

GLJIVIČNA FLORA ATMOSFERE GRADA ZAGREBA

V. B E Z J A K*

*Zavod za mikrobiologiju, Škola Narodnog Zdravlja »Andrija Štampar«,
Medicinski fakultet u Zagrebu*

(Primljeno 1. VI. 1958.)

Iznose se rezultati istraživanja gljivične flore atmosfere grada Zagreba, koja su vršena u toku čitave 1957. godine. Najčešće izolirani fungi bile su kvasnice (28%) i kladosporiji (25%). Sezonska učestalost zapažena je kod kladosporija i alternarije; oni su se češće javljali za vrijeme ljetnih mjeseci. Na kraju su kratko razmotreni dobiveni rezultati i uspoređeni s nekim podacima iz strane literature.

Naučna istraživanja o prisustvu funga u atmosferi započeta su još sedamdesetih godina prošlog vijeka i otada su vršena u raznim krajevima širom svijeta. U našoj zemlji, koliko nam je poznato, sistematska ispitivanja takve vrste nisu bila dosad provedena.

Spore funga su normalno prisutne u zraku, često u velikom broju. Fungi pokazuju vrhunac u jesen, nakon čega dolazi do naglog pada i minimum se javlja za vrijeme zimskih mjeseci. Neki od običnih pripadnika gljivične flore atmosfere (*Cladosporium*, *Alternaria*) ponašaju se kao što je spomenuto, ali drugi, kao na pr. *Penicillium* i *Aspergillus*, pokazuju tek neznatna sezonska kolebanja.

Gljivične spore prisutne su svuda u atmosferi. Tako su ustanovljene iznad sredine Atlantika, iznad polarnih regija, kao i u visini do 2.500 metara. Dakako da je na takvim mjestima njihov broj nizak. Arktički zrak je zimi praktički sterilan, a ljeti donose spore južni vjetrovi; međutim, oko 50% spora uginu, dok stignu na daleki sjever (PARDY i KAPICA 1953).

Broj gljivičnih spora u zraku fluktuiru znatno od dana do dana; uzrok tome je niz meteoroloških faktora. Dok vlažno vrijeme veoma

* Sadašnja adresa: Medicinski fakultet Rijeka

smanjuje broj čestica prašine, dotle ono pokazuje suprotan efekat prema broju spora funga – vjerojatno zbog toga, što vlaga pospješuje razmnožavanje gljiva u njihovim prirodnim uvjetima. Međutim, kad je zemlja prekrivena snijegom, onda se u atmosferi nalazi mali broj funga.

Dalji faktor je vjetar, koji omogućuje, da gljivične spore dospiju sa zemlje u atmosferu. Poznate su »oluje spora«, kad se mnoštvo spora funga širi na velike udaljenosti. I lokalne atmosferske smetnje često dovode do t. zv. »duševa spora«. Dok se normalan prosjek broja spora kreće oko 10–20 (vidi kasnije), dotle kod »duševa spora« on iznosi oko 50–400. Ti »duševi« se u nekim krajevima javljaju za vrijeme ljetnih mjeseci (DYE i VERNON 1952) ili u različita godišnja doba (CASON 1955).

Neke gljive pokazuju dvofaznu dnevnu periodičnost, i to kod suhog vremena *Cladosporium* i *Alternaria*: minimum se zapaža izjutra, a maksimum poslije podne. Nakon kiše i kod vlažnog vremena tih plijesni nema u zraku, ali se javljaju neki pravi fungi; oni dosežu maksimum za vrijeme noći, i to pred zoru (HIRST 1953).

Lista identificiranih funga iz atmosfere duga je, a lista neidentificiranih još duža. Najčešće se javljaju *Cladosporium*, *Alternaria*, te *Penicillium*. U nekim krajevima još su česte i neke druge vrste imperfektnih funga, a izuzetno i kvasnice. *Alternarije* prevladavaju u Sjevernoj Americi, a nalaze se stalno i u drugim krajevima, iako u znatno manjem broju. U mnogim zemljama je *Cladosporium* najbrojniji od funga u zraku (u Engleskoj predstavlja gotovo 50% od svih spora). Osim navedenih gljiva javljaju se u raznolikom broju još *Aspergillus*, *Phoma*, *Botrytis*, *Trichotecium* i drugi. *Mucor* i *Rhizopus* nalaze se nekonstantno, svakako znatno rjeđe nego li bi očekivali s obzirom na njihovu proširenost u zemlji i drugdje u prirodi. Ispitivanja u Engleskoj su pokazala, da su penicilij i aspergil češći u gradovima, a *Cladosporium*, *Alternaria*, *Botrytis* i neki drugi češći na selu (RICHARDS 1952).

U ovom radu iznosimo rezultate sistematskog istraživanja gljivične flore atmosfere grada Zagreba, koje je vršeno u toku čitave 1957. godine. Ova ispitivanja su započeta kao dio kliničko-laboratorijskih studija alergičnih oboljenja, a provode se na Klinici za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu.

Metodika rada

Svakog dana, izuzevši nedjelje i kišovite dane, u 10 sati prije podne izlagana je po jedna Petrijeva ploča (promjera 10 cm) sa sladnim agarom. Ploča je držana otvorena 10 minuta na vrhu krova zgrade Centralnog higijenskog zavoda u Zagrebu. Nakon toga je ploča zatvorena i umotana u sterilan papir, kako ne bi došlo do naknadnog zagađenja plijesnima. Iza toga hranilište je inkubirano kod sobne temperature u laboratoriju 6–10 dana.

Svaka ploča je pregledana nakon inkubacije, i to najprije makroskopski, da bi se odredio ukupan broj poraslih kolonija funga, a zatim je svaka kolonija mikroskopirana, da bi se ustanovio rod plijesni kojoj pripada. U tu je svrhu rub svake kolonije pregledan direktnom mikroskopijom kulture (objektiv 6,3x, okulari 16x), a kad je bilo potrebno, pravljene su i nativni preparati iz pojedinih gljivičnih kolonija. Ako se radilo o kolonijama, koje se nisu mogle odmah identificirati, ili kolonije još nisu bile u fazi sporulacije, tada je najprije bila izvršena izolacija takvih kolonija, a kasnije se čiste kulture pokušalo identificirati.

Pri ovom ispitivanju nismo pobliže pokušali klasificirati porasle kolonije kvasnica, već je jedino vršena distinkcija bijelih kvasnica od crvenih (= *Rhodotorula*).

Rezultati

U toku ispitivanja bila je izložena infekciji fungima iz zraka ukupno 271 Petrijeva ploča s hranilištem. Na tim pločama porasle su 4.573 kolonije gljiva. Rezultati identifikacije tih funga prema rodnoj pripadnosti prikazani su u tablici 1. Prema učestalosti na prvom su mjestu kvasnice, koje su predstavljale 28% od ukupnog broja poraslih kolonija. Odmah iza kvasnica dolazi kladosporij (25%), a na trećem mjestu bio je penicilij (11%). Dalju grupu čine *Fomes igniarius* (6%), alternarija (5%) i *Aspergillus* (4%). U skupini plijesni, koje su činile 1–2% svih gljiva, nalaze se *Torula nigra*, *Phoma* i *Scopulariopsis*. Ostale funge nalazili smo u znatno manjem broju. Pripadnost 254 soja gljiva nije se mogla odrediti.

Od 1.300 nađenih kvaščevih gljiva bilo je 948 bijelih kvasnica, a 352 crvene kvasnice (= *Rhodotorula*). Među bijelim kvasnicama bilo je i kriptokoka, a kod crvenih kvasnica ustanovljeno je nekoliko različitih vrsta.

U tablici 2 prikazan je ukupan broj kolonija funga ustanovljen po tjednima kroz čitavu godinu. Tjedni broj kolonija u zimskim mjesecima kretao se između 20–50, u toku proljeća uglavnom između 40–100, a za vrijeme ljeta i jeseni više manje u granicama 70–140. U toku listopada i prosinca zabilježen je doduše mnogo veći broj gljiva u atmosferi, ali to dolazi odatle, što su u to doba našim ispitivanjima uhvaćeni »duševi spora«. Duš od 22. X. iznosio je 415 gljivičnih spora (360 kvasnica, 40 kladosporija), dok su 4. XII. u dušu bile 352 spore funga (220 kvasnica, 50 kladosporija, 46 penicilija).

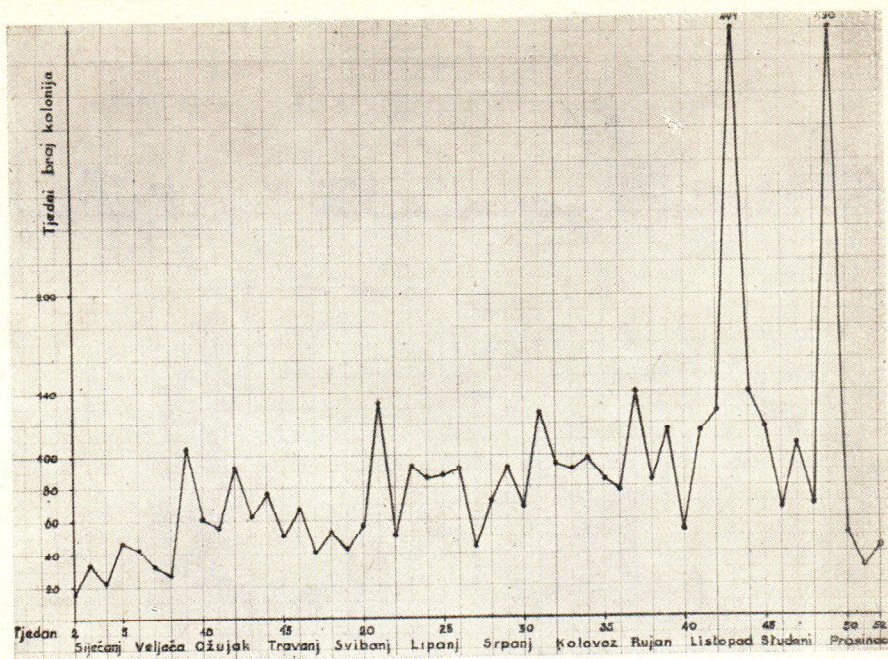
Učestalost najvažnijih vrsta funga prikazana je u tablici 3, i to prema mjesecima, a u obliku postotaka od ukupnog broja nađenih gljiva u atmosferi. Navedenih šest vrsta predstavljale su gotovo svakog mjeseca 70–90% od ukupnog broja funga. Peniciliji su bile najčešće plijesni u siječnju, veljači i ožujku, kvasnice od ožujka do svibnja, te od listo-

Tablica 1.

Vrsta i broj funga izoliranih iz zraka u toku čitavog ispitivanja

Vrsta funga	Broj sojeva	% od ukupnog broja funga
Aleurisma	15	
Alternaria	231	5
Aspergillus	192	4
Botrytis	13	
Cephalosporium	15	
Cladosporium	1138	25
Epicoccum	1	
Fomes igniarius	277	6
Fusarium	1	
Geotrichum	3	
Helminthosporium	3	
Kvasnice	1300	28
Mucor	20	
Mycelia sterilia	348	8
Nigrospora	1	
Paecilomyces	2	
Penicillium	499	11
Phoma	69	1.5
Rhizopus	3	
Scopulariopsis	46	1
Sporendonema	1	
Sporotrichum	1	
Stachybotrys	1	
Streptomyces	6	
Syncephalastrum	22	
Torula nigra	87	2
Trichoderma	10	
Trichotecium	11	
Verticillium	3	
nepoznato	254	6
Ukupno:	4573	

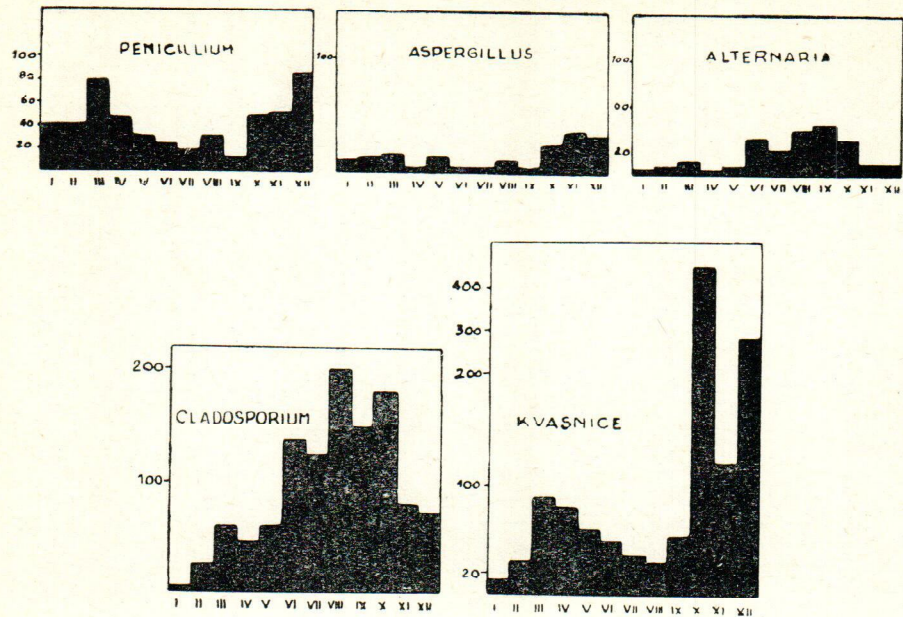
Tablica 2. Ukupan broj funga u atmosferi grada Zagreba (prema tjednima)



Tablica 3. Učestalost najvažnijih vrsta gljiva nađenih u atmosferi

Mjesec	Prosječan broj kolonija dnevno	% od ukupnog mjesečnog broja gljiva						Ukupno
		Penicillium	Aspergillus	Cladosporium	Alternaria	Kvasnice	Fomes igniarius	
Siječanj	5.8	41	13	5	2	16		77
Veljača	7.5	24	10	13	4	19		70
Ožujak	12.9	23	6	18	4	26		77
Travanj	10.9	18	1	17	2	31		69
Svibanj	14.7	10	5	21	3	21		60
Lipanj	15.0	6	2	37	9	14	3	71
Srpanj	13.7	5	2	37	7	11	6	68
Kolovoz	17.7	6	3	45	9	7	10	80
Rujan	20.9	3	2	35	10	14	19	83
Listopad	35.1	5	3	20	4	51	9	92
Studeni	18.7	12	9	20	3	29	9	82
Prosinac	26.8	16	6	14	2	50	2	90

Tablica 4. Učestalost nekih funga u zraku grada Zagreba (broj gljivičnih spora prema mjesecima)



Tablica 5. Uspoređenje naših i stranih rezultata prema postotku učestalosti najvažnijih funga u atmosferi

Vrsta funga	Zagreb 1957.	Johannesburg 1956. (5)	Alabama 1955. (1)	Atlantik 1954. (7)	Kopenhagen 1950. (10)	Pariz 1948. (8)	Chicago 1935. (7)
Kvasnice	28	2	5	2	3	22	3
Cladosporium	25	32	36	82	53	37	42
Penicillium	11	10		2	15	6	
Alternaria	5	12	36	2	2	12	30
Aspergillus	4	<1				3	

pada do prosinca, a kladosporiji u razdoblju od svibnja do rujna. U tablici se vidi i prosječan dnevni broj gljivičnih spora prema mjesecima: najmanji broj funga zapažen je u siječnju (5,8), a najviši u listopadu (35,1).

Kako bi se bolje mogla uočiti sezonska rasprostranjenost najčešćih funga u atmosferi, konstruirano je pet grafikona (tablica 4). Sasvim se jasno vidi sezonska proširenost u slučaju kladosporija i alternarije, kojima je sezona bila ljeti i u ranu jesen (od lipnja do listopada). Neka, iako ni približno tako naznačena sezonska rasprostranjenost zapaža se kod penicilija i aspergila; te vrste plijesni javljale su se rjeđe i u manjem broju za vrijeme ljetnih mjeseci. Kod kvasnica međutim nije ustanovljena nikakva veza s različnim godišnjim dobama.

Razmatranje

Rezultati ispitivanja gljivične flore atmosfere grada Zagreba pokazuju, da se najviši broj funga zapaža u jesen, a najniži u toku zimskih mjeseci. To se podudara i s nalazima inostranih autora. Što se tiče vrste funga postoje i kod nas više manje one vrste, koje su nađene posvuda u svijetu. Međutim, u odnosu na učestalost pojedinih vrsta gljiva nailazimo i na znatnije razlike, što se može lako uočiti u poređenju s rezultatima nekih ispitivanja u drugim zemljama (tablica 5). Učestalost najvažnijih pripadnika gljivične flore kod nas može se usporediti, i to što se tiče kvasnica i aspergila, s rezultatima iz Pariza, a penicilija i alternarije s rezultatima iz Kopenhagena. Postotak kladosporija (25%) u atmosferi Zagreba dosta je niži od svih podataka iz navedenih ispitivanja, koji se kreću između 32–82%.

Razmjerno visok postotak kvasnica zapažen je jedino kod nas i u Parizu, dok su ostali autori nalazili tek 2–5% tih gljiva u atmosferi. Moglo bi se pomisliti, da je u blizini mjesta izlaganja hranilišta kod nas postojao neki izvor kontaminacije kvasnicama, ali to nije vjerojatno, jer se prema izgledu kolonija radilo o nekoliko različitih vrsta kvašćevih gljiva, slično kao što su zapazili i autori iz Pariza.

Uspoređivanjem podataka dobivenih kod nas i u Parizu prema godišnjim dobama (tablica 6) može se zapaziti podudaranje rezultata za kladosporij u zimi i proljeću, za kvasnice u ljetu, a za penicilij i alternariju u jesen. Najveće razlike u učestalosti raznih vrsta funga ustanovljene su ljeti.

Sezonsko javljanje gljive *Fomes igniarius**, parasita topole, potpuno se podudara s vremenom (lipanj–prosinac), kad se ona može naći u svom prirodnom boravištu.

* Za identifikaciju ove gljive zahvaljujem se kolegici dr. Sabadoš.

Tablica 6.

Uspoređenje podataka o gljivičnoj flori zraka prema godišnjim dobama

Mjesec	Grad	% od ukupnog broja gljiva				
		Kvasnice	Cladospor.	Penicil.	Alternar.	Aspergil.
Siječanj I	Zagreb	16	5	41	2	13
	Pariz	55	7	12	5	7
Travanj IV	Zagreb	31	17	18	2	1
	Pariz	43	13	10	8	2
Srpanj VII	Zagreb	11	37	5	7	2
	Pariz	14	52	1	23	0.2
Listopad X	Zagreb	51	20	5	4	3
	Pariz	24	46	4	4	1

Kao što se naprijed iz rezultata vidi, u toku jeseni zabilježena su dva »duša spora«. Oba su bila sastavljena pretežno od kvasnica, a bio je i veći broj kladosporija, dok je u drugom bilo i dosta penicilija. Još je zanimljivo to, što je u prvom dušu bilo nešto više crvenih negoli bijelih kvasnica, a u drugom bile su gotovo isključivo bijele kvasnice. Što se tiče sastava duša kod nas i drugdje zapažaju se znatne razlike. Tako su to u Alabami (USA) bile plijesni *Botrytis* i *Phoma* (CASON 1955), a u Parizu su duševi bili sastavljeni pretežno od kladosporija (VALLERY-RADOT i sur. 1950).

Studij atmosferskih faktora (temperatura, pritisak, smjer i jačina vjetrova, vlaga, količina oborina) u toku naših ispitivanja nije mogao dati nikakav oslonac s obzirom na njihov utjecaj ni na učestalost pojedinih vrsta nađenih funga na broj nađenih gljiva u zraku. Isto tako nije se moglo u atmosferskim prilikama naći razjašnjene dvaju navedenih duševa spora.

Rezultati ispitivanja pokazuju, da se među standardne alergene, koji služe i za ispitivanje kožne alergije i za postupke desenzibilizacije alergičara, treba u našim prilikama svakako uklopiti i kvaščeve gljive iz zraka.

Literatura

1. *Cason, L. R.*: Fungus colony counts from air-borne spores in Birmingham, Alabama. *J. Allergy* 26 (1955) 367-372.
2. *Dye, M. H. and Vernon, T. R.*: Air-borne mould spores; A New Zealand survey. *N. Zealand J. Sci. & Technol.* 34 (1952) 118-127.
3. *Feinberg, S. M.*: cit. prema Pasteur Vallery-Radot i sur. (1950).
4. *Hirst, J. M.*: Changes in atmospheric spore content; diurnal periodicity and the effects of weather. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 36 (1953) 375-393.
5. *Ordman, D. and Etter, K. G.*: The air-borne fungi in Johannesburg. *S. Afr. Med. J.* 30 (1956) 1054-1058.
6. *Pady, S. M. and Kapica, L.*: Air-borne fungi in the arctic and other parts of Canada. *Canad. J. Bot.* 31 (1953) 309-323.
7. *Pady, S. M. and Kelly, C. D.*: Aerobiological studies of fungi and bacteria over the Atlantic Ocean. *Canad. J. Bot.* 32 (1954) 202-212.
8. *Pasteur Vallery-Radot et coll.*: Etude de la nature et de la densité de la flore mycologique dans l'atmosphère de Paris durant l'année 1948. *Acta allergol.* 3 (1950) 179-197.
9. *Richards, M.*: A census of mould spores in the air over Britain in 1952. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 39 (1956) 431-441.
10. *Samse-Jensen, T. and Flensburg, E. W.*: Studies in mould allergy. 3. Mould spore counts in Copenhagen. *Acta allergol.* 3 (1950) 49-65.

Summary

AIR-BORNE FUNGI IN ZAGREB

The results of the first survey on the air-borne fungi in this country, made during the year 1957 in Zagreb, are here presented. The malt-agar plate-method was used, and Petri dishes were exposed for ten minutes each. A total of 4.573 spores were caught during 271 examinations. The following most prevailing fungi were found: Yeasts (28 per cent), *Cladosporium* (25), *Penicillium* (11), *Fomes igniarius* (6), *Alternaria* (5) and *Aspergillus* (4). Twenty-two more genera were identified. Six per cent of moulds remained unidentified, while eight per cent of spores gave rise to *Mycelia sterilia*.

The most frequent fungi in January and February were penicillia, in March, April and May yeasts, in the period from May to September cladosporia, while from October to December yeasts once more. The seasonal prevalence of *Cladosporium* and *Alternaria* (June-October) was noted, while *Penicillium* and *Aspergillus* showed only minor seasonal variations.

The lowest daily spore counts were observed in January (an average of 5.8 per plate), while the highest count was noted in October (35.1). Two »spore showers« were caught during our studies, one in October containing 415, the other, in December, with 352 spores, both composed mostly of yeasts.

The results obtained were compared with some data from other countries and briefly discussed.

*Institute of Microbiology,
School of Public Health »Andrija Štampar«,
Medical Faculty, University of Zagreb
Z a g r e b*

*Received for publication
June 1, 1958*