



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo de Fin de Grado

Estudio aerobiológico de las esporas fúngicas en interiores, influencia sobre la salud y procesos de biodeterioro

Alumno: Verónica Sánchez Escabias

Junio, 2016



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de Ciencias Experimentales

Grado en Ciencias Ambientales

Trabajo de Fin de Grado

Estudio aerobiológico de las esporas fúngicas en interiores, influencia sobre la salud y procesos de biodeterioro

Alumno: Verónica Sánchez Escabias

Junio, 2016

ÍNDICE:

1	RESUMEN	4
1.1	Abstract.....	4
2	INTRODUCCIÓN	5
3	HIPÓTESIS.....	8
4	OBJETIVOS	9
5	MATERIAL Y MÉTODOS	9
5.1	Descripción del área de estudio	9
5.2	Muestreo aerobiológico.....	11
5.3	Preparación de las muestras.....	13
5.4	Análisis de las muestras. Identificación y conteo de propágulos fúngicos.....	15
5.5	Temperatura y Humedad Relativa.....	16
6	RESULTADOS	16
6.1	Comportamiento Intradiario	22
7	DISCUSIÓN.....	25
8	CONCLUSIONES.....	29
9	AGRADECIMIENTOS	30
10	BIBLIOGRAFÍA.....	31

1 RESUMEN

Se ha realizado un estudio de la aeromicota en un ambiente de interior, en la Biblioteca Capitular de la Catedral de la Asunción de Jaén (España), durante tres meses del período invernal de 2015-2016, usando un método volumétrico, lo cual ha permitido hallar las concentraciones totales diarias y su evolución en el tiempo de los 7544 propágulos fúngicos encontrados, pudiendo identificar y caracterizar los tres morfotipos más abundantes: la especie *Cladosporium cladosporioides* (Ascomycota) (51'5%), el género *Aspergillus* (5'7%) y el orden *Uredinales* (Basidiomycota) (6'2%), de los cuales las dos primeras, además de ser hongos descomponedores de una amplia variedad de sustratos, pueden resultar perjudiciales para la salud humana, provocando alergias en cantidades superiores a 3.000 esporas/m³, y la tercera resulta ser un fitopatógeno muy extendido. De los tres se ha realizado un test de correlación no-paramétrico para establecer si la concentración de esporas en el aire está relacionada con parámetros de temperatura y humedad a lo largo de los tres meses estudiados. Además, se estudia de forma individual el comportamiento de las tres esporas mayoritarias, para poder establecer la variación intradiaria que ha revelado una mayor tasa de esporas en el ambiente, coincidiendo ésta con la máxima actividad llevada a cabo en la Biblioteca Capitular y con las máximas temperaturas a lo largo del día.

1.1 Abstract

It is made a study of aeromycology in an inside environment, at The Chapter Hall Library of the Cathedral of Asuncion in Jaén (Spain), for three months of the wintry period of 2015-2016, using a viable volumetric method, which allows for finding the ultimate concentrations of propagulos fungicos, being able to identify and characterize three more plentiful types of morfotypes: *Cladosporium cladosporioides* specie (Ascomycota), *Aspergillus* genus (Anamorph de Asycomycota y Basidiomycota) and *Uredinales* order (Basidiomycota), of which the two firsts can turn out harmful for the human health in superior quantities to 3.000 spores/m³, and the third one could be an extended phytosanitary problem. From the three, a test of correlation is made to establish a level of significance that has the relative temperature and humidity about maximum

concentrations over three months which the study was made. Moreover, it is studied the behavior of the three main spores in a own way, and can establish in time zone of highest concentration, and this is coinciding with the highest activity carried out at the Chapter Hall Library and with highest temperatures over day.

2 INTRODUCCIÓN

Los hongos constituyen un grupo heterogéneo, constituido por células eucariotas, normalmente multinucleados, es decir, presentan muchos núcleos en sus talos (cuerpos vegetativos). Éste talo se caracteriza en los hongos por estar recubierto de una pared de quitina. Como no poseen clorofila, se alimentan mediante fagocitosis u absorción. Son heterótrofos, en algunos casos llegando a ser considerados parásitos de plantas y animales. Los hongos se reproducen mediante esporas, móviles o inmóviles, sexuales o asexuales (Dix & Webster, 1995).

La fase asexual de un hongo se le denomina anamorfo, mientras que en la fase sexual se denomina teleomorfo. En la reproducción asexual se produce la fragmentación del micelo, dando lugar a nuevos individuos mediante esporas asexuales: conidios (sin flagelos, inmóviles) o esporangios (poseen un pie, móviles). Ésta clase de reproducción es la más común, siendo la vía más fácil y rápida de creación de nuevos individuos, que serán genéticamente idénticos al individuo que produce la espora asexual (Alexopoulos, C. J.; *et al.*, 1996).

En la reproducción sexual, que se da con menor frecuencia en los hongos, se producen esporas denominadas meiosporas, donde el ADN deriva de dos organismos diferentes pero compatibles, dando nuevos individuos con una nueva combinación genética (Barnett, 2013).

Así pues, los hongos se dispersan y expanden mediante estructuras denominadas esporas fúngicas. Están constituidas por un número reducido de células, llegando a haber esporas formadas por una única célula, lo que hace que tengan un tamaño muy pequeño (medido en micras), por lo que su dispersión se ve favorecida por ello.

Existe una gran variedad de esporas fúngicas con una morfología muy diferente. Esto es debido a que cada tipo de espora crece en un ambiente distinto, al cual se adapta (Petersen, 2013).

El estudio de esporas fúngicas en zonas de interiores o la proliferación de hongos en ambientes cerrados, resulta ser un buen método para la preservación del patrimonio histórico y cultural (Mallo, *et al.*), además de poder aplicarse para la determinación de algunas enfermedades del hombre (Caretta, 1992), dado que algunas esporas fúngicas pueden ser causa de biodeterioro (Rojas, *et al.*, 2013) y de respuestas alérgicas (Aira, *et al.*).

Identificar y realizar un seguimiento de la concentración en el aire de esporas fúngicas ayuda a establecer su control, pudiendo observarse el estado de conservación de material de reconocido valor histórico (Caneva, *et al.*) y establecer posibles situaciones de riesgo para la salud humana (Micali, *et al.*).

A pesar de la importancia de realizar estudios sobre la aerobiología en interiores, hay escasos antecedentes sobre la temática. Algunas referencias son: el estudio realizado por Medina, *et al.* (1999), en la biblioteca de Carabobo (Valencia); estudios en la catedral de Santiago de Compostela (Aira, *et al.* 2007), y sobre la biodiversidad fúngica en ambientes de interior en la Habana, Cuba (Rojas & Aira, 2012). Petushkova & Kandyba realizaron un estudio de la aeromicrobiología en la catedral de Moscú. No hay referencias de estudios en la Biblioteca Capitular de la Catedral de la Asunción de Jaén, dado que éste es el primero que se realiza, información obtenida por fuentes procedentes directamente del personal de la Catedral y de la Vicaría General del Obispado de Jaén.

La concentración de esporas fúngicas está influenciada por la temperatura y la humedad: a mayor temperatura mayores concentraciones de las mismas (Almaguer, *et al.*, 2014), mientras que estas concentraciones de esporas fúngicas serán menores a mayor humedad relativa (Dopazo, *et al.*, 2001). Por lo que la concentración intradiaria de la aeromicota corresponderá a la franja horaria de máxima temperatura (de 12:00 a.m. a 20:00 p.m.). También puede verse afectada por la actividad humana y por la abundancia y tipo de materiales

que se encuentran en el interior de la Bibioteca Capitular de la Catedral de Jaén.

Centrándonos en el Reino Fungi, estudios recientes han permitido clasificar los hongos en tres grupos principales: *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota*, siendo estos dos últimos los más importantes por su abundancia (Foster, et al., 2011, por lo que serán los que se desarrollarán a continuación.

Dentro de los *Ascomycotas* se incluyen unas sesenta y cinco mil especies de hongos, constituyendo el grupo principal. Se pueden distinguir varios subgrupos: *Archiascomycetes* (parafiléticos de los taxones basales), *Saccharomycetes* (levaduras verdaderas) y *Euascomycetes* (filamentosos). La característica principal que define a los *Ascomycotas* es la producción de meiosporas (ascosporas) dentro de unas células denominadas ascas (células encargadas de la producción de esporas, que se encuentran localizadas en un tejido llamado himenio). En ocasiones, las ascosporas son disparadas al aire con gran fuerza derivando en una nube de esporas, originando un fenómeno conocido como *puffing* (Petersen, 2013).



Ilustración 1 *Ascomycota*. Ejemplo: *Cladosporium*

Los *Basidiomycotas* son el segundo grupo más importante dentro de los hongos, constando de más de treinta mil especies. Al igual que ocurre en el grupo de los *Ascomycotas*, en los *Basidiomycotas* se pueden distinguir varios subgrupos: *Agaricomycotina*, *Pucciniomycotina* y *Ustilaginomycotina* (Cepero, et al., 2012).

Los *Basidiomycotas* vienen caracterizados por generar meiosporas (basidiosporas) en unas células llamadas basidios. Estas células tienen forma de maza y presentan cuatro prominencias denominadas esterigmas. Cada uno de estos esterigmas producirá una espora.



Ilustración 2. *Basidiomycota*. Ejemplo: *Uredinales*.

En los *Basidiomycotas*, al contrario de lo que ocurre en el grupo de los *Ascomycotas*, las esporas son liberadas con menor fuerza, lo que determina que el himenio (tejido donde se encuentran los basidios) esté dispuesto verticalmente o hacia abajo. Así, las esporas serán expulsadas y dispersadas más fácilmente, ya que no salen al exterior con tanta potencia. En los *Basidiomycotas* existen unas abrazaderas que se conectan y permiten que los núcleos de las células no sufran alteraciones durante la división celular (Petersen, 2013).

3 HIPÓTESIS

Mediante el muestreo de la aerobiología en la Biblioteca Capítular de la Catedral de la Asunción de Jaén, donde se encuentra material de mucha antigüedad, a veces en un avanzado estado de deterioro. Es previsible una amplia diversidad de propágulos fúngicos de especies descomponedoras. Sin embargo, al estar la mayoría de los documentos guardados en vitrinas, la evolución en la concentración de esporas dependerá, principalmente, de la actividad que se lleva a cabo en la sala.

Un ambiente homogéneo frente a variables de temperatura y humedad, como suele suceder en este tipo de estudios en interiores, favorecerá una presencia constante de esporas en el ambiente en cuanto a composición y cantidad.

4 OBJETIVOS

El objetivo de éste estudio es identificar la composición e intensidad de propágulos fúngicos en la Biblioteca Capitular de la Catedral de Jaén, durante aproximadamente tres meses, en período invernal.

Un objetivo específico es establecer si la aeromicota presente en el área de estudio puede influir sobre la salud humana, y si es causa de biodeterioro del material existente en la Biblioteca.

Establecer si la humedad relativa y la temperatura tienen influencia sobre la aparición y concentración de los propágulos fúngicos mayoritarios.

Otro objetivo específico es observar las variaciones intradiarias de los morfotipos de esporas mayoritarias presentes en la Biblioteca Capitular (*Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus*, *Uredinales*).

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Descripción del área de estudio

La Biblioteca Capitular de la Catedral de la Asunción de Jaén se sitúa desde 1976 en el ala este de la catedral, en el piso superior. La sala es contigua al Archivo, donde se guardan abundantes volúmenes y libros antiguos, además de diverso material como cuadros, tapices, moquetas, candelabros, baúles y otro tipo de mobiliario...

La mayoría de los volúmenes que hay en la Biblioteca Capitular, cuyo número es aproximadamente de 3.000 ejemplares, se encuentran protegidos dentro de vitrinas de cristal a lo largo de las paredes de la sala, que está habilitada para el estudio de archivos, que llegan a datar del siglo XVI. Los documentos sobre

los que investigadores y personal autorizado trabajan se encuentran ordenados en cajas o directamente sobre las mesas.



Ilustración 3. Vitrinas de cristal a lo largo de las paredes

Algunos documentos se encuentran en un estado de deterioro avanzado, ya sea debido a los materiales utilizados, a las condiciones de desprotección en las que han sido guardadas a lo largo de los años, al igual que la influencia del ambiente en el que se han encontrado anteriormente.



Ilustración 4. Ejemplo de estado de deterioro

En la actualidad no se realizan medidas especiales de conservación de las obras allí almacenadas. Las paredes no tienen ningún tipo de aislante, sólo el que proporciona su anchura. El techo y la cubierta exterior se encuentran directamente encima de la Biblioteca, por lo que en época de mucha lluvia el agua puede llegar a infiltrarse.

A lo largo de los meses en los que se ha realizado el estudio, investigadores y personal autorizado han trabajado en la sala desde las 16:00 p.m. hasta las 18:30 p.m., siguiendo el horario de invierno impuesto para realizar actividades en la Biblioteca Capitular.



Ilustración 5. Documentos

5.2 Muestreo aerobiológico

Para cumplir los objetivos de éste trabajo, se compararon diferentes métodos de muestreo, descartando aquellos procedimientos de captación gravimétrica al considerarlos poco eficaces. Se escogió un sistema volumétrico para realizar el estudio de propágulos fúngicos, usando un captador volumétrico tipo Hirst.

Algunos manuales, como “a manual for catching and identifying airborne biological particles” de Lacey & West, y el manual de calidad y gestión de la red española de aerobiología (REA, 2007), proponen como mejor opción el uso del captador de tipo Hirst.

Este tipo de captador consta de una ranura de entrada de 14 x 2 mm, que da a un tambor (soporte circular) con la capacidad de girar para que las partículas del aire queden adheridas de forma que se puedan obtener datos horarios, por lo que este tambor está conectado a un reloj (Hirst, 1952). Una bomba de vacío con una capacidad de captación de 10 L/min, que es similar al volumen de aire que entra a un pulmón humano en la inhalación, permite la captura de las partículas del aire. Al ser un muestreo en interior, prescindimos de la instalación de la veleta de la que consta el captador.



Ilustración 6.
Captador de tipo Hirst

En el tambor se instala una cinta de Melinex impregnada de una sustancia insoluble en agua, con capacidad de retención (con la mínima capacidad de rebote), que no se seque, evapore ni se altere, no permita el crecimiento de hongos, que posibilite la visualización de la muestra al microscopio y sea de fácil manejo.

Siguiendo las recomendaciones del Manual de Calidad y Gestión de la REA, se emplea un fluido de silicona con tetracloruro de Carbono, que tiene las características anteriormente mencionadas. A causa de la toxicidad y carácter volátil del tetracloruro de Carbono, es necesario impregnar la cinta de Melinex en la campana de gases.

Una vez preparado el tambor, éste se lleva al lugar del muestreo, donde se sitúa el captador. Comprobando con un medidor de flujo que la succión sea de 10 L/min, nos aseguramos de que la ranura de succión no tenga ningún tipo de obstrucción. Hecha la comprobación, procedemos a dar cuerda al reloj con una llave apropiada para ello, tras lo cual se ajustará el tambor en la posición correcta para que no haya errores en la secuencia de muestreo. El reloj tiene una semana de autonomía, por lo que es necesario cambiar el tambor y dar

cuerda al reloj cada siete días (mismo día de la semana, a la misma hora durante los tres meses de muestreo que se han realizado). Una vez instalado el tambor, se procede a introducirlo en la carcasa metálica del captador, cerrándolo herméticamente para crear el vacío y para una correcta succión.

Lo ideal, en estudios aeromicológicos del aire en exterior, sería colocar el captador de tipo Hirst a una determinada altura, pero por la imposibilidad de ello, el captador se sitúa a ras de suelo en este estudio. Dado que se coloca en un ambiente de interior, éste hecho no es relevante.

5.3 Preparación de las muestras

Para la preparación de las muestras usamos como referencia el Manual de Calidad y Gestión de la REA (2007).

Es necesario disponer de pliegos de papel secante de laboratorio para facilitar la visibilidad de la cinta de Melinex y para la absorción ante posibles derrames de líquido. Además, es imprescindible tener tantos portaobjetos como fragmentos obtenidos al cortar la cinta sobre una regla de montaje.

También habrá que etiquetar los portaobjetos para evitar confundir las muestras, puesto que un fragmento de cinta corresponderá a dos días incompletos de las muestras, por lo que es necesario establecer un etiquetado para que el orden sea coherente al día y la hora de muestreo.

La regla de montaje debe ser transparente, de metacrilato preferiblemente, y tener marcas dispuestas en hendiduras cada 48 mm para una fácil división de la cinta, que se situará encima de la regla para fragmentarla en trozos de dicha longitud, que representarán 24 horas de muestreo. La cinta deberá fijarse sobre la regla mediante trozos de cinta adhesiva, teniendo cuidado de que ésta no se sitúe sobre la muestra, y se procederá a realizar cortes transversales a lo largo de la cinta de Melinex con una cuchilla para la obtención de fragmentos que representen 24 horas de muestreo, situándose en el lado izquierdo del portaobjetos los horas del día anterior y en el lado derecho las horas correspondientes al día siguiente.



Ilustración 7. Regla de montaje, glicerogelatina con tinte de fucsina, pinzas... en la campana de gases.

Usaremos glicerogelatina con una tinción de fucsina (facilita la identificación y conteo de propágulos fúngicos) para montar las muestras diarias sobre los portaobjetos. A temperatura ambiente la glicerogelatina es sólida, por lo que es necesaria licuarla con calor para su uso (en nuestro caso, mediante el uso de microondas). Una vez en estado líquido, se aplicará sobre un cubreobjetos, gracias a un dispensador de gotas, preferentemente en una línea continua, tras lo cual el cubreobjetos se situará sobre el portaobjetos y la muestra, evitando en todo lo posible la aparición de burbujas de aire, presionando levemente con un objeto romo para la eliminación de las mismas antes de la solidificación de la glicerogelatina.

Cuando se solidifica la glicerogelatina, se sellan las muestras con esmalte transparente para una buena conservación de la muestra.



Ilustración 8. Ejemplo de muestras montadas

5.4 Análisis de las muestras. Identificación y conteo de propágulos fúngicos.

Para el análisis de las muestras se usará el microscopio, con 40 x 10 aumentos ya que con un objetivo menor disminuye la apreciación de las esporas, mientras que con un objetivo mayor el campo a analizar es menor.

Gracias a la observación mediante el microscopio obtendremos los resultados, pues nos permitirá realizar un recuento de la concentración aerobiológica.

Se realizan dos barridos horizontales continuos, dado que el recuento de toda la muestra no es necesario, pues el área mínima debe representar el 10% de la muestra, según la REA (2007). Así pues, se realizan dos barridos con aumento de 40 x 10 en el microscopio, usando una plantilla de acetato con 24 divisiones para poder realizar un conteo horario (cada sección representa una hora del día).

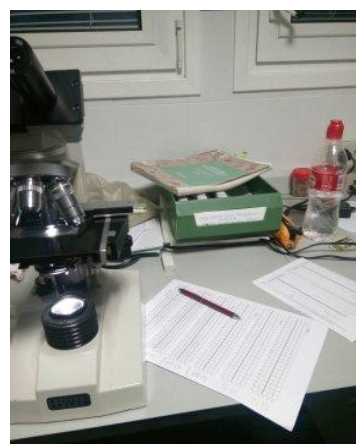


Ilustración 9. Microscopio y plantillas

Se han utilizado dos tipos de plantillas para hacer los apuntes necesarios, y así poder diferenciar los morfotipos de propágulos fúngicos encontrados durante los barridos, estableciendo la hora concreta de su aparición y concentración durante las 24 horas que hay en cada fragmento de cinta.

La identificación de las esporas fúngicas se ha realizado de forma muy exhaustiva para evitar lo máximo posible el error humano, mediante la visualización del microscopio, y utilizando atlas y manuales, tales como “a manual for catching and identifying airborne biological particles” (Lacey & Wets), “Calidad del aire. Polen y esporas en la Comunidad Gallega” (Aira, *et al.*), y “Sampling and identifyng allergenic pollens and molds. An illustrated identification manual for air samplers” (Smith, 1990).



Ilustración 10. Visualización, identificación y recuento de esporas fúngicas mediante el microscopio

5.5 Temperatura y Humedad Relativa

La humedad relativa y la temperatura del ambiente interior de la Biblioteca Capitular de la Catedral de Jaén se medirán mediante un Datalogger, que tomará medidas cada 60 minutos.

Los datos muestreados se procesarán mediante el programa Excel de Microsoft para hallar las medias diarias. Se usará el programa informático IBM SPSS Statistics para realizar un análisis estadístico de correlación y determinar la influencia de la temperatura y la humedad relativa sobre el comportamiento de las esporas fúngicas mayoritarias.

6 RESULTADOS

Durante tres meses se han recogido muestras, del 12 de noviembre de 2015 al 12 de febrero de 2016, coincidiendo en un período de invierno “muy cálido y normal en precipitaciones” según la Agencia Estatal de Meteorología.

Se han encontrado 34 morfologías distintas de esporas fúngicas, de las cuales 14 han sido identificadas. El resto están señaladas como Sin Identificar (SI) y un número para que, en caso de otros estudios, puedan ser identificados independientemente.



Ilustración 11. *Leptosphaeria*, *Bipolaris*

Se han hallado los totales finales de cada morfotipo encontrado (Gráfico 1), realizando los cálculos pertinentes para obtener la cantidad total a lo largo de los tres meses de cada morfología observada en las muestras, obteniendo como resultado unos datos absolutos.

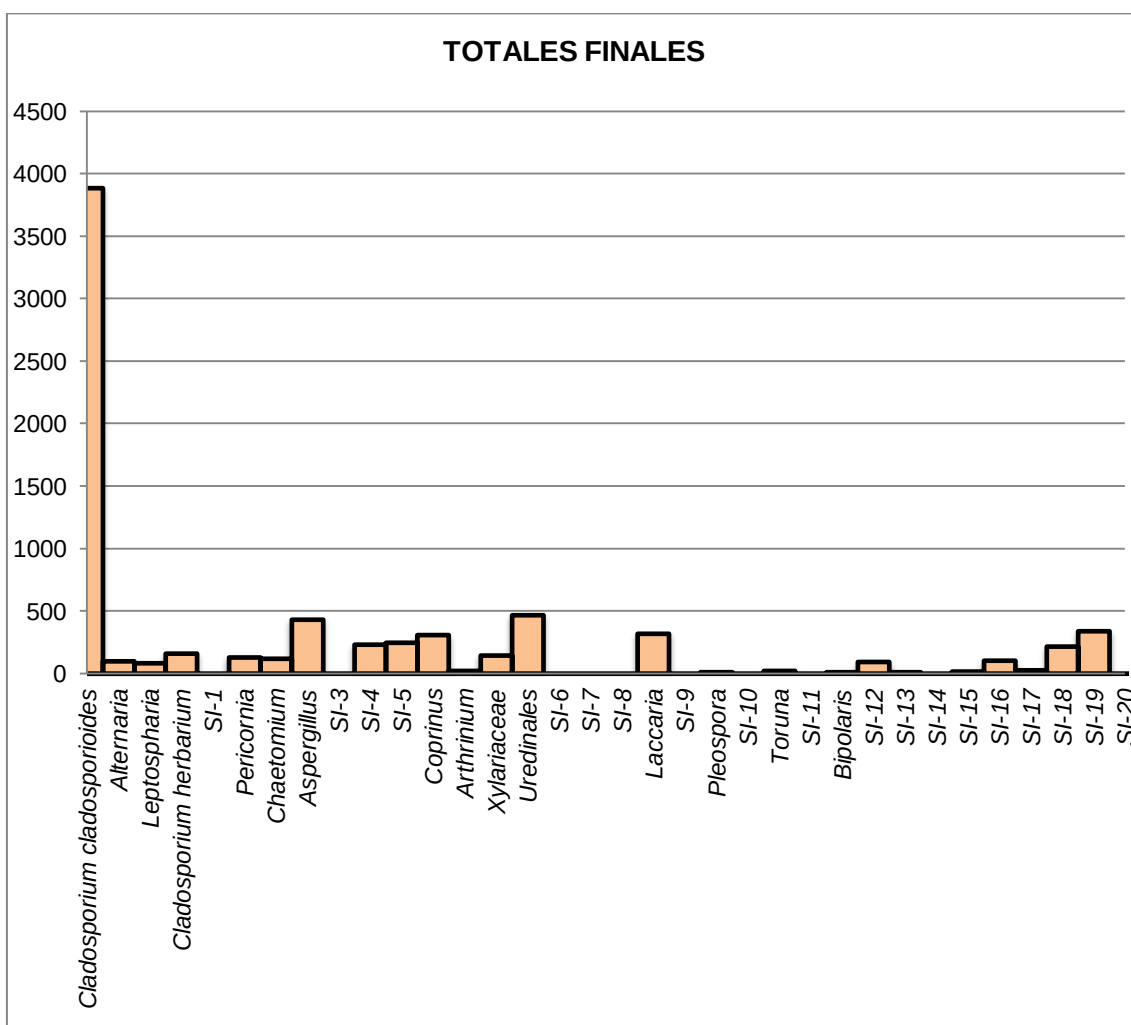


Gráfico 1. Datos absolutos. Totales finales de las 34 morfologías de esporas fúngicas encontradas

Dado que hay mayor cantidad de la especie *Cladosporium cladosporioides*, saliéndose los datos de la media general, realizamos una tabla sin dicha especie para apreciar más claramente las diferencias entre los demás resultados (Gráfico 2).

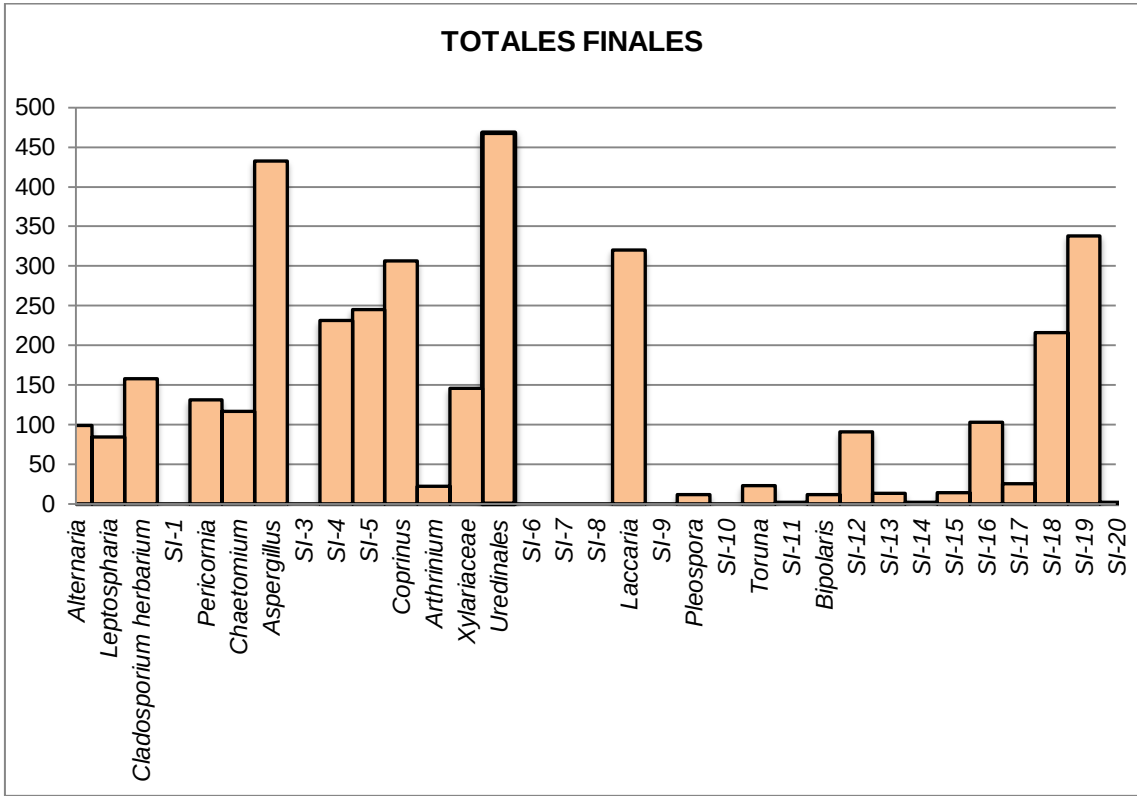


Gráfico 2. Datos absolutos. Totales finales de 33 morfologías de esporas fúngicas encontradas (sin *Cladosporium cladosporioides*).

Así pues, de las 7544 esporas fúngicas halladas, observamos que las tres morfologías mayoritarias son: *Cladosporium* (*cladosporioides*), *Aspergillus* y *Uredinales*. Ésta será la aerobiología que tendremos en cuenta de ahora en adelante y a lo largo del estudio.

El comportamiento general de estos tres morfotipos dominantes a lo largo de los tres meses es descendente, siendo más parecidos entre *Cladosporium cladosporioides* y *Uredinales*, como se muestra en la Gráfica 3 y 4.

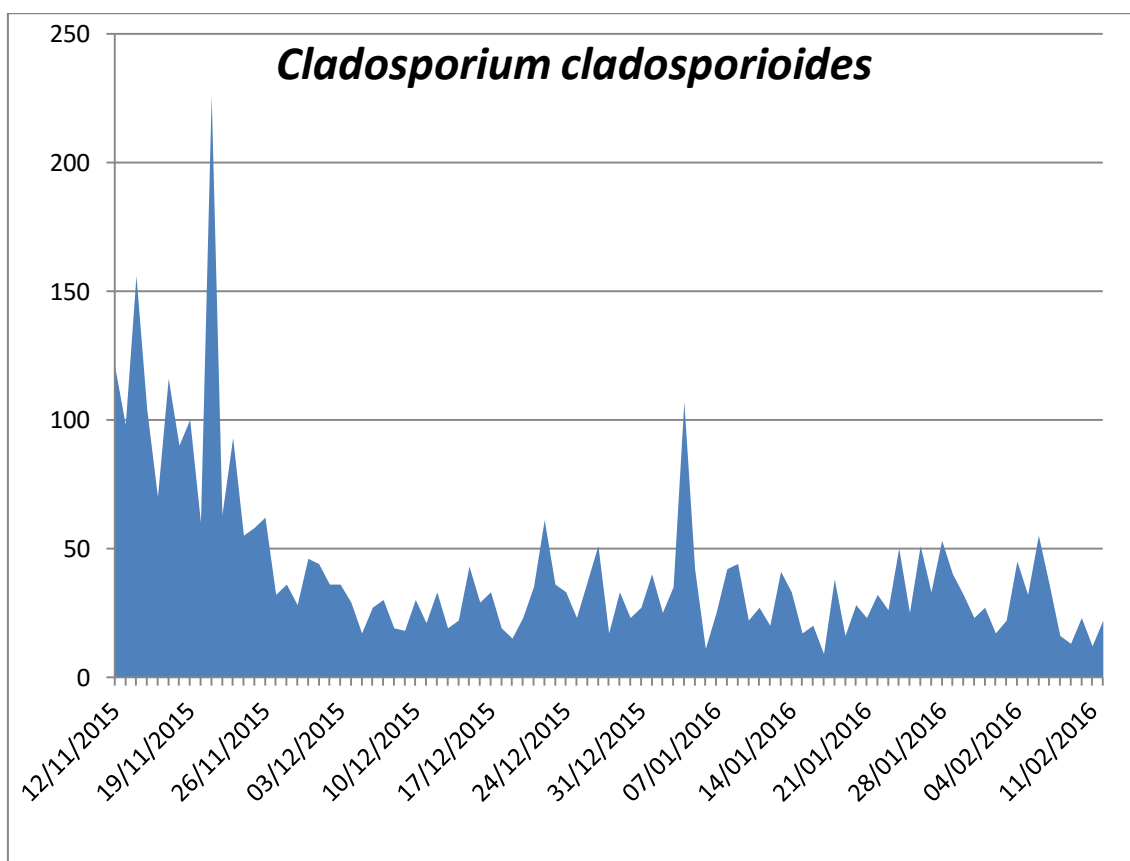
El comportamiento general del género *Aspergillus* (Gráfico 5) es más drástico, con cambios en las concentraciones muy pronunciadas (de 0.8 esporas/m³ el día 10 de diciembre de 2015 hasta 0.3 esporas/m³ al día siguiente).

En la siguiente tabla (Tabla 1) se sintetiza la información más relevante sobre las tres esporas fúngicas mayoritarias:

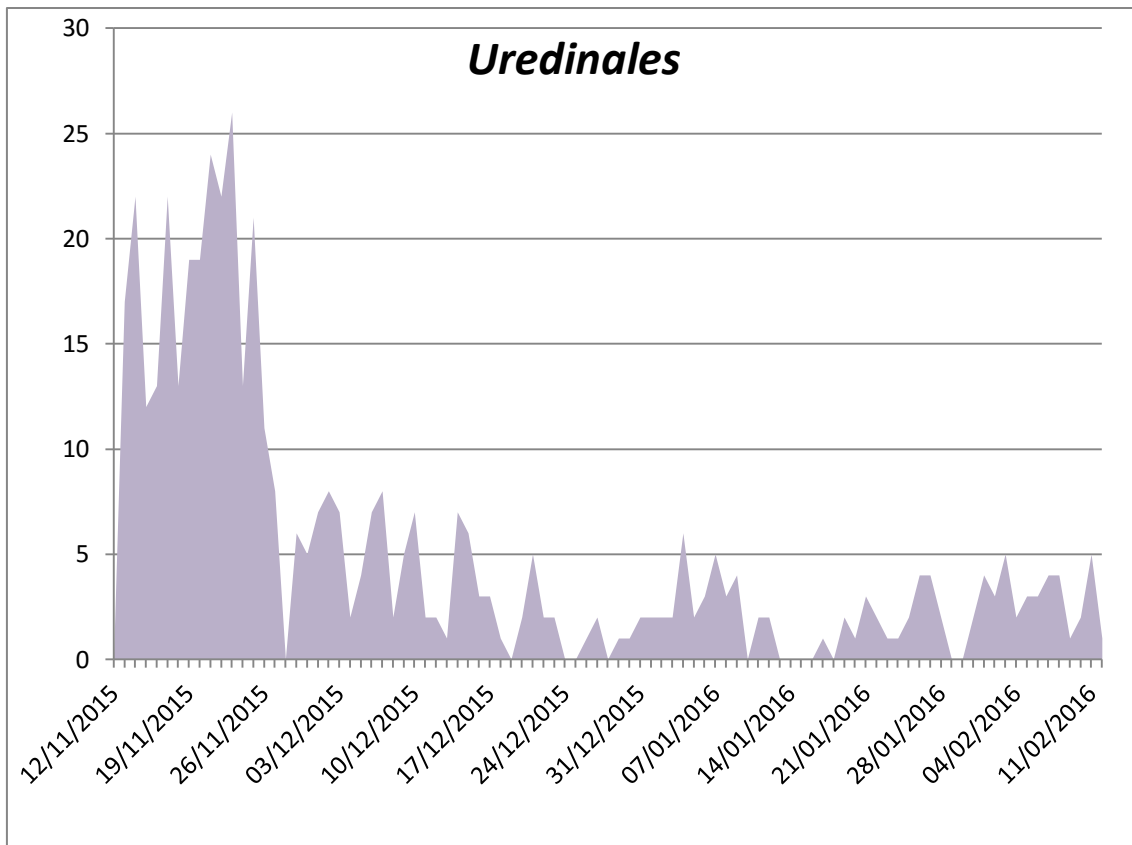
Tipo espora	Cantidad Total (esporas/m ³)	% sobre el Total	Día de máxima presencia	Cantidad Total en el Día de máxima presencia
<i>Cladosporium</i>	3883	51´5 %	21/11/2015	226
<i>Aspergillus</i>	432	5´7 %	23/11/2015	28
<i>Uredinales</i>	468	6´2 %	23/11/2015	26
Otros Ident.	1408	18´7%	13/11/2015	63
Sin Identificar	1289	17´1 %	12/11/2015	99
Total	7544	100%	12/11/2015	277

Tabla 1. Tabla sintética con valores numéricos de los tres morfotipos dominantes. Otros Ident (Identificados) y las esporas Sin Identificar.

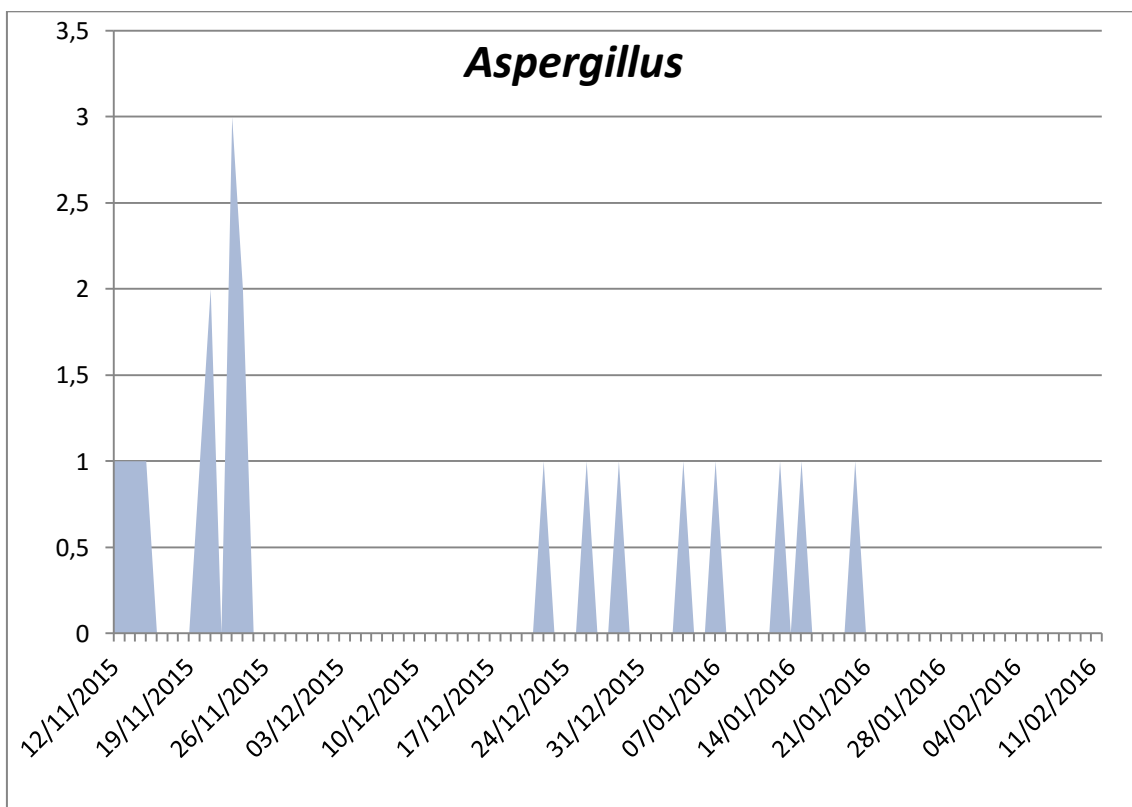
En todos los casos la mayor concentración de esporas se da al comienzo del estudio, habiendo ciertos picos posteriores que pueden ser debidos a la influencia de la temperatura y la humedad (Gráfica 6).



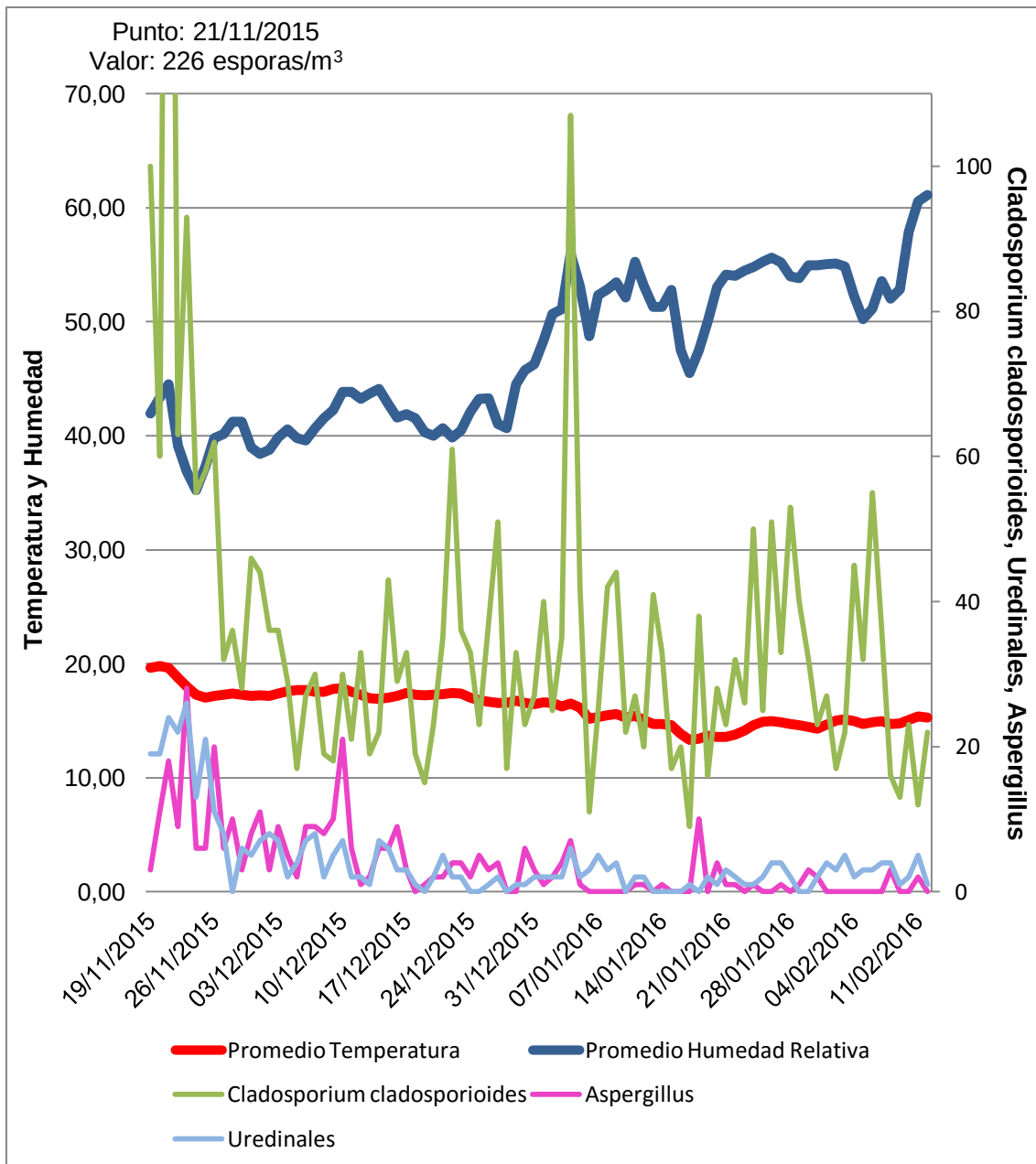
Gráfica 3. Datos absolutos. Comportamiento general de la especie *Cladosporium cladosporioides*



Gráfica 4. Datos absolutos. Comportamiento general del orden *Uredinales*



Gráfica 5. Datos absolutos. Comportamiento general del género *Aspergillus*



Gráfica 6. Datos absolutos. Temperatura y Humedad Relativa. Comportamiento general de las esporas fúngicas mayoritarias.

A simple vista, con los datos mostrados, la humedad relativa y la temperatura tendrían influencia significativa sobre la aparición y el comportamiento de los géneros mayoritarios. Para intentar demostrar este aspecto, realizamos un análisis estadístico: una correlación simple entre los géneros mayoritarios y la temperatura y la humedad (Tabla 2), y poder establecer si existe influencia significativa entre las concentraciones de las esporas fúngicas mayoritarias y los parámetros de temperatura y humedad estudiados.

Morfotipos	Temperatura	Humedad Relativa
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0.25*	-0.21*
<i>Aspergillus</i>	0.65**	-0.61**
<i>Uredinales</i>	0.49**	-0.231**

Tabla 2. Rho de Spearman. Correlación entre la temperatura y humedad relativa con los tres morfotipos mayoritarios de esporas fúngicas encontradas.

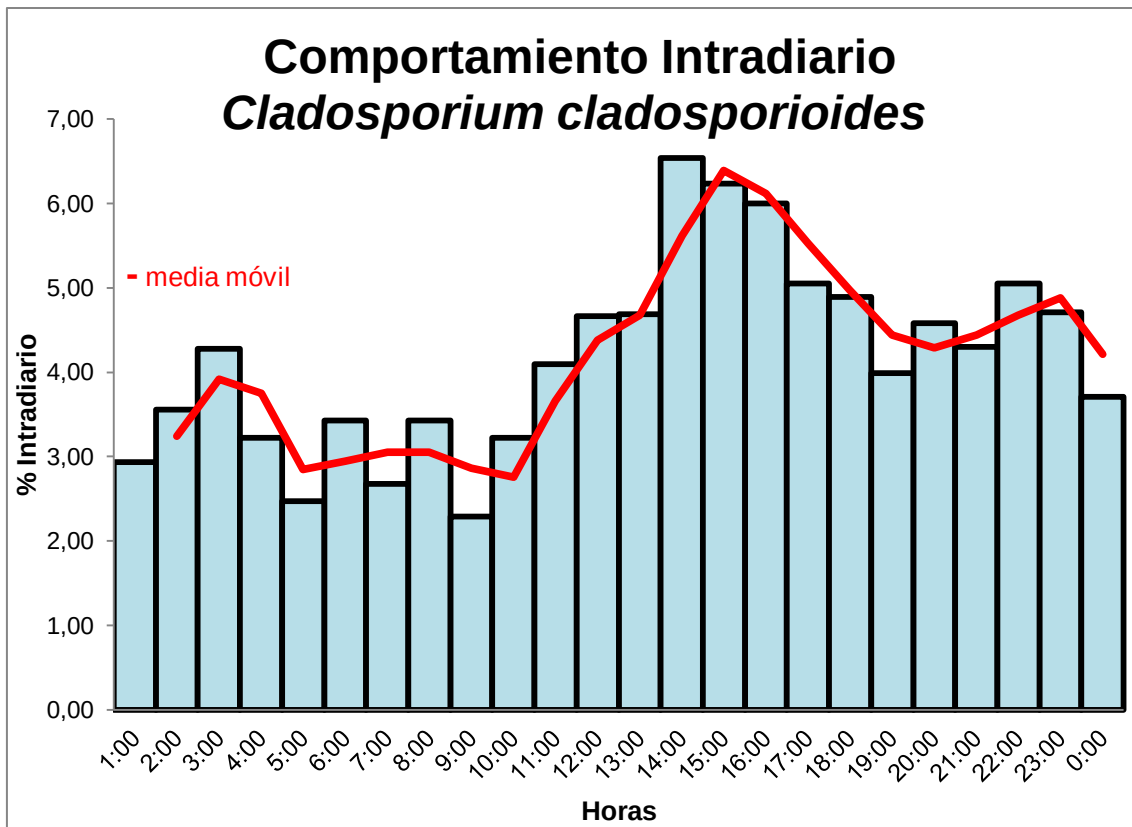
** La correlación es significativa en el nivel 0.01

* La correlación es significativa en el nivel 0.05

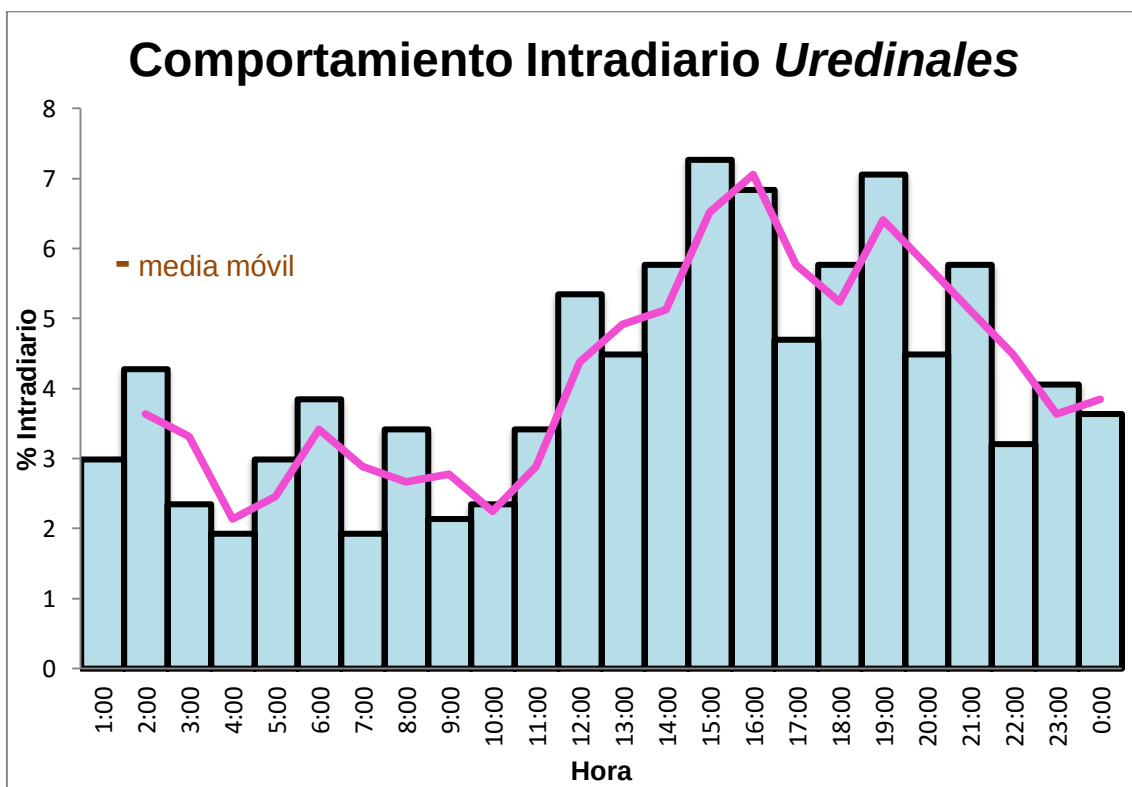
Obtenida la Tabla 2, vemos que ambos parámetros se correlacionan con el comportamiento de las esporas fúngicas mayoritarias, siendo ésta correlación de forma inversa en la humedad, es decir, con el aumento de la humedad relativa la concentración de los tres morfotipos mayoritarios disminuye, mientras que al aumentar la temperatura la concentración de esporas fúngicas en el aire es mayor.

6.1 Comportamiento Intradiario

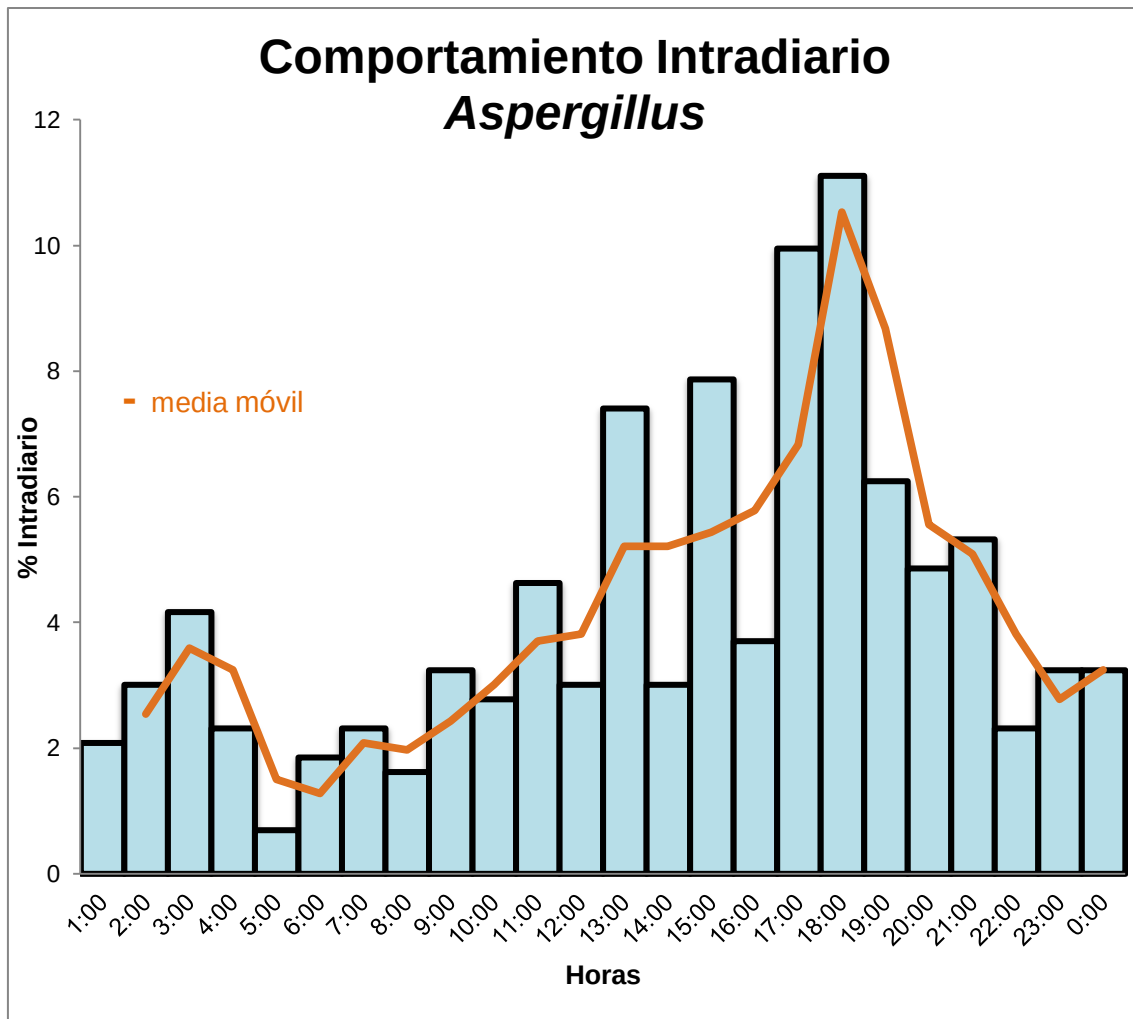
Además de observar el comportamiento general de las esporas mayoritarias a lo largo de las 14 semanas muestreadas, es conveniente estudiar el comportamiento intradiario de dicha aerobiología, para determinar a qué horas del día hay una mayor concentración de esporas en el ambiente de la Biblioteca Capitulana de la Catedral de Jaén. Para ello se procede a calcular los % Intradiarios de cada morfología mayoritaria (Gráfica 7, 8 y 9) mediante el modelo de Domínguez & La-Serna (1998), que tiene en cuenta la totalidad de los datos.



Gráfica 7. Comportamiento de la especie *Cladosporium cladosporioides* durante 24 horas a lo largo de los 3 meses muestreados (% Intradiario)



Gráfica 8. Comportamiento del género *Uredinales* durante 24 horas a lo largo de los 3 meses muestreados (% Intradiario)



Gráfica 9. Comportamiento del género *Aspergillus* durante 24 horas a lo largo de los 3 meses muestreados (% Intradiario)

Según las gráficas del comportamiento (Gráfica 7, 8 y 9), la mayor actividad fúngica entre las 12:00 a.m. y las 19:00 p.m., coincidiendo con las horas de mayor actividad en la Biblioteca Capitular de la Catedral de Jaén, ya que de 16:00 p.m. a 18:30 p.m. es el horario de trabajo de investigadores y personal autorizado para la manipulación de los documentos que allí se guardan y almacenan, labor que realizan cuatro días por semana (lunes, martes, miércoles y jueves).

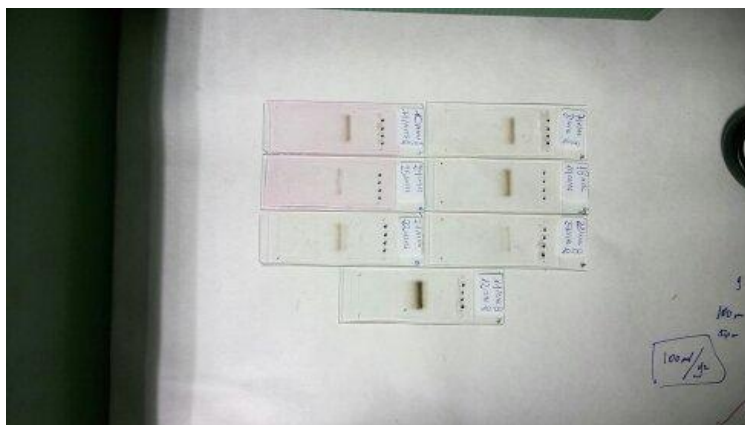


Ilustración 12. Muestras con franjas que indican mayor captación de aerobiología y restos orgánicos

7 DISCUSIÓN

La manipulación de los datos obtenidos en la visualización y recuento de las muestras al microscopio, resultan ser una gran cantidad (7544 esporas totales) y se han tratado para obtener medias y datos absolutos, calculándose los totales finales de cada morfotipo de espora encontrada. Se observa que el comportamiento de la aeromicota es descendente en todos los tipos de propágulos fúngicos encontrados, donde las máximas concentraciones se dan al principio del estudio.

La especie *Cladosporium cladosporioides* se destaca como la dominante en el ambiente cerrado de la Biblioteca Capitulat, siendo el 51'5% del total. Cabe mencionar también el género *Aspergillus* y el orden *Uredinales*, que resultan tener una presencia destacable, del 5'7% y el 6'2% respectivamente.

En estudios similares sobre biodeterioro, como el realizado en la Catedral de Santiago de Compostela, se ha destacado la presencia de *Cladosporium* y *Aspergillus* (Aira, et al., 2007). Rara vez aparece el orden *Uredinales* como mayoritario, aunque sí aparece en ambientes como en interiores de la Habana (Rojas & Aira, 2012), aunque no de forma tan significativa como los morfotipos mayoritarios anteriormente mencionados.

Los períodos de máxima aparición de *Cladosporium cladosporioides* son en primavera y otoño (Sabariego, et al., 1999), por lo que las concentraciones

halladas en el período invernal, durante el cual se ha realizado el muestreo, no alcanzan los 3.000 esporas/m³, que es la concentración a la que empieza a producirse reacciones alérgicas (Caretta, 1992).

Cladosporium y *Aspergillus* están considerados como posibles patógenos (Horner, *et al.*, 1995), perjudiciales para la salud humana, pues pueden producir reacciones alérgicas (Vartivarian, *et al.*, 1993).

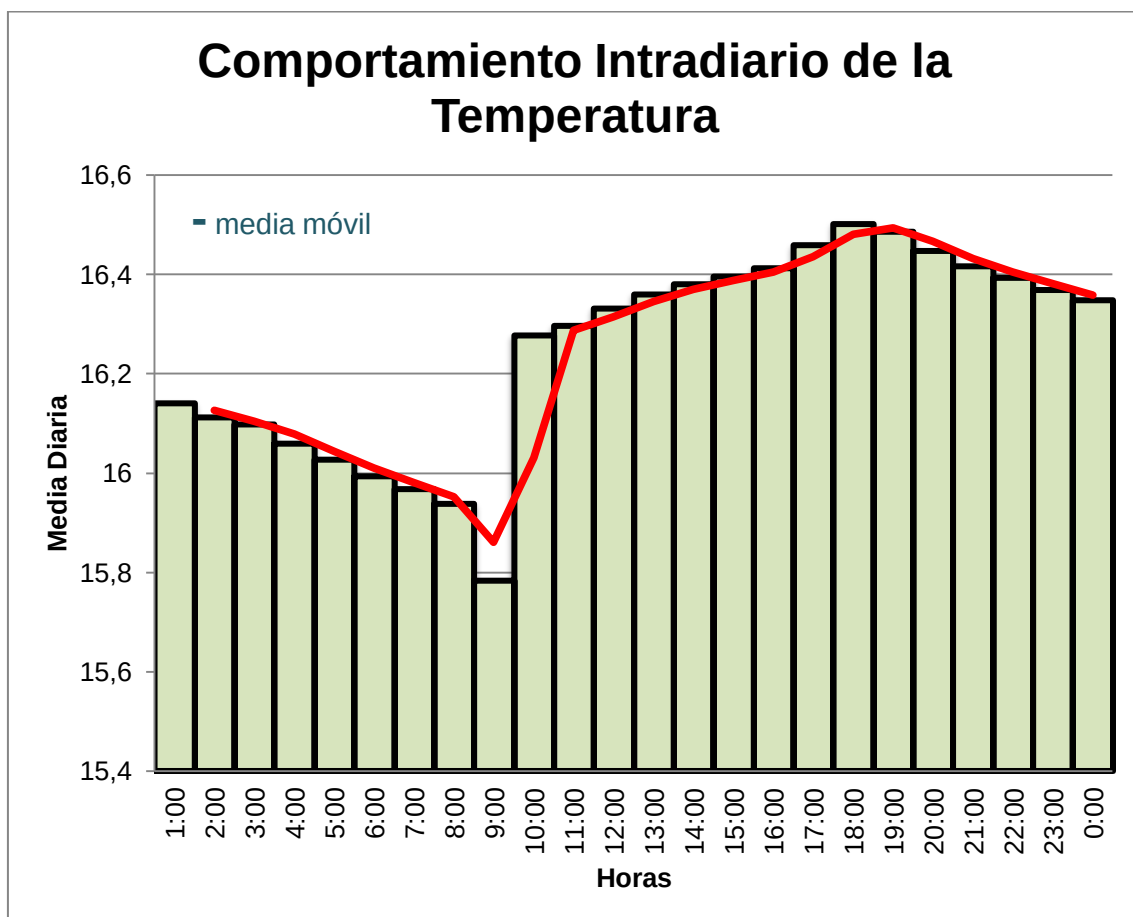
No se han encontrado referencias sobre si los *Uredinales* tienen una influencia significativa sobre el biodeterioro de material histórico, aunque suponen uno de los problemas fitosanitarios más extendidos (Zuluaga, *et al.*, 2008).

Sabiendo que la aeromicota dominante puede ser perjudicial para la salud, y dado que no hay un control sobre las condiciones climáticas de la sala de la Biblioteca Capitular, se realiza un análisis de la temperatura y la humedad relativa de la sala, tras lo cual se estudia la importancia de éstos sobre el comportamiento de las esporas dominantes halladas.

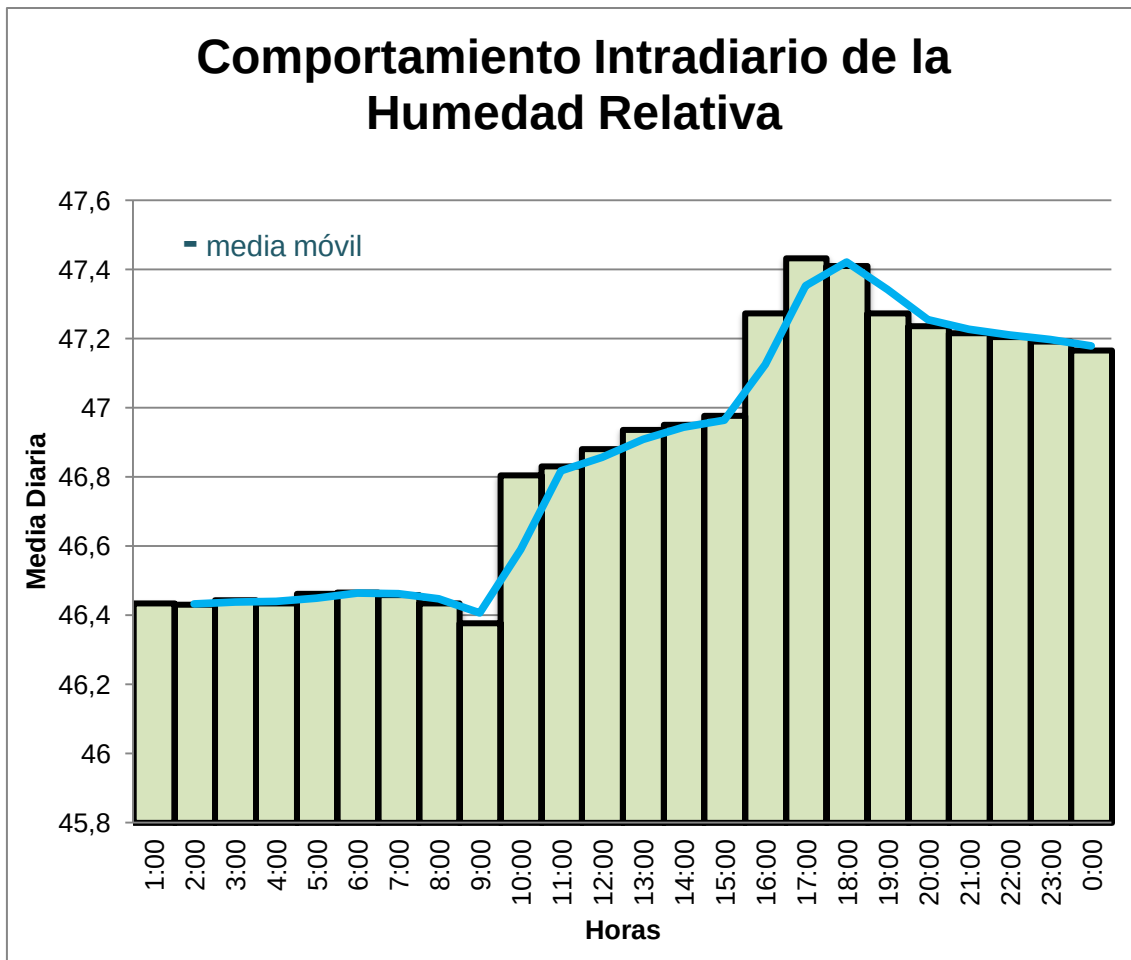
Se realiza un análisis de correlación de Spearman porque los datos de las esporas obtenidos no tienen un comportamiento normal (Morales, *et al.*, 2004). Así obtenemos la Tabla 2 mostrada en el apartado anterior de este estudio (Resultados), que nos indica que tanto la temperatura como la humedad relativa tienen una influencia sobre la aparición y comportamiento de las esporas fúngicas dominantes (Almaguer, *et al.*, 2014) con un nivel del 99% de significancia, lo cual es de gran importancia, puesto que *Cladosporium* y *Aspergillus* pueden producir alergia en humanos. Al aumentar la temperatura aumenta la aparición de *Cladosporium*, mientras que el comportamiento es inverso ante la humedad relativa, es decir, cuando aumenta la humedad disminuye la aparición de esporas (Dopazo, *et al.*, 2001).

La influencia de los parámetros de temperatura y humedad relativa mencionados anteriormente pueden afectar al comportamiento general de las tres morfologías mayoritarias, pues al comienzo del estudio las temperaturas son más cálidas, lo que puede explicar que las máximas concentraciones se sitúen en el período mencionado.

El comportamiento intradiario de *Cladosporium* se caracteriza por tener máximas concentraciones durante las 12:00 a.m. y las 20:00 p.m.. Aún así, la aparición de *Cladosporium cladosporioides*, en concreto, en exteriores se suele dar a partir de las 19:00 p.m. (Mediavilla, *et al.*, 1998), mientras que *Aspergillus* suele aparecer en mayor cantidad en las horas de la mañana, también en exteriores (Rojas, *et al.*, 2007). Dado que este estudio se realiza en un ambiente de interior, con mayor actividad entre las 16:00 p.m. y las 18:30 p.m., los resultados obtenidos son coherentes. Dado que la temperatura afecta de forma positiva a la concentración de esporas, las máximas captaciones se darán cuando la temperatura sea mayor (Gráfica 10), ya sea porque el ambiente es más cálido durante las horas de la tarde, o bien por la calefacción mediante radiadores que el personal autorizado conecta en sus horas de trabajo en la Biblioteca Capitulana de la Catedral de Jaén.



Gráfica 10. Comportamiento de la Temperatura durante 24 horas a lo largo de los 3 meses muestreados.



Gráfica 11. Comportamiento de la Humedad Relativa durante 24 horas a lo largo de los 3 meses muestreados.

El comportamiento intradiario de la temperatura y la humedad (Gráfica 10 y 11) no tienen una diferencia relevante a lo largo del día por lo que, aunque estos parámetros influyen significativamente de forma estacional, las máximas concentraciones intradiarias de esporas pueden deberse principalmente a la actividad llevada a cabo en la sala en las horas de la tarde.

El comportamiento general e intradiario de *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Uredinales* es similar. No se han hallado artículos ni estudios sobre el comportamiento de los últimos dos morfotipos mencionados. Sin embargo, como anteriormente se ha dicho, los resultados pueden deberse a la influencia de la actividad en la Biblioteca Capitular de la Catedral de Jaén sobre las máximas concentraciones halladas.

8 CONCLUSIONES

Habiendo realizado un monitoreo continuado de la aeromicota (propágulos fúngicos) del aire en un ambiente interior durante los meses de noviembre, diciembre (2015), enero y febrero (2016), en la Biblioteca Capitular de la Catedral de la Asunción de Jaén:

- 1) Han sido encontrados 34 morfotipos de esporas fúngicas, de las cuales se han identificado 14, destacándose tres de ellas sobre las demás: *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus* y *Uredinales*.
- 2) La intensidad de esporas registradas (7544 esporas totales) durante el período invernal en ningún momento ha alcanzado las concentraciones a partir de las cuales ocasiona reacciones alérgicas de carácter respiratorio (> 3.000 esporas/m³), dado que el día de máxima concentración ha sido el 12 del noviembre de 2015, con 277 esporas.
- 3) Se ha demostrado como la temperatura y la humedad relativa tienen una influencia significativa sobre la variación estacional en las concentraciones de esporas fúngicas (al aumentar la temperatura, aumenta la concentración de esporas). El período más seco durante el estudio (noviembre) ha coincidido con los días en los que ha habido mayores concentraciones de esporas en el interior.
- 4) *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus* y *Uredinales* han demostrado un comportamiento intradiario similar, donde la intensidad más elevada de éstas se concentra en la franja horaria comprendida entre las 12:00 a.m. y las 19:00 p.m., lo que puede ser debido principalmente a la actividad realizada por investigadores y personal autorizado en la Biblioteca, junto a un aumento de la temperatura en la sala. Además, el comportamiento intradiario de la temperatura coincide con el comportamiento intradiario de los morfotipos dominantes: *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus* y *Uredinales*. Sabiendo que éste parámetro tiene influencia positiva sobre la concentración de propágulos fúngicos, la temperatura puede haber influido, de forma leve, sobre la máxima

captación de esporas mayoritarias en la franja horaria anteriormente mencionada.

- 5) Este trabajo ha permitido registrar un gran número de esporas fúngicas presentes en el interior de la Biblioteca Capitular de la Catedral. Sería conveniente un monitoreo más dilatado en el tiempo para identificar y caracterizar otras posibles fuentes productoras relacionadas con el biodeterioro del patrimonio artístico y/o sobre la salud de las personas en interiores.

9 AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han hecho posible el desarrollo de este trabajo: al Excelentísimo Señor, Don Ramón del Hoyo López, Obispo Emérito de Jaén; al Ilustrísimo Señor Don Francisco Juan Martínez Rojas, Vicario General y Deán de la Catedral de Jaén, que dieron el consentimiento para el acceso a la Biblioteca Capitular de la Catedral de la Asunción de Jaén, y la instalación del material necesario para esta investigación.

También doy gracias al personal con el que he tenido contacto, de los que he recibido un trato afable, y los que en todo momento me han facilitado el acceso a la Catedral de Jaén: Don Antonio Aguilar, encargado de la recepción del Obispado de Jaén; Don Rafael Cañada, Don Arturo Aragón y Don Joaquín Negrillo, empleados de la Catedral.

Gracias a la Universidad de Jaén por los medios técnicos y humanos que me han sido facilitados, permitiéndome el desarrollo de esta investigación.

Gracias a Doña Gema Siles Colmenero, del Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología, por su apoyo y buenos consejos.

Un agradecimiento especial al tutor de este trabajo de investigación, por haberme dedicado su tiempo y conocimiento, y del que he obtenido la máxima atención y máximo apoyo.

10 BIBLIOGRAFÍA

Agencia Estatal de Meteorología (AEMET): “Un invierno muy cálido y normal en precipitaciones”. URL: <http://www.aemet.es/es/noticias/2016/03/climatico-invierno-2015-2016>

Aira, M. J.; V. Jato, I. Iglesias, F. J. Rodríguez, J. Méndez, Y. Albelda, M. Hervés, E. Piontelli & A. M. Stchigel: “Calidad del aire. Polen y esporas en la Comunidad Gallega”. *Colección Técnica, Medio Ambiente. Xunta de Galicia*.

Aira, M. J.; V. Jato, A. M. Stchigel, F. J. Rodríguez-Rajo, E. Piontelli (2007): “Aeromycological study in the Cathedral of Santiago de Compostela (Spain)”. *International Biodeterioration & Biodegradation* 60 (2007), pp. 231-237.

Alexopoulos, C. J.; C. W. Mins & M. Backwell (1996): “Introductory Mycology”. *John Wiley and Sons*.

Almaguer, M.; M. J. Aira, F. J. Rodríguez-Rajo & T. I. Rojas (2014): “Temporal dynamics of airborne fungi in Havana (Cuba) during dry and rainy seasons: influence of meteorological parameters”. *Int. J. Biometeorol.*, Vol. 58, pp. 1459-1470.

Barnett, J. (2003): “Fungal population and species”. *Oxford University Press*.

Caneva G.; O. Maggi, M.P. Nugari, A.M. Pietrini, R. Piervittori, S. Ricci & A. Roccardi: “The biological aerosol as a factor of biodeterioration”. *Chapter Cultural Heritage and Aerobiology*, pp 3-29.

Caretta, G. (1992): “Epidemiology of allergic disease: The fungi”. *Article Aerobiology*, Vol. 8, pp. 439-445.

Cepero, M. C.; S. Restrepo, A. E. Franco, (2012): “Biología de hongos”. *Universidad de los Andes*.

Dix, N. J.; J. Webster (1995): “Fungal ecology”. *Springer-Science + Business Media, B. V.*

Domínguez, M.D. & La-Serna (1998): “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*, Vol. 23, pp. 105-117.

Dopazo Martínez, A.; M. Hervés García & M. J. Aira Rodríguez, (2001): "Concentración de esporas de *Alternaria*, *Cladosporium* y *Fusarium* en la atmósfera de Santiago de Compostela (1996)". *Botanica Complutensis*, Vol. 25, pp. 83-91.

Foster, M. S.; G. F. Bills, G. M. Mueller, (2011): "Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods (1)". *Academic Press*.

Galán Soldevilla, C.; P. Cariñanos González, P. Alcázar Teno y E. Domínguez Vilches (2007): "Manual de Calidad y Gestión de la Red Española de Aerobiología". *Servicio de Publicaciones. Universidad de Córdoba*.

Hirst, J.M. (1952): "An automatic volumetric spore-trap". *Annals of Applied Biology*, Vol. 39, pp. 257-265.

Horner, W.E.; A. Helbling, J.E. Salvaggio, S.B. Lehrer (1995): "Fungal allergens". *Clin. Microbiol. Rev.*, Vol. 8, Nº 2, pp. 161-179.

Lacey, M. E.; & J. S. West: "A manual for catching and identifying airborne biological particles". *Springer*.

Mallo, A.C.; D. S. Nitiu, L. A. Elíades, A. M. Bucsinszky, R. Vazquez & M. C. N. Saparrat: "Evaluación del aire interior en colecciones del Museo de la Plata: dos casos de estudio". *I Congreso Latinoamericano y II Congreso Nacional de Museos Universitarios*.

Mediavilla, A.; J. Angulo, F. Infante, P. Comtois & E. Domínguez (1998): "Preliminary stadistical modeling of the presence of two conidial types of *Cladosporium* inthe atmosphere of Córdoba. Spain". *Aerobiologia* Vol. 14 (2,3), pp. 229-234.

Medina, L.; A. Tuozzo, J. Herrera, Y. Perozo & L. González (1999): "Estudio de hongos en bibliotecas de la universidad de Carabobo (Valencia)". Vol 3, Nº 1.

Micali, O.; R. Montacutelli & G. Tarsitani: "Pathogenic microorganisms and situations of risk to man". *Chapter Cultural Heritage and Aerobiology*, pp. 31-43.

Morales González, J.; P. Candau Fernández-Mensaqué & F. J. González Minero (2004): "Relación entre la concentración de algunas esporas fúngicas en el aire de Sevilla (España), y los índices bioclimáticos". *ISBN 84-8102-384-1*, pp. 671-680.

Petersen, J. H. (2013): "The Kingdom of Fungi". *Princeton University Press*.

Petushkova, J.; & P. Kandyba (1999): "Aeromicrobiological studies in the Moscow cathedrals". *Article Aerobiology*, Vol. 15, pp. 193-201.

Rojas, T. I.; N. Llanes, M. Benítez, M. J. Aira & H. Malagón (2007): "El género *Aspergillus* en la atmósfera de la Habana (Cuba)". *Boletín Micológico* Vol. 22, pp. 41 – 46.

Rojas, T. I., & M. J. Aira (2012): "Fungal biodiversity in indoor environments in Havana, Cuba". *Aerobiología*, Vol. 28, pp. 367-374.

Rojas, T. I.; M. J. Aira, A. Batista, I. L. Cruz & S. González (2012): "Fungal biodeterioration in historic buildings of Havana (Cuba)". *Grana*, Vol. 51.

Sabariego, S.; C. Díaz de la Guardia & F. A. Sánchez, (1999): "Contribución al estudio aeromicológico de la atmósfera de la ciudad de Granada (S. España): variaciones estacionales e intradiarias". *Rev Iberoam Micol* 1999; Vol. 16, pp. 230-234.

Smith Grant, E. (1990): "Sampling and identifying allergenic pollens and molds. An illustrated identification manual for air samplers". *Blewstone Press, San Antonio*.

Vartivarian, S.E.; E.J. Anaissie & G.P. Bodey (1993): "Emerging fungal pathogens in immunocompromised patients: classification, diagnosis, and management". *Oxford Journals, Medicine & Health, Clinical Infectious Diseases*, Vol. 17, pp. S487-S491.

Zuluaga, C. M.; Pa. Buriticá Céspedes & M. Marín-Montoya (2008): "Generalidades de los *Uredinales* (*Fungi: Basidiomycota*) y de sus relaciones filogenéticas". *Acta biol. Colomb.*, Vol. 14, Nº 1, pp. 41-56.

