

Caracterización fisiológica de nuevos registros fúngicos de la atmósfera de La Habana, Cuba

Physiological characterization of fungal new records from the atmosphere of Havana, Cuba

Lilivet Díaz Vázquez¹, Reynier Cruz Santana¹, Kenia C. Sánchez Espinosa¹ y Michel Almaguer Chávez^{1,*}

¹Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, Calle 25, N° 455, e/ J e I, Vedado, Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba. C.P. 10400. *Autor para correspondencia (e-mail: michelalm@fbio.uh.cu).

RESUMEN

Los estudios aeromicológicos permiten determinar la diversidad de hongos presentes en el aire y su posible efecto sobre plantas, animales, humanos o sustratos que pueden sufrir biodeterioro. Dichos efectos varían en relación con el tipo de hongo recolectado y están relacionados con su versatilidad fisiológica. En el presente trabajo se recolectaron 12 aislados de hongos filamentosos con un equipo volumétrico viable (Aeroscopio Chirana). Se realizó la identificación y caracterización morfo-fisiológica, con la determinación de atributos patogénicos y biodeteriorantes. Se identificaron seis especies registradas por primera vez en la atmósfera de La Habana (*Aspergillus heteromorphus*, *A. ibericus*, *A. parasiticus*, *Penicillium arenicola*, *P. hirsutum* y *Cunninghamella echinulata*). La mayor diversidad fisiológica se evidenció en *Aspergillus spp.* y *Penicillium spp.* La cepa *Aspergillus heteromorphus* CCMFB-815 resultó positiva a todas las pruebas fisiológicas, por lo que se puede emplear como referencia para futuros estudios. Adicionalmente, se analizó la densidad relativa de estos nuevos registros, lo que contribuye al conocimiento ecológico de la aeromicobiota viable de La Habana.

Palabras clave: aeromicrobiología, *Aspergillus*, *Cunninghamella*, hongos del aire, *Penicillium*

ABSTRACT

Aeromycological studies allow determining the diversity of fungi present in the air and their possible effect on plants, animals, humans or substrates that may suffer biodeterioration. These effects vary in relation to the type of fungus collected and are related to its physiological versatility. In the present work 12 isolates were collected with a viable volumetric sampler (Aeroscopio Chirana). Identification was carried out and they were characterized morpho-physiologically, with the determination of pathogenic and biodeteriorant attributes. Six species were registered for the first time in the atmosphere of Havana (*Aspergillus heteromorphus*, *A. ibericus*, *A. parasiticus*, *Penicillium arenicola*, *P. hirsutum* and *Cunninghamella echinulata*). The greatest physiological diversity was evident in *Aspergillus spp.* and *Penicillium spp.* *Aspergillus heteromorphus* CCMFB-815 was positive to all physiological tests and can therefore be used as a reference for future studies. Additionally, the relative density of these new records was analyzed, which contributes to the ecological knowledge of the viable aeromicobiota of Havana.

Keywords: aeromycology, *Aspergillus*, airborne fungi, *Cunninghamella*, *Penicillium*

Citación: Díaz, L., Cruz, R., Sánchez, K.C. & Almaguer, M. 2020. Caracterización fisiológica de nuevos registros fúngicos de la atmósfera de La Habana, Cuba. *Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana* 41: 37-44.

Recibido: 3 de octubre de 2019. **Aceptado:** 6 de noviembre de 2019. **Publicado online:** 3 de junio de 2020. **Editor encargado:** Luis Manuel Leyva.

INTRODUCCIÓN

De las biopartículas presentes en el aire, los propágulos fúngicos constituyen el grupo más representativo y alcanzan concentraciones elevadas en la atmósfera en determinadas épocas del año (Sánchez 2019). El aire como ecosistema, aunque no posee una microbiota autóctona, constituye un medio adecuado para la dispersión de los microorganismos. Pese a ser uno de los ecosistemas menos estudiados, en La Habana se han realizado estudios de la aeromicobiota viable que permitieron la detección de especies de hongos representantes de diversos grupos, con el predominio de hifomicetos (Arnold & Guerra 1987, Castañeda & al. 1996, Almaguer & Rojas 2013).

Las investigaciones sistemáticas en la atmósfera capitulina, han permitido la detección continua de los hongos predominantes de los géneros *Cladosporium* Link, *Aspergillus* P. Micheli ex Hallery *Penicillium* Link, así como el registro esporádico de otros menos frecuentes (Almaguer & Rojas 2013).

El incremento en el número de especies detectadas en la atmósfera de una misma región es una de las características que enfatiza el carácter dinámico de este medio. Esto puede deberse a diversas causas, entre las que se encuentran la compleja relación con las condiciones climáticas, los cambios en los patrones de esporulación de los hongos, la dirección de donde proviene la fuente de inóculo, incluso la actividad antropogénica (Sidel & al. 2015).

El estudio continuo de la concentración y la diversidad fúngicas presentes en el aire, ha permitido la detección sistemática de géneros frecuentes y abundantes con potencialidades patogénicas y biodeteriorantes. La conservación de estas cepas permite realizar una caracterización más profunda de sus capacidades y estimar los efectos ocasionados por su presencia constante en el aire. En la atmósfera de La Habana se ha detectado una elevada biodiversidad (Almaguer & Rojas 2013); sin embargo, la ampliación en los períodos de recolecta, incrementa la probabilidad de encontrar nuevas especies.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar cultural, morfológica y fisiológicamente hongos aislados del aire en la atmósfera de La Habana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los hongos caracterizados procedieron de las recolectas de los própágulos fúngicos del aire que se realizó a las 11:00 horas, en muestreos semanales durante el 2015, en la azotea de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana, a una altura de 35 m sobre la superficie del suelo (Almaguer & Rojas 2013). Los propágulos se recolectaron mediante el captador Aeroscopio Chirana (Checoslovaquia), con succión de 29 L/min de aire en placas con agar extracto de malta e incubadas a 28 °C.

Posteriormente se realizó la cuantificación de las colonias y el aislamiento (Almaguer & Rojas 2013). Los cultivos en placas de los aislados se examinaron bajo un microscopio estereoscópico Novel (China), para caracterizar las colonias. Se realizaron preparaciones en fresco con lactofenol y se observaron en un microscopio biológico trinocular Novel modelo N-200M, China. Además, se tomaron fotomicrografías con la cámara digital MDCE-5 (E) y el Software Scope Photo.

En la identificación de los géneros se siguieron los criterios de Barnett & Hunter (1998), Carmichael & al. (1980) y Seifert & al. (2011). Para la identificación de las especies se utilizaron las monografías especializadas de Klich & Pitt 1994, Pitt & Klich 1992, Samson & al. 2014, Frisvad & al. 2004. Además, se consultaron los repositorios especializados Mycobank (<http://www.mycobank.org/>) e Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/>). Los cultivos puros se depositaron en la colección de cultivos microbianos de la Facultad de Biología (CCMFB), Universidad de La Habana.

Se calculó la densidad relativa (DR) de los nuevos registros respecto al total de hongos filamentosos detectados en el día de aislamiento, mediante la siguiente ecuación: $DR = (UFC \text{ del nuevo registro} / UFC \text{ de hongos filamentosos totales}) * 100$ (Almaguer & al. 2013). Se realizó la caracterización fisiológica de siete aislados, mediante la evaluación de atributos patogénicos y biodeteriorantes. Se determinó el crecimiento a 37°C (Llop A. & al. 2001), la producción de ácido ciclopiazónico u otros alcaloides relacionados a través del test de Ehrlich (Frisvad & al. 2004), la actividad lipolítica, hemolítica y proteolítica (Bogomolova & Kirtsideli 2009, Ping & al. 2011), la resistencia a cicloheximida (Marchisio & al. 1993), así como la producción de ácidos orgánicos (Klich & Pitt 1994) y el crecimiento en carboximetil-celulosa (CMasa) y en papel de filtro (PFasa) (Molina & Borrego 2016).

RESULTADOS

La caracterización cultural y morfológica permitió la identificación de cuatro especies del género *Aspergillus* (*Aspergillus foetidus* Thom & Raper, *Aspergillus heteromorphus* Bat. & H. Maia, *Aspergillus ibericus* Serra, Cabañes & Perrone, *Aspergillus parasiticus* Speare), dos de *Penicillium* (*Penicillium arenicola* Chalab y *Penicillium hirsutum* Dierckx) y *Cunninghamella*

echinulata (Thaxt.) Thaxt. Destacaron los aislados correspondientes a las especies *A. ibericus* y *A. foetidus*, los que presentaron los mayores valores de DR, 25 % y 10,5 % respectivamente (Tabla I). Además, resalta la especie *A. foetidus*, detectada en cinco muestreos diferentes en los meses de junio, septiembre y octubre de 2015, de los cuales se escogió un aislado para la caracterización fisiológica. Las fotomicrografías (Figura 1) muestran las características morfológicas tipo de las especies identificadas en el estudio.

La caracterización fisiológica se llevó a cabo con las cepas *Aspergillus heteromorphus* CCMFB-815, *A. ibericus* CCMFB-816, *A. parasiticus* CCMFB-817, *Cunninghamella echinulata* CCMFB-818, *Penicillium arenicola* CCMFB-819, *P. hirsutum* CCMFB-820 y de los cinco aislados de *A. foetidus* se seleccionó la cepa CCMFB-814. Se evidenció que la cepa correspondiente a *P. arenicola* fue negativa a todas las pruebas, mientras que *A. heteromorphus* fue positiva a todos los ensayos y destaca por su abundante crecimiento a 37 °C.

De las siete cepas caracterizadas fisiológicamente cinco crecieron a 37°C, tres cepas produjeron de ácido ciclopiazónico u otros alcaloides relacionados (test de Ehrlich positivo) y solo una cepa fue capaz de llevar a cabo la hemólisis completa. Adicionalmente se evidenció en cuatro la capacidad de producir proteasas de forma muy débil, dos presentaron resultados positivos a la actividad lipolítica y cinco crecieron con presencia de cicloheximida. La producción de ácidos orgánicos, la degradación del papel de filtro (PFasa) y el crecimiento en carboximetilcelulosa (CMasa) resultaron evidentes en cinco de las cepas caracterizadas (Tabla II).

DISCUSIÓN

La mayoría de los hongos recolectados en este trabajo pertenecieron a *Aspergillus* y *Penicillium*, géneros que predominaron en monitoreos aeromicológicos previos realizados en el área de estudio (Almaguer & Rojas 2013, Almaguer & al. 2013). La detección de tres especies de la sección *Nigri* de *Aspergillus*, de las cuales *A. ibericus* y *A. foetidus* destacaron por su DR, concuerda con la abundancia de este grupo taxonómico planteada por Rojas & al. (2007). Sin embargo, solo la especie *A. foetidus* se había registrado por Almaguer & al. (2013), pero con menor frecuencia y DR.

Aspergillus heteromorphus, *A. ibericus*, *A. parasiticus*, *Penicillium arenicola*, *P. hirsutum* y *Cunninghamella echinulata* se registran por primera vez en la atmósfera de La Habana, lo que incrementa el conocimiento sobre la diversidad aeromicológica en esta ciudad. Estas especies pueden desarrollarse sobre diversos sustratos y algunas se han detectado en estudios ambientales, aunque fundamentalmente en interiores. Infante & al. (2013) refieren que la presencia de *A. heteromorphus* en silos en España y Mohamed (2018) la detectó en viviendas de Irak. Yang & Li (2007) refieren que *P. arenicola* puede formar parte de la microbiota interior de algunas residencias, similar a lo planteado por Rojas & al. (2007) para *A. parasiticus*. Los registros de *P. hirsutum* son

TABLA I

Especie, fecha de recolecta y densidad relativa (DR) de los hongos aislados en la atmósfera de La Habana, Cuba

Los nuevos registros se destacan con asteriscos (*).

TABLE I

Species, date of collection and relative density (DR) of isolated fungi in the atmosphere of Havana, Cuba

New records are marked with asterisks (*).

Especie	Fecha de Recolecta de los aislados	DR en el día de colecta (%)
<i>Aspergillus foetidus</i>	9.VI.2015	1,94
	11.IX.2015	9,09
	18.IX.2015	1,36
	25.IX.2015	8,00
	2.X.2015	10,5
<i>Aspergillus heteromorphus</i> *	4.VIII.2015	3,45
<i>Aspergillus ibericus</i> *	25.VIII.2015	25,0
<i>Aspergillus parasiticus</i> *	30.X.2015	6,25
<i>Cunninghamella echinulata</i> *	15.XII.2017	20,0
<i>Penicillium arenicola</i> *	9.VII.2015	4,76
<i>Penicillium hirsutum</i> *	9.VI.2015	0,97
	4.VIII.2015	3,44

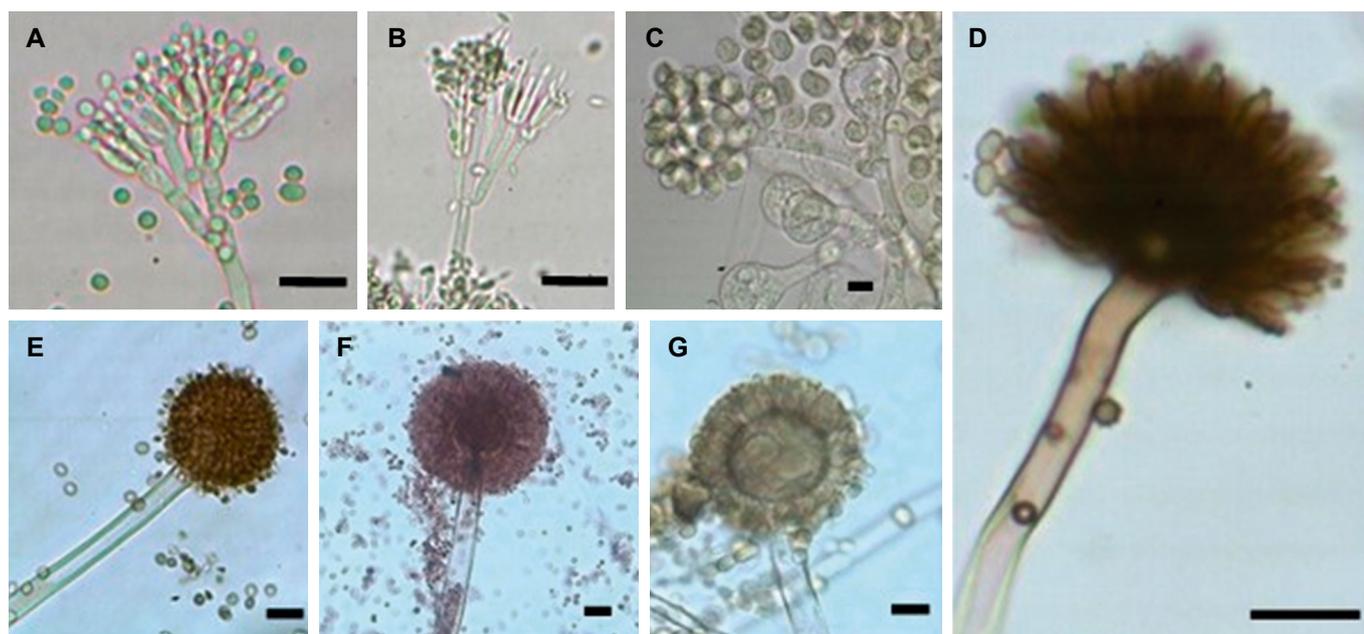


Fig. 1. Fotomicrografías de las especies detectadas en el estudio. **A.** *Penicillium hirsutum*. **B.** *Penicillium arenicola*. **C.** *Cunninghamella echinulata*. **D.** *Aspergillus heteromorphus*. **E.** *Aspergillus ibericus*. **F.** *Aspergillus foetidus*. **G.** *Aspergillus parasiticus*. Barras de escala: 10 µm. Fotos: Lilivet Díaz Vázquez.

Fig. 1. Photomicrographs of the species detected in the study. **A.** *Penicillium hirsutum*. **B.** *Penicillium arenicola*. **C.** *Cunninghamella echinulata*. **D.** *Aspergillus heteromorphus*. **E.** *Aspergillus ibericus*. **F.** *Aspergillus foetidus*. **G.** *Aspergillus parasiticus*. Scale bars: 10 µm. Photos: Lilivet Díaz Vázquez.

más frecuentes en estudios de exteriores y la mayoría asociados a investigaciones con énfasis en el biodeterioro (Skóra & al. 2015, Kadaifciler 2017, Unković & al. 2018). *Cunninghamella echinulata* se ha recolectado en la atmósfera de varias ciudades como la India (Vittal & Rasool 1995), Egipto (El-Morsy 2006), Turquía (Kalyoncu & Ekmekci 2008) y Grecia (Pyrri & Kapsanaki-Gotsi 2012).

La caracterización fisiológica de cepas fúngicas permite comprender las diferentes capacidades que presentan estos organismos y puede estar relacionado con la respuesta ante diferentes condiciones ambientales. La temperatura es uno de los factores que influye en varios procesos del ciclo de vida de los hongos, como el crecimiento, la esporulación o la germinación de esporas (Basilico & al. 2007, Hudecová & al. 2009).

Las cepas caracterizadas crecieron a 28°C, ya que fue la temperatura de incubación de las placas de recolecta y donde se realizó el aislamiento. Las especies a las cuales pertenecen se han informado como mesófilas, pues tienen máximos de crecimiento entre 25 - 40°C (Madigan & al. 2019).

Aunque las cepas caracterizadas no pertenecen a especies patógenas a humanos, el crecimiento a 37°C de cinco de ellas evidencia su potencialidad como oportunistas. Los hongos filamentosos poseen diversos atributos patogénicos y varían según el género o la especie. Sin embargo, el crecimiento a 37°C es una característica importante para considerar un hongo ambiental como potencialmente patógeno u oportunista en individuos inmunocomprometidos (Chacón 2012, Oliveira & al. 2015, Molina & Borrego 2016). Esta particularidad podría favorecer el crecimiento del hongo una vez que sus esporas aerotransportadas penetran en el

tracto respiratorio. Por otro lado, Garcia-Solache & Casadevall (2010) advirtieron sobre el peligro que representa la adaptación de hongos ambientales a temperaturas elevadas y su relación con el calentamiento global. Un clima más cálido podría cambiar la distribución en las poblaciones fúngicas, favorecer especies con cierta termotolerancia y posibilitar la aparición de nuevas infecciones.

La mayoría de las especies detectadas presentan conidios de pequeño tamaño, especialmente las de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (Klich & Pitt 1994). Esta característica puede favorecer la penetración desde la tráquea, bronquios y bronquiolos hasta el tracto respiratorio inferior. La inhalación de esporas fúngicas puede inducir afecciones alérgicas respiratorias como la bronquitis, la rinitis alérgica y el asma, que son frecuentes en La Habana (Venero & al. 2009, Sánchez & Almaguer 2014).

TABLA II

Pruebas fisiológicas realizadas a las cepas de nuevos registros fúngicos de la atmósfera de La Habana, Cuba
Crecimiento a 37°C, producción de ácido ciclopiazónico o alcaloides relacionados (Test de Ehrlich), actividad hemolítica, proteolítica y lipolítica, resistencia a cicloheximida, producción de ácidos orgánicos, crecimiento en carboximetilcelulosa (CMasa) y en papel de filtro (PFasa).

TABLE II

Physiological tests on the strains of fungal new records from the atmosphere of Havana, Cuba
Growth at 37°C, production of cyclopiazonic acid or related alkaloids (Test de Ehrlich), hemolytic, proteolytic and lipolytic activity, resistance to cycloheximide, production of organic acids, growth in carboxymethyl cellulose (CMasa) and on filter paper (PFasa).

Cepas	Crecimiento 37 °C	Test de Ehrlich	Actividad Hemolítica	Actividad proteolítica	Actividad Lipolítica	Resistencia a Cicloheximida	Producción de ácidos orgánicos (pH)	CMasa	PFasa
<i>Aspergillus foetidus</i> CCMFB-814	Abundante	+ ¹	-	Muy débil	Fuerte	+	+ (5)	+	+
<i>Aspergillus heteromorphus</i> CCMFB-815	Abundante	+ ²	β (0,4 mm)	Muy débil	Débil	+	+ (5)	+	+
<i>Aspergillus ibericus</i> CCMFB-816	Moderado	+ ³	-	-	-	+	+ (5)	+	+
<i>Aspergillus parasiticus</i> CCMFB-817	Abundante	-	-	Muy débil	-	+	+/- (6)	+	+
<i>Cunninghamella echinulata</i> CCMFB-818	Nulo	-	-	-	-	-	- (7)	-	-
<i>Penicillium arenicola</i> CCMFB-819	Nulo	-	-	-	-	-	- (6,8)	-	-
<i>Penicillium hirsutum</i> CCMFB-820	Muy escaso	-	-	Muy débil	-	+	+ (5,5)	+	+

¹Amarillo: Reacción fuerte (2-6 min) Indica producción de ácido ciclopiazónico o alcaloides semejantes. ²Rosado débil: (7-10 min) Indica producción de ácido ciclopiazónico o alcaloides semejantes. ³Rosado: (2-6 min) Indica producción de ácido ciclopiazónico, según Frisvad & al. (2004).

Otra característica patogénica detectada fue la producción de ácido ciclopiazónico en tres cepas, que se determinó cualitativamente mediante el test de Ehrlich. Esta es una prueba sencilla, ya que se basa en la detección cualitativa de alcaloides a partir de micelio, mediante un papel de filtro impregnado con 4-dimetilamino-benzaldehído en 96% de etanol y HCl 10N (Varga & al. 2011). Se propuso por Frisvad & al. (2004) para distinguir especies dentro del subgénero *Penicillium* del género *Penicillium* y posteriormente por Samson & al. (2007) para la sección *Nigri* de *Aspergillus*. En este sentido, las tres cepas que resultaron positivas pertenecen a especies de esta sección (*A. foetidus*, *A. heteromorphus* y *A. ibericus*) y concuerdan con el fenotipo informado en el estudio anteriormente mencionado.

El ácido ciclopiazónico es un metabolito secundario que se considera como una micotoxina (Hedayati & al. 2007, Ostry & al. 2018). Varios estudios encontraron que en ratas puede causar cambios degenerativos y necrosis en el hígado, bazo, páncreas, riñón, glándulas salivales, miocardio y músculos esqueléticos (Purchase 1971, Cole 1984, Ostry & al. 2018). Por su parte Hymery & al. (2014) informaron que es un inhibidor potente, específico y reversible de la ATPasa dependiente de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico y endoplásmico, y que podía afectar diversas células y tejidos humanos.

La producción de hemolisinas, proteasas y lipasas evidenció la diversidad enzimática de las cepas del estudio. La actividad hemolítica comprobada en la cepa *Aspergillus heteromorphus* CCMFB-815 puede deberse a la presencia de hemolisinas. Estas exotoxinas reconocen sitios estructurales específicos en la superficie de los glóbulos rojos, forman poros y causan la lisis (Molina & Borrego 2016). De esta forma se facilita la liberación de hierro, un importante cofactor enzimático en un gran número de reacciones fisiológicas y un factor de crecimiento microbiano importante durante las infecciones (Nayak & al. 2013). Por ello las hemolisinas fúngicas se han propuesto también como factores de virulencia (Bonifaz 2012, Nayak & al. 2013). Se sugiere que proveen una estrategia de supervivencia durante las infecciones oportunistas por sus efectos citotóxicos sobre algunos tipos celulares como leucocitos y células nerviosas (Nayak & al. 2011).

La actividad proteolítica de *Aspergillus foetidus* CCMFB-814, *A. heteromorphus* CCMFB-815, *A. parasiticus* CCMFB-817 y *Penicillium hirsutum* CCMFB-820 les posibilitaría degradar sustratos proteicos e incidir en su supervivencia en diversos ambientes. Las proteasas catalizan la ruptura hidrolítica de los enlaces peptídicos. Monod & al. (2009) plantearon que durante el proceso de colonización en las infecciones fúngicas, la principal fuente de nutrientes del hongo está constituida por aminoácidos. Esto implica que la degradación de proteínas también está relacionada con las infecciones fúngicas.

Según los criterios de Ping & al. (2011), *Aspergillus foetidus* CCMFB-814 y *A. heteromorphus* CCMFB-815 mostraron una

actividad enzimática muy débil. Sin embargo, estas dos cepas manifestaron resultados positivos en la prueba de producción de lipasas. Las lipasas catalizan la hidrólisis de los enlaces éster de los triacilgliceroles, lo que resulta en la liberación de ácidos grasos. En la mayoría de los organismos, las lipasas desempeñan funciones esenciales en el metabolismo de los lípidos, incluidos su transporte y procesamiento. Sin embargo, Park & al. (2013) sugirieron que en algunos patógenos a humanos las lipasas intervienen durante la patogénesis e interfieren con la respuesta del hospedero. En *Candida parapsilosis*, las lipasas son responsables de la destrucción de los tejidos epidérmicos y epiteliales (Gácsér & al. 2007). Por otro lado el interés por las lipasas microbianas ha crecido significativamente debido a su acción catalítica en la hidrólisis de aceites y grasas, presentes como contaminantes en residuos de diferentes procesos industriales (Carballo & al. 2017). Esta aplicación puede tener potencialidades en al biorremediación si se trabajara con cepas ambientales autóctonas.

Se incluyó el estudio de la resistencia a cicloheximida por su empleo de este compuesto en un amplio rango de medios de cultivo para inhibir hongos ambientales no patógenos (Schneider-Poetsch & al. 2010, Gasak & al. 2015). Esta droga afecta la síntesis proteica en organismos eucariontes, debido a su capacidad para impedir el proceso de traducción (Schneider-Poetsch & al. 2010). Es por ello que se usa ampliamente en la toma de muestras clínicas para favorecer el aislamiento de hongos patógenos y limitar el crecimiento de hongos ambientales (Gasak & al. 2015). Sin embargo, todos los aislados analizados en el estudio eran ambientales y de ellos cinco presentaron abundante crecimiento en medio con cicloheximida. Marchisio & al. (1993) plantearon que un número significativo de hongos ambientales, potencialmente patógenos, pueden crecer con presencia de cicloheximida y lo sugieren como un carácter de diferenciación. Por ello sería importante determinar la sensibilidad a la cicloheximida en hongos aislados del aire en un estudio más abarcador.

Las cinco cepas que evidenciaron producción de ácidos orgánicos, degradación del papel de filtro y el crecimiento carbóximetilcelulosa indican que en el aire exterior se encuentran hongos con atributos que se relacionan con el biodeterioro. Esta caracterización contribuye al conocimiento de los hongos aerotransportados y que pueden depositarse sobre diversas superficies. De esta forma se podría evaluar el riesgo al que están expuestos. Varios autores plantean que, debido a su versatilidad fisiológica, los hongos pueden ocasionar biodeterioro de los materiales de construcción como la madera, el metal o la piedra, y que componen edificaciones, monumentos y esculturas (Ljaljević & Vukojević 2009, Molina & Borrego 2016).

Los ácidos orgánicos producidos por hongos facilitan la biocorrosión de diferentes materiales (Prunell & al. 2012). En el exterior, estos ácidos ejercen un efecto agresivo sobre materiales pétreos, lo que facilita la colonización de esos sustratos por otros hongos (Ljaljević & Vukojević 2009, Molina & Borrego

2016). La mayoría de las cepas productoras de ácido pterecieron al género *Aspergillus*. Destacó *A. foetidus* CCM-FB-814, que desde los tres días de incubación ya era evidente. Una fuerte producción. Está ampliamente informada en la literatura la habilidad de algunas especies de este género para producir naturalmente ácidos orgánicos mediante el empleo de diversas fuentes de carbono (Magnuson & Lasure 2004, Papagianni 2007, Brown & al. 2013, Yang & al. 2016a, 2016b, 2016c).

El crecimiento en papel de filtro y en el medio de cultivo con carboximetilcelulosa se relaciona con la capacidad de degradar la celulosa y utilizarla como fuente de carbono. Esto se debe a que los hongos pueden secretar un grupo de enzimas capaces de hidrolizar este polímero (Murace & al. 2010, Cragg & al. 2015). Al igual que en presente estudio, Molina & al. (2014) informaron el crecimiento de cepas ambientales cubanas de *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. a expensas de este polímero. Las enzimas celulolíticas fúngicas además, juegan un rol importante en los procesos de biodegradación, por lo que se ha planteado la utilización de cepas ambientales autóctonas en procesos de biorremediación (Khokhar & al. 2012). Esto se debe a que su forma de crecimiento les permite, a través del desarrollo del micelio, colonizar diferentes sustratos y acceder a los compuestos que lo integran (Cragg & al. 2015). Su potencial para utilizar compuestos complejos como fuente de carbono facilita desarrollarse en tan amplia variedad de sustratos y está relacionado con su característica de ser cosmopolitas.

CONCLUSIONES

Se caracterizaron cultural, morfológica y fisiológicamente nuevos registros de hongos recolectados de la atmósfera de La Habana, pertenecientes a siete especies. *Aspergillus heteromorphus* CCMFB-815 fue positiva a todas las pruebas, por lo que evidencia la versatilidad fisiológica de cepas fúngicas ambientales y se podría utilizar como cepa ambiental de referencia en futuros estudios. Este tipo de trabajos, en los que se caracterizan hongos ambientales, amplían la visión actual del espectro de acción de estos organismos y contribuyen al conocimiento de la aeromicobiota, por lo que pueden ayudar a interpretar aspectos de su ecología.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

L. Díaz concibió la idea original, recolectó y aisló los propágulos, los identificó, tomó las fotomicrografías y caracterizó morfo-fisiológicamente los aislados. R. Cruz caracterizó morfo-fisiológicamente los aislados. K.C. Sánchez analizó los datos y conservó. M. Almaguer diseñó la investigación, analizó los datos y supervisó la investigación. Todos los autores contribuyeron en la redacción, discusión de los resultados y revisión del manuscrito.

CUMPLIMIENTO DE NORMAS ÉTICAS

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Aprobación de ética: Todos los autores han llevado a cabo el trabajo de campo y la generación de datos de forma ética, incluida la obtención de permisos adecuados.

Consentimiento para la publicación: Todos los autores han dado su consentimiento para publicar este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almaguer, M. & Rojas, T. 2013. Aeromicota viable de la atmósfera de la Habana, Cuba. *NACC*. 20: 35-45.
- Almaguer, M., Aira, M.J., Rodríguez-Rajo, F.J. & Rojas, T.I. 2013. Study of airborne fungus spores by viable and non-viable methods in Havana, Cuba. *Grana* 52(4): 289-298.
- Arnold, G.R.W. & Guerra, A.G. 1987. Presencia de hongos del aire del INIFAT. *Reporte de Investigación del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical* 43:1-6.
- Barnett, H.L. & Hunter, B.B. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4th Ed. APS Press. USA.
- Basilico, M., Carolina, C. & Aringoli, E. 2007. Influence of environmental factor on airborne fungi in houses of Santa Fe City, Argentina. *Sci. Total Environ.* 376: 143-150.
- Bogomolova, E.V. & Kirtsideli, I. 2009. Airborne fungi in four stations of the St. Petersburg underground railway system. *Internacional Bio-deterioration and Biodegradation* 63: 156-160.
- Bonifaz, J.A. 2012. *Micología médica básica*. Mc Graw Hill Interamericana. México, D.F., México.
- Brown, S.H., Bashkirova, L., Berka, R., Chandler, T., Doty, T., McCall, K., McCulloch, M., McFarland, S., Thompson, S., Yaver, D., Berry, A. 2013. Metabolic engineering of *Aspergillus oryzae* NRRL 3488 for increased production of l-malic acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 8903-8912.
- Carballo, M.E., Chicapa, D.N., Martínez, A., Salgado, I., Pérez, L., Cruz, M., Guillen, C., Soria, A.L. & Garza, Y. 2017. Producción de lipasas por bacterias aisladas de efluente de productos lácteos. *Revista Cubana de Ciencias Biológicas* 5(3): 1-9.
- Carmichael, J.W., Kendrick, W.B., Connors, I.L. & Sigler, L. 1980. *Genera of Hyphomycetes*. The University of Alberta Press. Alberta, USA.
- Castañeda, R.F., Fabrè, D.E., Parra, M.P., Pérez, M., Guarro, J. & Cano, J. 1996. Some airborne conidial fungi from Cuba. *Mycotaxon* 60: 283-290.
- Chacón, M.L. 2012. Estudio de los pacientes con diagnóstico de bronquiectasias, que siguen control en el servicio de neumología del Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca, España. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España.
- Cole, R.J. 1984. Cyclopiazonic acid and related toxins. Pp. 405-414. En: Betina, 5th Ed *Mycotoxins – production, isolation, separation and purification*. Elsevier Science Publishers. Amsterdam, Netherlands.
- Cragg, S.M., Beckham, G.T., Bruce, N.C., Bugg, T.D., Distel, D.L., Dupree, P., Etxabe, A.G., Goodell, B.S., Jellison, J., McGeehan, J.E. McQueen-Mason, S.J., Schnorr, K., Walton, P.H., Watts, J.E., & Zimmer, M. 2015. Lignocellulose degradation mechanisms across the Tree of Life. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 29: 108-119.
- El-Morsy, E.S.M. 2006. Preliminary survey of indoor and outdoor airborne microfungi at coastal buildings in Egypt. *Aerobiologia* 22(3): 197-210.
- Frisvad, J.C., Smedsgaard, J., Larsen, T.O. & Samson, R.A. 2004. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Stud. Mycol.* 49: 201-241.
- Gácsér, A., Schäfer, W., Nosanchuk, J.S., Salomon, S. & Nosan-chuk, J.D. 2007. Virulence of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* in reconstituted human tissue models. *Fungal Genet. Biol.* 44: 1336-1341.

- García-Solache, M.A. & Casadevall, A. 2010. Global warming will bring new fungal diseases for mammals. *MBio* 1(1): e00061-10.
- Gasak, Ali., Adnan, H., Al-Hamadania & Mohammadb, A.W. 2015. Detection of cycloheximide resistant gene in selected pathogenic fungi. *J. Contemp. Med. Sci.* 1(4): 23-26.
- Hedayati, M.T., Pasqualotto, A.C., Warm, P.A., Bowyer, P. & Denning, D.W. 2007. *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology* 153(6): 1677-1692.
- Hudecová, A., Lubomir, V. & Liptakova, D. 2009. Influence of temperature on surface growth of *Geotrichum candidum*. *Acta Chim. Slov.* 2: 75-87.
- Hymery, N., Masson, F., Barbier, G. & Coton, E. 2014. Cytotoxicity and immunotoxicity of cyclopiazonic acid on human cells. *Toxicol. in vitro* 28: 940-947.
- Infante García-Pantaleón, F., Angulo Romero, J., Mediavilla Molina, A., & Domínguez Vilches, E. 1992. Catálogo de los hongos presentes en silos de la provincia de Córdoba (España). *Acta Botanica Malacitana* 17: 57-66.
- Kadaifciler, D.G. 2017. Bioaerosol assessment in the library of Istanbul University and fungal flora associated with paper deterioration. *Aerobiologia* 33(1): 151-166.
- Kalyoncu, F. & Ekmekci, S. 2008. Culturable airborne fungi in outdoor environments in Manisa, Turkey. *Fresenius environmental bulletin* 17(7a): 844-848.
- Khokhar, I., Saleem, M., Mushtaq, S. & Mukhtar, I. 2012. Isolation and Screening of Highly Cellulolytic Filamentous Fungi. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* 16(3): 223-226.
- Klich, M.A. & Pitt, J.I. 1994. A Laboratory guide to the common *Aspergillus* species and their teleomorphs. *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization*, Division of Food Processing, Australia.
- Ljaljević, M.V. & Vukojević, J.B. 2009. Role of fungi in biodeterioration process of stone in historic buildings. *Zb. Matice Srp. Prir. Nauke.* 116: 245-251.
- Llop, A., Váldez-Dapena, M. & Zuazo, J. 2001. Microbiología y parasitología médicas. Editorial Ciencias Médicas, La Habana, Cuba.
- Madigan, M., Bender, K., Buckley, D., Sattley, W.M. & Stahl, D.A. 2019. Brock Biology of Microorganisms. 15th Ed. University Carbonade, Carbonade, USA.
- Magnuson, J.K. & Lasure, L.L. 2004. Organic acid production by filamentous fungi. Pp. 307-340. En: *Advances in fungal biotechnology for industry, agriculture, and medicine*. Springer. Boston, MA, USA.
- Marchisio, V.F., Cassinelli, C., Piscozzi, A., Tullio, V., & Mischiati, P. 1993. A preliminary survey of cycloheximide-resistant airborne fungi in Turin, Italy. *Mycopathologia* 123(1): 1-8.
- Mohamed, D.Y. 2018. Detection the antifungal effect of zirconium oxide nanoparticles on mold which isolated from domestic's bathroom. *Al-Mustansiriyah Journal of Science* 29(1): 15-22.
- Molina, A. & Borrego, S. 2016. Aerobiología y biodeterioro del género *Aspergillus* Link en depósitos de tres instituciones patrimoniales cubanas. *Bol. Micol.* 31(1): 2-18.
- Molina, A., Valdés, O., Borrego, S., Pérez, D. & Castro, M. 2014. Diagnóstico micológico ambiental en depósitos de la oficina cubana de la propiedad industrial. *NACC* 21: 107-117.
- Monod, M., Jousson, O. & Reichard, U. 2009. *Aspergillus fumigatus* secreted proteases. En: *Aspergillus fumigatus* and aspergilosis. ASM Press. Washington, D.C., USA.
- Murace, M., Spavento, E., Keil, G. y Saparrat, M. 2010. Pudrición Castaña: Efectos sobre las propiedades de resistencia mecánica de la madera. *Revista de Ciencias Forestales – Quebracho* 18(1): 37-46.
- Nayak, A.P., Blachere, M., Hettick, J.M., Lukomski, J.M.S., Schmechel, S. & Beezhold, D.H. 2011. Characterization of recombinant Terrelysin, a hemolysin of *Aspergillus terreus*. *Mycopathologia* 171: 23-34.
- Nayak, A., Green, B. & Beezhold, D. 2013. Fungal hemolysins. *Med. Mycol.* 51: 1-16.
- Oliveira, M., Pereira, C., Bessa, C., Araujo, R. & Saraiva, L. 2015. Cronological aging in conidia of *Aspergillus*: Comparison between species. *J. Microbiol. Methods.* 118: 57-63.
- Ostry, V., Toman, J. & Malir, F. 2018. Cyclopiazonic acid: 50th anniversary of its discovery. *World Mycotoxin J.* 11(1): 135-148.
- Papagianni, M. 2007. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnol. Adv.* 25: 244-263.
- Park, M., Do, E. & Jung, W.H. 2013. Lipolytic enzymes involved in the virulence of human pathogenic fungi. *Mycobiology* 41(2): 67-72.
- Ping, G., Gui, X., Yong, N. & Liu, W.X. 2011. *In vitro* evaluation of phospholipase, proteinase and esterase activities of *Candida parapsilosis* and *Candida metapsilosis*. *Mycopathologia* 172: 429-438.
- Pitt, J.I. & Klich, M.A. 1992. A computer assisted synoptic key to common *Penicillium* species and their teleomorphs (PENKEY) CSIRO. *Division of Food Processing* 27. Australia
- Prunell, S.B., Rosato, V.G. & Sota, J.D. 2012. Adiciones en el cemento Portland y su relación con el biodeterioro. *LEMMac*.
- Purchase, I.F.H. 1971. The acute toxicity of the mycotoxin cyclopiazonic acid to rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 18: 114-123.
- Pyrri, I. & Kapsanaki-Gotsi, E. 2012. Diversity and annual fluctuations of culturable airborne fungi in Athens, Greece: a 4-year study. *Aerobiologia* 28(2): 249-262.
- Rojas, T.I., Llanes, N., Benitez, M., Aira, M.J. & Malagón, H. 2007. El género *Aspergillus* en la atmosfera de La Habana (Cuba). *Boletín Micológico* 22: 41-46.
- Samson, R.A., Noonim, P., Meijer, M., Houbraken, J.A.M.P., Frisvad, J.C., & Varga, J. 2007. Diagnostic tools to identify black *aspergilli*. *Stud. Mycol.* 59: 129-145.
- Samson, R.A., Visagie, C.M., Houbraken, J., Hong, S.B., Hubka, V., Klaassen, C.H.W., Perrone, G., Seifert, K.A., Susca, A., Tanney, J.B., Varga, J., Kocsub, S., Szigeti, G., Yaguchi, T. y Frisvad, J.C. 2014. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud. Mycol.* 78: 141-173.
- Sánchez, K. & Almaguer, M. 2014. Aeromicrología y salud humana. *Rev. Cubana Med. Trop.* 66(3): 322-337.
- Sánchez, K., Almaguer, M., Pérez, I., Rojas, T., & Aira, M. 2019. Diversidad fúngica en la atmósfera de La Habana (Cuba) durante tres períodos poco lluviosos. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 35(1): 137-150.
- Schneider-Poetsch, T., Ju, J., Eyler, D., Dang, Y., Bhat, S., Merrick, W.C., Green, R., Shen, B. & Liu, J.O. 2010. Inhibition of eukaryotic

- translation elongation by cycloheximide and lactimidomycin. *Nat. Chem. Biol.* 6: 209-217.
- Seifert, K., Morgan-Jhones, G., Gams, W. & Kendrick, B. 2011. The genera of hyphomycetes. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht. Netherlands.
- Sidel, F.F.B., Bouziane, H., Del Mar Trigo, M., El Haskouri F., Bardei, F., Redouane, A. & Kazzaz, M. 2015. Airborne fungal spores of *Alternaria*, meteorological parameters and predicting variables. *Int. J. Biometeorol.* 59(3): 339-346.
- Skóra, J., Gutarowska, B., Pielech-Przybylska, K., Stępień, Ł., Pietrzak, K., Piotrowska, M., & Pietrowski, P. 2015. Assessment of microbiological contamination in the work environments of museums, archives and libraries. *Aerobiologia* 31(3): 389-401.
- Unković, N., Dimkić, I., Stanković, S., Jelikić, A., Stanojević, D., Popović, S., & Ljaljević Grbić, M. 2018. Seasonal diversity of biodeteriogenic, pathogenic, and toxigenic constituents of airborne mycobiota in a sacral environment. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju.* 69(4): 317-327.
- Varga, J., Frisvad, J.C., Kocsubé, S., Brankovics, B., Tóth, B., Szigeti, G., & Samson, R.A. 2011. New and revisited species in *Aspergillus* section Nigri. *Stud. Mycol.* 69: 1-17.
- Venero, S.J., Varona, P., Fabret, D., Suárez, R., Bonet, M. & Molina, E. 2009. Asma bronquial y rinitis en escolares de ciudad de La Habana (2001 a 2002). *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 47(1): 1-5.
- Vittal B.P.R. & Rasool, S.K. 1995. Enumeration of airborne molds in some indoor environments of Madras city (India) by cultural and non-cultural volumetric samplers. *Aerobiologia* 11(3): 201-210.
- Yang, C.S., & Li, D.W. 2007. Ecology of fungi in the indoor environment. Sampling and Analysis of Indoor Microorganisms. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 191-214.
- Yang, L., Lübeck, M., Ahring, B.K. & Lübeck, P.S. 2016a. Enhanced succinic acid production in *Aspergillus saccharolyticus* by heterologous expression of fumarate reductase from *Trypanosoma brucei*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100: 1799-1809.
- Yang, L., Lübeck, M., Souroullas, K. & Lübeck, P.S. 2016b. Co-consumption of glucose and xylose for organic acid production by *Aspergillus carbonarius* cultivated in wheat straw hydrolysate. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 32: 57.
- Yang, L., Lübeck, M. & Lübeck, P.S. 2016c. *Aspergillus* as a versatile cell factory for organic acid production. *Fungal Biol. Rev.* 30: 1-17.