spore release by *Drechslera turcica* and other fungi. *Phytopathology* 65:1303-1312.
- Leach C (2008). Ascospore discharge in *Pleospora herbarum* (Pers.) Rabenh. (*Dothideales*) stimulated by near-ultraviolet radiation. *Bot J Linn Soc* 9:233-243.

- Leach C, Hildebrand P, Sutton J (1982). Sporangium discharge by *Peronospora destructor*: influence of humidity, infra-red radiation and vibration. *Phytopathology* 72:1053-1056.
- Lee J, Jo W (2006a). Characteristics of indoor and outdoor bioaerosols at Korean high-rise apartment buildings. *Environ Res* 101:11-17.
- Lee T, Grinshpun S, Kim K, Iossifova Y, Adhikari A, et al. (2006c). Relationship between indoor and outdoor airborne fungal spores, pollen, and (1→3)-β-D-glucan in homes without visible mold growth. *Aerobiologia* 22:227-236.
- Lee T, Grinshpun S, Martuzevicius D, Adhikari A, Crawford C, et al. (2006b). Culturability and concentration of indoor and outdoor airborne fungi in six single-family homes. *Atmos Environ* 40(16):2902-2910.
- Lehrer S, Hughes J, Altman L, Bousquet J, Davies R, et al. (1994). Prevalence of basidiomycete allergy in the USA and Europe and its relationship to allergic respiratory symptoms. *Allergy* 49:460-465.
- Lehtonen M, Reponen T, Nevalainen A (1993). Everyday activities and variation of fungal spore concentrations in indoor air. *International Biodeter Biodegr* 31:25-39.
- Levetin E (1995). Fungi. In: Burge, H.A. (Ed.), *Bioaerosols*. CRC Press, Florida, pp. 87-120.
- Levetin E, Dorsey K (2006). Contribution of leaf surface fungi to the air spora. *Aerobiologia* 22:3-12.
- Levetin E, Hornerb W (2002). Fungal Aerobiology: Exposure and measurement. In: Breitenbach, M; Cramer, R; Lehrer, S (eds): *Fungal allergy and pathogenicity*. Chem Immunol. Basel, Karger, vol 81, pp 10-27.
- Lewis S, Corden J, Forster G, Newlands M (2000). Combined effects of aerobiological pollutants, chemical pollutants and meteorological conditions on asthma admissions and A& E attendances in Derbyshire UK, 1993-96. *Clin Exp Allergy* 30:1724-1732.
- Li C, Hsu L (1997). Airborne fungus allergen in association with residential characteristics in atopic and control children in a subtropical region. *Arch Environ Health* 52(1):72-79.
- Li D, Kendrick B (1995). A year-round comparison of fungal spores in indoor and outdoor air. *Mycologia* 87(2):190-195.
- Li D, Kendrick B (1996). Functional relationships between airborne fungal spores and environmental factor in Kitchener-Waterloo, Ontario, as detected by Canonical correspondence analysis. *Grana* 33:166-176.
- Li K, Dong S, Wu Y, Yao M (2010). Comparison of the biological content of air samples collected at ground level and at higher elevation. *Aerobiologia* 26:233-244.
- Lian S, Li B, Dong X, Li B, Xu X (2007). Effects of environmental factors on discharge and germination of ascospores of *Venturia nashicola*. *Plant Pathol* 56:402-411.
- Lignell U (2008). Characterization of microorganisms in indoor environments. National Public Health Institute A3/2008, Helsinki, Finland, 116 p.
- Lignell U, Meklin T, Rintala H, Hyvärinen, A, Vepsäläinen A, et al. (2008). Evaluation of quantitative PCR and culture methods for detection of house dust fungi and streptomycetes in relation to moisture damage of the house. *Lett Appl Microbiol* 47:303-308.

Lim S, Chew F, Sim S, Huang Y, Goh D, et al. (1995). Allergens of *Bipolaris* species. *Asian Pac J Allergy Immunol* 13:101-105.

Lin W, Li C (2000). Associations of fungal aerosols, air pollutants, and meteorological factors. *Aerosol Sci Technol* 32:359-368.

Lis D, Mainelis G, Górný R (2008). Microbial Air Contamination in Farmhouses -Quantitative Aspects. *Clean* 36(7):551-555.

Lou X, Fang Z, Gong C (2012). Assessment of culturable airborne fungi in a university campus in Hangzhou, southeast China. *African J Microbiol Res* 6(6):1197-1205.

Lugauskas A, Krikstaponis A, Sveistyte L (2004). Airborne fungi in industrial environments-potential agents of respiratory diseases. *Ann Agric Environ Med* 11:19-25.

Lugauskas A, Šveistyte L, Ulevičius V (2003). Concentration and species diversity of airborne fungi near busy streets in Lithuanian urban areas. *Ann Agric Environ Med* 10:233-239.

Lumbsch H, Huhndorf S (2010) Outline of Ascomycota - 2009. *Fieldiana Life and Earth Sci* 1:1-60.

Luttrell E (1973). Loculoascomycetes. In: *The Fungi: an advanced treatise*. IVA. Ainsworth GC, Sparrow FK, Sussman AS, eds. Academic Press, New York, pp. 135-219.

Lyon F, Kramer C, Eversmeyer M (1984). Vertical variation of airspora concentrations in the atmosphere. *Grana* 23:123-125.

MacIntosh D, Brightman H, Baker B, Myatt T, Stewart J, et al. (2006). Airborne fungal spores in a cross-sectional study of office buildings. *J Occup Environ Hyg* 3(7):379-389.

Madelin T, Madelin M (1995). Biological analysis of fungi and associated molds, In C. S. Cox and C. M. Wathes (ed.), *Bioaerosol handbook*. Lewis Publishers/CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla. pp. 361-386.

Magyar D, Barasits T, Fischl G, Fernando W (2006). First report of the natural occurrence of the teleomorph of *Leptosphaeria maculans* on oilseed rape and airborne dispersal of ascospores in Hungary. *J Phytopathology* 154:428-431.

Magyar D, Frenguelli G, Bricchi E, Tedeschini E, Csontos P, et al. (2009). The biodiversity of air spora in an Italian vineyard. *Aerobiologia* 25:99-109.

Malgarejo P, García-Jiménez J, Jordá M, López M, Andrés M, Durán-Vila N (Eds) (2010). *Patógenos de plantas descritos en España*. 2ª Ed. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Sociedad Española de Fitopatología, Madrid, 854 p.

Mandal J, Brandl H (2011). Bioaerosols in indoor environment - a review with special reference to residential and occupational locations. *Open Environ Biol Monit J* 4:83-96.

Mandrioli P (1998). Basic aerobiology. *Aerobiologia* 14:89-94.

Mari A, Schneider P, Wally V, Breitenbach M, Simon-Nobbe B (2003). Sensitization to fungi: epidemiology, comparative skin tests, and IgE reactivity of fungal extracts. *Clin Exp Allergy* 33(10):1429-1438.

Markham W, Key R, Padhye A, Ajello L (1990). Phaeohyphomycotic cyst caused by *Tetraploa aristata*. *J Med Vet Mycol* 29:147-150.

- Marks G, Bush R (2007). It's blowing in the wind: new insights into thunderstorm-related asthma. *J Allergy Clin Immunol* 120:530-532.
- Martínez J, Gutiérrez A, Postigo I, Cardona G, Guisantes J (2006). Variability of Alt a 1 expression by different strains of *Alternaria alternata*. *J Investig Allergol Clin Immunol* 16(5):279-282.
- Martínez J, Muñoz A, Nieto J, Paredes M, Silva I, Tormo R (1996). Dispersión de ascosporas a través del aire en la atmósfera de Badajoz y su relación con algunos parámetros meteorológicos. *Bol San Veg, Plagas* 22:693-701.
- Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R, Global Initiative for Asthma (GINA) Program (2004). The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 59(5):469-478.
- Matheson M, Abramson M, Dharmage S, Forbes A, Raven J, et al. (2005). Changes in indoor allergen and fungal levels predict changes in asthma activity among young adults. *Clin Exp Allergy* 35(7):907-913.
- Matthew M, Fabian D, Holt S, Beasley R, Global Initiative for Asthma (GINA) Program (2004). The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee Report. *Allergy* 59(5):469-478.
- Maya-Manzano J, Fernández-Rodríguez S, Hernández-Trejo F, Díaz-Pérez G, Gonzalo-Garijo A, et al (2012). Seasonal Mediterranean pattern for airborne spores of *Alternaria*. *Aerobiologia* 28(4):515-525.
- Medrela-Kuder E (2003). Seasonal variations in the occurrence of culturable airborne fungi in outdoor and indoor air in Craców. *Int Biodeter Biodegr* 52:203-205.
- Mehta S, Mishra S, Pierson D (1996). Evaluation of three portable samplers for monitoring airborne fungi. *Appl Environ Microbiol* 62(51):835-1838.
- Meldrum J, O'Rourke M, Boyer-Pfersdorf P, Stetzenbach L (2002). Proceedings Indoor Air 2002, Monterey, California, vol. 1:189-194.
- Menezes E, Gambale W, Macedo M, Castro F, Paula C, et al. (1998). Characterization of allergenic fractions from *Drechslera monoceras*. *J Investig Allergol Clin Immunol* 8(4):214-218.
- Menezes E, Trindade E, Costa M, Freire C, Cavalcante M, et al. (2004). Airborne fungi isolated from Fortaleza city, state of Ceará, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 46(3):133-137.
- Meng J, Barnes C, Rosenwasser L, The Children's Mercy Center for Environmental Health (2012). Identity of the fungal species present in the homes of asthmatic children. *Clin Exp Allergy* 42:1448-1458.
- Mi Y, Elfman L, Eriksson S, Johansson M, Smedje G, et al. (2002). Indoor allergens in schools: a comparison between Sweden and China. *Indoor Air 2002, Proceedings: 9th International Conference on Indoor Air Quality and Climate Monterey, Volumes I - V*. pp. 449-454.
- Miller J (1992). Fungi as contaminants in indoor air. *Atmos Environ* 26:2163-2172.
- Mitakakis T, Cliff A, McGee P (2001): The effect of local cropping activities and weather on the airborne concentration of allergenic *Alternaria* spores in rural Australia. *Grana* 40(4-5):230-239.
- Mitakakis T, Guest D (2001). A fungal spore calendar for the atmosphere of Melbourne, Australia, for the year 1993. *Aerobiologia* 17:171-176.

- Mitakakis T, Ong E, Stevens A, Guest D, Knox R (1997). Incidence of *Cladosporium*, *Alternaria* and total fungal spores in the atmosphere of Melbourne (Australia) over three years. *Aerobiologia* 13:397-402.
- Morring K, Sorenson W, Attfield M (1983). Sampling for airborne fungi: a statistical comparison of media. *Am Ind Hyg Assoc J* 44(9):662-664.
- Mota L, Gibbs S, Green C, Flores C, Tarwater M, et al. (2008): Seasonal fine and coarse culturable fungal constituents and concentrations from indoor and outdoor air samples taken from an arid environment. *J Occup Environ Hyg* 5(8):511-518.
- Muñoz A, Silva I, Tormo R, Rodríguez J (2010). Distribution of airborne fungal propagule concentrations in an irrigated cropland zone. *J Phytopathol* 158:513-522.
- Munuera M, Carrion J, Navarro C (2001). Airborne *Alternaria* spores in SE Spain (1993-98). Occurrence patterns, relationship with weather variables and prediction models. *Grana* 40:111-118.
- Nambu M, Kouno H, Aihara-Tanaka M, Shirai H, Takatori K (2009). Detection of fungi in indoor environments and fungus-specific IgE sensitization in allergic children. *WAO J* 2:208-212.
- Naseri B, Davidson J, Scott E (2009). Maturation of pseudothecia and discharge of ascospores of *Leptosphaeria maculans* on oilseed rape stubble. *Eur J Plant Pathol* 125:523-531.
- Nasir Z, Colbeck I, Sultan S, Ahmed S (2012). Bioaerosols in residential micro-environments in low income countries: A case study from Pakistan. *Environ Pollution* 168:15-22.
- Nasser S, Vestenbaek U, Beriot-Mathiot A, Poulsen P (2008). Cost-effectiveness of specific immunotherapy with Grazax in allergic rhinitis co-existing with asthma. *Allergy* 63:1624-1629.
- Navarro A, Colás C, Antón E, Conde J, Dávila I, et al. (2009). Epidemiology of allergic rhinitis in allergy consultations in Spain: Alergologica-2005. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1(S2):7-13.
- Nayak B, Nanda A, Behera N (1998). Airborne fungal spores in an industrial area: seasonal and diurnal periodicity. *Aerobiologia* 14:59-67.
- Nelson H (2000). The use of standardized extracts in allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 106(1):41-45.
- Nevalainen A, Morawska L (Eds). (2009). *Biological Agents in Indoor Environments Assessment of Health Risks*. WHO, 201 p.
- Newson R, Strachan D, Corden J, Millington W (2000). Fungal and other spore counts as predictors of admissions for asthma in the Trent region. *Occup Environ Med* 57:786-792.
- Niedoszytko M, Chelminska M, Jassem E, Czestochowska E (2007). Association between sensitization to *Aureobasidium pullulans* (*Pullularia* sp) and severity of asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 98:153-615.
- Niemeier R, Sivasubramani S, Reponen T, Grinshpun S (2006). Assessment of fungal contamination in moldy homes: Comparison of different methods. *J Occup Environ Hyg* 3(5):262-273.
- Nunes I, Mesquita N, Cabo S, Leitão A, Carolino M, et al. (2013). Characterization of an airborne microbial community: A case study in the archive of the University of Coimbra, Portugal. *Int Biodeter Biodegr* 79:36-41.

- O'Driscoll B, Hopkinson L, Denning D (2005). Mold sensitization is common amongst patients with severe asthma requiring multiple hospital admissions. *BMC Pulm Med* 5(4):1-10.
- O'Gorman C, Fuller H (2008). Prevalence of culturable airborne spores of selected allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *Atmos Environ* 42:4355-4368.
- Ohm R, Feau N, Henrissat B, Schoch C, Horwitz B, et al. (2012). Diverse lifestyles and strategies of plant pathogenesis encoded in the genomes of eighteen Dothideomycetes fungi. *PLOS Pathogens* 8(12):1-26.
- Oliveira M, Amorim M, Ferreira E, Delgado L, Abreu I (2010b). Main airborne Ascomycota spores: characterization by culture, spore morphology, ribosomal DNA sequences and enzymatic analysis. *Appl Microbiol Biotechnol* 86:1171-1181.
- Oliveira M, Delgado L, Ribeiro H, Abreu I (2010a). Fungal spores from *Pleosporales* in the atmosphere of urban and rural locations in Portugal. *J Environ Monit* 12:1187-1194.
- Oliveira M, Ribeiro H, Abreu I (2005). Annual variation of fungal spores in atmosphere of Porto: 2003. *Ann Agric Environ Med* 12:309-315.
- Oliveira M, Ribeiro H, Delgado J, Abreu I (2009a). Aeromycological profile of indoor and outdoor environments. *J Environ Monit* 11:1360-1367.
- Oliveira M, Ribeiro H, Delgado J, Abreu I (2009b). The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanization level. *Int J Biometeorol* 53(1):61-73.
- Oliveira M, Ribeiro H, Delgado L, Fonseca J, Castel-Branco M, et al. (2010c). Outdoor allergenic fungal spores: Comparison between an urban and a rural area in Northern Portugal. *J Investig Allergol Clin Immunol* 20(2):117-128.
- Osborne M, Reponen T, Adhikari A, Cho S, Grinshpun S, et al. (2006). Specific fungal exposures, allergic sensitization, and rhinitis in infants. *Pediatr Allergy Immunol* 17:450-457.
- OSHA (1999). Indoor air quality investigation. In: OSHA Technical Manual (OTM). [http://www.osha.gov/dts/osta/otm/otm_toc.html]
- Padhye A, Ajello L, Wieden M, Steinbronn K (1986). Phaeohyphomycosis of the nasal sinuses caused by new species of *Exserohilum*. *J Clin Microbiol* 24(2):245-249.
- Paredes M, Martínez J, Silva I, Tormo R, Muñoz A (1997). Influencia de los parámetros meteorológicos en la dispersión de esporas de las especies de *Alternaria* Nees ex Fr. *Bol Sanid Veg, Plagas* 23:541-549.
- Pasanen A, Heinonen-Tanski H, Kalliokoski P (1992). Fungal microcolonies on indoor surfaces - an explanation for the base-level fungal spore counts in indoor air. *Atmosp Environ* 26(1):117-120.
- Pasanen A, Kupanjäa L, Pasanen P, Kalliokoski P, Blomquist G (1997). Culturable and total fungi in dust accumulated in air ducts in single-family houses. *Indoor Air* 7:121-127.
- Pashley C, Fairs A, Free R, Wardlaw A (2012). DNA analysis of outdoor air reveals a high degree of fungal diversity, temporal variability, and genera not seen by spore morphology. *Fungal Biol* 116:214-224.
- Pastor F, Guarro J (2008). *Alternaria* infections: laboratory diagnosis and relevant clinical features. *Clin Microbiol Infect* 14:734-746.

- Pavón M, González I, de Santos R, García T (2012). Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas. *Nutr Hosp.* 27(6):1772-1781.
- Pawankar R, Canonica G, Holgate S, Lockey R (2011). WAO White Book on Allergy 2011-2012: Executive Summary. WAO Eds, 210 p.
- Pearce D, Bridge P, Hughes K, Sattler B, Psenner R, et al. (2009). Microorganisms in the atmosphere over Antarctica. *FEMS Microbiol Ecol* 69:143-157.
- Pegas P, Nunes T, Alves C, Silva J, Vieira S, et al. (2012). Indoor and outdoor characterisation of organic and inorganic compounds in city centre and suburban elementary schools of Aveiro, Portugal. *Atmos Environ* 55:80-89.
- Pei-Chih W, Huey-Jen S, Chia-Yin L (2000). Characteristics of indoor and outdoor airborne fungi at suburban and urban homes in two seasons. *Sci Total Environ* 253:111-118.
- Pepeljnjak S, Šegvić M (2003). Occurrence of fungi in air and on plants in vegetations of different climatic regions in Croatia. *Aerobiologia* 19:11-19.
- Pereira C, Valero A, Loureiro C, Dávila I, Martínez-Cóccera C, et al (2006). Iberian study of aeroallergens sensitization in allergic rhinitis. *Eur Annals Allergy Clin Immunol* 38(6):186-194.
- Peternel R, Culig J, Hrga I (2004). Atmospheric concentrations of *Cladosporium* spp. and *Alternaria* spp. spores in Zagreb (Croatia) and effects of some meteorological factors. *Ann Agric Environ Med* 11(2):303-307.
- Peters J, Muilenberg M, Rogers C, Burge H, Spengler J (2008). *Alternaria* measures in inner-city, low-income housing by immunoassay and culture-based analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 100:364-369.
- Pinheiro A, Macedo M, Jurado V, Saiz-Jimenez C, Viegas C, et al. (2011). Mould and yeast identification in archival settings: Preliminary results on the use of traditional methods and molecular biology options in Portuguese archives. *Int Biodeter Biodegr* 65:619-627.
- Pitkäranta M, Meklin T, Hyvärinen A, Nevalainen A, Paulin L, et al. (2011). Molecular profiling of fungal communities in moisture damaged buildings before and after remediation - a comparison of culture-dependent and culture-independent methods. *BMC Microbiol* 11(235):1-16.
- Platts-Mills T, Erwin E, Woodfolk J, Heymann P (2006). Environmental factors influencing allergy and asthma. In: Cramer R (ed): *Allergy and asthma in modern society: A scientific approach*. Chem Immunol Allergy. Basel, Karger, vol 91, pp. 3-15.
- Ponce-Caballero C, Cerón-Palma I, López-Pacheco M, Gamboa-Marrufo M, Quintal-Franco C (2010). Indoor-outdoor fungal-aerosols ratios of domestic homes in Merida, Mexico. *Ingeniería* 14(3):169-175.
- Pontón J, Moragues M, Gené J, Guarro J, Quindós G (2002). Hongos y actinomicetos alergénicos. *Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao*, 45 p.
- Portnoy J, Barnes C, Kevin Kennedy K (2004). Sampling for indoor fungi. *J Allergy Clin Immunol* 113:189-198.
- Postigo I, Gutiérrez-Rodríguez A, Fernández J, Guisantes J, Suñén E, et al. (2011). Diagnostic value of Alt a 1, fungal enolase and manganese-dependent superoxide dismutase in the component-resolved diagnosis of allergy to Pleosporaceae. *Clin Exp Allergy* 41:443-451.

- Pratt R (2006). Frequency and pathogenicity of dematiaceous hyphomycetes on annual rye-grass overseeded on bermudagrass in Mississippi. *Plant Dis* 90:1085-1090.
- Prester L, Macan J (2010). Determination of Alt a 1 (*Alternaria alternata*) in poultry farms and a sawmill using ELISA. *Med Mycol* 48(2):298-302.
- Pritchard R, Muir D (1987). Black Fungi: A survey of dematiaceous hyphomycetes from clinical specimens identified over a five year period in a reference laboratory. *Pathology* 19:281-284.
- Prospero J, Blades E, Mathison G, Naidu R (2005). Interhemispheric transport of viable fungi and bacteria from Africa to the Caribbean with soil dust. *Aerobiologia* 21:1-19.
- Pryor B, Michailides T (2002). Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio. *Phytopathology* 92:406-416.
- Pulimood T, Corden J, Bryden C, Sharples L, Nasser S (2007). Epidemic asthma and the role of the fungal mold *Alternaria alternata*. *J Allergy Clin Immunol* 120(3):610-617.
- Pumhirun P, Towiwat P, Mahakit P (1997). Aeroallergen sensitivity of Thai patients with allergic rhinitis. *Asian Pac J Allergy Immunol* 15:183-185.
- Punekar Y, Sheikh A (2009). Establishing the incidence and prevalence of clinician-diagnosed allergic conditions in children and adolescents using routinely collected data from general practices. *Clin Exp Allergy* 39(8):1209-1216.
- Pyrri I, Kapsanaki-Gotsi E (2012). Diversity and annual fluctuations of culturable airborne fungi in Athens, Greece: a 4-year study. *Aerobiologia* 28:249-262.
- Quintero E, Rivera-Mariani F, Bolaños-Rosero B (2009). Analysis of environmental factors and their effects on fungal spores in the atmosphere of a tropical urban area (San Juan, Puerto Rico). *Aerobiologia* 26:113-124.
- Quirce S, Plaza V, Picado C, Vennera M, Casafont J (2011). Prevalence of uncontrolled severe persistent asthma in pneumology and allergy hospital units in Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol* 21(6):466-471.
- Radon K, Danuser B, Iversen M, Monso E, Weber C, et al. (2002). Air contaminants in different European farming environments. *Ann Agric Environ Med* 9:41-48.
- Raisi L, Aleksandropoulou V, Lazaridis M, Katsivela E (2013). Size distribution of viable, cultivable, airborne microbes and their relationship to particulate matter concentrations and meteorological conditions in a Mediterranean site. *Aerobiologia* 29:233-248.
- Raisi L, Lazaridis M, Katsivela E (2010). Relationship between airborne microbial and particulate matter concentrations in the ambient air at a mediterranean site. *Global NEST J* 12(1):84-91.
- Rao C, Riggs M, Chew G, Mulenberg M, Thorne P, et al. (2007). Characterization of airborne molds, endotoxins, and glucans in homes in New Orleans after hurricanes Katrina and Rita. *App Environ Microbiol* 73(5):1630-1634.
- Recio M, Trigo M, Docampo S, Melgar M, García-Sánchez J, et al. (2012). Analysis of the predicting variables for daily and weekly fluctuations of two airborne fungal spores: *Alternaria* and *Cladosporium*. *Int J Biometeorol* 56:983-991.
- Reineria M, Iglesias I, Jato V (1998). Seasonal variation of airborne fungal spore concentrations in a vineyard of North-West Spain. *Aerobiologia* 14:221-227.

Ren P, Jankun T, Belanger K, Bracken M, Leaderer B (2001). The relation between fungal propagules in indoor air and home characteristics. *Allergy* 56:419-424.

Reponen T, Nevalainen A, Jantunen M, Pellikka M, Kalliokoski P (1992). Normal range for indoor air bacteria and fungal spores in a subarctic climate. *Indoor Air* 2:26-31.

Revankar S, Sutton D (2010). Melanized fungi in human disease. *Clin Microbiol Rev* 23(4):884-928.

Ricci S, Bruni M, Merigi M (1995). Aerobial monitoring of *Alternaria* fungal spores; a comparison between surveys in 1992 and 1993 and local meteorological conditions. *Aerobiologia* 11:195-201.

Richardson G, Eick S, Jones R (2005). How is the indoor environment related to asthma?: literature review. *J Adv Nurs* 52(3):328-339.

Ring J (2005). *Allergy in practice*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 276 p.

Rivera-Mariani F, Bolaños-Rosero B (2012). Allergenicity of airborne basidiospores and ascospores: need for further studies. *Aerobiologia* 28:83-97.

Rivera-Mariani F, Nazario-Jiménez S, López-Malpica F, Bolaños-Rosero B (2011). Sensitization to airborne ascospores, basidiospores, and fungal fragments in allergic rhinitis and asthmatic subjects in San Juan, Puerto Rico. *Int Arch Allergy Immunol* 155(4):322-234.

Rizzi-Longo L, Pizzulin-Sauli M, Ganis P (2009). Seasonal occurrence of *Alternaria* (1993-2004) and *Epicoccum* (1994-2004) spores in Trieste (NE Italy). *Ann Agric Environ Med* 16:63-70.

Rocha A, Alvarado M, Gutiérrez R, Salcedo S, Moreno S (2013). Variación temporal de esporas de *Alternaria*, *Cladosporium*, *Coprinus*, *Curvularia* y *Venturia* en el aire del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México. *Rev Int Contam Ambie* 29(2):155-165.

Rodríguez-Rajo F, Iglesias I, Jato V (2005). Variation assessment of airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores at different bioclimatical conditions. *Mycol Res* 109(4):497-507.

Roldán A (1985). *Notas para una climatología de Barcelona*. Instituto Nacional de Meteorología, Madrid.

Rosas I, Calderón C, Martínez L, Ulloa M, Lacey J (1997). Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentrations in Mexico City. *Aerobiologia* 13:23-30.

Rosas I, McCartney H, Payne R, Calderón C, Lacey J, et al. (1998). Analysis of the relationships between environmental factors (aeroallergens, air pollution, and weather) and asthma emergency admissions to a hospital in Mexico City. *Allergy* 53(4):394-401.

Rosenstreich D, Eggleston P, Kattan M, Baker D, Slavin R, et al. (1997). The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma. *New Eng J Med* 336(19):1356-1363.

Roses-Codinachs M, Suarez-Cervera M, Márquez J, Torres J (1992). An aerobiological study of pollen grains and fungal spores of Barcelona (Spain). *Aerobiologia* 8(2):255-265.

Ross C, de Menezes J, Svidzinski T, Albino U, Andrade G (2004). Studies on fungal and bacterial population of airconditioned environments. *Brazilian Arch Biol Tech* 47(5):827-835.

Rossi V, Bugiani R, Giosue S, Natali P (2005). Patterns of airborne conidia of *Stemphylium vesicarium*, the causal agent of brown spot disease of pears, in relation to weather conditions. *Aerobiologia* 21:203-216.

- Rossi V, Giosuè S, Bugiani R (2003). Influence of Air Temperature on the Release of Ascospores of *Venturia inaequalis*. *J Phytopathol* 151:50-58.
- Roussel S, Reboux G, Bellanger A, Sornin S, Grenouillet F, et al. (2008). Characteristics of dwellings contaminated by moulds. *J Environ Monit* 10:724-729.
- Runa F, Park M, Pryor B (2009). *Ulocladium* systematics revisited: phylogeny and taxonomic status. *Mycol Progress* 8:35-47.
- Ryan T, Beaucham C (2013). Dominant microbial volatile organic compounds in 23 US homes. *Chemosphere* 90:977-985.
- Sa-Sousa A, Morais-Almeida M, Azevedo L, Carvalho R, Jacinto T, et al. (2012). Prevalence of asthma in Portugal - The Portuguese National Asthma Survey. *Clin Transl Allergy* 2:1-15
- Sabariego S, Bouso V, Pérez-Badía R (2012). Comparative study of airborne *Alternaria* conidia levels in two cities in Castilla-La Mancha (central Spain), and correlations with weather-related variables. *Ann Agric Environ Med* 19(2):227-232.
- Sabariego S, Díaz de la Guardia C, Alba F (2000). The effect of meteorological factors on the daily variation of airborne fungal spores in Granada (southern Spain). *Int J Biometeorol* 44:1-5.
- Sabariego S, Díez A, Gutiérrez M (2007). Monitoring of airborne fungi in Madrid (Spain). *Acta Bot Croat* 66:117-126.
- Sáenz de Santamaría M, Postigo I, Gutiérrez-Rodríguez A, Cardona G, Guisantes J, et al. (2006). The major allergen of *Alternaria alternata* (Alt a 1) is expressed in other members of the *Pleosporaceae* family. *Mycoses* 49:91-95.
- Safatov A, Teplyakova T, Belan B, Buryak G, Vorob'eva I, et al. (2010). Atmospheric aerosol fungi concentration and diversity in the South of Western Siberia. *Atmos Ocean Opt* 23(1):73-79.
- Salo P, Arbes S, Sever M, Jaramillo R, Cohn R, et al. (2006). Exposure to *Alternaria alternata* in US homes is associated with asthma symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 118(4):892-898.
- Salo P, Yin M, Arbes S, Cohn R, Sever M, et al. (2005). Dustborne *Alternaria alternata* antigens in US homes: results from the National Survey of Lead and Allergens in Housing. *J Allergy Clin Immunol* 116(3):623-629.
- Salonen H, Lappalainen S, Lindroos O, Harju R, Reijula K (2007). Fungi and bacteria in mould-damaged and non-damaged office environments in a subarctic climate. *Atmos Environ* 41:6797-6807.
- Salvaggio J, Aukrust L (1981). Mould-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 68:327-246.
- Sánchez E, Rodríguez de la Cruz D, Sanchés M, Sánchez J (2009). Meteorological and agricultural effects on airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores and clinical aspects in Valladolid (Spain). *Ann Agric Environ Med* 16:53-61.
- Sanchez H, Bush R (2001). A review of *Alternaria alternata* sensitivity. *Rev Iberoam Micol* 18:56-59.
- Saubolle M, Sutton J (1996). The dematiaceous fungal genus. *Bipolaris* and its role in human disease. *Clin Microbiol Newsletter* 18(1):1-8.
- SBM-2008 (2008). Standard of Building Biology Testing Methods. Building biology evaluation guidelines for sleeping areas. *Baubiologie Maes, Institut für Baubiologie + Ökologie IBN*, 3 p.

Schlesinger P, Mamane Y, Grishkan I (2006). Transport of microorganisms to Israel during Saharan dust events. *Aerobiologia* 22:259-273.

Schmechel D, Green B, Blachere F, Janotka E, Beezhold D (2008). The Importance of antibody cross-reactivity for the development of environmental immunoassays for *Alternaria Alternata*. *J Allergy Clin Immunol* 121:S178.

Schoch C, Crous P, Groenewald J, Boehm E, Burgess T et al. (2009). A class-wide phylogenetic assessment of *Dothideomycetes*. *Stud Mycol* 64:1-15.

Sakiyan N, Ünçeoğlu Z (2003). Atmospheric concentrations of *Cladosporium* Link and *Alternaria* Nies spores in Ankara and the effects of meteorological factors. *Turk J Bot* 27:77-81.

Senkpiel K, Ohgke H (1992): Beurteilung der "Schimmelpilz"-Sporenkonzentration in der Innenraumluft und ihre gesundheitlichen Auswirkungen. Festlegung eines Erfahrungsrichtwertes. *Ges Ing* 113:42-45.

Sesartic A, Dallafior T (2011). Global fungal spore emissions, review and synthesis of literature data. *Biogeosciences* 8:1181-1192.

Sharma K, Verma J (2011). Frequency of fungi at different heights of Dongargarh, India. *Current Botany* 2(10):15-17.

Sharma R, Deval R, Priyadarshi V, Gaur S, Singh V, et al. (2011). Indoor fungal concentration in the homes of allergic/asthmatic children in Delhi, India. *Allergy Rhinol* 2:21-32.

Shelton B, Kirkland K, Flanders W, Morris G (2002). Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Appl Environ Microbiol* 68(4):1743-1753.

Silvera C (2011). Hifomicetes dematiáceos de la Península Ibérica. Universitat Rovira I Virgili, Reus.

Simon-Nobbe B, Denk U, Pöll V, Rid R, Breitenbach M (2008). The spectrum of fungal allergy. *International Arch Allergy Immunol* 145:58-86.

Singh A, Kumar P (2002). Common environmental allergens causing respiratory allergy in India. *Indian J Pediatr* 69:245-250.

Sivanesan A (1987). Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum* and their teleomorphs. *CAB Mycol Pap* 158:1-261.

Skjøth C, Sommer J, Frederiksen L, Gosewinkel U (2012). Crop harvest in Central Europe causes episodes of high airborne *Alternaria* spore concentrations in Copenhagen. *Atmos Chem Phys Discuss* 12:14329-14361.

Skoner D (2001). Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol* 108:S2-8.

Smith D, Jaffe D, Birmele M, Griffin D, Schuerger A, et al. (2012). Free tropospheric transport of microorganisms from Asia to North America. *Microb Ecol* 64:973-985.

Smith G (1990). Sampling and identifying allergenic pollens and molds. Blewstone Press. Texas. 196 p.

Smith G (2000). Sampling and identifying allergenic pollens and molds. Blewstone Press - Spiralbound: San Antonio, Tx, 196p.

- Soeria-Atmadja D, O'neil A, Borga A (2010). IgE sensitization to fungi mirrors fungal phylogenetic systematic. *J Allergy Clin Immunol* 125:1379-1386.
- Solans X, Alonso R, Constans A, Mansilla A (2007). Exposición laboral a hongos y bacterias ambientales en una planta de selección de residuos de envases. *Rev Iberoam Micol* 24:131-135.
- Soleimani Z, Goudarzi G, Naddafi K, Sadeghinejad B, Latifi S, et al. (2013). Determination of culturable indoor airborne fungi during normal and dust event days in Ahvaz, Iran. *Aerobiologia* 29:279-290.
- Sordillo J, Alwis U, Hoffman E, Gold D, Milton D (2011). Home characteristics as predictors of bacterial and fungal microbial biomarkers in house dust. *Environ Health Perspect* 119:189-195.
- Soto T, García R, Franco A, Vicente-Soler J, Cansado J, et al. (2009). Indoor airborne microbial load in a Spanish university (University of Murcia, Spain). *Anales de Biología* 31:109-115.
- Sousa S, Martins F, Pereira M, Alvim-Ferraz M, Ribeiro H, et al. (2010). Use of multiple linear regressions to evaluate the influence of O₃ and PM₁₀ on biological pollutants. *Int J Civil Environ Eng* 2(2):107-112.
- Spicer R, Gangloff H (2005). Establishing site specific reference levels for fungi in outdoor air for building evaluation. *J Occup Environ Hyg* 2(5):257-266.
- Stark P, Celedón J, Chew G, Ryan L, Burge H, et al. (2005). Fungal levels in the home and allergic rhinitis by 5 years of age. *Environ Health Perspect* 113:1405-1409.
- Stennett P, Beggs P (2004). *Alternaria* spores in the atmosphere of Sydney, Australia, and relationships with meteorological factors. *Int J Biometeorol* 49(2):98-105.
- Stepalska D, Grinn-Gofroń A, Piotrowicz K (2012). Occurrence of *Didymella* ascospores in western and southern Poland in 2004-2006. *Aerobiologia* 28:153-159.
- Stępańska D, Wołek J (2005). Variation in fungal spore concentrations of selected taxa associated to weather conditions in Cracow, Poland, in 1997. *Aerobiologia* 21:43-52.
- Stępańska D, Wołek J (2009). Intradurnal periodicity of fungal spore concentrations (*Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Didymella*, *Ganoderma*) in Cracow, Poland. *Aerobiologia* (2009) 25:333-340.
- Stern M, Allitt U, Corden J, Millington W (1999). The investigation of fungal spores in intramural air using a Burkard continuous recording air sampler. *Indoor Built Environ* 8:40-48.
- Stewart I, Griffiths W (1998). Characterisation of bioaerosol samplers commonly used by the UK biotechnology industry. *J Aerosol Sci* 29(S1):495-496.
- Stock T, Morandi M (1988). A characterization of indoor and outdoor microenvironmental concentrations of pollen and spores in two Houston neighborhoods. *Environ Int* 14:1-9.
- Su H, Wu P, Lin C (2001). Fungal exposure of children at homes and schools: A health perspective. *Arch Environ Health* 56:144-149.
- Sudakin D, Fallah P (2008). Toxigenic fungi and mycotoxins in outdoor, recreational environments toxigenic fungi and mycotoxins. *Clin Toxicol* 46:738-744.
- Swan J, Kelsey A, Crook B, Gilbert E (2003). Occupational and environmental exposure to bioaerosols from composts and potential health effects - A critical review of published data. The Composting Association and Health and Safety Laboratory. Norwich, U.K. 105 p.

- Szopińska D, Tylkowska K, Stach A, Kapalska K, Nowak M (2008). Mycological air contamination in a seed company processing room as a result of seed processing. *Phytopathol Pol* 47:31-41.
- Tang J (2009). The effect of environmental parameters on the survival of airborne infectious agents. *J R Soc Interface* 6:S737-S746.
- Thomma B (2003). *Alternaria spp.*: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology* 4:225-236.
- Tilak S (2009). Fungi in the air-aeromycology: an overview. In: JK. Misra, SK. Deshmukh Eds. *Fungi from different environments*. Science Publishers, pp. 28-55.
- Tomassetti B, Lombardi A, Cerasani E, Di Sabatino A, Pace L, et al. (2013). Mapping of *Alternaria* and *Pleospora* concentrations in Central Italy using meteorological forecast and neural network estimator. *Aerobiologia* 29:55-70.
- Tormo-Molina R, Gonzalo-Garijo M, Fernández-Rodríguez S, Silva-Palacios I (2012). Monitoring the occurrence of indoor fungi in a hospital. *Rev Iberoam Micol.* 29(4):227-234.
- Torres-Rodríguez T, Pulido-Marrero Z, Vera-García Y (2012). Respiratory allergy to fungi in Barcelona, Spain: Clinical aspects, diagnosis and specific treatment in a general allergy unit. *Allergol Immunopathol* 40(5):295-300.
- Trail F (2007). Fungal cannons: explosive spore discharge in the Ascomycota. *FEMS Microbiol Lett* 276:12-18.
- Troutt C, Levetin E (2001). Correlation of spring spore concentrations and meteorological conditions in Tulsa, Oklahoma. *Int J Biometeorol* 45:64-74.
- Turgeon G (1998). Application of mating type gene technology to problems in fungal biology. *Annu Rev Phytopathol* 36:115-137.
- Viegas C, Alves C, Carolino E, Pinheiro E, Rosado L, et al. (2011). Assessment of fungal contamination in a group of Lisbon's Gymnasiums with a swimming Pool. *Ital J Occup Environ Hyg* 2(1):15-20.
- Vijah H, Thaker A, Banerjee B, Kurup V (1999). Mold allergens. In: Lockey RF, Bukantz SC, editor. *Allergens and allergen immunotherapy*. New York: Marcel Dekker; pp 113-154.
- Vilavert L, Nadal M, Figueras M, Kumar V, Domingo J (2011). Levels of chemical and microbiological pollutants in the vicinity of a waste incineration plant and human health risks: Temporal trends. *Chemosphere* 84:1476-1483.
- Waisel Y, Ganor E, Epshtein V, Stupp A, Eshel A (2008). Airborne pollen, spores, and dust across the East Mediterranean Sea. *Aerobiologia* 24:125-131.
- Wallace D, Dykewicz M, Bernstein D, Blessing-Moore J, Cox L, et al. (2008). The diagnosis and management of rhinitis: an updated practice parameter. *J Allergy Clin Immunol* 122(S2):S1-S84.
- Weber R (2003). Meteorologic variables in aerobiology. *Immunol Allergy Clin North Am* 23(3):411-422.
- WHO (World Health Organization) (2011). Fact sheet No. 307 on Asthma.
- Wong L, Chan W, Mui K, Hui P (2009). An assessment of airborne fungi exposure risk level in air-conditioned offices. *Indoor Built Environ* 18(6):553-561.

- Wu P, Su H, Ho H (2000). A comparison of sampling media for environmental viable fungi collected in a hospital environment. *Environ Res* 82:253-257.
- Wu Y, Chan C, Rao C, Lee C, Hsu H, et al. (2007). Characteristics, determinants, and spatial variations of ambient fungal levels in the subtropical Taipei metropolis. *Atmos Environ* 41:2500-2509.
- Yafetto L, Carroll L, Cui Y, Davis D, Fischer M, et al. (2008). The fastest flights in nature: High-speed spore discharge mechanisms among fungi. *PLoS ONE* 3(9):e3237.
- Yamamoto N, Schmechel D, Chen B, Lindsley W, Peccia J (2011a). Comparison of quantitative airborne fungi measurements by active and passive sampling methods. *J Aerosol Sci* 42:499-507.
- Yamamoto N, Shendell D, Peccia J (2011b). Assessing allergenic fungi in house dust by floor wipe sampling and quantitative PCR. *Indoor Air* 21(6):521-530.
- Yazicioglu M, Asanb A, Onesc U, Vatanseverd U, Sene B, et al. (2004). Indoor airborne fungal spores and home characteristics in asthmatic children from Edirne region of Turkey. *Allergol Immunopathol* 32(4):197-203.
- Zhang G, Neumeister-Kemp H, Garrett M, Kemp P, Stick S, et al. (2012a). Exposure to airborne mould in school environments and nasal patency in children. *Indoor Built Environ* 12:1-10.
- Zhang Y, Crous P, Schoch C, Bahkali A, Guo L, et al. (2011). A molecular, morphological and ecological re-appraisal of *Venturiales* - a new order of *Dothideomycetes*. *Fungal Diversity* 51:249-277.
- Zhang Y, Crous P, Schoch C, Hyde K (2012b). *Pleosporales*. *Fungal Diversity* 53:1-221.
- Zhang Y, Schoch C, Fournier J, Crous P, de Gruyter J et al. (2009). Multi-locus phylogeny of *Pleosporales*: a taxonomic, ecological and evolutionary re-evaluation. *Stud Mycol* 64:85-102.
- Ziska L, Beggs P (2012). Anthropogenic climate change and allergen exposure: The role of plant biology. *J Allergy Clin Immunol* 129:27-32.
- Zoppas B, Valencia-Barrera R, Duso S (2006). Fungal spores prevalent in the aerosol of the city of Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil, over a 2-year period (2001-2002). *Aerobiologia* 22:119-126.
- Zureik M, Neukirch C, Leynaert B, Liard R, Bousquet J, et al. (2002). Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European Community Respiratory Health Survey. *BMJ* 325:411-414.