

## CARACTERIZACIÓN DE BIOAEROSOLLES MEDIANTE TÉCNICAS METAGENÓMICAS EN LA CIUDAD DE VICTORIA DE DURANGO, DURANGO, MÉXICO

Bárbara Patricia Carrales-Campa, René Torres-Ricario, Juan Antonio Rojas-Contreras, Miguel Ángel Soto-Cárdenas, J. Natividad Gurrola-Reyes e Isaías Chairez-Hernández

### RESUMEN

Los bioaerosoles son partículas aerodinámicas suspendidas en la atmósfera que pueden representar un riesgo para la salud humana. El uso de herramientas moleculares ha permitido la identificación taxonómica de bioaerosoles en distintas regiones del mundo, destacándose la metagenómica por su capacidad para analizar este tipo de muestras a partir de cantidades mínimas de material genético, con alta sensibilidad y reproducibilidad. En este estudio se emplearon herramientas de secuenciación de nueva generación para caracterizar la composición taxonómica de bacterias y hongos presentes en muestras aéreas de la zona urbana de la ciudad de Victoria de Durango, México. Se eva-

luaron doce sitios de muestreo, obteniéndose más de 3.030.308 lecturas. Como resultado, se identificaron 106 familias, entre las cuales las más abundantes fueron Bacillaceae, Nectriaceae, Enterobacteriaceae, Aspergillaceae y Paenibacillaceae. Asimismo, se detectaron 145 géneros de hongos y bacterias, destacándose Fusarium, Bacillus, Citrobacter, Paenibacillus, Pantoea y Aspergillus. La caracterización taxonómica de los bioaerosoles aporta información relevante sobre los posibles riesgos a la salud a los que puede estar expuesta la población; sin embargo, se requiere un monitoreo continuo durante periodos más prolongados para identificar fuentes y focos potenciales de contaminación.

### Introducción

Los bioaerosoles constituyen un tipo particular de contaminante atmosférico debido a su estructura orgánica compleja y

altamente diversa. Están compuestos principalmente por organismos y fragmentos biológicos tales como algas, arqueas, bacterias, esporas de hongos y polen de plantas, entre otros, y

presentan un tamaño que puede variar desde 0,001 hasta 100µm (Pöschl, 2005; Schnell y Tan-Schnell, 1982).

La dispersión de los bioaerosoles ha generado impactos

significativos a nivel mundial, especialmente por los efectos adversos sobre la salud asociados a hongos y bacterias. La exposición humana o animal a estos componentes biológicos

**PALABRAS CLAVE / Bioaerosoles / Bacterias / Contaminación Ambiental / Hongos / Metagenómica Enriquecida /**

Recibido: 13/07/2023. Modificado: 15/01/2026. Aceptado: 17/01/2026.

**Bárbara Patricia Carrales-Campa.** Maestra en Ciencias en Gestión Ambiental. Estudiante, Doctorado en Ciencias en Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Durango, Durango, México. ORCID: 0009-0003-4784-9693.

**René Torres-Ricario.** Doctor en Ciencias en Biotecnología. Profesor, Investigador. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Durango,

Durango, México. ORCID: 0000-0002-2523-6699.

**Juan Antonio Rojas-Contreras.** Doctor en Ciencias en Biología Molecular. Coordinador de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica del Instituto Tecnológico de Durango. Departamento de Ingenierías Química y Bioquímica, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Durango, México. ORCID: 0000-0002-9632-7555.

**Miguel Ángel Soto-Cárdenas.** Doctorado en Ciencias en Biotecnología. Investigador Postdoctoral. SECIHTI-Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Instituto Politécnico Nacional. ORCID: 0000-0001-6269-0682.

**J. Natividad Gurrola-Reyes.** Doctor en Ciencias en Producción Pecuaria. Profesor, Investigador. Instituto Politécnico

Nacional, CIIDIR Unidad Durango, Durango, México. ORCID: 0000-0002-7042-5157.

**Isaías Chairez-Hernández** (Autor de correspondencia). Doctor en Investigación. Profesor, Investigador, Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Durango. Dirección: Sigma 119, Fracc. 20 de Noviembre II, Durango 34220, Durango, México. e-mail: ichairez@ipn.mx. ORCID: 0000-0002-7292-3969.

## METAGENOMIC CHARACTERIZATION OF BIOAEROSOLS IN THE CITY OF VICTORIA DE DURANGO, DURANGO, MEXICO

Bárbara Patricia Carrales-Campa, René Torres-Ricario, Juan Antonio Rojas-Contreras, Miguel Ángel Soto-Cárdenas, J. Natividad Gurrola-Reyes and Isaías Chairez-Hernández

### SUMMARY

*Bioaerosols are aerodynamic particles suspended in the atmosphere that may pose a risk to human health. The use of molecular tools has enabled the taxonomic identification of bioaerosols in different regions worldwide, with metagenomics standing out for its ability to analyze this type of sample from minimal amounts of genetic material, with high sensitivity and reproducibility. In this study, next-generation sequencing tools were employed to characterize the taxonomic composition of bacteria and fungi present in airborne samples from the urban area of the city of Victoria de Durango, Mexico. Twelve sampling sites were evaluated, yielding more*

*than 3,030,308 reads. As a result, 106 families were identified, among which Bacillaceae, Nectriaceae, Enterobacteriaceae, Aspergillaceae, and Paenibacillaceae were the most abundant. Likewise, 145 genera of fungi and bacteria were detected, with Fusarium, Bacillus, Citrobacter, Paenibacillus, Pantoea, and Aspergillus standing out as the most abundant. The taxonomic characterization of bioaerosols provides relevant information on potential health risks to which the population may be exposed; however, continuous monitoring over longer periods is required to identify potential sources and hotspots of contamination.*

## CARACTERIZAÇÃO METAGENÔMICA DE BIOAEROSSÓIS NA CIDADE DE VICTORIA DE DURANGO, DURANGO, MÉXICO

Bárbara Patricia Carrales-Campa, René Torres-Ricario, Juan Antonio Rojas-Contreras, Miguel Ángel Soto-Cárdenas, J. Natividad Gurrola-Reyes e Isaías Chairez-Hernández

### RESUMO

*Os bioaerossóis são partículas aerodinâmicas suspensas na atmosfera que podem representar um risco à saúde humana. O uso de ferramentas moleculares tem possibilitado a identificação taxonômica de bioaerossóis em diferentes regiões do mundo, destacando-se a metagenômica por sua capacidade de analisar esse tipo de amostra a partir de quantidades mínimas de material genético, com alta sensibilidade e reprodutibilidade. Neste estudo, foram empregadas ferramentas de sequenciamento de nova geração para caracterizar a composição taxonômica de bactérias e fungos presentes em amostras aéreas da zona urbana da cidade de Victoria de Durango, México. Foram avaliados*

*doze pontos de amostragem, obtendo-se mais de 3.030.308 leituras. Como resultado, foram identificadas 106 famílias, entre as quais Bacillaceae, Nectriaceae, Enterobacteriaceae, Aspergillaceae e Paenibacillaceae foram as mais abundantes. Da mesma forma, foram detectados 145 gêneros de fungos e bactérias, destacando-se Fusarium, Bacillus, Citrobacter, Paenibacillus, Pantoea e Aspergillus. A caracterização taxonômica dos bioaerossóis fornece informações relevantes sobre os possíveis riscos à saúde aos quais a população pode estar exposta; no entanto, é necessário um monitoramento contínuo por períodos mais prolongados para identificar potenciais fontes e focos de contaminação.*

en el aire puede provocar diversas enfermedades de carácter estacional u ocupacional, lo que ha despertado un creciente interés científico y sanitario en su estudio (Agranovski y Usachev, 2021; Gollakota *et al.*, 2021; Yadana *et al.*, 2019).

En este contexto, el desarrollo de herramientas moleculares ha permitido avanzar sustancialmente en la caracterización de los bioaerosoles. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en conjunto con la secuenciación de nueva generación (*Next Generation Sequencing*, NGS), ha posibilitado la identificación y

cuantificación de especies, géneros o grupos microbianos, tanto bacterianos como fúngicos, presentes en muestras aéreas (Dannemiller *et al.*, 2014; Fröhlich-Nowoisky *et al.*, 2016). Asimismo, el uso de distintas aproximaciones metagenómicas, como la metagenómica enriquecida, ha contribuido a superar limitaciones metodológicas y a mejorar la calidad del material genético secuenciado (Acosta *et al.*, 2025; Mulay *et al.*, 2024; Nam *et al.*, 2023).

A nivel internacional, se han realizado diversos estudios orientados a comprender la dinámica y composición de los

bioaerosoles en ambientes urbanos e industriales. En Hong Kong, por ejemplo, se investigó la variación temporal de las poblaciones microbianas presentes en el aire urbano mediante técnicas de PCR en tiempo real y pirosecuenciación (Woo *et al.*, 2013). De manera similar, Abd Aziz *et al.* (2018) llevaron a cabo un estudio en la República de Corea en el que se analizaron comunidades microbianas asociadas a partículas PM<sub>2.5</sub>, utilizando herramientas moleculares basadas en metagenómica. En la provincia de Pisa, Italia, Carducci *et al.* (2013) evaluaron la contaminación viral en

plantas de tratamiento de residuos sólidos, observando una correlación significativa entre la concentración viral y la presencia de bacterias y hongos en dichas instalaciones.

En México, también se han desarrollado investigaciones relevantes sobre bioaerosoles. García-Mena *et al.* (2016) estudiaron la diversidad bacteriana del aire en la Ciudad de México mediante muestreos por el método de gravedad, combinando técnicas microbiológicas tradicionales y herramientas moleculares, incluida la secuenciación de nueva generación. Posteriormente,

Calderón-Ezquerro *et al.* (2021) caracterizaron comunidades bacterianas y fúngicas en zonas urbanas y rurales de la misma ciudad, empleando igualmente técnicas de secuenciación de nueva generación.

No obstante, en la ciudad de Victoria de Durango, Durango, México, a pesar de contar con tres estaciones de monitoreo de la calidad del aire, no se dispone de información específica ni de técnicas orientadas al monitoreo de bioaerosoles. Asimismo, no existen registros de estudios previos que documenten la diversidad de microorganismos dispersos en el aire de esta ciudad.

En este marco, el objetivo de la presente investigación es caracterizar los bioaerosoles, específicamente hongos y bacterias, presentes en el aire de la ciudad de Victoria de Durango, mediante el uso de técnicas metagenómicas, con el fin de generar información de base que contribuya al conocimiento de su composición y a la evaluación de posibles riesgos asociados.

Materiales y Métodos

Área de muestreo

Victoria de Durango es una ciudad localizada en el estado de Durango, México, en la

región norte del país, la cual colinda con los estados de Chihuahua, Coahuila, Zacatecas, Nayarit y Sinaloa (Figura 1). Para el análisis de los bioaerosoles suspendidos en el aire de la ciudad de Victoria de Durango, se recolectaron

muestras en sitios previamente seleccionados, los cuales se describen en la Tabla I.

Muestreo de bioaerosoles

La recolección de las muestras de bioaerosoles se realizó

utilizando un kit de filtración clásico Millipore, en un horario comprendido entre las 07:00 y las 14:00h. El kit incluyó un filtro estéril con un tamaño de poro de 0,45µm y una bomba de vacío con un flujo de aire de 20L/min, permitiendo la

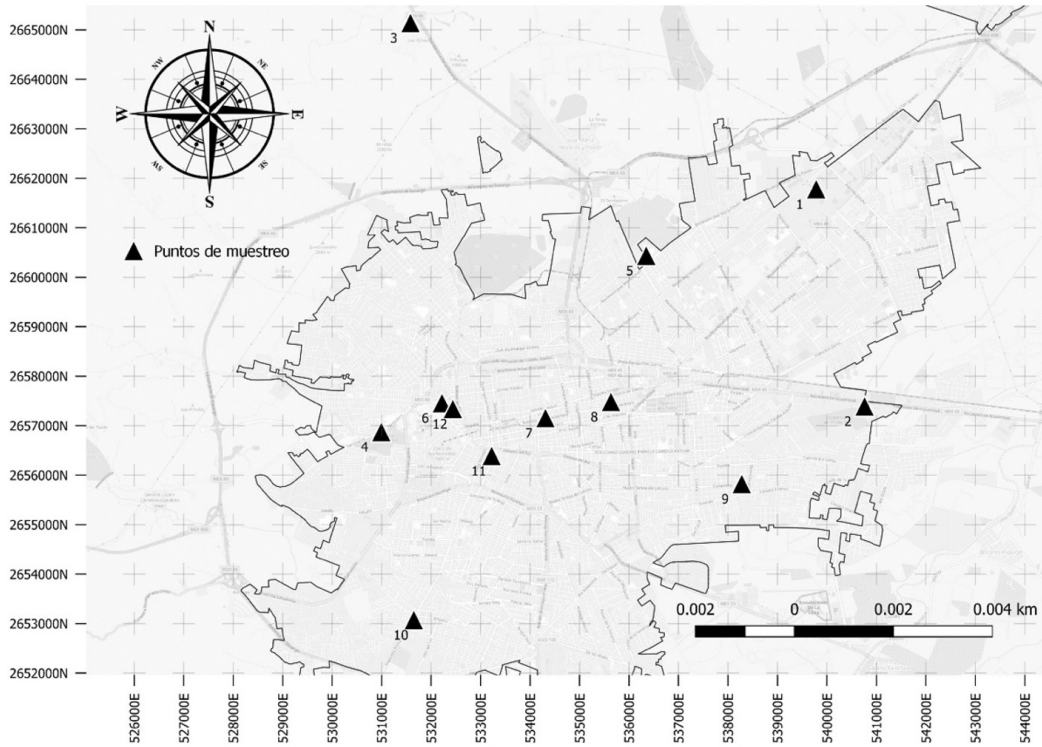


Figura 1. Sitios de muestreo de bioaerosoles en la ciudad de Victoria de Durango, México. Elaboración propia.

TABLA I  
 SITIOS DE MUESTREO PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOAEROSOL EN EL AIRE DE LA CIUDAD DE VICTORIA DE DURANGO, MÉXICO

Sitio	Clave	Nombre	Características	Coordenadas geográficas	
1	CI	Ciudad Industrial	Área industrial	24°4'4.003"N	104°36'31.103"O
2	PTAR	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales	Tratamiento de aguas residuales	24°1'41.204"N	104°35'56.949"O
3	C	Control	Sitio de control	24°5'53.888" N	104°41'21.256" O
4	PQUE	Parques	Área verde y recreativa	24°1'25.125" N	104°41'42.79" O
5	H1	Hospital 450	Zona de hospitales, área norte	24°3'20.6" N	104°38'32.901" O
6	H2	Hospital General de Zona 1 IMSS	Zona de hospitales	24°1'44.123" N	104°40'59.342" O
7	SC	Soriana Centro	Zona comercial y de tráfico intenso	24°1'34.015" N	104°39'45.272" O
8	CB	BBVA	Área poblada y comercial	24°1'44.575" N	104°38'58.408" O
9	LA	Ladrilleras	Zona poblada de elaboración artesanal de ladrillo	24°0'50.442" N	104°37'24.963" O
10	P1	Pueblito	Zona poblada y tráfico intenso	23°59'21.551"N	104°41'19.829" O
11	E1	Centro Escolar Miguel Hidalgo No. 20	Zona escolar y área recreativa	24° 1' 9.257" N	104°40'23.887" O
12	E2	Escuela Número 18 Vicenta Saracho	Zona escolar	24° 1' 40.173" N	104°40'51.563" O

deposición de los bioaerosoles por impactación directa sobre el filtro estéril.

En cada sitio, las muestras se tomaron a una altura de 1,8m sobre el nivel del suelo, con un tiempo de muestreo de 20min por sitio. Todas las muestras se recolectaron por duplicado. La recolección se llevó a cabo del 4 al 6 de julio de 2022, aplicando el método descrito por Soto *et al.* (2009). Previamente a su uso, el kit de muestreo fue esterilizado mediante autoclave.

#### Tratamiento de muestras

Las muestras colectadas se procesaron en una campana de flujo laminar previamente esterilizada mediante luz ultravioleta y cloruro de benzalconio al 0,1%. El filtro fue lavado con buffer Tris-acetato (TE) 1× y posteriormente centrifugado a 16.000rpm durante 10min. Para continuar con la metagenómica enriquecida, se siguió la técnica descrita por Hernández-De Lira *et al.* (2014). En el caso de las bacterias, se utilizó caldo Luria-Bertani (LB) e incubación a 37°C durante 24h, con agitación a 110rpm, mientras que para los hongos se empleó caldo levadura-peptona-dextrosa (YPD), con incubación a 25°C durante 72h, igualmente a 110rpm. Los cultivos se mantuvieron en una incubadora con agitación LAB-LINE Barnstead 4628.

#### Extracción, amplificación y purificación de ADN de los cultivos

Para la extracción de ADN de ambas muestras (bacterianas y fúngicas) se utilizó la técnica enzimática descrita por Cutting (1990). Una vez obtenido el ADN, se realizó la amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un volumen total de 25µL, utilizando un termociclador T100™ Bio-Rad, bajo las condiciones descritas por Maldonado-Vega *et al.* (2014), con modificaciones en la temperatura de alineamiento para bacterias y hongos.

Las regiones variables V3 y V4 del gen 16S rRNA bacteriano se amplificaron utilizando 12,5ng de ADN y los oligonucleótidos específicos 341F (5' CCTACGGGNGGCWGCAG 3') y 805R (5' GACTACHVGGGTA TCTAATCC 3'), con una temperatura de alineamiento de 54°C (Herlemann *et al.*, 2011).

Para los hongos, se amplificó la región ITS2, empleando 12,5ng de ADN y los oligonucleótidos ITS3\_KYO2 (5' GATGAAGAACGYAGYRAA 3') e ITS4 (5' TCCTCCGCTT ATTGATATGC 3'), con una temperatura de alineamiento de 50°C (White *et al.*, 1990). A los amplicones se añadieron secuencias adaptadoras específicas para la construcción de librerías, utilizando los oligonucleótidos forward (TCGTCG GCAGCGTCAGATGTGTATA AGAGACAG) y reverse (GTCT CGTGGGCTCGGAGAT GTGTATAAGAGACAG). La purificación de los productos amplificados se realizó mediante el sistema Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up (Promega), siguiendo las indicaciones del fabricante.

#### Secuenciación

Las muestras purificadas se cuantificaron mediante un espectrofotómetro NanoDrop (Thermo Scientific, modelo ND2000) para determinar la concentración y pureza del ADN. Posteriormente, 5µL del producto purificado de cada muestra fueron enviados a la Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva y Bioinformática del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UUSMB, IBT-UNAM). La secuenciación se realizó en la plataforma Illumina MiSeq, utilizando el kit MiSeq v3 y Nextera XT v2, generando lecturas pareadas de 2 × 300pb. La construcción de librerías y la secuenciación se llevaron a cabo íntegramente en la UUSMB.

#### Análisis Bioinformático

Las secuencias obtenidas fueron evaluadas en cuanto a

su calidad mediante el protocolo FastQC, versión 0.12.0. La identificación taxonómica se realizó utilizando la plataforma OneCodex, la cual emplea dos bases de datos de referencia: una base de datos completa con aproximadamente 40.000 genomas de bacterias, virus, hongos, arqueas y protistas, y una base de datos reducida con más de 8.000 genomas microbianos provenientes de NCBI RefSeq, actualizadas al 25 de marzo de 2021.

#### Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de los datos para evaluar la composición de las comunidades microbianas en cada sitio de muestreo. La diversidad alfa se estimó en la plataforma OneCodex mediante los índices de Shannon y Simpson, con el fin de evaluar la diversidad y la distribución de abundancias. Asimismo, se llevaron a cabo análisis de agrupamiento y análisis de componentes principales (PCA) para identificar patrones de similitud y agrupamiento entre los sitios de muestreo (Minot *et al.*, 2015).

#### Resultados

##### Sitios de muestreo

Se seleccionaron once sitios de muestreo de manera aleatoria en la ciudad de Victoria de Durango, México, cubriendo áreas de relevancia urbana, entre ellas zonas hospitalarias, escolares y céntricas, caracterizadas por una alta concentración de personas (Tabla I). Adicionalmente, se incluyó un sitio control localizado fuera de la zona urbana, siguiendo criterios similares a los reportados en estudios previos (Banchi *et al.*, 2020; Šantl-Temkiv *et al.*, 2020).

##### Recolección, extracción y amplificación de muestras de bioaerosoles

El muestreo se realizó por duplicado en cada sitio, utilizando filtros destinados al

cultivo de bacterias y hongos, obteniéndose un total de 24 muestras analizadas. En la Tabla II se presentan los resultados correspondientes al cultivo, extracción, amplificación y secuenciación de cada una de las 24 muestras, eliminándose el error de referencia detectado en la versión previa del manuscrito.

##### Calidad de las muestras de PCR

A partir de las muestras de PCR, se obtuvo una concentración promedio de ADN de 70ng/µL, con una relación de absorbancia A260/280 de 1,80, lo que indica una adecuada pureza del material genético para su posterior secuenciación.

##### Diversidad de bioaerosoles

De las 12 muestras secuenciadas, se obtuvo un total de 3.030.308 lecturas, con un mínimo de 206.434 y un máximo de 341.726 lecturas por muestra. A partir del análisis taxonómico, se identificaron 106 familias diferentes. En relación con la abundancia relativa, las familias bacterianas más representativas fueron Bacillaceae, Enterobacteriaceae y Paenibacillaceae, mientras que las familias de hongos más abundantes correspondieron a Nectriaceae y Aspergillaceae.

Las familias bacterianas Bacillaceae, Enterobacteriaceae y Streptomyetaceae se detectaron en once de los sitios muestreados. Por su parte, en diez sitios se identificaron familias bacterianas como Clostridiaceae y Staphylococcaceae, así como la familia fúngica Cryptococcaceae (Figura 2). En contraste, el género bacteriano menos abundante identificado fue *Franconibacter*, mientras que el género fúngico con menor abundancia correspondió a Nakazawaea.

##### Análisis de diversidad alfa

El índice de diversidad de Shannon presentó valores entre 0,63 y 1,83, lo que evidencia diferencias en la diversidad y en la distribución de



TABLA II  
RESULTADOS DE CULTIVO, EXTRACCIÓN DE ADN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE BIOAEROSOL  
REALIZADOS EN LOS SITIOS DE MUESTREO DE LA CIUDAD DE VICTORIA DE DURANGO, MÉXICO

Clave	Cultivo		Extracción de ADN		Amplificación		Secuenciación	
	Bacterias	Hongos	Bacterias	Hongos	Bacterias	Hongos	Bacterias	Hongos
CI	x	x		x		x		x
PTAR	x	x	x	x	x	x	x	x
C	x	x	x	x	x	x	x	x
PQUE	x	x	x	x	x	x	x	x
H1	x	x	x	x	x	x	x	x
H2	x	x	x	x	x	x	x	x
SC	x	x	x	x	x	x	x	x
CB	x	x	x	x	x	x	x	x
LA	x	x	x	x	x	x	x	x
P1	x	x	x	x	x	x	x	x
E1	x	x	x		x	x	x	
E2	x	x	x	x	x		x	x

abundancias de los microorganismos cultivables entre los sitios de muestreo. De manera complementaria, el índice de Simpson mostró valores entre 0,37 y 0,82, reflejando variabilidad en la

dominancia de determinados taxones. Los sitios E1 y H2 registraron los valores más bajos en ambos índices, mientras que los valores más elevados se observaron en los sitios C, PQUE y P1.

*Análisis de agrupamiento y componentes principales*

Las diferencias observadas en el índice de Simpson se reflejaron también en los análisis de agrupamiento y de

componentes principales, los cuales evidenciaron variaciones en la composición de las comunidades microbianas cultivables asociadas a las características específicas de cada sitio. Como resultado del análisis de agrupamiento, se identificaron cinco grupos principales. El primer grupo estuvo conformado por los sitios C, E2, P1 y PQUE; el segundo grupo incluyó los sitios H1, PTAR y CB; el tercer grupo estuvo integrado por E1 y LA; el cuarto grupo comprendió los sitios SC y H2. Finalmente, el sitio CI conformó un grupo independiente, lo que sugiere una composición microbiana diferenciada respecto a los demás sitios evaluados.

### Discusión

La ciudad de Victoria de Durango se desarrolla en un entorno urbano semiárido, caracterizado por periodos prolongados de baja humedad, condición que favorece la aerotransportación de microorganismos asociados al suelo, la vegetación y las actividades humanas (Mhuireach *et al.*, 2016; Pöschl, 2005). A ello se suma la coexistencia de zonas industriales, comerciales y residenciales dentro del área urbana, lo que contribuye a una

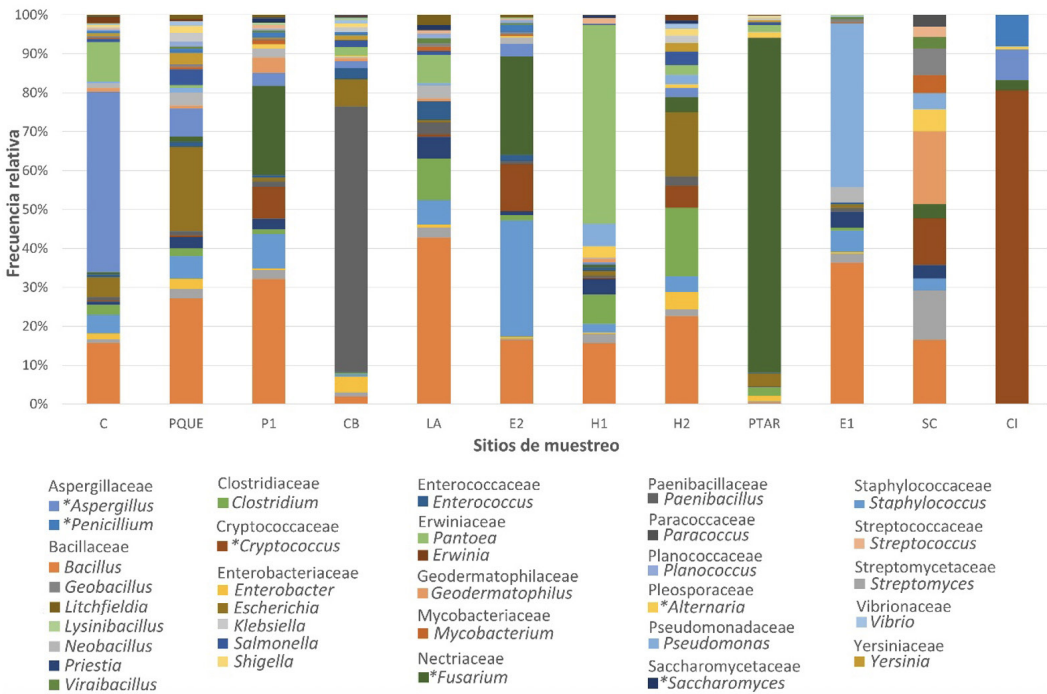


Figura 2. Distribución taxonómica de familias y géneros de bacterias y \*hongos presentes en el aire en los sitios de muestreo de la ciudad de Victoria de Durango, México.

elevada heterogeneidad de los bioaerosoles, influenciada por distintos niveles de actividad antropogénica (Innocente *et al.*, 2017). En este contexto, la selección de los sitios de muestreo permitió representar de manera adecuada los principales usos de suelo, incluyendo zonas hospitalarias, escolares, comerciales, industriales, áreas verdes y un sitio de control en la periferia de la ciudad, en concordancia con enfoques aplicados en estudios previos sobre bioaerosoles urbanos (Calderón-Ezquerro *et al.*, 2021; Šantl-Temkiv *et al.*, 2020).

Los resultados obtenidos reflejan la fracción viable y cultivable de las comunidades microbianas presentes en el aire urbano, favorecida por la aplicación de la metagenómica enriquecida, una estrategia particularmente adecuada para el análisis de muestras con baja biomasa microbiana, como las atmosféricas (Nam *et al.*, 2023). La secuenciación del ADN total obtenido tras la etapa de enriquecimiento permitió una caracterización detallada de la estructura de las comunidades bacterianas y fúngicas cultivables, ampliando el espectro de taxones detectados en comparación con enfoques basados exclusivamente en cultivo clásico (Acosta *et al.*, 2025; Mulay *et al.*, 2024).

Diversos estudios han señalado que, en bioaerosoles urbanos, un número reducido de géneros suele concentrar la mayor proporción de los aislamientos obtenidos mediante técnicas de cultivo (Méndez-Puentes *et al.*, 2015). En el presente estudio, estos mismos géneros se identificaron entre los más abundantes, lo que confirma su amplia distribución y capacidad de persistencia en ambientes urbanos. No obstante, la aplicación de la metagenómica enriquecida permitió ampliar significativamente la detección de taxones cultivables, superando las limitaciones inherentes al cultivo clásico. La secuenciación del ADN total posterior a la etapa de enriquecimiento facilitó la identificación de una mayor

riqueza taxonómica y una caracterización más detallada de la estructura de las comunidades microbianas viables. En conjunto, estos resultados refuerzan el valor de la metagenómica enriquecida como una herramienta eficaz para el estudio de bioaerosoles urbanos, al proporcionar una visión más completa de la fracción microbiana viable presente en el aire de la ciudad de Victoria de Durango.

A pesar de esta limitación, la metagenómica enriquecida ofrece ventajas significativas frente al cultivo clásico, el cual suele recuperar únicamente un número reducido de aislamientos dominantes. En el presente estudio, la secuenciación del ADN total obtenido tras la etapa de enriquecimiento permitió detectar una mayor riqueza taxonómica y evaluar con mayor detalle la estructura de las comunidades microbianas cultivables. Estudios previos han señalado que un número limitado de géneros concentra la mayoría de los aislamientos obtenidos mediante técnicas de cultivo de bioaerosoles urbanos (Méndez-Puentes *et al.*, 2015). De manera consistente, estos mismos géneros fueron identificados en este estudio como los más abundantes; sin embargo, la aplicación de la metagenómica enriquecida permitió además identificar un mayor número de taxones cultivables, lo que sugiere que esta técnica proporciona una visión más amplia y representativa de la fracción viable de las comunidades microbianas presentes en el aire urbano.

La composición taxonómica de las comunidades bacterianas y fúngicas identificadas coincide con lo reportado previamente en investigaciones realizadas en ambientes urbanos. A nivel de familia, se identificaron Bacillaceae, Enterobacteriaceae, Streptomyetaceae, Clostridiaceae, Staphylococcaceae y Cryptococcaceae, las cuales han sido reportadas con frecuencia en el aire de áreas urbanas (Calderón-Ezquerro *et al.*, 2021; Degois *et al.*, 2017; Hurtado *et al.*, 2014; Maldonado-Vega *et al.*, 2014).

Dentro de estas familias se han descrito microorganismos asociados en la literatura con enfermedades humanas, particularmente como patógenos oportunistas, sin que su detección en el aire implique necesariamente un riesgo directo para la salud. Por ejemplo, la familia Cryptococcaceae incluye especies asociadas a infecciones pulmonares y meningitis, mientras que Staphylococcaceae se ha relacionado con infecciones cutáneas y Enterobacteriaceae con enfermedades gastrointestinales, entre otras afecciones (Frank *et al.*, 2007).

Con respecto a los géneros, se identificaron 145 taxones bacterianos y fúngicos, considerándose para el análisis aquellos con más de 100 lecturas por muestra. Entre las bacterias más abundantes se encontraron: *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Geodermatophilus*, *Mycobacterium*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Priestia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptomyces* y *Virgibacillus*, los cuales coinciden con reportes previos realizados en ciudades con distintas características ambientales (Abd Aziz *et al.*, 2018; Calderón-Ezquerro *et al.*, 2021; Mhuireach *et al.*, 2016) (Tabla I, Figura 2).

La presencia de familias y géneros detectados de manera exclusiva en determinados sitios de muestreo puede estar asociada a las condiciones ambientales y al uso de suelo característicos de cada punto. En particular, en sitios con superficies poco pavimentadas, alta circulación vehicular o actividades que favorecen la generación de polvo, la resuspensión de partículas del suelo puede contribuir de manera significativa a la incorporación de microorganismos al aire. Este patrón se observó en sitios como P1 y LA, donde se registraron taxones como Hypocreaceae, Nocardaceae, Saccoteciaceae, *Aureobasidium*, *Microbacterium* y *Trichoderma*, los cuales han sido descritos como microorganismos comunes del suelo y de la vegetación (Innocente *et al.*, 2017; Mhuireach *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2022).

De manera similar, en zonas con elevada actividad humana y vehicular, como el sitio SC, se identificaron taxones como *Promicromonosporaceae*, *Cellulosimicrobium* y *Arthrobacter*, organismos ampliamente distribuidos en el suelo, plantas y otros ambientes, con alta capacidad de aerotransportación y adaptación a condiciones ambientales variables (Schumann y Stackebrandt, 2014). Estos hallazgos sugieren que la combinación de suelo expuesto, tráfico vehicular y actividades humanas favorece la dispersión aérea de microorganismos asociados al ambiente terrestre, contribuyendo a la heterogeneidad espacial observada en la fracción cultivable de los bioaerosoles urbanos.

El sitio CB presentó la detección del género bacteriano *Tissierella*, el cual no es comúnmente reportado en el ambiente, ya que se trata de una bacteria asociada principalmente al tracto gastrointestinal de animales. No obstante, su presencia en el aire podría estar relacionada con la deposición de materia fecal de origen animal, lo que sugiere una posible influencia de fuentes biológicas locales (Farrow *et al.*, 1995).

En las áreas hospitalarias, correspondientes a los sitios H1 y H2, se identificaron géneros bacterianos como *Bacillus*, *Streptomyces*, *Staphylococcus*, *Clostridium* y *Escherichia*, así como géneros fúngicos como *Alternaria*, *Cryptococcus* y *Fusarium*. El análisis comparativo de los resultados mostró que en el sitio H1 se registró una mayor abundancia de los géneros bacterianos mencionados y del hongo *Alternaria*, mientras que en el sitio H2 los géneros fúngicos previamente señalados fueron los más abundantes (Tabla I, Figura 2).

En los sitios E1 y E2, correspondientes a zonas escolares, se observó una mayor abundancia de bacterias en el sitio E2 en comparación con el sitio E1. Los géneros bacterianos más abundantes fueron *Bacillus*, *Streptomyces* y *Staphylococcus*. En particular, en el sitio E2 el género

*Staphylococcus* se encontró en mayor proporción que en el sitio E1. Asimismo, se identificaron géneros fúngicos en el sitio E2 que no estuvieron presentes en el sitio E1, entre ellos *Cryptococcus*, *Fusarium* y *Aspergillus*.

En el sitio de control, ubicado fuera del área urbana, los géneros bacterianos más abundantes fueron *Bacillus*, *Pantoea* y *Staphylococcus*, microorganismos comúnmente asociados al suelo y con capacidad de dispersión aérea. De igual manera, se registró una mayor abundancia del hongo *Aspergillus*, el cual se encuentra frecuentemente en el suelo y en la vegetación.

La variabilidad observada en los valores del índice de diversidad de Shannon y en la dominancia estimada mediante el índice de Simpson (Figura 3, Figura 4) entre los sitios de muestreo puede asociarse a las características ambientales y al tipo de uso del suelo de cada punto. El sitio de control, localizado en una zona con escasa influencia de actividades antropogénicas en la periferia de la ciudad, presentó una mayor diversidad de microorganismos cultivables, lo que sugiere una comunidad microbiana más diversa. En contraste, el sitio H2, correspondiente a una zona hospitalaria con alta afluencia de personas y condiciones ambientales más controladas, presentó el valor más bajo del índice, lo que indica una mayor dominancia de determinados taxones (Innocente *et al.*, 2017).

Los sitios asociados a áreas verdes y escolares, como PQUE y E2, presentaron valores intermedios de diversidad, lo que sugiere una menor perturbación ambiental en comparación con zonas de tráfico intenso o actividad industrial. Por su parte, los puntos con mayor carga vehicular, como SC y CB, mostraron una diversidad más variable, lo cual es consistente con la resuspensión de partículas del suelo y la interacción humana constante. Estos resultados refuerzan la influencia del uso de suelo y de las características

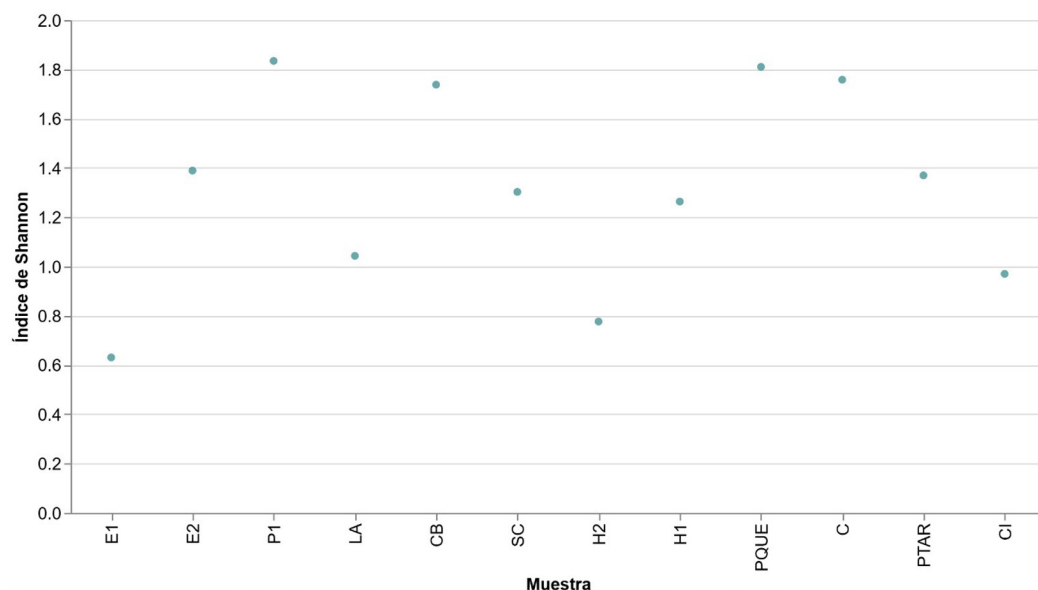


Figura 3. Índice de diversidad de Shannon ( $\lambda$ ) en muestras de aire en la ciudad de Victoria de Durango.

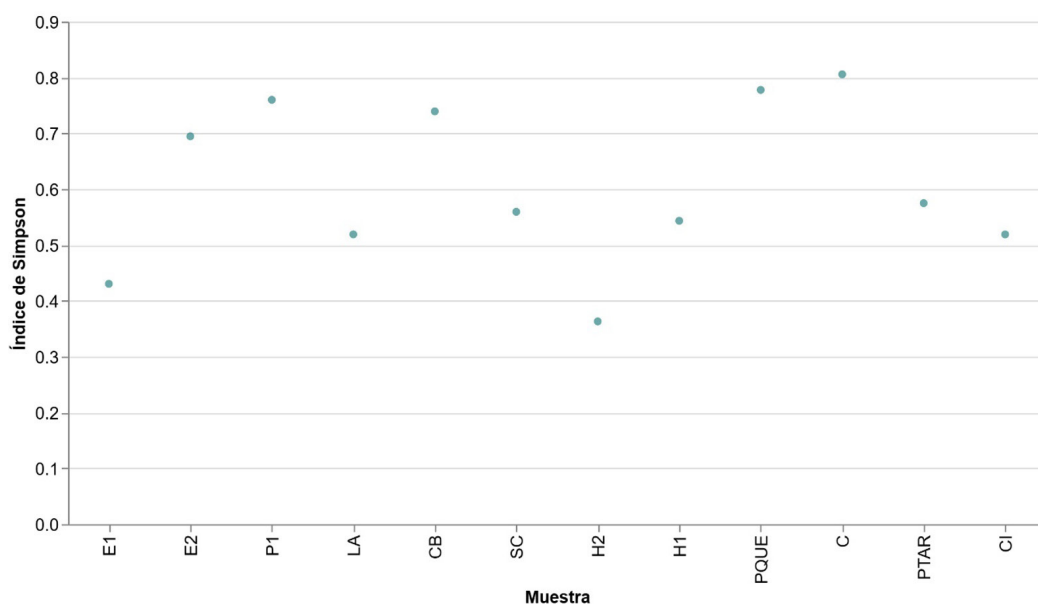


Figura 4. Índice de diversidad de Simpson ( $\lambda$ ) en muestras de aire en la ciudad de Victoria de Durango.

específicas de cada entorno urbano en la estructura de la fracción cultivable de los bioaerosoles (Calderón-Ezquerro *et al.*, 2021; Mhuireach *et al.*, 2016).

El análisis de componentes principales (PCA) (Figura 5A) confirmó los patrones observados en el análisis de agrupamiento (Figura 5B), separando los sitios en cinco

conglomerados de acuerdo con la composición de las comunidades microbianas cultivables.

El primer grupo, integrado por los sitios SC y H2, se proyectó hacia el extremo derecho del plano, diferenciándose del resto, lo que sugiere que el tráfico intenso y la actividad hospitalaria se asocian con una comunidad microbiana distintiva y enriquecida.

El segundo grupo, conformado por los sitios C, E2, P1 y PQUE, presentó una composición microbiana relativamente homogénea, asociada a condiciones ambientales similares, tanto en áreas escolares y residenciales como en zonas de menor intensidad industrial, incluyendo el punto de control.

El tercer grupo, que incluyó los sitios H1, PTAR y CB,

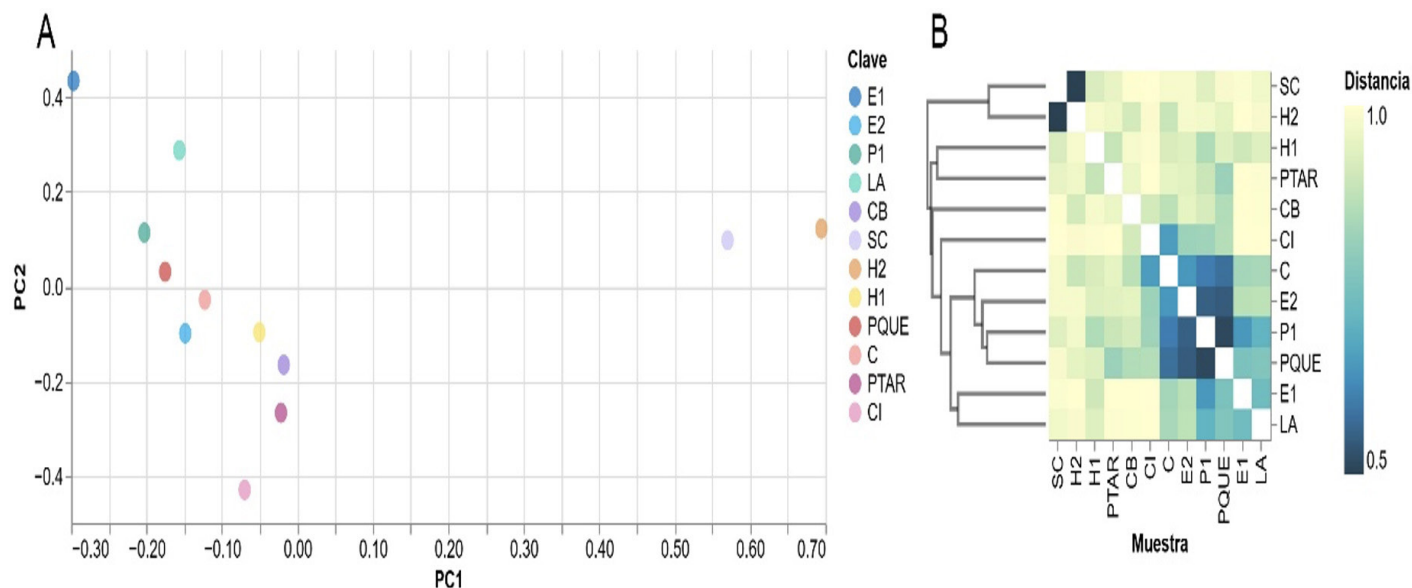


Figura 5. Diversidad  $\beta$ , Análisis de componentes principales PCA (A), Dendrograma de similitud (B).

correspondió a entornos con alta actividad humana, así como a zonas destinadas al manejo de residuos y servicios urbanos, donde la interacción persistente entre personas, infraestructura y fuentes potenciales de bioaerosoles podría influir en la estructura de la fracción viable recuperada. Tanto el grupo 2 como el grupo 3 se agruparon en la región negativa del PC1, lo que indica una mayor similitud basal en sus perfiles biológicos, asociada a entornos residenciales y de servicios urbanos.

El cuarto grupo, integrado por los sitios E1 y LA, agrupó puntos con características particulares, tales como zonas escolares y áreas de producción artesanal de ladrillo, donde la presencia de suelo expuesto y polvo podría favorecer la incorporación de microorganismos del suelo al aire. Este grupo se ubicó en el cuadrante superior del análisis de componentes principales.

Finalmente, el sitio CI ocupó una posición aislada en el extremo negativo del PC2, lo que refleja una composición microbiana particular, asociada a las condiciones propias de la zona industrial.

En conjunto, estos resultados demuestran que la composición de los microorganismos cultivables varía espacialmente en función del uso de suelo. Las diferencias observadas, tanto en la diversidad alfa como en los patrones del PCA, reflejan la heterogeneidad del entorno urbano.

En el presente estudio se observó una coincidencia del 18,6%, destacándose la presencia compartida de microorganismos como *Acinetobacter*, *Erwinia* y enterobacterias, en comparación con el estudio realizado por García-Mena *et al.* (2016) en la Ciudad de México. Asimismo, al comparar los resultados con los reportados por Calderón-Ezquerro *et al.* (2021) y Abd Aziz *et al.* (2018), se registraron coincidencias del 11,7% y 12,4%, respectivamente, identificándose *Cladosporium*, *Aspergillus* y bacterias patógenas oportunistas, tales como *Vibrio* y *Yersinia*, como microorganismos comunes.

En conjunto, el análisis global indica que el 29,7% de la diversidad detectada en la ciudad de Victoria de Durango, correspondiente a 43 de los 145 géneros identificados, ha sido

reportado previamente en estudios de referencia. Este resultado sugiere que, a pesar de las diferencias metodológicas entre los estudios comparados, el enfoque de enriquecimiento aplicado en esta investigación permite detectar de manera consistente los microorganismos más comunes presentes en el aire urbano.

## Conclusión

En este estudio se caracterizó la fracción viable y cultivable de los bioaerosoles presentes en la ciudad de Victoria de Durango, Durango, México. Los resultados obtenidos evidencian que la composición microbiana varía entre los sitios de muestreo, en función de las condiciones ambientales y del uso del suelo.

Las diferencias observadas se reflejaron tanto en la diversidad alfa como en los patrones de agrupamiento asociados a la diversidad beta, lo que indica una marcada variabilidad espacial en la estructura de los bioaerosoles cultivables. Los sitios con características ambientales similares tendieron a presentar comunidades microbianas con composiciones

semejantes, mientras que las zonas asociadas a actividades específicas mostraron perfiles claramente diferenciados. Se identificaron géneros de microorganismos presentes en once de los doce sitios de muestreo. Entre los géneros bacterianos se encontraron *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus*, entre otros, mientras que los géneros fúngicos incluyeron *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* y *Penicillium*.

Estos bioaerosoles resultan de interés desde una perspectiva ambiental y sanitaria, dado que algunos de los géneros identificados han sido asociados en la literatura con enfermedades humanas, particularmente en poblaciones vulnerables; sin embargo, su impacto potencial depende de factores como la concentración, la viabilidad y la vía de exposición.

Dado que el estudio incorporó una etapa de cultivo para el enriquecimiento del material previo a la extracción de ADN, los resultados obtenidos representan únicamente a los microorganismos capaces de crecer bajo las condiciones experimentales empleadas. En este sentido, se destaca la necesidad



de desarrollar investigaciones complementarias que permitan una caracterización más integral de la distribución y composición de los bioaerosoles, así como de su interacción con otros contaminantes ambientales y de su posible impacto en la salud humana.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la SECIHTI por el apoyo otorgado con la beca de Doctorado 747793, al Instituto Politécnico Nacional por el financiamiento con el proyecto SIP 20220755, y al Instituto Tecnológico de Durango. Además, agradecemos a los revisores por los comentarios realizados, los cuales contribuyeron de manera significativa a mejorar de nuestro manuscrito.

## REFERENCIAS

- Abd Aziz A, Lee K, Park B, Park H, Park K, Choi I-G, Chang IS (2018) Comparative study of the airborne microbial communities and their functional composition in fine particulate matter (PM<sub>2.5</sub>) under non-extreme and extreme PM<sub>2.5</sub> conditions. *Atmospheric Environment* 194: 82-92. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.09.027>.
- Acosta N, Lee J, Bautista MA, Bhatnagar S, Li C, Waddell BJ, Au E, Pradhan P, Clark RG, Meddings J, Achari G, Pitout JD, Conly J, Frankowski K, Hubert CRJ, Parkins MD (2025) Metagenomic analysis after selective culture enrichment of hospital and community wastewater enhances antimicrobial resistance gene detection. *mBio* 16: e01672-25. <https://doi.org/10.1128/mbio.01672-25>.
- Agranovski IE, Usachev EV (2021) In-situ rapid bioaerosol detection in the ambient air by miniature multiplex PCR utilizing technique. *Atmospheric Environment* 246: 118147. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2020.118147>.
- Banchi E, Ametrano CG, Tordoni E, Stanković D, Ongaro S, Tretiach M, Pallavicini A, Muggia L, Verardo P, Tassan F, Trobiani N, Moretti O, Borney MF, Lazzarin S (2020) Environmental DNA assessment of airborne plant and fungal seasonal diversity. *Science of The Total Environment* 738: 140249. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140249>.
- Calderón-Ezquerro MdC, Serrano-Silva N, Brunner-Mendoza C (2021) Aerobiological study of bacterial and fungal community composition in the atmosphere of Mexico City throughout an annual cycle. *Environmental Pollution* 278: 116858. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116858>.
- Carducci A, Federigi I, Verani M (2013) Virus occupational exposure in solid waste processing facilities. *Annals of Occupational Hygiene* 57: 1115-1127.
- Cutting S, Vander Horn PB (1990) Genetic analysis. En Harwood CR, Cutting SM (Eds.), *Molecular Biological Methods for Bacillus*. John Wiley & Sons. Chichester, RU. pp. 27-74.
- Dannemiller KC, Lang-Yona N, Yamamoto N, Rudich Y, Peccia J (2014) Combining real-time PCR and next-generation DNA sequencing to provide quantitative comparisons of fungal aerosol populations. *Atmospheric Environment* 84: 113-121. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.11.036>.
- Degois J, Clerc F, Simon X, Bontemps C, Leblond P, Duquenne P (2017) First Metagenomic Survey of the Microbial Diversity in Bioaerosols Emitted in Waste Sorting Plants. *Annals of Work Exposures and Health* 61:1076-1086. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxx075>.
- Farrow JAE, Lawson PA, Hippe H, Gauglitz U, Collins MD (1995) Phylogenetic evidence that the gram-negative nonsporulating bacterium *Tissierella* (Bacteroides) *praeacuta* is a member of the Clostridium subphylum of the gram-positive bacteria and description of *Tissierella creatinini* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45: 436-440.
- Frank DN, St. Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR (2007). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 13780-13785. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706625104>.
- Fröhlich-Nowoisky J, Kampf CJ, Weber B, Huffman JA, Pöhlker C, Andreae MO, Lang-Yona N, Burrows SM, Gunthe SS, Hang Su WE, Eckhard Thines PH, Hoffmann T, Després VR, Pöschl U (2016) Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions. *Atmospheric Research* 182: 346-376. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2016.07.018>.
- García-Mena J, Murugesan S, Pérez-Muñoz AA, García-Espitia M, Maya O, Jacinto-Montiel M, Monsalvo-Ponce G, Piña-Escobedo A, Domínguez-Malfavón L, Gómez-Ramírez M, Cervantes-González E, Núñez-Cardona MT (2016) Airborne Bacterial Diversity from the Low Atmosphere of Greater Mexico City. *Microbial Ecology* 72: 70-84. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0747-3>.
- Gollakota ARK, Gautam S, Santosh M, Sudan HA, Gandhi R, Sam Jebadurai V, Shu C-M (2021) Bioaerosols: Characterization, pathways, sampling strategies, and challenges to geo-environment and health. *Gondwana Research* 99: 178-203. <https://doi.org/10.1016/j.gr.2021.07.003>.
- Herlemann DPR, Labren, M, Jürgens K, Bertilsson S, Waniek JJ, Andersson AF (2011) Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. *The ISME Journal* 5: 1571-1579.
- Hernández-De Lira IO, Huber D, Luévanos-Escareño MP, Hernández Terán F, Sáenz-Mata J, Balagurusamy N (2014) Metagenómica: concepto y aplicaciones en el mundo microbiano. En Universidad Autónoma de Coahuila (ed.). *Fronteras en Microbiología Aplicada*. pp. 154-175.
- Hurtado L, Rodríguez G, López, J, Castillo JE, Molina L, Zavala M, Quintana PJE (2014) Characterization of atmospheric bioaerosols at 9 sites in Tijuana, Mexico. *Atmospheric Environment* 96: 430-436.
- Innocente E, Squizzato S, Visin F, Facca C, Rampazzo G, Bertolini V, Gandolfi I, Franzetti A, Ambrosini R, Bestetti G (2017) Influence of seasonality, air mass origin and particulate matter chemical composition on airborne bacterial community structure in the Po Valley, Italy. *Science of The Total Environment* 593-594: 677-687. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.199>.
- Maldonado-Vega M, Peña-Cabralles JJ, De Los Santos Villalobos S, Castellanos-Arévalo AP, Camarena-Pozos D, Arévalo-Rivas B, Valdés Santiago B, Hernández-Valdés LJ, Guzmán de Peña DL (2014) Bioaerosoles y evaluación de la calidad del aire en dos centros hospitalarios ubicados en León, Guanajuato, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 30: 351-363.
- Méndez-Puentes CA, Camacho-Suárez JG, Echeverry-Hernández S (2015) Identificación de bacterias y hongos en el aire de Neiva, Colombia. *Revista de Salud Pública* 17: 728-737.
- Mhuireach G, Johnson BR, Altrichter AE, Ladau J, Meadow JF, Pollard KS, Green JL (2016) Urban greenness influences airborne bacterial community composition. *Science of the Total Environment* 571: 680-687. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.037>.
- Minot SS, Krumm N, Greenfield NB (2015) One codex: a sensitive and accurate data platform for genomic microbial identification. *BioRxiv*: 027607.
- Mulay SA, Hahn CR, Klingeman DM, Elshahed MS, Youssef NH, Podar M (2024) Metagenomic sequencing of a Patescibacteria-containing enrichment from Zoddletone spring in Oklahoma, USA. *Microbiology Resource Announcements* 13: e00114-24. <https://doi.org/10.1128/mra.00114-24>.
- Nam NN, Do HD, Loan Trinh KT, Lee NY (2023) Metagenomics: An Effective Approach for Exploring Microbial Diversity and Functions. *Foods* 12: 2140. <https://doi.org/10.3390/foods12112140>.
- Pöschl U (2005) Atmospheric Aerosols: Composition, Transformation, Climate and Health Effects. *Angewandte Chemie International Edition* 44: 7520-7540. <https://doi.org/10.1002/anie.200501122>.
- Šantl-Temkiv, T., Sikoparija, B., Maki, T., Carotenuto, F., Amato, P., Yao, M., Morris C, Schnell R, Jaenicke R, Pöhlker C, DeMott PJ, Hill TCJH, Huffman JA (2020). Bioaerosol field measurements: Challenges and perspectives in outdoor studies. *Aerosol Science and Technology* 54: 520-546.
- Schnell RC, Tan-Schnell SN (1982) Kenyan tea litter: A source of ice nuclei. *Tellus* 34: 92-95. <https://doi.org/10.3402/tellusa.v34i1.10791>.
- Schumann P, Stackebrandt E (2014) The Family Promicromonosporaceae. In Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F (Eds.), *The Prokaryotes: Actinobacteria*.

- Springer Berlin Heidelberg, Alemania. pp. 701-724.
- Soto T, Lozano M, Vicente-Soler J, Cansado Vizoso J, Gacto Fernández MJ (2009) Microbiological survey of the aerial contamination in urban areas of the city of Murcia, Spain. *Anales de Biología* 31: 7-13.
- Wang P, Jia S-L, Liu G-L, Chi Z, Chi Z-M (2022) *Aureobasidium* spp. and their applications in biotechnology. *Process Biochemistry* 116: 72-83.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* 18: 315-322.
- Woo AC, Brar MS, Chan Y, Lau MC, Leung FC, Scot JA, Vrijmoed, LLP, Zawar-Reza P, Pointing SB (2013) Temporal variation in airborne microbial populations and microbially-derived allergens in a tropical urban landscape. *Atmospheric Environment* 74: 291-300.
- Yadana S, Coleman KK, Nguyen T, Hansen-Estruch C, Kalimuddin S, Thoon KC, Hong Low GJ, Gray GC (2019) Monitoring for airborne respiratory viruses in a general pediatric ward in Singapore. *Journal of Public Health Research* 8: jphr-2019.

## Licencia de uso



Esta obra está bajo una licencia internacional [Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).