

Efecto de la temperatura sobre aislados de *Cladosporium cladosporioides* recolectados del aire de La Habana, Cuba

Effect of temperature on isolates of Cladosporium cladosporioides collected from the air of Havana, Cuba

KENIA C. SÁNCHEZ ESPINOSA & MICHEL ALMAGUER*

Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana.
10400-La Habana, Cuba

michelalm@fbio.uh.cu; ksanchez@fbio.uh.cu

*Corresponding author

(Recibido: 05/12/2017; Aceptado: 15/02/2018; Publicado on-line: 23/02/2018)

Resumen

Se evaluó *in vitro* el efecto de la temperatura en el crecimiento, la esporulación y la germinación de esporas de 13 aislados de *C. cladosporioides*, recolectados de la atmósfera de La Habana, Cuba. Ocho aislados crecieron óptimamente a 25°C, tres en el rango de 25-28°C y las dos restantes entre 25-30°C y 10-28°C, respectivamente. Seis aislados presentaron la mayor esporulación a 25°C y siete a 28°C. El mayor porcentaje de germinación se observó a 25°C en dos aislados, a 28°C en seis, y a 30°C en tres. A 37°C ningún aislado creció ni esporuló, sin embargo se detectó germinación. Los aislados pueden agruparse en tres conjuntos considerando la respuesta fisiológica ante las temperaturas evaluadas, lo que evidencia la variabilidad en relación a este factor ambiental. Esta investigación es una contribución al conocimiento sobre la influencia de un determinante ecológico en el ciclo de vida de *C. cladosporioides*.

Palabras clave: hongos, atmósfera, crecimiento, esporulación, germinación, trópico.

Abstract

The effect *in vitro* of temperature on growth, sporulation and spore's germination of 13 isolates of *C. cladosporioides*, collected from the atmosphere of Havana, Cuba has been evaluated. Eight isolates grew optimally at 25 °C, three in the range among 25-28 °C and the remaining two between 25-30 °C and 10-28 °C, respectively. Six isolates showed the highest sporulation at 25 °C and seven at 28 °C. The highest percentage of germination was observed at 25 °C in two isolates, at 28 °C in six, and at 30 °C in three. At 37 °C no isolate grew or sporulated, however germination was detected. The isolates can be grouped into three clusters considering the physiological response to the temperatures evaluated, which shows a diversity and relationship with this environmental factor. This research is a contribution to the knowledge about the influence of an ecological determinant in the life cycle of *C. cladosporioides*.

Keywords: fungi, atmosphere, growth, sporulation, germination, tropic.

INTRODUCCIÓN

Cladosporium es un género cosmopolita que está conformado por tres grandes complejos:

Cladosporium cladosporioides, *Cladosporium herbarum* y *Cladosporium sphaerospermum* (MA *et al.*, 2017). Al primero de ellos pertenecen

alrededor de 40 especies, que pueden aislarse a partir de diversos sustratos. En clima tropical se han detectado en material vegetal en descomposición, como invasor secundario, en productos alimenticios, en materiales de construcción dañados por agua y en el aire (BIENSCH *et al.*, 2010).

En la atmósfera de La Habana se ha comprobado la abundancia de *C. cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries y en menor grado de *C. oxysporum* Berk. & M.A. Curtis y *C. tenuissimum* Cooke (ALAMGUER & ROJAS, 2013). Las esporas de *C. cladosporioides* tienen un reconocido carácter alergénico y también pueden causar daños en la agricultura urbana, así como biodeterioro (DAMIALIS *et al.*, 2015; VISITSUNTHORN *et al.*, 2017).

En la variación temporal atmosférica de *C. cladosporioides* influyen varios factores meteorológicos, tales como la humedad relativa, el viento y la temperatura, los cuales pueden considerarse como determinantes ecológicos. La temperatura es el factor ambiental que más varía sistemáticamente por décadas y puede afectar a la fisiología de los hongos (KASPRZYK *et al.*, 2016).

En ambientes naturales esta variable meteorológica puede incidir sobre aspectos de su ciclo de vida, ya que influye directamente en su colonización y crecimiento o indirectamente a través de los efectos fisiológicos que produce en las plantas o en otros sustratos sobre los que se desarrollan estos hongos (SINDT *et al.*, 2016). En los estudios aeromicológicos realizados en La Habana los propágulos de *C. cladosporioides* prevalecen en horas diurnas, relacionados con elevados valores de insolación y calor (ALAMGUER *et al.*, 2014).

El rango óptimo de temperaturas para el crecimiento, esporulación y germinación de los hongos puede ser determinado con estudios experimentales. En el Trópico, la variaciones mensuales de temperatura son leves, pero si son apreciables las diferencias diarias (CUBA-CLIMA, 2017).

Teniendo en cuenta el predominio de *C. cladosporioides* en la atmósfera de La Habana y la relación de su dinámica atmosférica con la temperatura ambiental, el objetivo de este estudio ha sido evaluar la influencia de este factor sobre el crecimiento, la esporulación y la germinación de

esporas, a partir de aislados procedentes del aire de esta ciudad tropical.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 13 aislados de *C. cladosporioides* recolectados de la atmósfera de La Habana, del 25 de enero de 2013 al 7 de marzo de 2014. Para la recogida de estos hongos se utilizó un captador volumétrico (Aeroscopio Chirana, Checoslovaquia) con la metodología descrita por ALAMGUER & ROJAS (2013). Todos los aislados fueron referenciados con el código HVE- o HVK- (HV corresponde al acrónimo de Hongos Viables y la última letra al año de muestreo), y fueron conservados viables y puros en agar patata dextrosa (PDA)a 4°C..... Se obtuvieron cultivos monospóricos mediante las técnicas de CROUS *et al.* (1991) y CROUS (1998), recomendado por BENSCH *et al.* (2012) para el género. Al culminar este estudio se incluyeron en la Colección de Cultivos Microbianos de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana (CCMFB). En la Tabla I se incluyen los datos de la temperatura mínima, media y máxima correspondiente a la fecha en que se realizó el muestreo y hasta siete días anteriores.

Para determinar la influencia de la temperatura en el crecimiento se inoculó una porción de micelio de la zona joven de la colonia de cada aislado en una placa Petri con PDA. Se incubó a 10°C, 25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 34°C y 37°C, con Humedad Relativa (HR) de 85% y en oscuridad durante siete días. Después de este tiempo se midió el diámetro de cada colonia (mm) y se calculó el promedio de tres réplicas.

La influencia de la temperatura en la esporulación se determinó inoculando cada aislado en placas Petri con PDA. Se incubó durante siete días a 10°C, 25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 34°C y 37°C, con HR del 85% en oscuridad. Posteriormente, del borde de cada colonia, se extrajo una porción circular de 4 mm de diámetro y se depositó en 0,5 ml de agua destilada estéril con Tween 80. Se agitó durante 50 segundos y se realizó el recuento en una cámara de Neubauer. Los resultados de esporulación se expresaron como concentración (conidios/ml).

Finalmente para evaluar como influye la temperatura en la germinación se obtuvieron

Tabla I. Relación de aislados de *Cladosporium cladosporioides*, fecha de muestreo y temperaturas del día de muestreo y de los siete días anteriores.

Table I. Isolates of *Cladosporium cladosporioides*, collection date and temperatures in the same day and seven previous days.

| | | Temperatura | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|-------------------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|--------------|------|------|
| | | min | med | máx | min | med | máx | min | med | máx | min | med | máx | min | med | máx | min | med | máx | min | med | máx | min | med | máx | min | med | máx |
| Ref. Cepa | Fecha de muestreo | Muestreo 0 | | | Muestreo -1 | | | Muestreo -2 | | | Muestreo -3 | | | Muestreo -4 | | | Muestreo -5 | | | Muestreo -6 | | | Muestreo -7 | | | Promedio 0-7 | | |
| HVE-1021 | 25/01/13 | 18,0 | 21,9 | 25,0 | 20,9 | 23,0 | 25,7 | 20,9 | 23,1 | 24,7 | 20,9 | 22,2 | 24,0 | 20,9 | 23,0 | 25,7 | 19,9 | 23,2 | 25,8 | 18,6 | 21,3 | 23,2 | 19,4 | 20,8 | 22,2 | 19,9 | 22,3 | 24,5 |
| HVE-1035 | 25/01/13 | 18,0 | 21,9 | 25,0 | 20,9 | 23,0 | 25,7 | 20,9 | 23,1 | 24,7 | 20,9 | 22,2 | 24,0 | 20,9 | 23,0 | 25,7 | 19,9 | 23,2 | 25,8 | 18,6 | 21,3 | 23,2 | 19,4 | 20,8 | 22,2 | 19,9 | 22,3 | 24,5 |
| HVE-1057 | 01/02/13 | 19,4 | 20,5 | 21,3 | 20,4 | 22,7 | 28,0 | 20,3 | 24,3 | 30,2 | 21,1 | 24,2 | 30,2 | 20,5 | 23,9 | 28,4 | 22,0 | 23,4 | 26,5 | 19,4 | 22,7 | 26,2 | 18,0 | 21,9 | 25,0 | 20,1 | 23,0 | 27,0 |
| HVE-1071 | 08/02/13 | 20,4 | 23,9 | 27,2 | 19,4 | 23,8 | 30,5 | 18,9 | 22,8 | 26,4 | 18,2 | 22,3 | 28,0 | 16,8 | 20,5 | 24,9 | 19,6 | 20,8 | 22,6 | 20,1 | 22,5 | 25,0 | 19,4 | 20,5 | 21,3 | 19,1 | 22,1 | 25,7 |
| HVE-1113 | 11/03/13 | 17,6 | 22,3 | 28,5 | 16,7 | 20,7 | 26,5 | 16,8 | 20,9 | 25,8 | 14,8 | 19,5 | 23,0 | 17,0 | 18,9 | 21,0 | 16,3 | 20,9 | 25,0 | 11,5 | 18,9 | 26,0 | 14,8 | 18,5 | 21,0 | 15,7 | 20,1 | 24,6 |
| HVE-1122 | 15/03/13 | 18,0 | 20,4 | 22,8 | 18,3 | 20,0 | 22,1 | 19,1 | 21,3 | 24,3 | 19,4 | 24,5 | 30,0 | 17,6 | 22,3 | 28,5 | 16,7 | 20,7 | 26,5 | 16,8 | 20,9 | 25,8 | 14,8 | 19,5 | 23,0 | 17,6 | 21,2 | 25,4 |
| HVE-1131 | 15/03/13 | 18,0 | 20,4 | 22,8 | 18,3 | 20,0 | 22,1 | 19,1 | 21,3 | 24,3 | 19,4 | 24,5 | 30,0 | 17,6 | 22,3 | 28,5 | 16,7 | 20,7 | 26,5 | 16,8 | 20,9 | 25,8 | 14,8 | 19,5 | 23,0 | 17,6 | 21,2 | 25,4 |
| HVE-1141 | 29/03/13 | 17,4 | 20,8 | 24,9 | 15,7 | 19,4 | 22,7 | 16,0 | 17,3 | 19,3 | 17,1 | 19,7 | 22,1 | 20,9 | 24,5 | 31,5 | 23,9 | 27,0 | 31,2 | 22,5 | 26,1 | 30,7 | 21,0 | 25,6 | 31,7 | 19,3 | 22,6 | 26,8 |
| HVE-1337 | 12/11/13 | 23,5 | 25,9 | 29,4 | 23,9 | 26,2 | 28,8 | 23,9 | 26,5 | 30,0 | 24,2 | 26,4 | 29,5 | 24,7 | 26,0 | 28,1 | 24,8 | 26,4 | 27,7 | 23,9 | 25,9 | 28,5 | 24,1 | 25,7 | 28,4 | 24,1 | 26,1 | 28,8 |
| HVE-1359 | 20/11/13 | 21,9 | 25,0 | 30,2 | 22,6 | 25,1 | 28,0 | 22,7 | 25,3 | 28,4 | 23,5 | 26,0 | 30,0 | 22,9 | 25,4 | 29,0 | 22,8 | 25,0 | 27,8 | 22,2 | 24,4 | 27,0 | 22,2 | 23,7 | 24,7 | 22,6 | 25,0 | 28,1 |
| HVK-48 | 14/02/14 | 19,9 | 21,1 | 23,0 | 20,5 | 22,3 | 25,5 | 20,5 | 24,8 | 30,9 | 20,3 | 23,7 | 26,7 | 22,0 | 23,5 | 25,7 | 22,2 | 24,2 | 27,0 | 22,1 | 24,8 | 31,1 | 21,6 | 24,3 | 28,1 | 21,1 | 23,6 | 27,3 |
| HVK-59 | 21/02/14 | 21,7 | 25,2 | 32,4 | 20,9 | 24,1 | 29,6 | 19,4 | 23,0 | 28,9 | 19,0 | 23,2 | 27,0 | 16,4 | 21,9 | 25,6 | 20,0 | 21,5 | 24,1 | 18,0 | 22,4 | 26,5 | 19,9 | 21,1 | 23,0 | 19,4 | 22,8 | 27,1 |
| HVK-73 | 07/03/14 | 21,0 | 23,3 | 26,7 | 21,3 | 24,6 | 30,2 | 19,7 | 23,8 | 30,1 | 18,8 | 23,0 | 27,2 | 17,8 | 22,7 | 28,3 | 17,8 | 22,3 | 26,8 | 21,0 | 22,3 | 25,0 | 19,1 | 21,3 | 24,2 | 19,6 | 22,9 | 27,3 |

suspensiones de conidios desde cultivos en PDA incubados durante 7 días, a 28 °C, HR=85% en oscuridad. Las suspensiones se incubaron a 10°C, 25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 34°C y 37°C, a HR del 85% durante 24 horas. A continuación se tomaron 50µl y se realizó un recuento en cámara de Neubauer. Se contabilizaron de 200 a 1000 esporas (nº de esporas totales, NET) y de ellas se registró el número de las que germinaron (nº de esporas germinadas, NEG). Se consideró como espora germinada únicamente aquellas con un tubo germinativo igual o superior al doble de su diámetro. Con estos datos se calculó el porcentaje de germinación (NEG/NET*100) (ALMAGUER *et al.*, 2013).

Con cada aislado se hicieron tres réplicas para cada temperatura. A todos los datos se les determinó la normalidad y homogeneidad de varianza mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Bartlett, respectivamente. Para detectar diferencias significativas entre los valores de crecimiento, esporulación o germinación en cada aislado a las diferentes temperaturas, se realizó un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) que fue completado con la prueba de Tukey. Se realizó un agrupamiento de los aislados mediante un análisis de conglomerado aplicando la distancia Euclidiana. Para el tratamiento estadístico se utilizó el programa STATISTICA versión 6.0 (STATSOFT, INC., 2001).

RESULTADOS

En todos los aislados se observó crecimiento entre 10°C y 34°C (Figura 1). En ocho aislados (HVE-1057, HVE-1113, HVE-1122, HVE-1131, HVE-1141, HVE-1337, HVK-48 y HVK-59) la temperatura óptima de crecimiento fue 25°C. Cinco se desarrollaron en un rango variable: 25-28°C (HVE-1021, HVE-1071, HVE-1359), 25-30°C (HVE-1035) y 10-28°C (HVK-73). Las colonias alcanzaron diámetros de 9-22mm en las temperaturas óptimas. En todos los aislados se evidenció una disminución en el crecimiento lineal con el incremento de la temperatura de incubación y no hubo crecimiento a 37°C.

Se observó esporulación desde 10°C hasta 34°C (Figura 2). En seis aislados los mayores valores se observaron a 25 °C (HVE-1021, HVE-1035, HVE-1071, HVE-1122, HVE-1141 y HVK-73) y a 28°C para los siete restantes (HVE-1057, HVE-1113, HVE-1131, HVE-1337, HVE-1359, HVK-48 y HVK-59). Los valores de esporulación oscilaron entre 1800-15000 conidios/ml, en el rango de temperaturas entre 25-30°C.

Se constató germinación en todas las temperaturas evaluadas (10-37°C) entre 0,7 y 33,4%, ambos valores extremos detectados en el aislado HVE-1141 (Tabla II). En los aislados HVE-1057 y HVK-48 se detectó el mayor porcentaje de germinación a 25°C (25,5% y 28,4, respectiva-

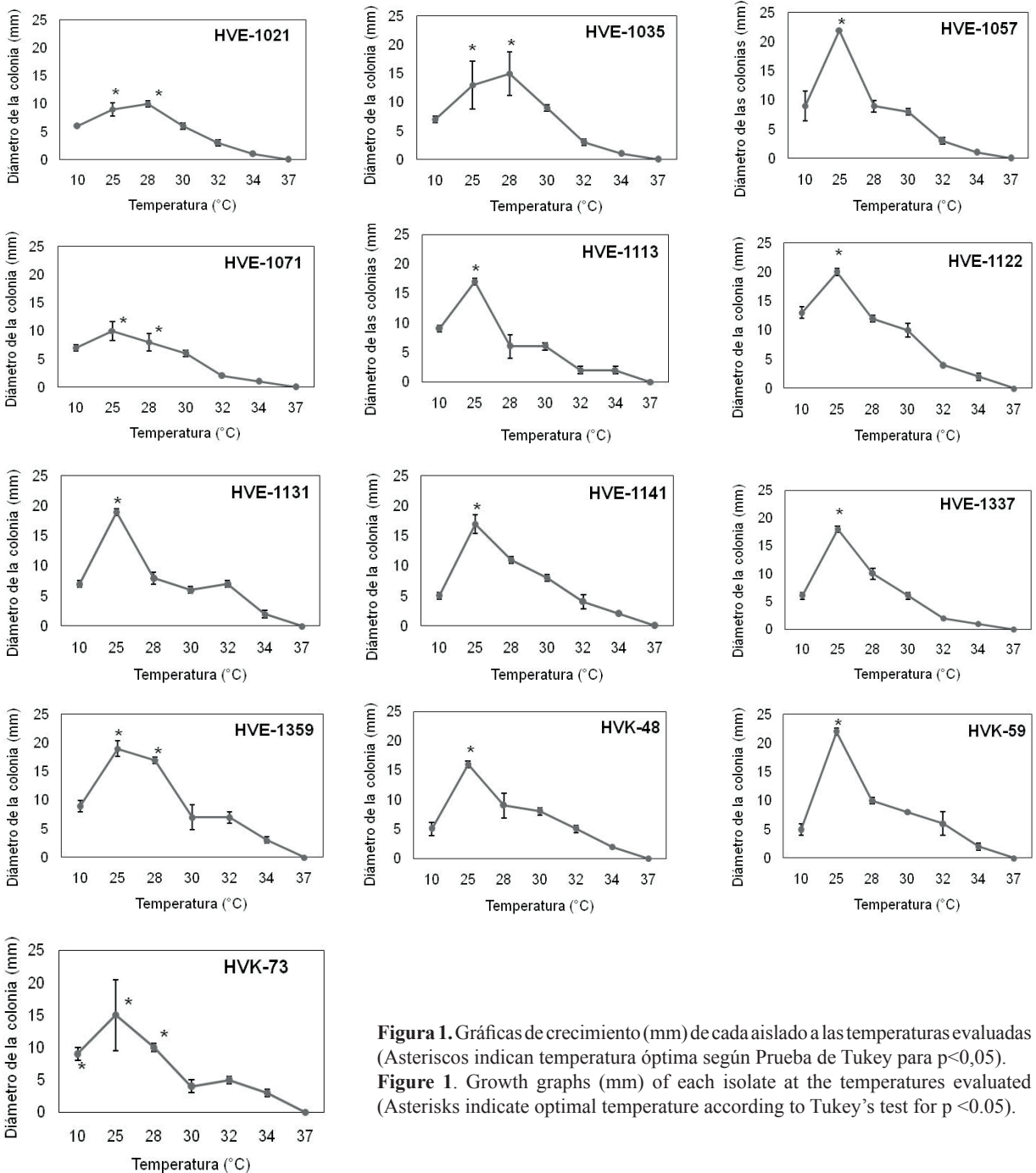


Figura 1. Gráficas de crecimiento (mm) de cada aislado a las temperaturas evaluadas (Asteriscos indican temperatura óptima según Prueba de Tukey para $p < 0,05$).
Figure 1. Growth graphs (mm) of each isolate at the temperatures evaluated (Asterisks indicate optimal temperature according to Tukey's test for $p < 0.05$).

mente). En seis aislados los valores máximos oscilaron entre 16,3 - 23,9% a 28°C (HVE-1021, HVE-1035, HVE-1122, HVE-1131, HVE-1337 y HVK-59) y en tres los valores más elevados fueron a 30°C (HVE-1113, HVE-1141 y HVE-1359), con magnitudes de 28,7%, 33,4% y 24,5% respectivamente. Para los aislados HVE-1071 y HVK-73 el porcentaje más alto de germinación se

detectó en el rango de temperatura entre 25-30°C y 28-30°C, respectivamente.

En el dendograma se refleja el agrupamiento de las cepas en tres conjuntos y las distancias entre ellos (Figura 3). En el Grupo 1 se encuentran los aislados HVK-48 y HVK-73, con valores elevados de crecimiento, germinación y esporulación, en la mayoría de las temperaturas

Tabla II. Porcentaje de germinación de los aislados analizados a diferentes temperaturas (Asteriscos indican temperatura óptima según la prueba de Tukey para $p < 0,05$).

Table II. Germination percentage of isolates analyzed at different temperatures (Asterisks indicate optimal temperature according to Tukey's test for $p < 0.05$).

| Cepas | 10°C | 25°C | 28°C | 30°C | 32°C | 34°C | 37°C |
|----------|------------|--------------|--------------|--------------|------------|-----------|------------|
| HVE-1021 | 4,0 ± 1,0 | 11,1 ± 0,9 | 16,7 ± 1,0 * | 9,8 ± 1,3 | 4,7 ± 0,7 | 2,4 ± 2,4 | 3,0 ± 1,7 |
| HVE-1035 | 6,8 ± 1,6 | 16,9 ± 1,4 | 23,9 ± 0,6 * | 11,4 ± 0,7 | 8,9 ± 0,5 | 7,8 ± 1,3 | 1,1 ± 1,2 |
| HVE-1057 | 12,8 ± 1,7 | 25,5 ± 3,1* | 12,3 ± 0,7 | 19,6 ± 1,7 | 13,8 ± 1,3 | 9,2 ± 1,1 | 8,3 ± 1,1 |
| HVE-1071 | 4,3 ± 0,6 | 15,1 ± 1,3 * | 16,7 ± 0,6 * | 14,9 ± 1,5 * | 5,4 ± 1,2 | 3,7 ± 1,2 | 1,6 ± 2,0 |
| HVE-1113 | 15,6 ± 1,1 | 21,7 ± 0,7 | 20,9 ± 0,9 | 28,7 ± 3,1 * | 16,0 ± 1,8 | 9,8 ± 1,7 | 1,1 ± 1,2 |
| HVE-1122 | 7,4 ± 1,0 | 12,7 ± 1,4 | 16,3 ± 0,7 * | 6,7 ± 0,7 | 4,8 ± 1,1 | 4,0 ± 0,7 | 1,7 ± 0,5 |
| HVE-1131 | 12,4 ± 1,0 | 18,2 ± 1,0 | 21,8 ± 0,6 * | 11,5 ± 1,5 | 10,8 ± 1,1 | 7,9 ± 0,6 | 5,1 ± 1,2 |
| HVE-1141 | 12,6 ± 0,7 | 15,9 ± 0,7 | 22,3 ± 0,6 | 33,4 ± 0,7 * | 23,7 ± 3,2 | 9,0 ± 1,0 | 0,7 ± 1,2 |
| HVE-1337 | 5,0 ± 0,9 | 13,0 ± 1,3 | 16,3 ± 1,2 * | 13,7 ± 0,9 | 4,4 ± 0,4 | 2,6 ± 1,2 | 10,7 ± 1,9 |
| HVE-1359 | 3,5 ± 0,8 | 14,1 ± 1,0 | 15,2 ± 0,6 | 24,5 ± 1,4 * | 7,0 ± 1,7 | 5,4 ± 1,7 | 2,4 ± 1,4 |
| HVK-48 | 14,8 ± 2,0 | 28,4 ± 3,2 * | 22,8 ± 0,5 | 19,3 ± 0,8 | 9,2 ± 0,2 | 6,5 ± 1,4 | 18,7 ± 0,8 |
| HVK-59 | 5,1 ± 1,2 | 17,4 ± 1,1 | 22,6 ± 0,7 * | 11,1 ± 1,2 | 8,3 ± 0,9 | 6,9 ± 1,9 | 8,4 ± 1,4 |
| HVK-73 | 8,3 ± 1,4 | 15,0 ± 1,3 | 22,1 ± 0,8 * | 23,7 ± 0,8 * | 11,2 ± 0,6 | 7,8 ± 1,1 | 1,7 ± 2,1 |

evaluadas. En el Grupo 2, se observan siete aislados (HVE-1057, HVE-1359, HVE-1337, HVK-59, HVE-1122, HVE-1131 y HVE-1141) con valores intermedios y el Grupo 3 contiene cuatro aislados (HVE-1021, HVE-1071, HVE-1035 y HVE-1113) con los menores valores de las variables analizadas.

DISCUSIÓN

Cladosporium cladosporioides es una especie cosmopolita que se ha aislado tanto de regiones tropicales (ZOPPAS *et al.*, 2011; KSHIRSAGAR & PANDE, 2012; ALAMGUER & ROJAS, 2013) como de zonas de clima templado (AIRA *et al.*, 2012; GRINN-GOFROÑ & STRZELCZAK, 2013; SINDT *et al.*, 2016). Sus esporas pueden penetrar a diferentes niveles del sistema respiratorio y provocar rinoconjuntivitis, rinosinusitis, tos seca y asma bronquial en individuos atópicos (SINDT *et al.* 2016). Por ello es importante conocer cuales son las variables meteorológicas que influyen sobre su abundancia en el aire.

También se ha descrito a *C. cladosporioides* como causante de feohifomicosis en personas con enfermedades hematológicas o sida (GÓMEZ & CARDONA - CASTRO, 2016). Por su parte, GREEN *et al.* (2003), plantearon que la liberación de alérgenos después de la germinación de las esporas podría ser una característica común a muchas especies de hongos, por lo que señalan el interés de explorar

el impacto de los alérgenos liberados a partir de las esporas inhaladas y que germinan en el tracto respiratorio.

Pero también este tipo de estudios tiene utilidad agronómica, ya que *C. cladosporioides* puede pasar de endófito a patógeno, cuando ocurren desórdenes nutricionales o estrés hídrico en las plantas hospedantes (RONDÓN & GONZÁLEZ, 2009). Este hecho afectaría especialmente a las ciudades donde se practica agricultura urbana, ya que dichas zonas actuarían como fuente de inóculo para los hongos y favorecerían la abundancia de las esporas en el aire. Por tanto, desde el punto de vista fitopatológico, también es importante conocer la influencia de la temperatura en el crecimiento fúngico y en la germinación de los conidios, ya que puede favorecer la formación de estructuras infectivas y la producción de enzimas involucradas en la colonización (AGRIOS 2005).

En algunos trabajos se hace referencia a la psicrotolerancia de *C. cladosporioides*. Así, BAXTER & ILLSTON (1980) informaron que puede crecer de manera óptima a 15°C, con un máximo de 25mm a los siete días. ROCHA *et al.* (2013) indicaron que la temperatura óptima de crecimiento de *Cladosporium* se encuentra entre 18-28°C, aunque puede crecer lentamente a temperaturas inferiores y BERNAL *et al.* (2013) refieren que el desarrollo del micelio de este hongo tiene un rango amplio (4°C-32°C), basándose en los resultados previos de MAYEA *et al.* (1983). Todo ello pone de manifiesto

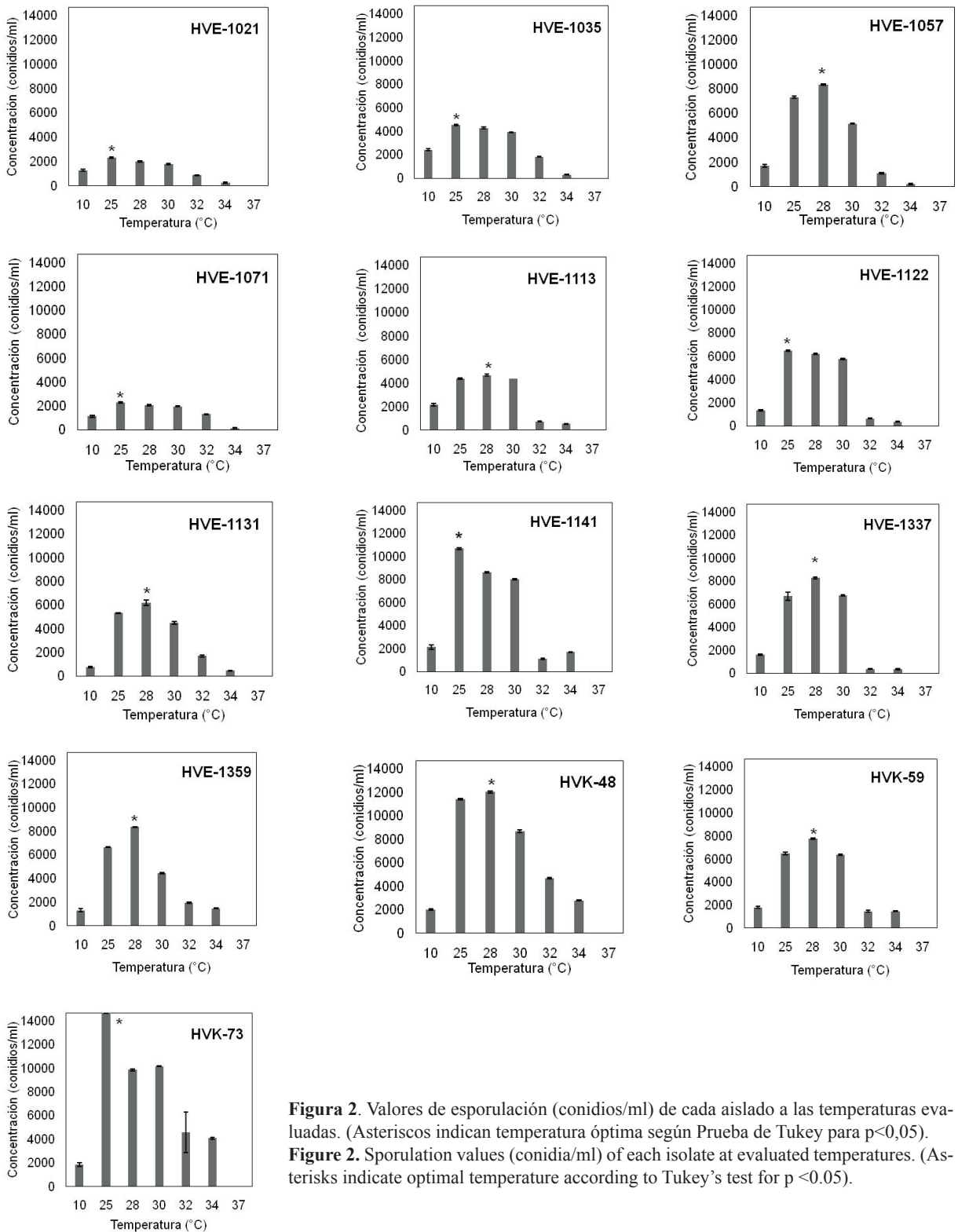


Figura 2. Valores de esporulación (conidios/ml) de cada aislado a las temperaturas evaluadas. (Asteriscos indican temperatura óptima según Prueba de Tukey para $p < 0,05$).
Figure 2. Sporulation values (conidia/ml) of each isolate at evaluated temperatures. (Asterisks indicate optimal temperature according to Tukey's test for $p < 0.05$).

la capacidad de adaptación de esta especie a la temperatura y explica su abundancia en diferentes regiones climáticas.

Sin embargo, en este estudio se constató la formación de conidios entre 10-34°C, con un rango óptimo de crecimiento de 25-30°C, coincidiendo con los resultados realizados por otros investi-

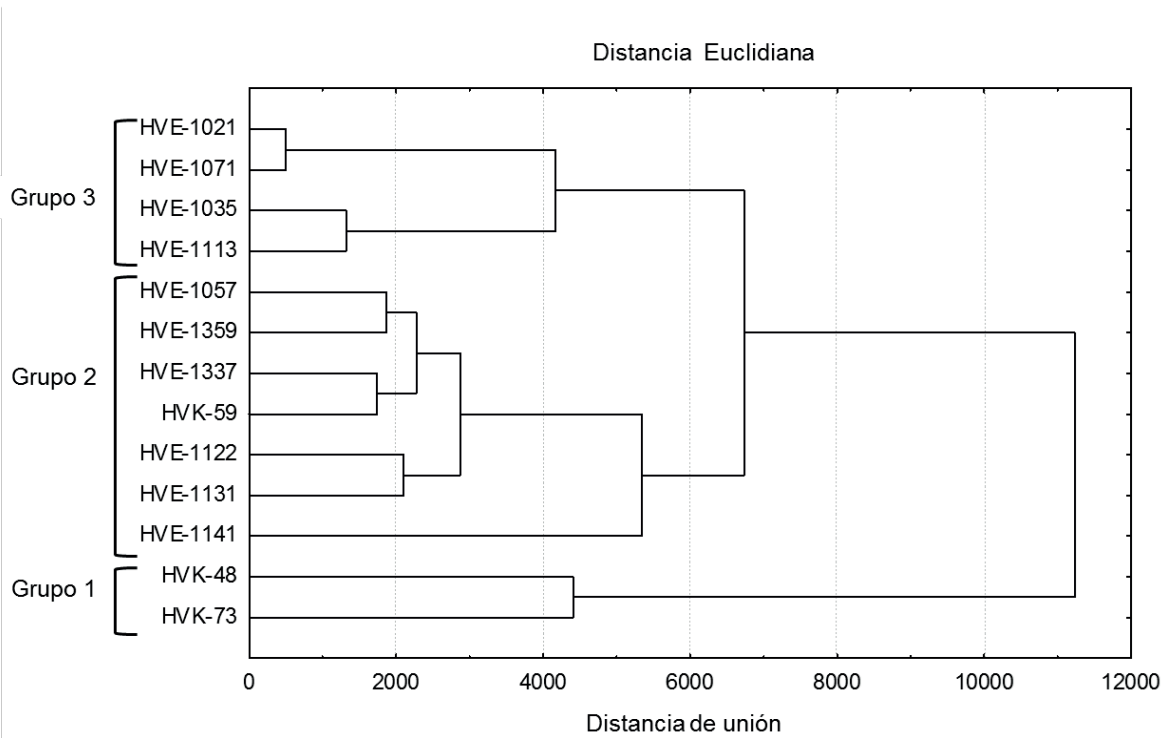


Figura 3. Dendrograma basado en análisis cluster en relación con las temperaturas evaluadas.
Figura 3. Dendrogram based on cluster analysis in relation to the temperatures evaluated.

gadores en el mismo género (MAGAN & LACEY, 1984; TASIC & MILADINOVIC-TASIC, 2007; OGÓREK *et al.* 2012), por lo que podrían esperarse mayores concentraciones de esporas en climas tropicales, donde estos valores de temperaturas son comunes durante todo el año.

La abundancia de la esporulación también está asociada a la disponibilidad de nutrientes. En condiciones experimentales, DAMIALIS *et al.* (2015) demostraron que *C. cladosporioides* aumentaba la producción de esporas cuando se inoculaba en un medio rico en nutrientes a 17,7 y 27,1°C. En este trabajo, en el que se utilizó PDA como medio de cultivo, los conidios germinaron en todas las temperaturas evaluadas (10-37°C). Los mayores porcentajes de germinación se evidenciaron entre 25°- 30°C (10-40%), ya que generalmente las temperaturas que propician el crecimiento de los hongos coinciden con las temperaturas que favorecen la germinación, resultado que se evidenció en los aislados HVE-1057, HVE-1071, HVE-1337 y HVE-48 de este estudio.

MAGAN & LACEY (1984) realizaron ensayos *in vitro* con *C. cladosporioides* cultivado en agar con extracto de trigo, e informaron que existió una germinación superior al 10% entre 5-30°C,

mientras que WEBSTER & WEBER (2007) señalaron que temperaturas $\geq 25^\circ\text{C}$, estimulaban la actividad enzimática, favoreciendo los procesos esenciales del ciclo de vida de los hongos.

En el análisis multivariado que se ha realizado en este estudio, se observó que los aislados pueden dividirse en tres grupos de acuerdo con su respuesta fisiológica a las temperaturas evaluadas. Los aislados del Grupo 3 tienen menores valores de crecimiento, esporulación y germinación, y están relacionados con las temperaturas bajas en el entorno de la fecha de aislamiento (promedio 21,7°C). Por su parte los de los Grupos 1 y 2 se recolectaron en días en los que la temperatura promedio fue de 23,6°C y 23,4°C con valores mínimos y máximos que oscilaron de 17,8 a 31,1°C y de 14,8 a 32,4°C, respectivamente.

GARCÍA-SOLACHE & CASADEVALL (2010) alertaron sobre los riesgos potenciales de la adaptación de los hongos a las temperaturas elevadas y la importancia del estudio de los posibles efectos del calentamiento global sobre las poblaciones fúngicas, ya que un clima más cálido podría cambiar la distribución de especies y favorecer aquellas que son más termotolerantes.

Adicionalmente, bajo una fuerte presión selectiva, la prevalencia de especies adaptadas a la tolerancia al calor puede aumentar. En este sentido, se ha puesto de manifiesto que en áreas urbanas, algunos hongos crecen más rápido a temperaturas elevadas que en ambientes rurales y un incremento de la temperatura, puede influir en un mayor crecimiento y un aumento en la producción de esporas en *C. cladosporioides* (DAMIALIS *et al.* (2015).

La identificación de los aislados de *C. cladosporioides* analizados en este trabajo, se realizó siguiendo los criterios de BENSCH *et al.* (2010). Estos autores refirieron que se trata de un género parafilético y que existe una gran diversidad de genotipos de esta especie. Por ello, la diferente respuesta a la temperatura en varios aislados de una misma región, puede deberse en parte a esta variabilidad. El estudio de su filogenia y taxonomía así como la diversidad de sustratos que le pueden servir como hospedantes, todavía está en curso y son escasos los estudios realizados con aislados de origen tropical (BENSCH *et al.*, 2010, 2012). Por ello esta investigación es una contribución al conocimiento de esta especie, que destaca la influencia de la temperatura como determinante ecológico en su ciclo de vida.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Irene de la Rosa Sánchez por su contribución durante su Trabajo de Diploma y al Proyecto Nacional PNH: P211LH007-017 “*Caracterización aeromicrobiológica de la atmósfera de La Habana: su impacto en la salud y la agricultura*”, dirigido por la Dra. Teresa I. Rojas Flores.

REFERENCIAS

- AGRIOS, G. N. (2005): *Plant Diseases caused by Fungi*. *Plant Pathology*. 5th eds. Department of Plant Pathology. University of Florida. 724-820 pp. United States of America.
- AIRA, M., RODRÍGUEZ-RAJO, F. J., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., SEIJO, C., ELVIRA-RENDUELES, B., GUTIÉRREZ-BUSTILLO, M., & MORALES, J. (2012). *Cladosporium* airborne spore incidence in the environmental quality of the Iberian Peninsula. *Grana*, 51(4): 293-304.
- ALMAGUER, M. & ROJAS, T. I. (2013). Aeromicrobiota viable de la atmósfera de La Habana, Cuba. *Nova Acta Científica Compostela (Biología)*. 20: 35-45.
- ALMAGUER, M., ROJAS, T. I., DOBAL, V., BATISTA, A. & AIRA, M. J. (2013). Effect of temperature on growth and germination of conidia in *Curvularia* and *Bipolaris* species isolated from the air. *Aerobiologia*, 29(1): 13-20.
- ALMAGUER, M., AIRA, M. J., RODRÍGUEZ-RAJO, F. J. & ROJAS, T. I. (2014). Temporal dynamics of airborne fungi in Havana (Cuba) during dry and rainy seasons: influence of meteorological parameters. *International Journal of Biometeorology*, 58(7): 1459-1470.
- BAXTER, M. & ILLSTON, G. M. (1980). Temperature relationships of fungi isolated at low temperatures from soils and other substrates. *Mycopathologia*, 72(1): 21-25.
- BENSCH, K., GROENEWALD, J. Z., DIJKSTERHUIS, J., STARINK-WILLEMSE, M., ANDERSEN, B., SUMMERELL, B. A. & CROUS, P. W. (2010). Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*). *Studies in Mycology*, 67:1-94.
- BENSCH, K., BRAUN, U., GROENEWALD, J. Z. & CROUS, P. W. (2012). The genus *Cladosporium*. *Studies in Mycology*, 72: 1-401.
- BERNAL, A., MARTÍNEZ, B., DÍAZ, M., HERRERA, L. & ALONSO, Y. (2013). Efecto de los medios de cultivo y la temperatura en el crecimiento de *Cladosporium fulvum* Cooke (Sin. *Passalora fulva*). *Fitosanidad*, 10(1): 25-28.
- CROUS, P.W. (1998). *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs associated with leaf spot diseases of *Eucalyptus*. *Mycologia Memoir*, 21: 1-170.
- CROUS, P.W., WINGFIELD, M.J. & PARK, R.F. (1991). *Mycosphaerella nubilosa* a synonym of *M. molleriana*. *Mycological Research*, 95: 628-632.
- CUBA-CLIMA. Temperatura, Climograma y Tabla climática para Cuba [en línea]. Climate-Data.org. [Consultado: 5 de diciembre 2017].
- DAMIALIS, A., MOHAMMAD, A. B., HALLEY, J. M. & GANGE, A. C. (2015). Fungi in a changing world: Growth rates will be elevated, but spore production may decrease in future climates.

- International Journal of Biometeorology*, 59: 1157–1167.
- GARCIA-SOLACHE, M. A. & CASADEVALL, A. (2010). Global warming will bring new fungal diseases for mammals. *MBio*, 1(1): e00061-10.
- GÓMEZ, L. V. & CARDONA-CASTRO, N. (2016). Feohifomicosis, una infección fúngica oportunista emergente. *CES Medicina*, 30(1): 66-77.
- GREEN, B. J., MITAKAKIS, T. Z. & TOVEY, E. R. (2003). Allergen detection from 11 fungal species before and after germination. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111(2): 285-289.
- GRINN-GOFRÓN, A. & STRZEKCAK, A. (2013). Changes in concentration of *Alternaria* and *Cladosporium* spores during summer storms. *International Journal of Biometeorology*, 57(5): 759-768.
- KASPRZYK, I., KASZEWSKI, B. M., WERYSKO-CHEMIELEWSKA, E., NOWAK, M., SULBORSKA, A., KACZMAREK, J. & JEDRYCZKA, M. (2016). Warm and dry weather accelerates and elongates *Cladosporium* spore seasons in Poland. *Aerobiologia*, 32(1): 109-126.
- KSHIRSAGAR, J. J. & PANDE, B. N. (2012). Prevalence of *Cladosporium* spores over Sunflower fields at Rajuri (N) MS, India. *Science Research Reporter*, 2: 66-68.
- MA, R., CHEN, Q., FAN, Y., WANG, Q., CHEN, S., LIU, X. & YAO, B. (2017). Six new soil inhabiting *Cladosporium* species from plateaus in China. *Mycologia*, 109(2): 244-260.
- MAGAN, N. & LACEY, J. (1984). Effect of temperature and pH on water relations of field and storage fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 82(1): 71-81.
- MAYEA, S., HERRERA, L. & ANDREU, C. M. (1983). *Enfermedades de las plantas cultivadas en Cuba*. Editorial Pueblo y Educación. La Habana.
- OGÓREK, R., LEJMAN, A., PUSZ, W., MILUCH, A. & MIODYŃSKA, P. (2012). Characteristics and taxonomy of *Cladosporium* fungi. *Mikologia lekarska*, 19(2): 80-85.
- ROCHA, A., ALVARADO, M. A., GUTIÉRREZ, R., SALCEDO, S. M. & 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. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29(2): 155-165.
- RONDÓN, V. M. & GONZÁLEZ, M. R. (2009). Micobiota endofítica asociada al cultivo del mango 'Haden' (*Mangifera indica* L.) en el oriente de Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(2): 393-402.
- SINDT, C., BESANCENOT, J. P. & THIBAUDON, M. (2016). Airborne *Cladosporium* fungal spores and climate change in France. *Aerobiologia*, 32(1): 53-68.
- STATSOFT, INC. (2001). Statistica (Data Analysis Software System), Version 6. <http://www.statsoft.com>
- TASIC, S. & MILADINOVIC-TASIC, N. (2007). *Cladosporium* spp: Cause of opportunistic mycoses. *Acta Facultatis Medicinae Naissensis*, 24(1):15-19.
- VISITSUNTHORN, N., SRIPRAMONG, C., BUNNAG, C. & JIRAPONGSANANURUK, O. (2017). Comparison between specific IgE levels and skin prick test results of local and imported American cockroach, dog, cat, dust mites and mold allergen extracts. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, 35(1): 60-67.
- WEBSTER, J. & WEBER, R. (2007). *Introduction to fungi*. Cambridge University Press. 578 pp. England.
- ZOPPAS, B. C., VALENCIA-BARRERA, R. M. & FERNÁNDEZ-GONZÁLES, D. (2011). Distribuição de esporos de *Cladosporium* spp no ar atmosférico de Caxias do Sul, RS, Brasil, durante dois anos de estudo. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, 34(2): 55-58.