

Concentració i identificació de microorganismes a l'aire del litoral de Barcelona

Departament de biologia marina i oceanografia,

Institut de ciències del mar (CSIC)

Tutora externa: Maria Montserrat Sala

Tutor intern: Jordi Urmeneta

Treball de final de grau

Grau de Biologia (Universitat de Barcelona)

Barcelona, 3 setembre de 2017

Sònia Besa



Facultat de Biologia



ABSTRACT

The atmosphere contains an important burden of biological particles such as bacteria and fungi, as well as pollen, viruses or fragments of plants and animals, which can be transported and deposited thousands of kilometers away from its point of origin and are emitted directly from the biosphere into the atmosphere. There is almost no information about the abundance and fate of microbes and fungi from the air

In this study, we wanted to know the abundance and the composition of microbes in the low atmosphere. To obtain this information, we measured three different samples. Two of the samples were obtained from two transects carried out with a ship on the coast of Barcelona and the third was obtained on the roof of the Institute of Sciences of the Sea (ICM).

Our results show that there is presence of microorganisms and fungi in the urban and marine environment of the coast of Barcelona and that they vary their concentration in the air following a seasonal pattern.

We have also studied the community that we can find using genetic methods such as PCR. The results indicate that the predominant fungi in this coastal and maritime area are ascomycota, with the dominance of *Cladosporium* sp., And that the bacteria that most can be found belongs to species of the orders Micrococcal and Bacillales.

INDEX

1. INTRODUCCIÓ	4
2. OBJECTIU I HIPOTESIS	5
3. MATERIAL I METODEDES	5
3.1. CORIOLIS μ	5
3.2. MOSTREIG.....	6
3.3. RECOMPTE DE MICROORGANISMES	7
3.3.1. RECOMPTE DE BACTERIS	7
3.3.2. RECOMPTE DE FONGS	8
3.4. CULTIUS EN PLACA DE PETRI I AÏLLATS	8
3.5. EXTRACCIÓ DE DNA DELS AÏLLATS I PCR	9
4. RESULTATS I DISCUSIÓ	10
4.1. RECOMPTE DE MICROORGANISMES	10
4.1.1. RECOMPTE DE BACTERIS	10
4.1.2. RECOMPTE DE FONGS	12
4.2. RECOMPTE DE COLONIES EN PLACA DE PETRI.....	13
4.3. IDENTIFICACIÓ DELS AÏLLATS	16
5. CONCLUSIONS	17
6. AGRAÏMENTS.....	19
7. BIBLIOGRAFIA.....	20

1. INTRODUCCIÓ

L'atmosfera conté un càrrega important de partícules biològiques com bacteris i fongs[1], a més de pollen, virus o fragments de plantes i animals, els quals poden ser transportats i dipositats a milers de kilòmetres de distància del seu punt d'origen[2]. Aquestes partícules s'anomenen "primary biogeneic aerosol" (PBA) i són emeses directament des de la biosfera cap a l'atmosfera. [3][4][5][6]

L' impacte dels microorganismes transportats per l'aire i la seva contribució a l'ecosistema global està molt poc estudiat. Es considerava que aquests microorganismes eren totalment passius i es movien amb el vent, però diferents estudis suggereixen que aquests són metabòlicament actius i actuen en diferents processos, com ara que afecten la química i els cicles de precipitació de la terra [7][8], en els quals els microorganismes de l'aire es veuen implicats en la nucleació de gel i la formació de núvols. Entre les partícules biològiques que contribueixen a la nucleació de gel es troben principalment petits bacteris i arquees, així com compostos orgànics excretats per microorganismes marins[9]. Les partícules biològiques més grans de 2 µm, com ara les espores dels fongs, s'espera que actuïn com a nuclis de condensació de núvols gegants, generant grans gotes amb una velocitat de caiguda més ràpida.[9]

Tot i que en els últims anys la recerca de bacteris a l'atmosfera s'ha anat expandint, segueix sent difícil d'establir una imatge clara de l'abundància i la composició actual d'aquests en l'aire[10][11]. Un factor important a tenir en compte en referència als diferents estudis és que l'anàlisi d'aquests pateix d'una falta d'estandardització tant a nivell de mostreig com a nivell de processat de les mostres[12][13].

És una realitat que la majoria dels microorganismes no són cultivables, diferents estudis indiquen que només un percentatge molt petit de les espècies ho són, ~1% de bacteris[14] i un ~17% dels fongs [15]. La majoria dels treballs sobre microorganismes aeris en les zones marítimes s'han centrat en els bacteris i es coneix poc sobre la identitat i la concentració dels fongs [16].

Avançar en la comprensió d'aquest camp contribuirà a millorar els models de dispersió de malalties microbianes o al·lèrgies.[17][18][19], ja que alguns fong són patògens o al·lèrgens importants tant per humans, animals o plantes i l'aire és el medi majoritari per la seva dispersió. [20][21][22]

En aquest projecte s'ha volgut estudiar la abundància de bacteris i fongs de l'aire en medi urbà/costaner i en medi marí, així com caracteritzar la diferent filogènia que hi podem trobar.

2. OBJECTIU I HIPOTESIS

Aquest TFG s'ha dut a terme dins el projecte ANIMA (Aportes atmosféricos como fuente de nutrientes orgánicos y microorganismos en ecosistemas marinos), IPs: Montse Sala i Cesc Peters, el propòsit del qual és quantificar i caracteritzar els inputs atmosfèrics de matèria orgànica i dels microorganismes presents en l'aire i avaluar el seu impacte en el marc de l'ecosistema marí del nord-est del mediterrani.

L'objectiu principal d'aquesta part del projecte és el de quantificar i arribar a reconèixer els microorganismes que es poden trobar en l'aire marí i urbà del litoral de Barcelona, utilitzant mètodes de recompte amb microscopi i anàlisi genètic per poder donar resposta a les següents preguntes:

- 1) Trobem les mateixes comunitats a l'aire marí i a l'aire urbà?
- 2) Els factors ambientals afecten la concentració dels microorganismes?

3. MATERIAL I METODEDES

3.1. CORIOLIS μ

L'instrument utilitzat en els mostrejos d'aire va ser el Coriolis μ (Bertin Instruments). És un mostrejador d'aire per l'avaluació de la contaminació biològica, dedicat principalment al control de qualitat de l'aire i la investigació del medi ambient.

Funciona en base a una tecnologia ciclònica combinat amb un alt cabal d'aire, de 100 a 300 L/min, en un temps màxim de 10 minuts. Les partícules biològiques



Figura 1. Coriolis Micro (Bertin Instruments)

es van recollint i concentrant en unes copes col·lectores estèrils en un preparat líquid proporcionat per l'empresa per a ser analitzat posteriorment amb mètodes de microbiologia cel·lular i biologia molecular.

3.2. MOSTREIG

Els mostrejos es van dur a terme en un període de 4 mesos, de desembre de 2016 a març de 2017: 1 de desembre de 2016, 26 de gener de 2017, 16 de febrer de 2017 i 22 de març de 2017.

En cada mostreig es van realitzar dos transsectes a la costa de la ciutat de Barcelona, una mostra correspon a un transsecte, aprofitant els mostrejos de la campanya PUDEM i utilitzant les seves estacions: estació 5 (St5) (41° 20' 7.0"N; 2° 16' 20.0"E) la més allunyada de la costa i la estació 4 (St4) (41°22'32.52"N; 2°12'58.44"E). Una tercera mostra al terrat de l'Institut de Ciències del Mar (41° 23' 07.8"N; 2° 11' 46.0"E) (figura 3), cadascuna amb el seu blanc corresponent.

Per a cada una de les mostres del Coriolis μ es van utilitzar 3 copes diferents, en les quals es recol·lectava durant 30 minuts amb un flux d'aire de 100 L/min, per tant es recol·lectava durant un total de 1 hora i 30 minuts per mostra. Un cop al laboratori les tres copes del mateix transsecte s'homogeneïtzaven en una sola copa.

La necessitat d'utilitzar 3 copes va venir per a poder assolir el volum de mostra necessari per a poder dur a terme tots els procediments posteriors al laboratori, ja que sinó els volum de mostra seria insuficient. Els blancs van consistir en una recol·lecció de 2 minuts a 100L/min abans de l'inici de cada mostra.

Entre mostres l'entrada d'aire del Coriolis μ es va netejar amb aigua MQ autoclavada.

De les dues estacions (St5 i St4) també s'agafaven un 6 litres d'aigua de mar de superfície.



Figura 2. Mostrejant a la costa de Barcelona

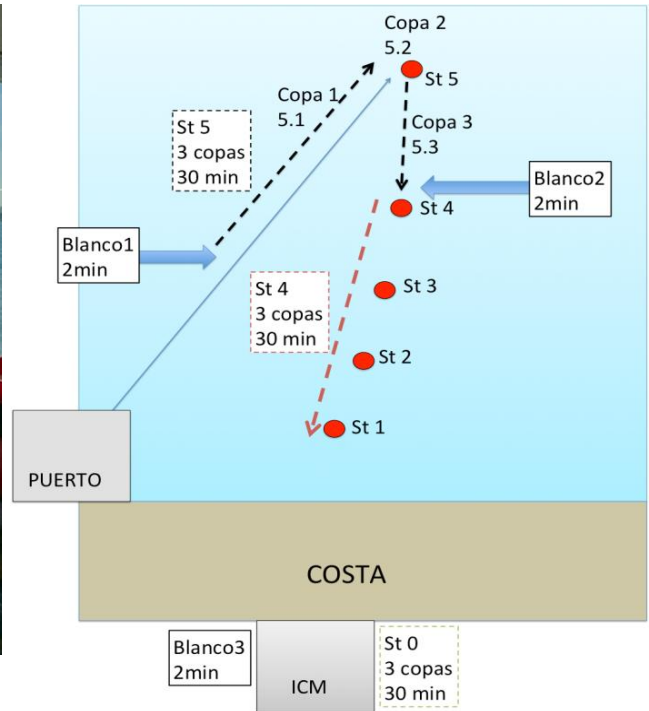


Figura 3. Transectes del mostreig

3.3. RECOMPTE DE MICROORGANISMES

3.3.1. RECOMPTE DE BACTERIS

Per a l'estudi de l'abundància de bacteris es va realitzar una tinció amb 4',6- diamidino-2-phenylindole (DAPI) de les mostres d'aire i d'aigua de mar.[23][24]

Es van agafar 5 ml de cada mostra, tant d'aire com d'aigua de mar, i es van fixar amb glutaraldehyd al 10%. Un cop fixades es va afegir 0.5 ml de DAPI a una concentració final de $0.5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ i es va filtrar en filtres negres de policarbonat de $0.2 \mu\text{m}$. El filtres obtinguts es van col·locar en un portaobjectes i es van conservar a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ fins la seva observació al microscopi.

Els bacteris es van comptar mitjançant el microscopi de epifluorescència Olympus Bx61 amb l'objectiu 1000x utilitzant llum ultraviolada (UV). Es van fer 10 transectes de 10 mm de distància en cadascuna de les mostres d'aire i 14 camps a l'atzar per a les mostres d'aigua de mar. El programa informàtic que es va utilitzar per la visualització i la realització de les fotografies a l'ordinador va ser el Cell F (Imaging Software for Life Science Microscopy).

Per arribar a les concentracions finals de microorganismes a l'aire s'ha utilitzant la formula descrita a Mayol *et al.* (2014).[2]

3.3.2. RECOMPTE DE FONGS

Per a l'estudi de l'abundància de fongs es va realitzar una tinció amb calcofluor white de les mostres d'aire i d'aigua de mar. [25]

Per a les mostres d'aire es van filtrar 5 ml en filtres de policarbonat negres de 0.2 µm i per a les mostres d'aigua de mar, es van filtrar diferents volums en diferents mides de filtre, també de policarbonat negre: 5 ml en filtres 0,2 µm, 50 ml en filtres de 0,8 µm i 150 ml en filtres de 3 µm. Totes les mostres fixades prèviament amb formaldehid al 37%.

Un cop acabat el filtrat de les mostres es va afegir 1 ml de calcofluor white a una concentració final de 1 mg·ml⁻¹ per tal de cobrir el filtre completament i es va deixar actuar durant 10 minuts. És necessari filtrar el calcofluor white abans d'utilitzar-lo, ja que aquest pot formar cristalls que interfereixen en la visualització de les mostres. Passats els 10 minuts es va netejar l'excés de calcofluor white amb aigua de mar filtrada per 0.2 µm.

El filtre obtingut es va col·locar en un portaobjectes i es va conservar a -20 °C fins la seva observació al microscopi.

Els fongs es van comptar mitjançant el microscopi de epifluorescència Olympus Bx61 amb l'objectiu 1000x utilitzant llum ultraviolada (UV). Es van fer 10 transectes de 10 mm de distància en cadascuna de les mostres, tant d'aire com d'aigua de mar. El programa informàtic que es va utilitzar per la visualització i la realització de les fotografies a l'ordinador va ser el Cell F (Imaging Software for Life Science Microscopy).

Per arribar a les concentracions finals de microorganismes a l'aire s'ha utilitzant la fórmula descrita a Mayol *et al.* (2014).[2]

3.4. CULTIUS EN PLACA DE PETRI I AÏLLATS

Es van utilitzar dos tipus de medi de cultiu per a les plaques de petri, per un costat medi Zobell i per un altre LB. El medi Zobell conté aigua de mar dins la seva preparació i és el més utilitzat a l'ICM per a dur a terme els cultius de microorganismes marins. El medi LB és un dels medis més utilitzats per al creixement d'espècies bacterianes degut a que és ric en nutrients, és fàcil d'elaborar i permet el creixement

d'un gran nombre de soques. Es van triar els dos tipus de medi per intentar abastar el creixement d'un nombre més gran d'espècies.

Per a cada placa de petri es van inocular 100 µL de mostra i es van escampar per tota la superfície del medi de cultiu amb l'ajuda d'una nansa Digrafsky. Es van fer dues rèpliques de cada mostra per tipus de medi de cultiu.

Un cop sembrades les plaques es van deixar en una incubadora a 20 °C durant 12 dies i llavors es van fer recomptes de colònies de fongs i de bacteris.

Es van dur a terme diferents aïllats de les mostres del mes de desembre, per a la seva obtenció es van picar les diferents colònies de fongs i bacteris amb l'ajuda de nanses de Kolle estèrils, fent sembra escocesa en noves plaques de petri. Aquestes plaques de petri contenien el medi de cultiu corresponent a on havia crescut la colònia que es volia aïllar.

Es va dur a terme aquest procediment dos cops consecutius, per assegurar la puresa dels aïllats.

3.5. EXTRACCIÓ DE DNA DELS AÏLLATS I PCR

Per a dur a terme l'extracció de DNA dels aïllats de bacteris i els fongs aquests es van fer créixer en medi líquid i després es van dur a terme diferents mètodes d'extracció pes a cadascun.

Per als bacteris, se'ls van sotmetre a una temperatura de 95 °C durant 15 minuts per aconseguir la lisi cel·lular. En el cas dels fongs, el que es va fer va ser sotmetre'ls a un procés de congelació/descongelació per aconseguir la lisi cel·lular i obtenir el DNA. Es submergien les mostres en nitrogen líquid durant 10 segons i després es deixaven durant 5 minuts a 60 °C a l'estufa, es va repetir el procediment 3 cops.

Per a poder enviar els aïllats a seqüenciar va ser necessari realitzar PCRs (reacció en cadena de la polimerasa) dels diferents aïllats. Aquesta tècnica serveix per amplificar un fragment de DNA i obtenir un gran nombre de còpies d'un fragment de DNA a partir d'una quantitat molt petita d'aquest.

Per a bacteris es van utilitzar els primers 27F i 1492R, que amplifiquen el gen 16S rRNA. En el cas dels fongs es van amplificar dues regions diferents, la regió LSU (large sub-unit) rDNA amb els primers D1R[26] i D3B[27], i la regió ITS (Internal transcribed spacer) rDNA amb els primers ITS1 i ITS4.[28]

Per a dur a terme aquestes PCR es va utilitzar la següent mix: 17,6 µl d'aigua MQ, 2,5 µl de buffer, 0,75 µl de MgCl₂, 0,5 µl de dNTPs, 1,25 µl de primer forward, 1,25 µl de primer reverse i 0,125 µl de Taq.

Quan les PCRs no van funcionar es van augmentar els volums de MgCl₂ i Taq a 1 µl i 0,2 µl respectivament, restant el volum corresponent a l'aigua MQ per tal de no patir modificacions de volum. D'aquesta mix s'utilitzaven 24 µl per cada pouet dels strips per a PCR i s'hi afegia 1 µl de cada mostra a cada pouet.

Les mostres amplificades obtingudes d'aquestes PCRs es van enviar a seqüenciar amb el mètode Sanger a GenoScreen, França.

Un cop es van rebre les seqüències es van processar amb diferents programes informàtics: el Geneious per a fer l'assemblatge de les seqüències dels diferents primers de bacteris (27F i 1492R), el 4peaks per fer les correccions necessàries de les seqüències i la plataforma d'accés lliure a Internet Blast per a identificar cadascun dels aïllats.

4. RESULTATS I DISCUSIÓ

4.1. RECOMPTE DE MICROORGANISMES

4.1.1. RECOMPTE DE BACTERIS

La concentració de bacteris a l'aire es va poder determinar en les mostres de desembre i gener (figura 4). Les concentracions variaven entre $3.5 \cdot 10^2$ i $7.5 \cdot 10^2$ bacteris·m⁻³, lleugerament per sota de les abundàncies trobades amb la mateixa metodologia a l'Atlàntic Nord, entre 10^3 i 10^4 bacteris·m⁻³[2].

En general s'observa una concentració de bacteris més elevada en el més de desembre que al gener però aquestes no són significativament diferents.

En ambdós mesos, la concentració de bacteris més baixa es va observar a la estació de Barcelona. En els registres de vent de les hores dels mostrejos (figura suplementària 13 a l'annex) ens indica que el vent bufava en la mateixa direcció en els dos mesos, cap al mar des de dins del continent, direcció Nord-oest, amb una velocitat mitjana mes elevada al desembre (figura suplementària 14 a l'annex). Hi ha estudis que indiquen que les zones costaneres afectades per vents que bufen des de el continent presenten concentracions més elevades de bacteris que no pas llocs amb vents provinents del mar [29] i que la concentració total de bacteris és generalment

més baixa a l'aire marí que en les masses d'aire del continent, donant els nostres resultats el contrari.

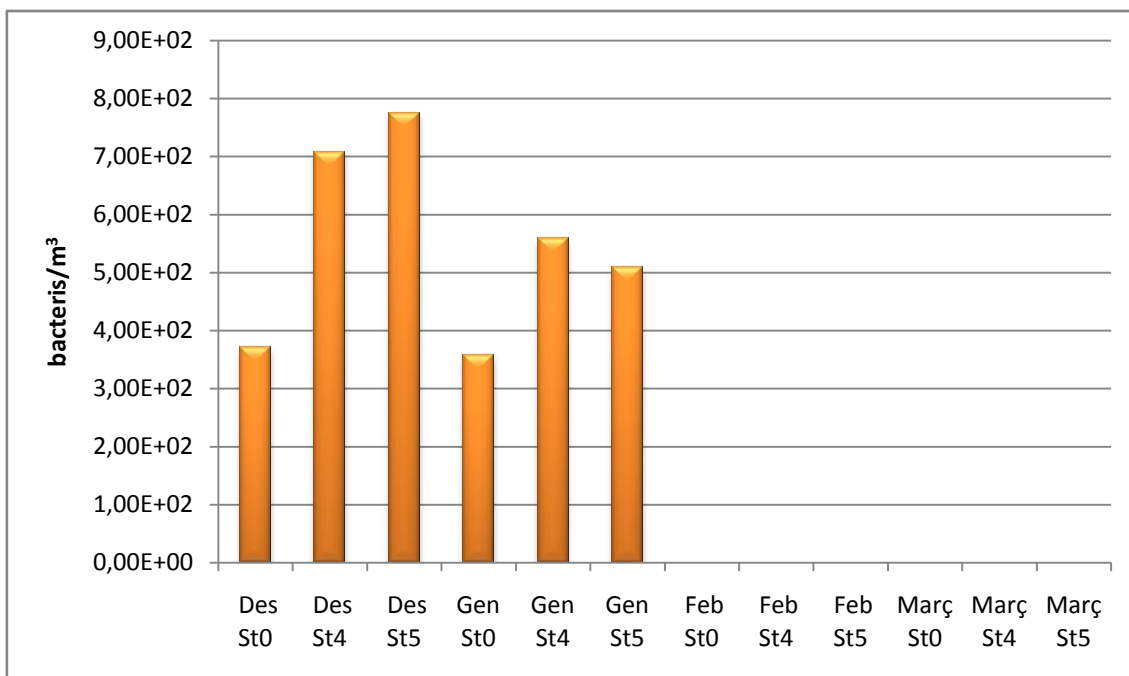


Figura 4. Concentració de bacteris en l'aire en els mostrejos de Desembre i Gener i en les estacions de l'ICM (St0) i marines (St. 4 i St. 5)

La concentració de bacteris a l'aigua de mar variava entre $1 \cdot 10^5$ i $1.3 \cdot 10^5$ (figura 5) i, en tots els mostrejos, les concentracions més elevades es trobaven a la estació 4. Aquesta es troba més propera a la costa, on hi ha més acció antropogènica[30][31][32][33] i on es troben boca de sortida d'aigües de Barcelona.

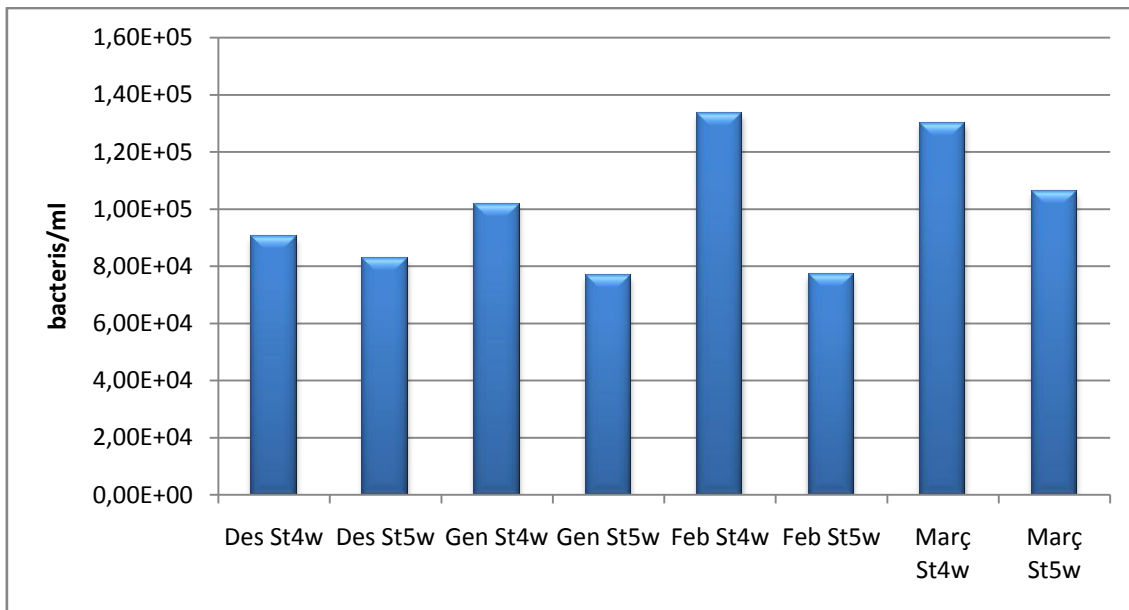


Figura 5. Concentració de bacteris en l'aigua de mar de Desembre a Març de les estacions marines 4 i 5

Les espores de fongs es van comptar després de tenyir les mostres amb calcofluor white. A l'aigua de mar no es van trobar fongs malgrat l'elevat volum d'aigua filtrat.

A l'aire, es van poder comptar les mostres de desembre, febrer i març (Figura 6). Les concentracions es troben entre $1 \cdot 10^2$ i $3 \cdot 10^2$ espores·m⁻³, les quals es troben dins el rang de les concentracions trobades a Mayol et al. (2014) [2] a l'Atlàntic Nord, que parla de nivells entre 10^2 i 10^4 d'eucariotes, fonamentalment fongs.

Contràriament al que podríem esperar, en tots els mesos es troben concentracions més elevades de fongs a la estació 5, la més allunyada de la costa. En principi, els fongs no representen una fracció elevada en l'aire marí, ja que les concentracions de fongs a l'aigua de mar són molt baixes i els oceans han de ser una font insignificant d'emissió d'espores de fongs, resultant una concentració més elevada en la costa que no pas dins el mar [34][35] i, per tant, l'origen d'aquests fongs deu ser terrestre.

Es va sotmetre aquestes dades a un test a ANOVA que indica que el febrer és el més alt i el març més baix, com es pot observar a la gràfica.

Els mesos de desembre i març les hores abans del mostreig va dominar el vent de direcció Nord-oest/Oest (figura suplementària 13 a l'annex), vent que prové de dins el continent. El cas contrari es va veure en el mes de febrer, el vent va bufar des del mar cap al continent, direcció Sud-est.

Les zones costaneres afectades per vents que bufen des de el continent haurien de presentar concentracions més elevades d'espores de fongs i de bacteris que no pas llocs amb vents provinents del mar[29], i la concentració d'espores de fongs hauria de ser més baixa a l'aire marí que en les masses d'aire del continent, però el patró que trobem nosaltres és el contrari.

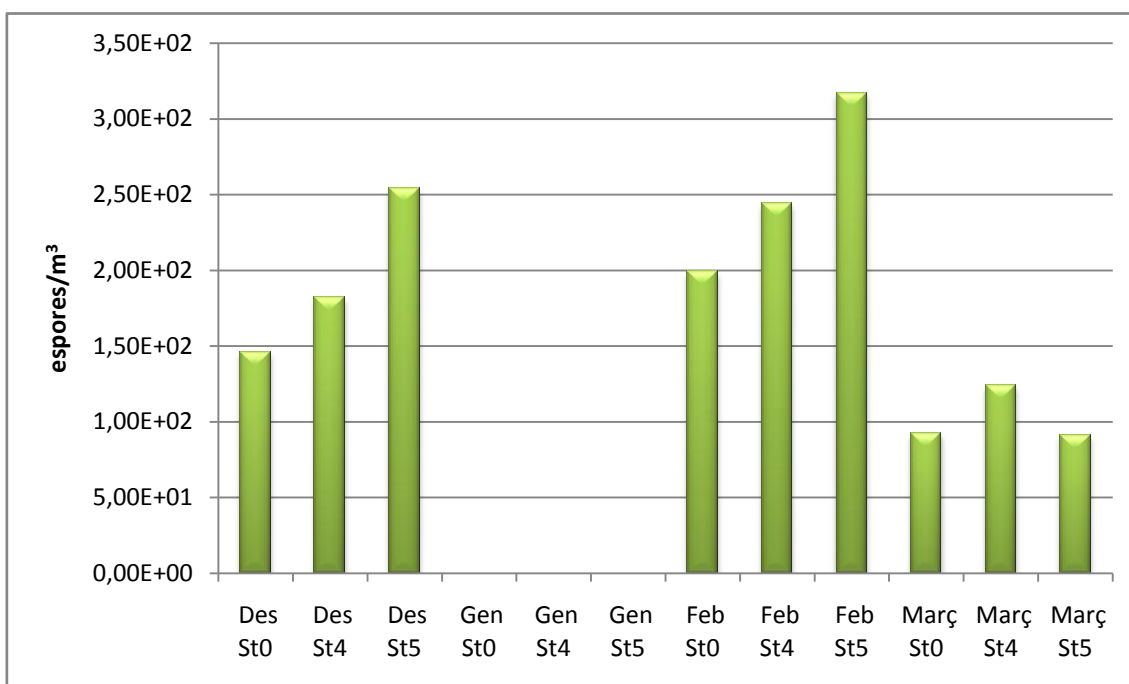


Figura 6. Concentració d'espores de fongs en l'aire en els mostrejos de Desembre a Març i en les estacions de l'ICM (St0) i marines (St 4 i St5)

4.2. RECOMPTE DE COLONIES EN PLACA DE PETRI

En les plaques de petri de medi LB (figura7) on es van sembrar mostres d'aire trobem nivells de fongs que van des de $5 \cdot 10^1$ fins a $4 \cdot 10^2$ cfu/m³ i bacteris des de la no presència fins a $3,75 \cdot 10^2$ cfu/m³. A les plaques de medi Zobell concentracions de $5 \cdot 10^1$ fins a $3 \cdot 10^2$ cfu/m³ de fongs i des de la no presència fins a $4,5 \cdot 10^2$ cfu/m³. Aquestes concentracions són molts similars entre elles i es troben en els nivells de cfus trobats per exemple a l'aire sobre el Mar Bàltic[36].

Els fongs [37] i els bacteris[38][39][40][41][42][43][44] presenten una estacionalitat en la qual les seves concentracions presenten una baixada a l'hivern i tornen a augmentar a mesura que arriba la primavera. Si ens fixem en les temperatures mitjanes de les dates dels mostrejos (figura suplementària 15 a l'annex), es veu la baixada de temperatura de desembre al gener i com a partir del febre comença a pujar al acostar-

se la primavera, coincidint els mesos més freds de l'hivern amb els nivells més baixos de fongs i bacteris.

En ambdós casos, on més colònies s'hi han format es a la St 0, que es troba al terrat de l'ICM amb una acció antropogènica més directa.

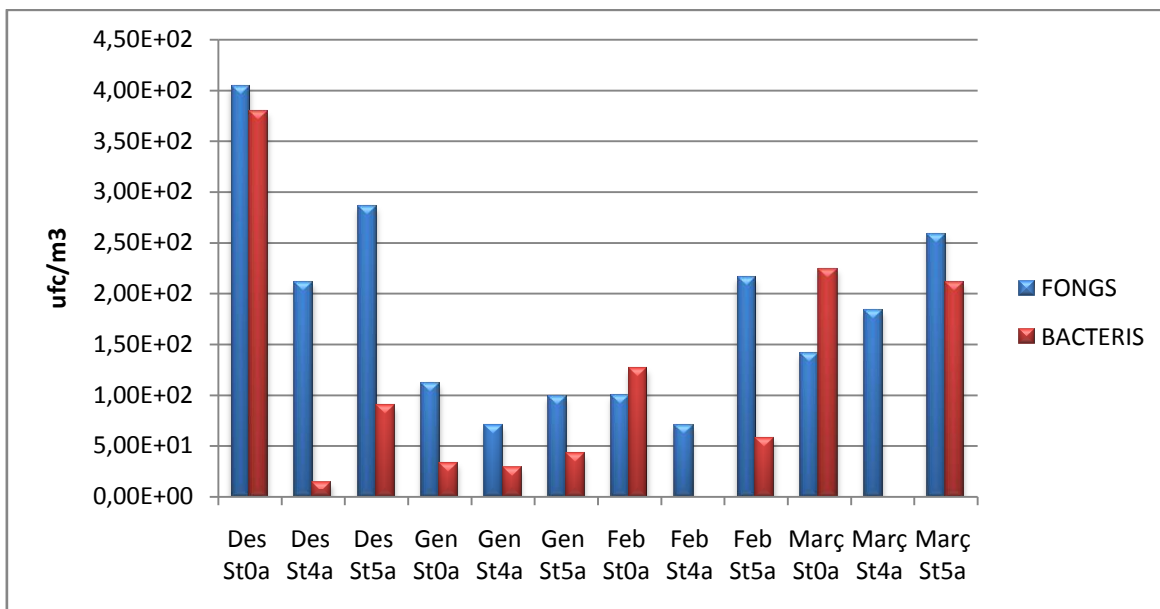


Figura 7. Recompte de colònies de fongs i bacteris en les plaques de petri en medi LB dels mostrejos d'aire de Desembre a Març i en les estacions de l'ICM (St0) i marines (St4 i St5)

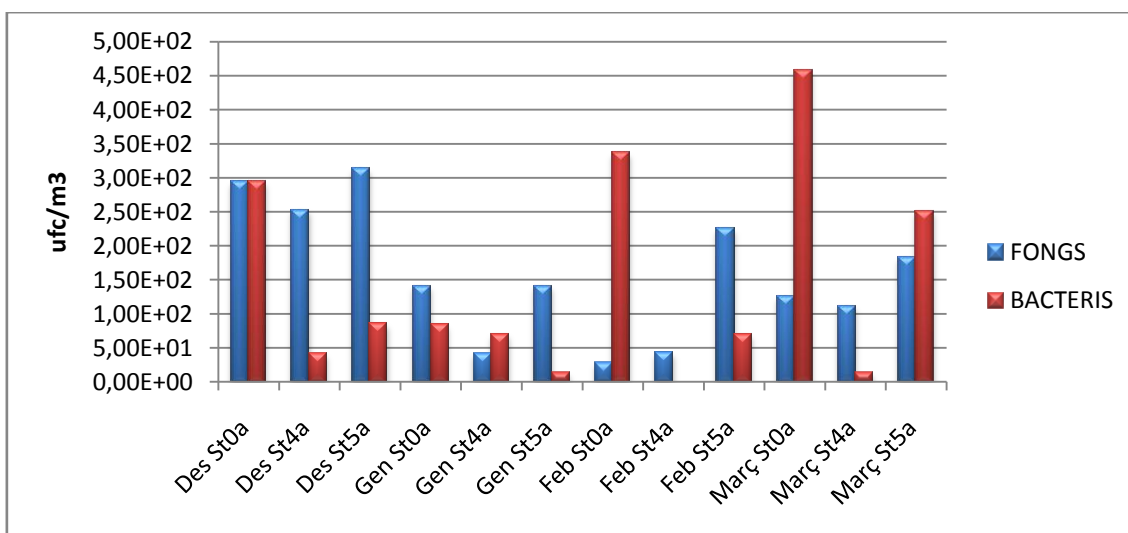


Figura 8. Recompte de colònies de fongs i bacteris en les plaques de petri en medi Zobell dels mostrejos d'aire de Desembre a Març i en les estacions de l'ICM (St0) i marines (St4 i St5)

En les plaques de l'aigua de mar es veu molt clarament, en ambdós medis de cultiu, que l'estació que presenta una concentració més elevada de UFCs de bacteris és la St 4, que al ser la més propera a la costa està més sotmesa a més pressió antropogènica [30][31][32][33].

També es pot observar que els nivells de bacteris són més elevats en el medi zobell (figura 10) que no pas en el medi LB (figura 9), ja que el medi zobell és el que conté aigua de mar.

És de remarcar el pic que es presenta en el mes de gener en l'estació 4. Aquest pic podria ser degut a que el dia del mostreig va ploure una mica (figura suplementària 16 a l'annex), i aquest fet podria haver afegit a la zona més costanera un aport de microorganismes degut a l'aigua de pluja que hi arriba desde rieres i sortides d'aigua de Barcelona.

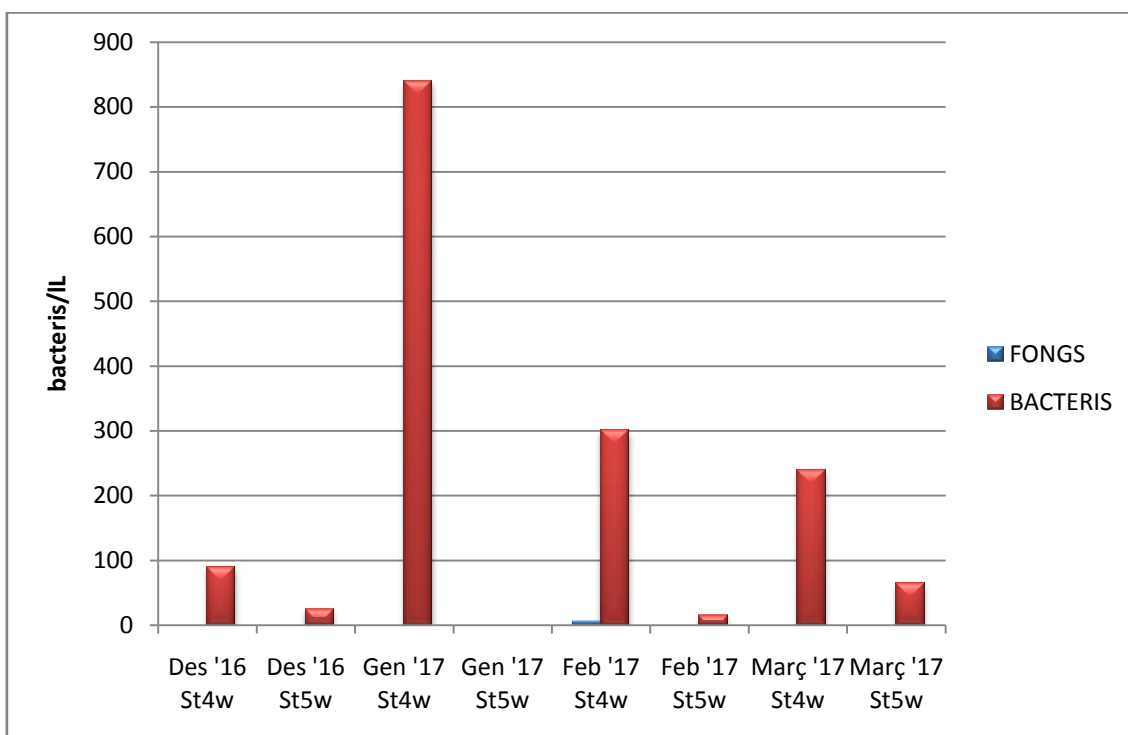


Figura 9. Recompte de colònies de fongs i bacteris en les plaques de petri en medi LB en l'aigua de mar de Desembre a Març de les estacions marines 4 i 5

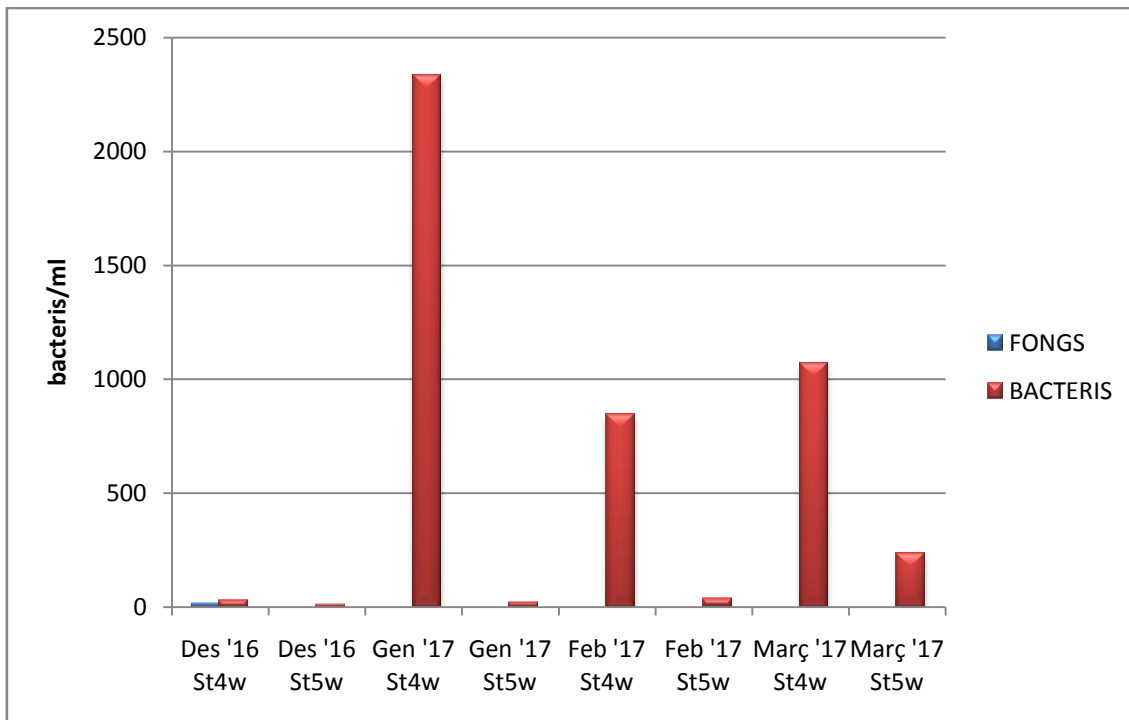


Figura 10. Recompte de colònies de fongs i bacteris en les plaques de petri en medi Zobell en l'aigua de mar de Desembre a Març de les estacions marines 4 i 5

4.3. IDENTIFICACIÓ DELS AÏLLATS

Els microorganismes aïllats en les plaques (colònies assenyalades a les figures suplementàries 1 a 12) van ser identificats mitjançant la seqüenciació del seu DNA (de la taula suplementària 1 a la 8).

En el cas dels fongs, les espècie més comunes i que s'han trobat en el les tres estacions són les *Cladosporium sp.*, així com *Penicillium sp.* El 100% de les mostres de fongs aïllades corresponen a ascomicets, que pertanyen al sub-regle *Dikarya*, el qual representa un 98% de les espècies conegudes del regne *Eumycota* (fongs)[45].

Tot i que hi ha investigacions de mostres d'aire que indiquen que hi ha una riquesa d'espècies de basidiomicets en l'aire generalment més elevada que no pas de ascomicets[45][46], altres estudis han dut a terme anàlisis comparant cultius en placa i mètodes d'anàlisis de DNA de fongs del sòl, i van trobar que un 54% de les seqüències de DNA eren de basidiomicets, però no es va poder aïllar cap en cultiu en placa.[47] Tenint això en compte, com els nostres aïllats provenen tots de cultius en

placa de petri té sentit que tots els que s'han identificat siguin ascomicets i probablement els basidiomicets que hi poguessin haver a la mostra no hagin crescut.

Per als bacteris, trobem un gran nombre d'espècies diferents en cadascuna de les diferents estacions i es poden trobar en molts tipus de medis diferents.

Un gran nombre dels aïllats que vam obtenir es poden trobar en el medi marí com ara sediments oceànics, zones costaneres o manglars, la qual cosa ens confirma un intercanvi entre el mar i l'atmosfera. Però també hi podem trobar alguns que provenen de fonts tant diverses com el sòl, sang o amfibis. Per tant, també ens confirma que a l'atmosfera hi podem trobar bacteris que han pogut ser emesos a kilòmetres de distància fins el punt on van ser mostrejats[2] i que s'emeten de la biosfera cap a l'atmosfera. [3][4][5][6]

Les tècniques dependents de cultiu normalment presenten una alta proporció de bacteris gram positiu[48], sent les espècies més comunes *Micrococcus*, *Bacillus*, i *Staphylococcus*, pertanyents als ordres *Micrococcales* i *Bacillales*. En les nostres mostres segueixen aquesta pauta i la gran majoria dels bacteris aïllats es troben dins dels gram positius, dels fílums *Actinobacteria* i *Firmicutes* i en molta menor proporció trobem bacteris del fílum *Proteobacteria*, que són gram negatius.

5. CONCLUSIONS

1) La concentració de fongs i bacteris (unitats formadores de colònies) a l'aire del litoral de Barcelona mostra:

1.1) una dinàmica temporal amb concentracions més baixes quan les temperatures són més baixes a l'hivern i un augment al pujar la temperatura cap a la primavera. D'altres factors que podrien tenir una influència sobre les concentracions de cfus com la direcció del vent o la pluja no s'ha vist que tinguin influència en els patrons observats.

1.2) Diferència espacial. En general, les abundàncies de bacteris són més abundants a la estació de Barcelona i les de fongs a la estació més de mar obert.

2) Els recomptes al microscopi de bacteris tenyits amb DAPI i els recomptes de fongs tenyits amb el calcofluor white no mostren patrons clars, possiblement per la limitació en el nombre de dades.

3) Les espècies de fongs trobades en l'aire marí i a l'aire urbà són molt similars, amb la predominança de *Cladosporium sp.* en les tres estacions, trobant una dominància absoluta d'ascomicets. En quant a les espècies de bacteris també trobem una similitud entre l'aire marí i l'urbà, amb espècies predominants dels ordres *Micrococcales* i *Bacillales*.

L'interès que ha generat aquest treball pioner ha fet que s'ampliï en el futur proper: ampliant la zona de mostreig amb una campanya oceanogràfica al setembre; ampliant la sèrie temporal iniciada i seqüenciant les mostres recollides en aquests mostrejos per identificar els fongs i bacteris mitjançant seqüenciació Illumina.

6. AGRAÏMENTS

Vull agrair a la Universitat la Barcelona i a l'Institut de ciències del mar per haver-me donat la oportunitat de treballar en aquest projecte. Als meus tutors María Montserrat Sala (ICM) i Jordi Urmeneta (UB) per tota l'ajuda i consells que m'han anat donant durant tota la realització del projecte. A l'Encarna Borull, co-directora d'aquest projecte, per tota l'ajuda, tot el que he après i les hores passades juntes al laboratori i mostrejant. També vull agrair a la Carolina Antequera, Vanessa Balagué, Celia Marrasé i la Cristina Saludes per la seva ajuda al llarg de tot el projecte i els entrebancs que han anat sorgint i tota la formació que m'han proporcionat.

Filament m'agradaria afegir que no hagués sigut el mateix sense el suport de tots els meus amics i la família.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] S. M. Burrows, W. Elbert, M. G. Lawrence, and U. Pöschl, "and Physics Bacteria in the global atmosphere – Part 1 : Review and synthesis of literature data for different ecosystems," *Atmos. Chem. Phys.*, vol. 9, no. 1987, pp. 9263–9280, 2009.
- [2] E. Mayol, M. A. Jiménez, G. J. Herndl, C. M. Duarte, and J. M. Arrieta, "Resolving the abundance and air- sea fluxes of airborne microorganisms in the North Atlantic Ocean," *Front. Microbiol.*, vol. 5, no. OCT, pp. 1–9, 2014.
- [3] B. R. T. Simoneit and M. A. Mazurek, "Organic matter of the troposphere-II. Natural background of biogenic lipid matter in aerosols over the rural western United States," *Atmos. Environ.*, vol. 16, pp. 2139–2159, 1982.
- [4] S. Matthias-Maser and R. Jaenicke, "Identification and size distribution of biological aerosol particles with radius $>0.2\mu\text{m}$," in *Nucleation and Atmospheric Aerosols*, N. Fukuta and P. E. Wagner, Eds. A. DEEPAK, 1992, pp. 413–415.
- [5] P. Artaxo and H. C. Hansson, "Size distribution of biogenic aerosol particles from the amazon basin," *Atmos. Environ.*, vol. 29, no. 3, pp. 393–402, 1995.
- [6] V. Després, J. Nowoisky, M. Klose, R. Conrad, M. Andreae, and U. Pöschl, "Molecular genetics and diversity of primary biogenic aerosol particles in urban, rural, and high-alpine air," *Biogeosciences Discuss.*, vol. 4, no. 1, pp. 349–384, 2007.
- [7] A. M. Delort *et al.*, "A short overview of the microbial population in clouds: Potential roles in atmospheric chemistry and nucleation processes," *Atmos. Res.*, vol. 98, no. 2–4, pp. 249–260, 2010.
- [8] C. E. Morris *et al.*, "Microbiology and atmospheric processes: Research challenges concerning the impact of airborne micro-organisms on the atmosphere and climate," *Biogeosciences*, vol. 8, no. 1, pp. 17–25, 2011.
- [9] T. W. Wilson *et al.*, "A marine biogenic source of atmospheric ice-nucleating particles," *Nature*, vol. 525, no. 7568, pp. 234–238, 2015.
- [10] R. L. Mancinelli and W. A. Shulls, "Airborne Bacteria in an Urban Environment," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 35, no. 6, pp. 1095–1101, 1978.
- [11] T. Maki *et al.*, "Phylogenetic analysis of atmospheric halotolerant bacterial communities at high altitude in an Asian dust (KOSA) arrival region, Suzu City," *Sci. Total Environ.*, vol. 408, no. 20, pp. 4556–4562, 2010.
- [12] C. R. Kuske, "Current and emerging technologies for the study of bacteria in the outdoor air," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 17, no. 3, pp. 291–296, 2006.
- [13] J. Peccia and M. Hernandez, "Incorporating polymerase chain reaction-based identification, population characterization, and quantification of microorganisms into aerosol science: A review," *Atmos. Environ.*, vol. 40, no. 21, pp. 3941–3961, 2006.
- [14] R. I. Amann, W. Ludwig, and K. H. Schleifer, "Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation . Phylogenetic Identification

- and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation," *Microbiol. Rev.*, vol. 59, no. 1, pp. 143–169, 1995.
- [15] P. Bridge and B. Spooner, "Soil fungi: Diversity and detection," *Plant Soil*, vol. 232, no. 1–2, pp. 147–154, 2001.
- [16] J. Fröhlich-Nowoisky *et al.*, "Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions," *Atmos. Res.*, vol. 182, pp. 346–376, 2016.
- [17] B. Christner, "Cloudy with a chance of microbes," *Microbe* 7, vol. 2, pp. 70–74, 2012.
- [18] J. Martiny *et al.*, "Microbial biogeography: Putting microorganisms on the map," *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 4, pp. 102–112, 2006.
- [19] A. Womack, B. Bohannan, and J. Green, "Biodiversity and biogeography of the atmosphere," *Philos Trans R Soc L. B Biol Sci*, vol. 365, pp. 3645–3653, 2010.
- [20] V. Kurup, H.-D. Shen, and B. Banerjee, "Respiratory fungal allergy," *Microbes Infec*, vol. 2, pp. 1101–1110, 2000.
- [21] A. Adhikari, M. Sen, S. Gupta-Bhattacharya, and S. Chanda, "Airborne viable, nonviable, and allergenic fungi in a rural agricultural area of India: A 2-year study at five outdoor sampling stations," *Sci Total Env.*, vol. 326, pp. 123–141, 2004.
- [22] J. Brown and M. Hovmøller, "Epidemiology—Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease," *Science (80-.)*, vol. 297, pp. 537–541, 2002.
- [23] K. G. . PORTER and Y. S. FEIG, "The use of DAPI for identifying and counting aquatic microfloral," *Limnol. Ocean.*, vol. 25, pp. 943–948, 1980.
- [24] S. M. Bellés-Garulera J, Vila M, Borrull E, Riobó P, Franco JM, "Variability of planktonic and epiphytic vibrios in a coastal environment affected by *Ostreopsis* blooms.," *Sci Mar*, vol. 80, no. 1, pp. 97–106, 2016.
- [25] S. Rasconi, M. Jobard, L. Jouve, and T. Sime-Ngando, "Use of calcofluor white for detection, identification, and quantification of phytoplanktonic fungal parasites," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 75, no. 8, pp. 2545–2553, 2009.
- [26] C. A. Scholin, M. Herzog, M. Sogin, and D. M. Andreson, "Identification of group and strain specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (dinophyceae)." 1994.
- [27] G. B. Nunn, B. F. Theisen, B. Christensen, and P. Arctander, "Simplicity-correlated size growth of the nuclear 28S ribosomal RNA D3 expansion segment in the crustacean order Isopoda," *J. Mol. Evol.*, vol. 42, no. 2, pp. 211–223, 1996.
- [28] E. Bellemain, T. Carlsen, C. Brochmann, E. Coissac, P. Taberlet, and H. Kausrud, "ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases.," *BMC Microbiol.*, vol. 10, p. 189, 2010.
- [29] J. Prospero, E. Blades, G. Mathison, and R. Naidu, "Interhemispheric transport of viable fungi and bacteria from Africa to the Caribbean with soil dust," *Aerobiologia (Bologna)*, vol. 21, pp. 1–19, 2005.
- [30] L. Ignatiades, K. Pagou, and A. Vassiliou, "Long term response of six diatom species to

- eutrophication," *Oceanol. Acta*, vol. 9, pp. 449–456, 1986.
- [31] O. Gotsis-Skretas and N. Friligos, "Contribution to eutrophication and phytoplankton ecology in the Thermaikos Gulf," *Thalassographica*, vol. 13, pp. 1–12, 1990.
- [32] K. Pagou, "Eutrophication problems in Greece. Water Pollution," *Res. Reports*, vol. 16, pp. 97–114, 1990.
- [33] L. Pagou, K. & Ignatiades, "Phytoplankton seasonality patterns in eutrophic marine coastal waters," *Biol. Oceanogr.*, vol. 5, pp. 229–241, 1988.
- [34] W. Elbert, P. E. Taylor, M. O. Andreae, and U. Pöschl, "Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions," *Atmos. Chem. Phys.*, vol. 7, no. 17, pp. 4569–4588, 2007.
- [35] C. L. Heald and D. V. Spracklen, "Atmospheric budget of primary biological aerosol particles from fungal spores," *Geophys. Res. Lett.*, vol. 36, no. 9, pp. 1–5, 2009.
- [36] R. Marks, K. Kruczalok, K. Jankowska, and M. Michalska, "Bacteria and fungi in air over the Gulf of Gdańsk and Baltic sea," *J. Aerosol Sci.*, vol. 32, pp. 237–250, 2001.
- [37] J. Fröhlich-Nowoisky, D. A. Pickersgill, V. R. Després, and U. Pöschl, "High diversity of fungi in air particulate matter.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, no. 31, pp. 12814–12819, 2009.
- [38] S. M. Pady and C. D. Kelly, "Aerobiological Studies of Fungi and Bacteria Over the Atlantic Ocean," *Can. J. Bot.*, vol. 32, no. 1, pp. 202–212, 1954.
- [39] A. Bovallius, B. Bucht, R. Roffey, and P. Anas, "Three-year investigation of the natural airborne bacterial flora at four localities in Sweden," *Appl. Environ. Microb.*, vol. 35, pp. 847–52, 1978.
- [40] I. Rosas, A. Yela, and C. Santos-Burgoa, "Occurrence of airborne enteric bacteria in Mexico City," *Aerobiologia (Bologna)*, vol. 10, pp. 39–45, 1994.
- [41] C. di Giorgio, A. Krempff, H. Guiraud, P. Binder, C. Turet, and G. Dumenil, "Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the city of Marseilles," *Atmos. Environ.*, vol. 30, pp. 155–160, 1996.
- [42] Y. Tong and B. Lighthart, "The annual bacterial particle concentration and size distribution in the ambient atmosphere in a rural area of the Willamette Valley, Oregon," *Aerosol Sci. Tech.*, vol. 32, pp. 393–403, 2000.
- [43] A. Borodulin, A. Safatov, B. Belan, and M. Panchenko, "Measurement errors in determining tropospheric bioaerosol concentrations in the southern region of Western Siberia, Doklady," *Biol. Sci.*, vol. 403, pp. 260–262, 2005.
- [44] R. Harrison *et al.*, "Climate factors influencing bacterial count in background air samples," *Int. J. Biometeorol.*, vol. 49, pp. 167–178, 2005.
- [45] T. James *et al.*, "Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny," *Nature*, vol. 443, pp. 509–547, 2006.
- [46] T. de Meeus and F. Renaud, "Parasites within the new phylogeny of eukaryotes," *Trends Parasitol.*, vol. 18, pp. 247–251, 2002.

- [47] J. Hunt, L. Boddy, P. Randerson, and H. Rogers, "Anevaluation of 18S rDNA approaches for the study of fungal diversity in grassland soils.," *Microb. Ecol*, vol. 47, pp. 385–395, 2004.
- [48] R. M. Atlas and R. Bartha, *Microbial ecology: fundamentals and applications*. San Francisco, CA.: Benjamin/Cummings Publishing Co. Inc., 1997.

ANNEX

Taula suplementària 1. Identificació dels aïllats de bacteris obtinguts de les colònies marcades a les figures suplementàries 1 - 12 de la mostra de la estació 0 (ICM).

BACTERIS	ID	Localització	Grup taxonomic	Referencia
<i>Brachybacterium</i> <i>sp. PETBA02</i>	1	Todos os Santos Bay oil- contaminated mangrove	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Dermabacteraceae; Brachybacterium.	Angelim et al. (2013)
<i>Microbacterium</i> <i>sp.</i>	2	heavy metal contaminated soil	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; Microbacterium.	Xiong (2016)*
<i>Kocuria sp.</i>	3		Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Kocuria.	Duan et al. (2016)*
<i>Rhodococcus sp.</i> <i>A2-67</i>	4	Urgeirica mine, water and sediments	Bacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Nocardiaceae; Rhodococcus.	Chung,A.P. and Morais,P.V. 2013)*
<i>uncultured</i> <i>bacterium</i>	5	skin, popliteal fossa	Bacteria; environmental samples.	Kong et al. (2012)
<i>Kocuria rosea</i>	6		Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Kocuria.	Jiang (2016)*
<i>Arthrobacter agilis</i>	7	ocean sediment	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Arthrobacter.	Yuan et al. (2014)
<i>Staphylococcus</i> <i>equorum</i>	8	Rhizosphere of halophyte	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus.	Mukhtar et al. (2017)*
<i>Microbacterium</i> <i>sp. Zs3</i>	9	rizosphere soil	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; Microbacterium.	Song et al. (2012)*
<i>Micrococcus</i> <i>flavus</i>	10	permafrost soil	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Micrococcus.	Zhang (2014)*
<i>Arthrobacter agilis</i>	11	sediment	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Arthrobacter.	Zhang et al. (2013)*
<i>Brachybacterium</i> <i>sp. DoB74</i>	12	Dendrobium officinale	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Dermabacteraceae; Brachybacterium.	Lu,B.-B. and Ding,X.-Y. (2012)*
<i>Sphingomonas</i> <i>roseiflava</i>	13	mulberry	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas.	Jie,X. and Ren,H. (2015)*
<i>Brevundimonas</i> <i>vesicularis</i>	14	Blood	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Caulobacterales; Caulobacteraceae;	Goldberg et al. (2017)*

			Brevundimonas.	
<i>Agrococcus jenensis</i>	15	rhizosphere soil of <i>Bashania fangiana</i>	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; <i>Agrococcus</i> .	Li et al. (2013)*
<i>Sphingomonas sp. PDD-69b-4</i>	16	cloud water	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; <i>Sphingomonas</i> .	Sancelme et al. (2015)*
<i>Kocuria sp.</i>	17		Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; <i>Kocuria</i> .	Duan et al. (2016)*
<i>Fron dih abitans sp. L370</i>	18	forest litter	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; <i>Fron dih abitans</i> .	Lopez-Mondejar et al. (2016)
<i>Planomicrobium sp. TPD46</i>	19	permafrost	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Planococcaceae; <i>Planomicrobium</i> .	Dong et al. (2010)*
<i>Paracoccus sp.</i>	20	phycosphere	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; <i>Paracoccus</i> .	Tang (2017)*
<i>Microbacterium sp. A3_20</i>	21	host="Prosuberites laughlini	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; <i>Microbacterium</i> .	Vicente et al. (2013)
<i>Kocuria rosea</i>	22	Ugan River	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; <i>Kocuria</i> .	Rozahon (2013)*
<i>Paracoccus sp.</i>	23	soil	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; <i>Paracoccus</i> .	Yan,Z.-F. and Yi,T.-H. (2016)*
<i>Micrococcus sp.</i>	24	Mount Emei soil	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; <i>Micrococcus</i> .	Zhou et al. (2013)*
<i>Arthrobacter sp. RF-3</i>	25	tobacco waste-contaminated soil	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; <i>Arthrobacter</i> .	Ruan,A. and Fang,C. (2015)*
<i>Kocuria rosea</i>	26	permafrost soils	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; <i>Kocuria</i> .	Hu (2013)*
<i>Pantoea sp. SB547</i>	27	clinical samples	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Erwiniaceae; <i>Pantoea</i> .	Deletoile et al. (2009)
<i>Agrococcus sp. MDT1-82</i>	28	glacier	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; <i>Agrococcus</i> .	Liu et al. 2012)*
<i>Microbacterium oleivorans</i>	29	Human stool	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae;	Raoult (2016)*

			Microbacterium.	
<i>Kocuria rosea</i>	30		Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Kocuria.	Jiang (2016)*
<i>Bacillus sp.</i>	31		Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus.	Chung et al. (2013)*
<i>Pseudarthrobacter siccitolerans</i>	32	soil	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Pseudarthrobacter.	Gao (2017)*
<i>Staphylococcus sp. 09BS3-3</i>	33	Baltic Sea	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus.	Liu et al. (2010)*
<i>Brevibacterium sp.</i>	34	coastal sediment of Yellow Sea	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Brevibacteriaceae; Brevibacterium	Zhu (2016)*
<i>Janibacter anophelis</i>	35	Ugan River	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Intrasporangiaceae; Janibacter.	Abburahman (2016)*

Taula suplementària 2. Identificació dels aïllats de fons (regió LSU) obtinguts de les colònies marcades a les figures suplementàries 1 - 12 de la mostra de la estació 0 (ICM).

FONGS LSU	ID	Localització	Grup taxonomic	Referencia
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	36	alkaline soil near Alla river, Trans-Baikal area	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Grum-Grzhimaylo et al. (2016)
<i>Penicillium paxilli</i>	37	stem and leaves of host	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Penicillium.	Gazis, R. and Chaverri, P. (2010)
<i>Myrmecridium schulzeri</i>	38	blood	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Sordariomycetidae; Myrmecridiales; Myrmecridiaceae; Myrmecridium.	Liu et al. (2016)*
<i>Cladosporium sp. P554</i>	39		Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Phengsintham et al. (2013)
<i>Acremonium</i>	40		Eukaryota; Fungi; Dikarya;	Summerbell et al.

<i>alternatum</i>			Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Hypocreales incertae sedis; Acremonium.	(2011)
<i>Penicillium citrinum</i>	41	sediment below ocean floor	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Penicillium.	Liu et al. (2016)
<i>Cladosporium sp.</i>	42	coastal	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Wang et al. (2017)*
<i>Hirsutella sp. C YA-2015</i>	43		Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Ophiocordycipitaceae; Hirsutella.	Agrawal et al. (2014)*
<i>Cladosporium sp.</i>	44		Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Pogner et al. (2017)*
<i>Alternaria alternata/Alternaria tenuissima</i>	45	Actinidia chinensis (kiwifruit)/Tamarix gallica	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae; Pleosporaceae; Alternaria.	Li et al. (2016)/ Thambugala et al. (2017)
<i>Cladosporium sp.</i>	46	coastal	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Wang et al. (2017)*
<i>Cladosporium sp.</i>	47	coastal	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Wang et al. (2017)*

Taula suplementària 3. Identificació dels aïllats de fongs (regió ITS) obtinguts de les colònies marcades a les figures suplementàries 1 - 12 de la mostra de la estació 0 (ICM).

FONGS ITS	ID	Localitació	Grup taxonomic	Referencia
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	48	pear surface	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Volschenk, Q. and Korsten, L. (2015)*
<i>Penicillium copticola</i>	49	hair	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Penicillium	Xiang et al. (2016)*
<i>Myrmecridium sp. TMS-2011</i>	50	host="Saccharum officinarum"	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Sordariomycetidae; Myrmecridiales; Myrmecridiaceae; Myrmecridium.	Shrestha et al. (2011)
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	51	plastic debris	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Brunner (2017)*
<i>uncultured fungus</i>	52	air samples	Eukaryota; Fungi; environmental samples.	Lee et al (2010)
<i>Penicillium citrinum</i>	53	mangrove sediment	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Penicillium	Anburaj et al. (2017)*
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	54	petroleum contaminated soils	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Mohammadian et al. (2017)
<i>Sarocladium glaucum</i>	55	Woolen overcoat	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Hypocreales incertae sedis; Sarocladium.	Kiyuna et al. (2011)*
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	56	wooden organ pipe	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Buckova et al. (2017)*

<i>Alternaria alternata/Alternaria tenuissima</i>	57	tea plant/air	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae; Pleosporaceae; Alternaria.	Akbari-Kiarod et al. (2017)/Shokoohi et al. (2017)*
<i>Aspergillus ochraceus</i>	58	poplar bark	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Aspergillus.	Kim (2016)*
<i>Cladosporium subcinereum</i>	59	sputum	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Sandoval-Denis et al. (2015)
<i>Cladosporium ramotenellum</i>	60	indoor air	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Demirel (2016)*

Taula suplementària 4. Identificació dels aïllats de fongs (regió LSU) obtinguts de les colònies marcades a les figures suplementàries 1 - 12 de la mostra de la estació 4

BACTERIS	ID	Localització	Grup taxonòmic	Referència
<i>Erythrobacter vulgaris</i>	61	Svalbard, Kongsfjorden water	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Erythrobacteraceae; Erythrobacter.	Mohammed Hatha et al. (2014)*
<i>Bacillus cereus</i>	62	Salad	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus; Bacillus cereus group.	Lee et al. (2016)*
<i>Brachybacterium muris</i>	63	host=Halostachys caspica	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Dermabacteraceae; Brachybacterium.	Zhao (2013)*

Taula suplementària 5. Identificació dels aïllats de fongs (regió LSU) obtinguts de les colònies marcades a les figures suplementàries 1 - 12 de la mostra de la estació 5

FONGS LSU	ID	Localització	Grup taxonòmic	Referència
<i>Cladosporium sp.</i>	66	coastal	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales;	Wang et al. (2017)*

			Cladosporiaceae;Cladosporium.	
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	67	leaf bracts	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae;Cladosporium.	Crous,P.W. and Groenewald,J.Z. (2011)
<i>Aspergillus tabacinus</i>	68	sediment below ocean floor	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Aspergillus.	Liu et al. (2016)
<i>Cladophialophora bantiana</i>	69	deep-subseafloor sediments	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Chaetothyriomycetidae; Chaetothyriales; Herpotrichiellaceae; Cladophialophora.	Redou et al. (2015)

Taula suplementària 6 . Identificació dels aïllats de fongs (regió ITS) obtinguts de les colònies marcades a les figures suplementàries 1 - 12 de la mostra de la estació 4

FONGS ITS	ID	Localització	Grup taxonomic	Referencia
<i>Cladosporium ramotenellum</i>	70	indoor air	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Demirel (2016)*
<i>Fusarium proliferatum</i>	71	flower	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; Fusarium; Fusarium fujikuroi species complex.	Katoch et al. (2017)
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	72		Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Liu et al. (2015)*
<i>Penicillium brevicompactum</i>	73	Sceletuim leaves and roots	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Penicillium.	Manganyi et al. (2017)*

Taula suplementària 7. Identificació dels aïllats de bacteris obtinguts de les colònies marcades a les figures suplementàries 1 - 12 de la mostra de la estació 5

BACTERIS	ID	Localització	Grup taxonòmic	Referència
<i>Paracoccus sp.</i>	74	soil	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Paracoccus.	Yan,Z.-F. and Yi,T.-H. (2016)*
<i>Salana sp. HP7M</i>	75	amphibian	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Beutenbergiaceae; Salana.	Walke et al. 2015
<i>Rhodococcus sp. B205-C3</i>	76	sediment of high-arsenic groundwater	Bacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Nocardiaceae; Rhodococcus	Zeng,X.-C. and Zhou,L. (2014)*
<i>Paracoccus sp. QUEBA07</i>	77	Todos os Santos Bay oil-contaminated mangrove	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Paracoccus.	Angelim,A.L. and Melo,V.M.M. (2012)*
<i>Virgibacillus sp.</i>	78	marine sediment	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Virgibacillus.	Wang (2017)*
<i>Micrococcus endophyticus</i>	79	rhizosphere of Aster spathulifolius Maximowicz (Maxim.) native to seashore of the East Sea, S.Korea	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Micrococcus.	You,Y.H. and Kim,J.G. (2015)*
<i>Microbacterium sp. 9-3</i>	80	honeydew	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; Microbacterium.	Wang et al. (2013)*
<i>Microbacterium sp.</i>	81	heavy metal contaminated soil	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; Microbacterium.	Xiong (2016)*
<i>Salana sp. HP7M</i>	82	amphibian	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Beutenbergiaceae; Salana.	Walke et al. (2014)
<i>Paracoccus sp. B203-U6</i>	83	sediment of high-arsenic groundwater	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Paracoccus.	Zeng,X.-C. and Zhou,L. (2014)*
<i>Micrococcus flavus</i>	84	permafrost soil	Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Micrococcus.	Zhang (2014)*
<i>Kocuria rosea</i>	85		Bacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Kocuria.	Jiang (2016)*

Taula suplementària 8. Identificació dels aïllats de fongs (regió LSU) obtinguts de les colònies marcades a les figures suplementàries 1 - 12 de la mostra de la estació 5

FONGS LSU	ID	Localització	Grup taxonomic	Referencia
<i>Cladosporium sp.</i>	86		Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Pogner et al. (2017)*
<i>Cladosporium sp.</i>	87	coastal	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Wang et al. (2017)*
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	88	leaf bracts	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Crous, P.W. and Groenewald, J.Z. (2011)
<i>Cladosporium sp.</i>	89	coastal	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Wang et al. (2017)*
<i>Cladosporium sp.</i>	90	coastal	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Wang et al. (2017)*
<i>Pseudopithomyces karoo</i>	91	Dead stem	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Massarineae; Didymosphaeriaceae; Pseudopithomyces.	Da Cunha et al. (2014)*

Taula suplementària 9. Identificació dels aïllats de fongs (regió ITS) obtinguts de les colònies marcades a les figures suplementàries 1 - 12 de la mostra de la estació 5

FONGS ITS	ID	Localització	Grup taxonomic	Referencia
<i>Cladosporium crousii</i>	92	bronchoalveolar lavage fluid	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales;	Sandoval-Denis et al. (2015)

			Cladosporiaceae; Cladosporium.	
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	93	organic debris	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Shokoohi et al. (2017)*
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	94		Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Liu et al. (2015)*
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	95	organic debris	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Shokoohi et al. (2017)*
<i>Cladosporium tenellum/Cladosporium cladosporioides</i>	96	Hamoon/plant	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Abbasi et al. (2017)*/Shokoohi et al. (2017)*
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	97	petroleum contaminated soils	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae; Cladosporium.	Mohammadian et al. (2017)*
<i>Penicillium buchwaldii</i>	98	wheat flour	Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Penicillium.	Frisvad et al. (2013)

Figura suplementària 1. Placa de petri amb medi LB St0 rèplica A, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules suplementàries.

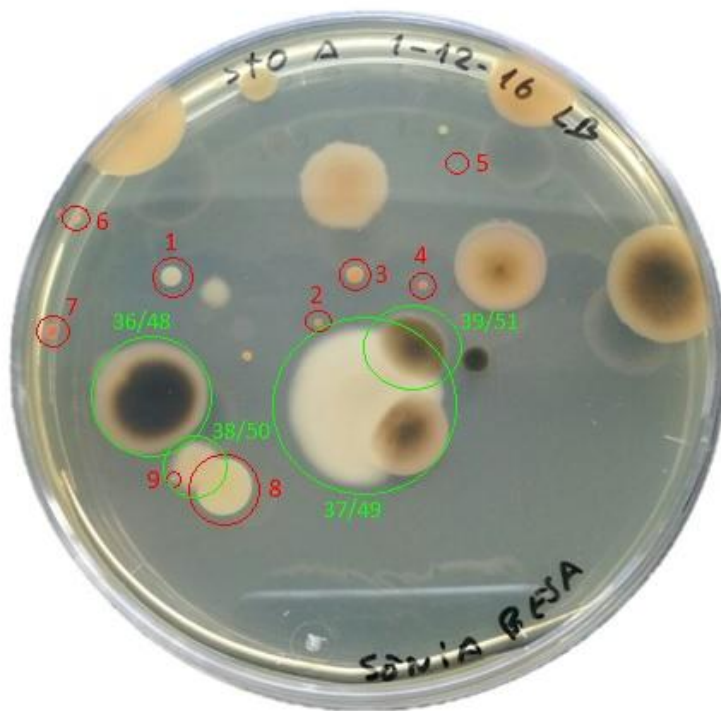


Figura suplementària 2. Placa de petri amb medi LB St0 rèplica B, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules suplementàries.

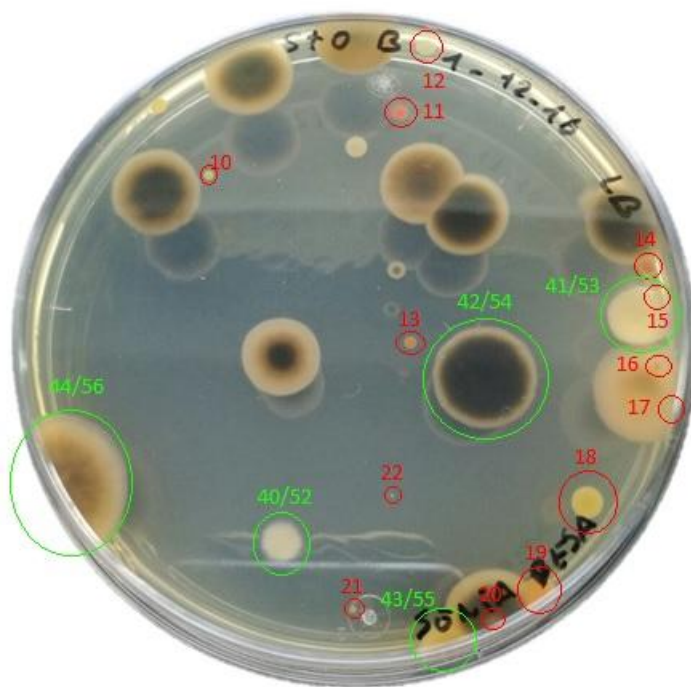


Figura suplementària 3. Placa de petri amb medi Zobell St0 rèplica A, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules suplementàries.

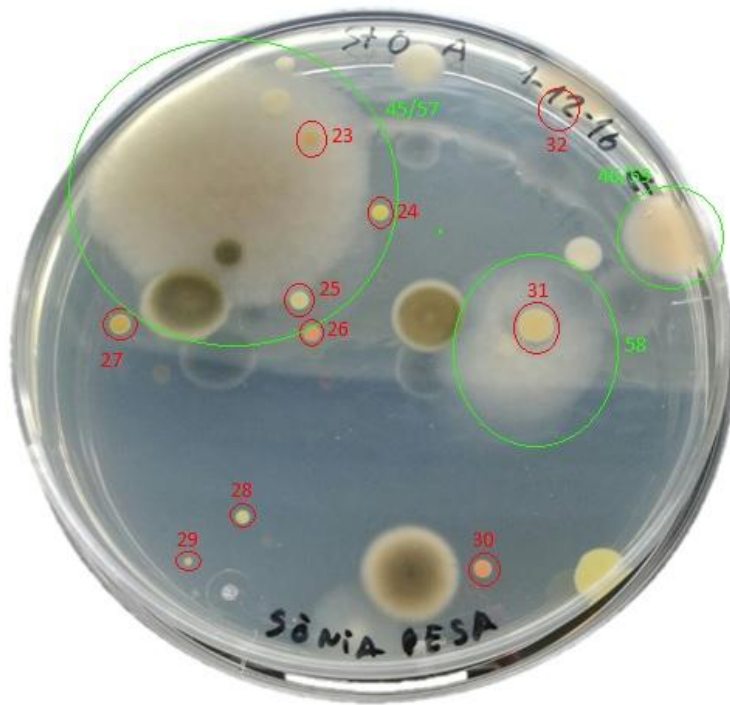


Figura suplementària 4. Placa de petri amb medi Zobell St0 rèplica B, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules suplementàries.

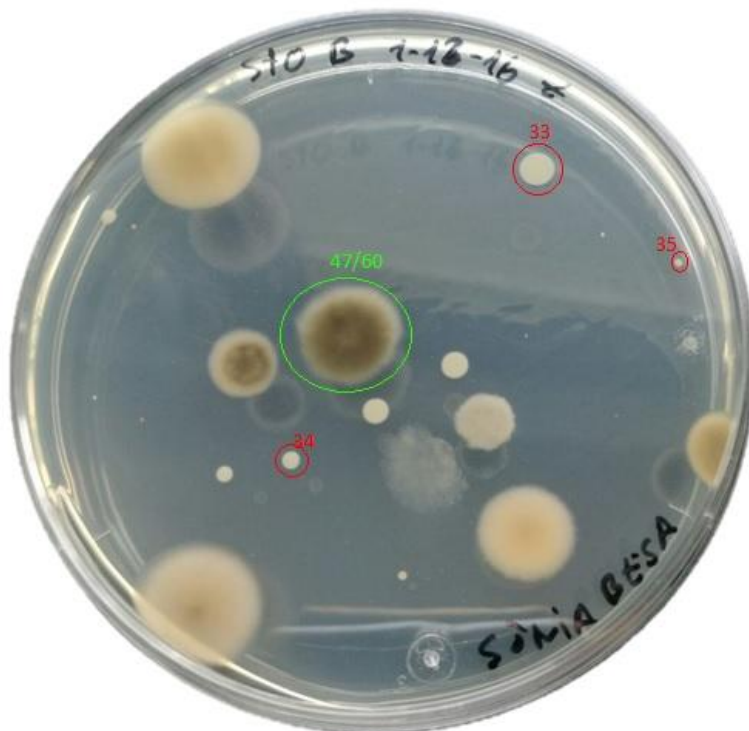


Figura suplementària 5. Placa de petri amb medi LB St4 replica A, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules sumplentàries.

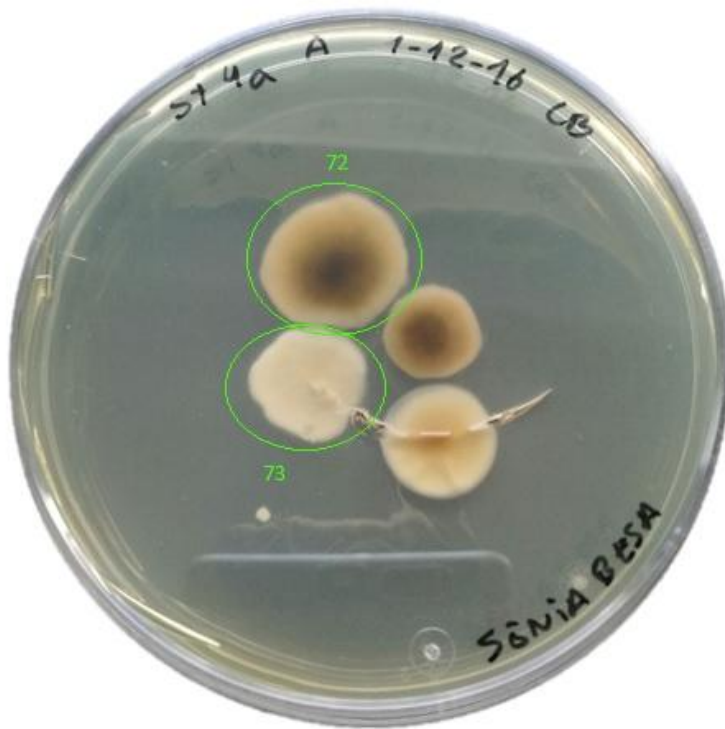


Figura suplementària 6. Placa de petri amb medi LB St4 replica B, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules sumplentàries.



Figura suplementària 7. Placa de petri amb medi Zobell St4 replica A, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules sumplentàries.

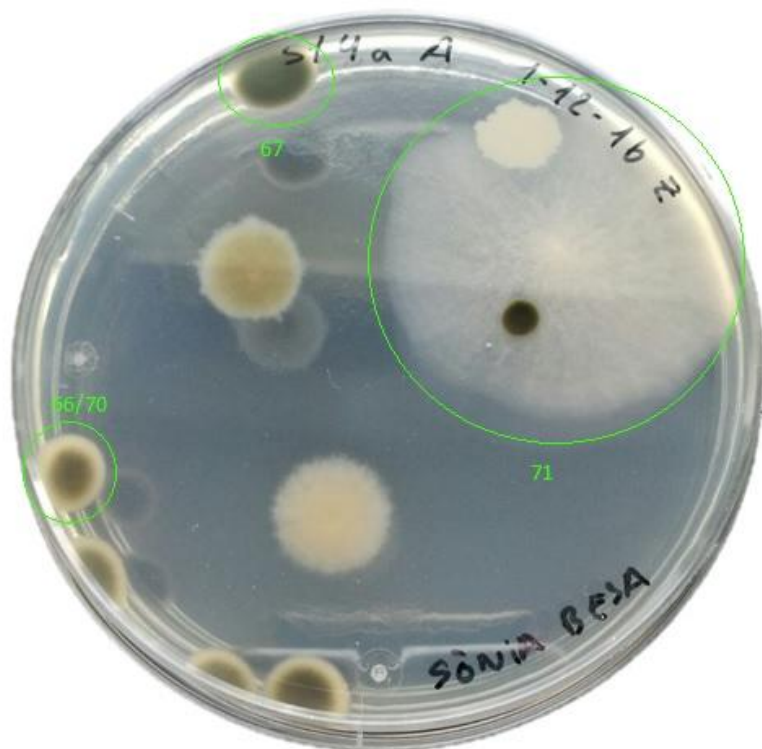


Figura suplementària 8. Placa de petri amb medi Zobell St4 replica B, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules sumplentàries.

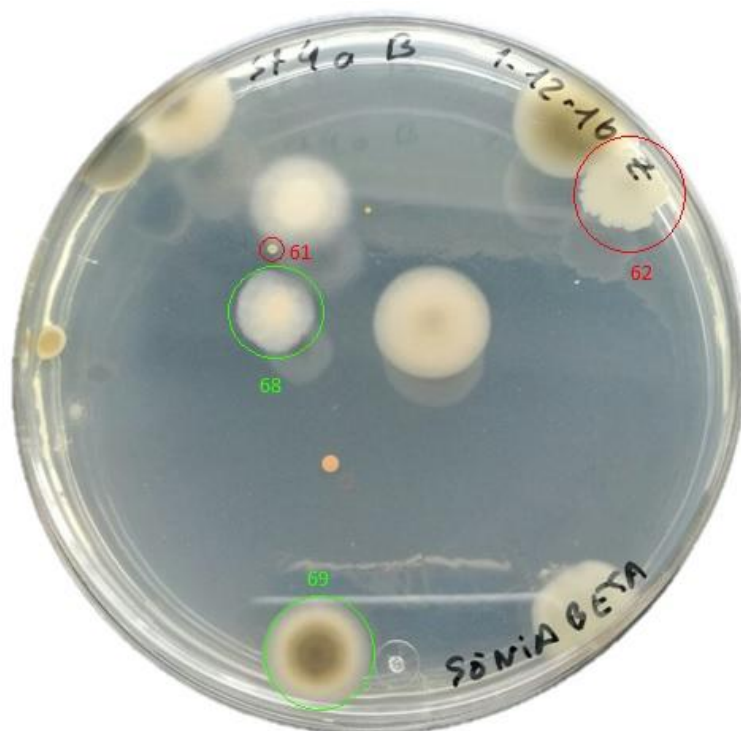


Figura suplementària 9. Placa de petri amb medi LB St5 replica A, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules suplementàries.



Figura suplementària 10. Placa de petri amb medi LB St5 replica B, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules suplementàries.

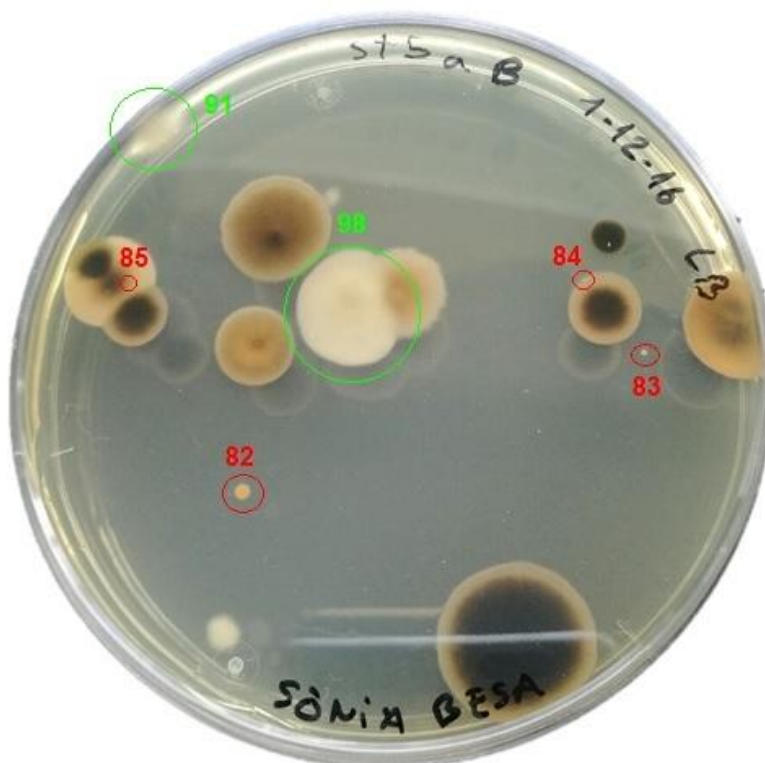


Figura suplementària 11. Placa de petri amb medi Zobell St5 replica A, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules suplementàries.

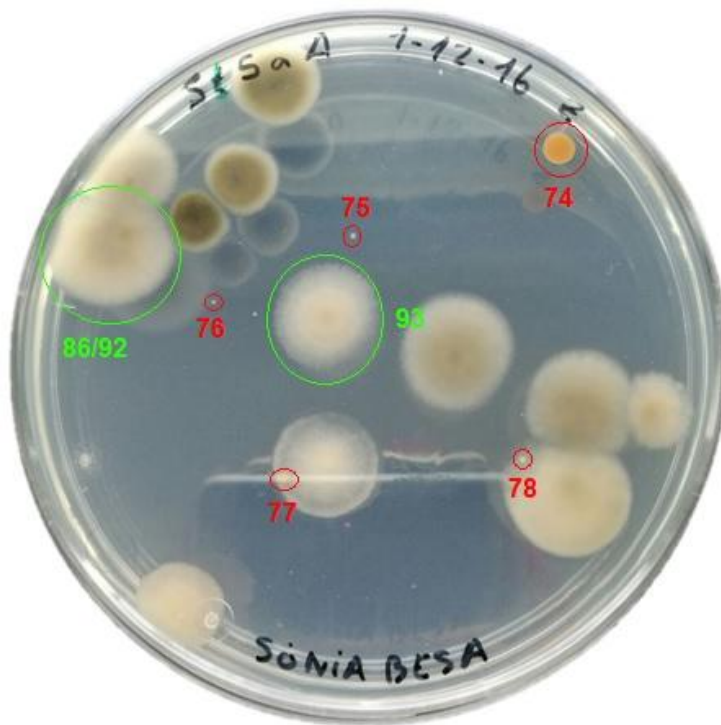


Figura suplementària 12. Placa de petri amb medi Zobell St5 replica B, marcada amb els fongs (verd) i els bacteris (vermell) i la ID corresponent a les taules suplementàries.

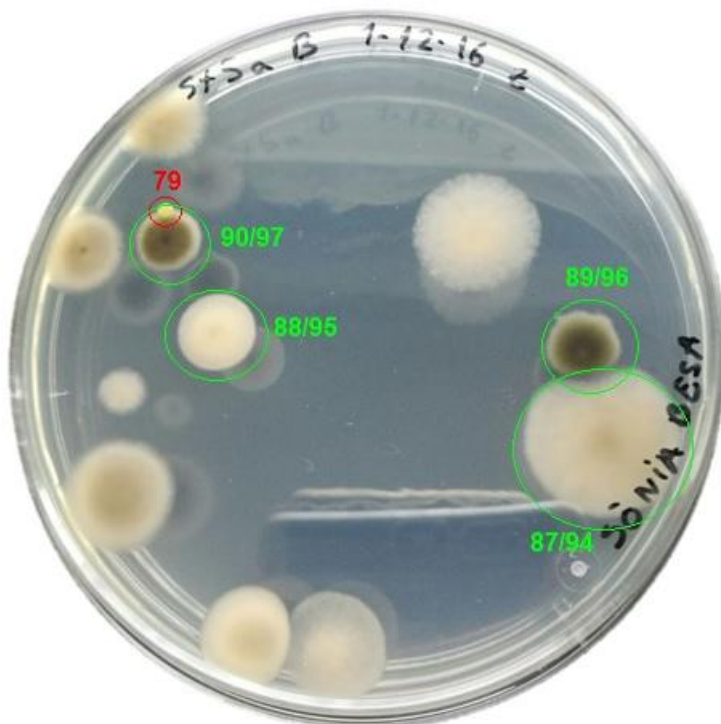


Figura suplementària 13. Direcció mitjana del vent els dies dels mostrejos de 9:00 a 12:00.

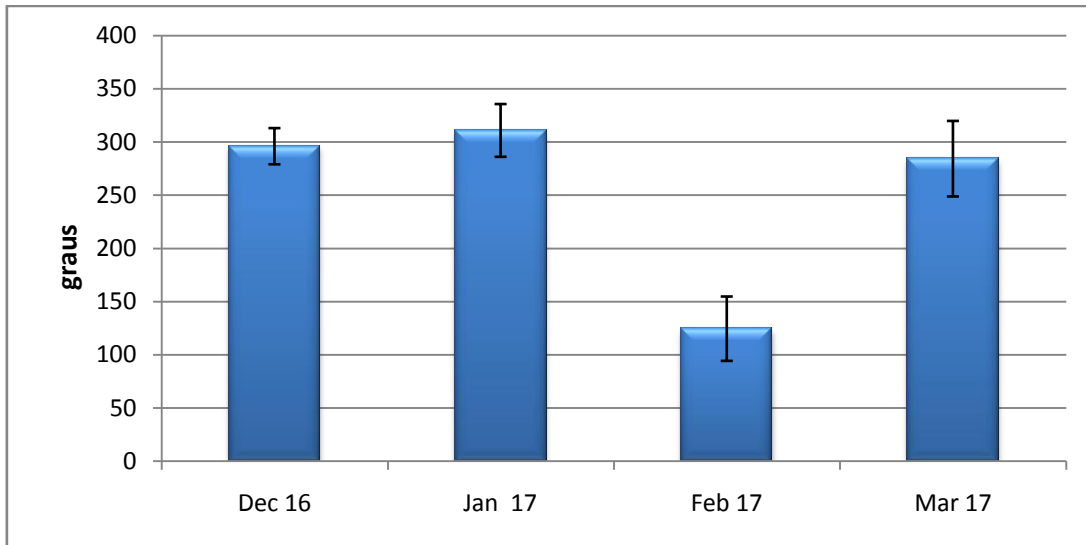


Figura suplementària 14. Velocitat mitjana del vent els dies dels mostrejos de 9:00 a 12:00.

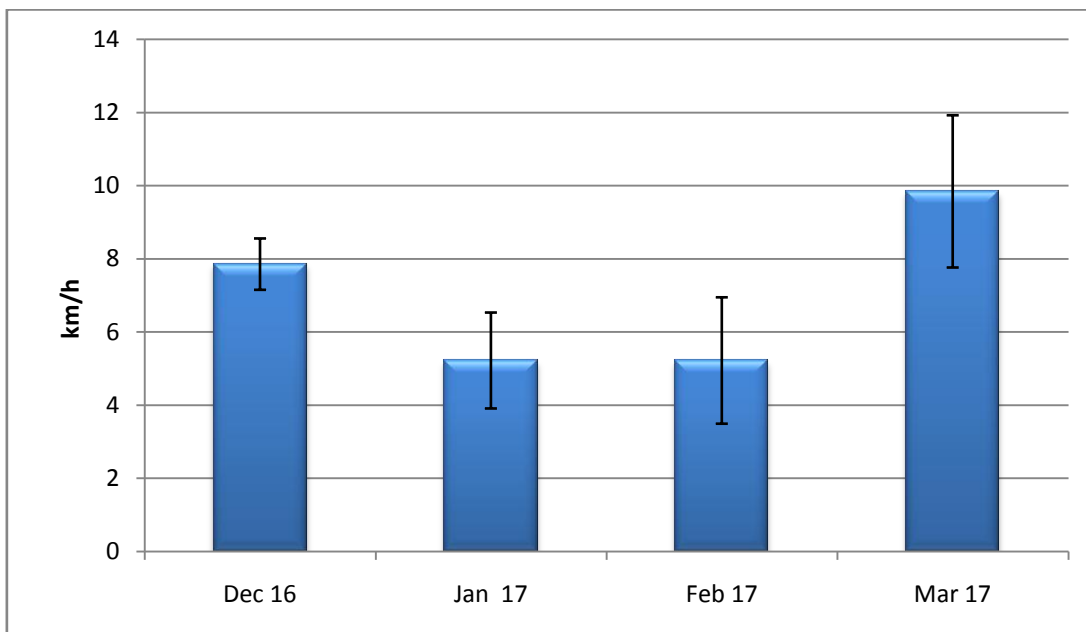


Figura suplementària 15. Temperatures mitjanes els dies dels mostrejos de 9:00 a 12:00.

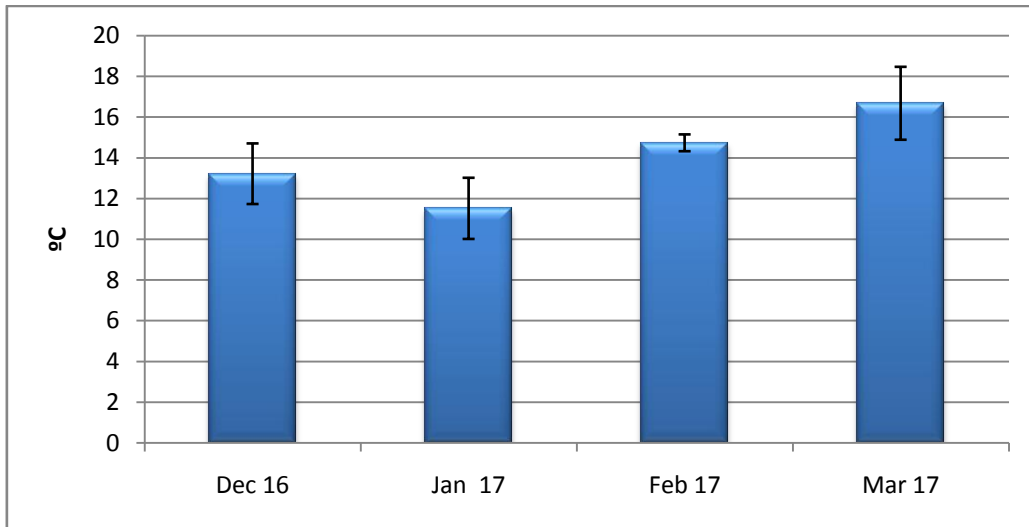


Figura suplementària 16. Precipitació els dies dels mostrejos les 24 hores abans d'aquests.

