

INFLUENCIA DEL METODO DE MUESTREO EN AEROMICOLOGIA: COMPARACION DE DOS MUESTREADORES VOLUMETRICOS.

D. Trujillo, F. Infante, E. Domínguez & C. Galán.

Departamento de Biología Vegetal y Ecología.
Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.

(Manuscrito recibido el 8 Octubre 1990, aceptado el 20 Diciembre 1990)

RESUMEN. Hemos realizado un análisis comparativo de dos captadores volumétricos para el estudio de la aeromicroflora. Se han utilizado simultáneamente un BIOLOGICAL AIR SAMPLER y un BURKARD SPORE-TRAP. Se tomaron muestras diarias del aire de Córdoba capital a tres horas diferentes durante un año. Hemos comparado la eficacia de ambos muestreadores, señalando las ventajas e inconvenientes de cada uno. Comprobamos que existen algunos taxones en los que influye la hora de toma de muestras y hemos realizado la posible correlación entre los parámetros meteorológicos y la recogida de esporas.

PALABRAS CLAVE: Aerobiología, Aeromicroflora, Burkard, Bias.

SUMMARY. In this work, a comparative statistical study of two types of volumetric spore-trap samplers was carried out: a BIOLOGICAL AIR SAMPLER and a BURKARD SPORE-TRAP. The advantages and disadvantages of each one of the sampler is point out, recommending the simultaneous use of the two in the aerobiological surveys. The results from a whole year were also processed by means of a computer, using a variance analysis of two variation sources without repetition with the aim of determining if some taxa of fungi are influenced by the time of the day in which the sampling are taken. A correlation between fungi spore concentrations and hour of sampling was found with both apparatus.

KEY WORDS: Aerobiology, Aeromycology, Burkard, Bias.

INTRODUCCION

Para la captación del polen y esporas aerovagantes han sido descritas numerosas técnicas. El método utilizado en cada caso, varía según el tipo de trabajo que se desee realizar y los resultados que se quieran obtener. En un trabajo anterior (NOGALES & al., 1986) hemos realizado un estudio tentativo para demostrar que utilizando distintas

técnicas de muestreo se pueden obtener resultados diferentes.

Los muestreadores aplicados hasta ahora en el estudio de la aeromicroflora pueden ser clasificados en dos grupos: los llamados gravimétricos y los volumétricos; cada uno de ellos, a su vez, tiene distintas modalidades según que el depósito de las partículas tenga lugar sobre medio inerte (métodos no viables), o sobre un medio de cultivo (métodos viables). Aunque es amplia la bibliografía de-

dicada al estudio de las esporas de hongos aerovagantes, no es tan extensa la que trata los aspectos estudiados en este trabajo, como el uso simultáneo de diferentes métodos de captación para la comparación de resultados. En este sentido destacamos los trabajos de BURGE & al. (1977) que utilizaron muestreadores tipo BURKARD y ANDERSEN, y SOLOMON & al. (1980) que realizaron un estudio sobre las esporas de hongos captadas con tres muestreadores diferentes.

En el presente trabajo hemos realizado un estudio comparativo de dos tipos de muestreadores volumétricos (inerte y sobre medio de cultivo). El primero de ellos es el captador BURKARD spore-trap, una modificación del método de HIRST (1952), frecuentemente utilizado en los trabajos aero-palinológicos. Tiene la ventaja de que puede recoger esporas que no se desarrollan en los medios de cultivo habituales (la mayoría de las basidiósporas, ascósporas, etc). El segundo o BIAS (Biological Air Sampler) es una modificación del de BOURDILLON & al. (1941); entre las ventajas del método volumétrico sobre medio de cultivo, destaca el hecho de que nos permite realizar una determinación más exacta de los diferentes taxones de hongos.

Por otra parte, también es propósito de este trabajo realizar un estudio de la variación diaria y de los factores meteorológicos que influyen en la presencia de esporas fúngicas en el aire. Esta línea ha sido seguida anteriormente por otros autores, entre los que destacamos: PADY & al. (1962), KRAMER & al. (1963, 1964), MÄKINEN & RANTIOLEHTIMÄKI (1979), McDONALD & O'DRISCOLL (1980), PENNYCOOK (1980), ISOARD & al. (1981).

MATERIAL Y METODOS

Los dos muestreos volumétricos se llevaron a cabo diariamente, de lunes a viernes, durante un año (1 Mayo 1986 - 30 Abril 1987) simultáneamente sobre medio de cultivo y medio inerte. Para ello se utilizó, en el primero de los casos, un muestreador tipo STA-BIOLOGICAL AIR SAMPLER (BIAS), New Brunswick Scientific Co. Mientras que para el segundo se empleó un BURKARD SPORE-TRAP (Burkard M.F.G. Co. Ltd).

El punto de muestreo fue en ambos casos el edificio de la Facultad de Ciencias, situada al O.S.O de la ciudad de Córdoba, en una zona relativamente aislada del casco urbano.

En el muestreador BURKARD la sustancia adhesiva utilizada fue petrolato blanco, que junto con una velocidad constante de rotación del tambor de 2 mm/h y con un volumen de aire incidente de 10 l/min, permitió conocer la variación diaria y horaria de las esporas presentes en la atmósfera. Dada la imposibilidad de un muestreo continuo cuando se utiliza un método sobre medio biológico, nos hemos visto en la necesidad de llevar a cabo la identificación de las esporas adheridas a la cinta de Melinex en los intervalos de tiempo comprendidos entre las 10-10,30 h, 12,30-13 h y 17-17,30 h.

En el BIAS, el medio de cultivo utilizado fue agar extracto de malta al 2% según la fórmula de Blakeslee (TUIITE, 1969). El crecimiento bacteriano fue inhibido mediante la adición de 10 p.p.m. de oxitetraciclina, previamente esterilizada mediante filtración. El pH del medio de cultivo se ajustó próximo a 5. Cada placa fue expuesta a las mismas horas que en el BURKARD, siendo también la cantidad de aire incidente sobre la placa de 10 l/min. Las UFC (Unidades Formadoras de Colonias) recogidas, se

incubaron a 27° C durante siete días para el posterior conteo, aislamiento e identificación de las colonias desarrolladas. Los resultados obtenidos se expresan por metro cúbico; los del BURKARD en número de esporas y los del BIAS en UFC.

El estudio estadístico realizado se encaminó esencialmente a resolver tres objetivos fundamentales:

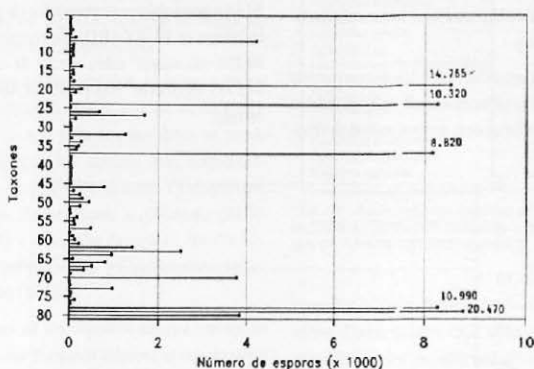
1.- Comprobar si existen diferencias estadísticamente significativas, en el número de esporas o UFC contabilizadas según el método de muestreo empleado, y en cada una de

las tres horas del día en las que se han tomado muestras.

2.- Hacer un estudio comparativo de los dos métodos utilizados, con el fin de proponer, si fuese posible, uno de ellos como más eficaz.

3.- Establecer una posible correlación con distintos parámetros meteorológicos con objeto de comprobar si existen algunos patrones de variación estacional.

Los datos utilizados para estos análisis, han sido transformados de tal forma que cada valor, x, ha sido sustituido por la raíz cuadra-



GRAFICA 1.- Taxones aislados mediante BIAS. 1, *Absidia californica*; 2, *A. spinosa*; 3, *Acremonium alternatum*; 4, *Alternaria brassicicola*; 5, *A. consortiale*; 6, *A. dendritica*; 7, *A. tenuis*; 8, *A. tenuissima*; 9, *Alternaria* sp.; 10, *Arthrinium phaeospermum*; 11, *Aspergillus alliaceus*; 12, *A. aureolatus*; 13, *A. brunneo-uniseriatus*; 14, *A. candidus*; 15, *A. carneus*; 16, *A. flavipes*; 17, *A. flavo-turcatus*; 18, *A. flavus*; 19, *A. fumigatus*; 20, *A. heteromorphus*; 21, *A. japonicus*; 22, *A. minioluteus*; 23, *A. nidulans* var. *echinulatus*; 24, *A. niger*; 25, *A. niveus*; 26, *A. ochraceus*; 27, *A. oryzae*; 28, *A. petrakii*; 29, *A. sclerotiorum*; 30, *A. stivaticus*; 31, *A. sydowii*; 32, *A. terreus*; 33, *A. terricola*; 34, *A. versicolor*; 35, *A. wentii*; 36, *Aspergillus* sp.; 37, *Cladosporium cladosporioides*; 38, *C. herbarum*; 39, *C. macrocarpum*; 40, *C. oxysporum*; 41, *C. sphaerospermum*; 42, *Cladosporium* sp.; 43, *Curvularia spicifera*; 44, *Chaetomium* sp.; 45, *Drechslera australiensis*; 46, *Emmericella nidulans*; 47, *Eurotium chevalieri*; 48, *Fusarium* sp.; 49, *Geotrichum candidum*; 50, *Monilia sitophila*; 51, *Mucor indicus*; 52, *M. mucedo*; 53, *Nigrospora sphaerica*; 54, *Paecilomyces variotii*; 55, *Penicillium* ser. *Camemberti*; 56, *P. ser. Citreocinra*; 57, *P. ser. Citrina*; 58, *P. ser. Dendritica*; 59, *P. ser. Expansa*; 60, *P. ser. Fallutana*; 61, *P. ser. Glabra*; 62, *P. ser. Implicata*; 63, *P. ser. Islandica*; 64, *P. ser. Miniolutea*; 65, *P. ser. Olsonii*; 66, *P. ser. Oxalica*; 67, *P. ser. Restricta*; 68, *P. ser. Viridicata*; 70, *Penicillium* sp.; 71, *Phoma* sp.; 72, *Rhinocladia atrovirens*; 73, *Rhizopus nigricans*; 74, *Stachybotrys atra*; 75, *Syncephalastrum racemosum*; 76, *Trichoderma harzianum*; 77, *Ulocladium botrytis*; 76, *Mycelia Sterilia*; 79, Desconocidos; 80, Levaduras.

da de $x + 1$. Se ha creído conveniente realizar esta transformación, que se aplica a eventos que ocurren con poca frecuencia y que tienden a distribuirse al modo de Poisson (SNEDECOR & COCHRAN, 1971), debido a que en nuestro caso existen taxones que se recogen sólo de forma casual.

Para comprobar si existen diferencias estadísticamente significativas, entre las tres horas de un mismo día en cuanto al número de esporas recolectadas, se aplicó a los datos de cada taxón un análisis de varianza con dos fuentes de variación (días y horas) y sin repetición. Cuando existieron diferencias significativas, se calculó entre qué horas existían tales diferencias.

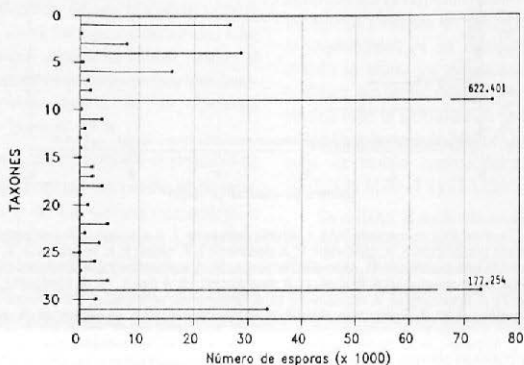
La comparación entre los dos captadores se llevó a cabo seleccionando sólo los taxones que se detectaron con ambos métodos, reali-

zándose un análisis de varianza jerarquizado con los datos obtenidos.

Por último, y con el fin de establecer una posible correlación entre el número de esporas o colonias contabilizadas y los parámetros meteorológicos, se calculó la matriz de correlación correspondiente a cada una de las tres horas en las que se tomaron muestras.

RESULTADOS

Se han realizado 768 muestreos con cada uno de los dos métodos (placas de Petri en BIAS y portaobjetos impregnados de petro-latol blanco en BURKARD). Se contabilizaron 94.200 colonias/m³ sobre medio de cultivo y 945.935 esporas/m³ con el BURKARD spore-trap.



GRAFICA 2.- Taxones aislados mediante BURKARD. 1, *Alternaria*; 2, *Arthrinium*; 3, Ascósporas; 4, *Aspergillá*-*ceas*; 5, *Bahusakala*; 6, Basidiósporas; 7, *Botrytis*; 8, *Bovista*; 9, *Cladosporium*; 10, *Curvularia*; 11, *Daightonia*-*lla*; 12, *Drechsiere*; 13, *Emericella nidulans*; 14, *E. varicolor*; 15, *Entomophthora*; 16, *Epicoccum*; 17, *Erysiphe*; 18, *Leptosphaeria*; 19, *Leptosphaerulina*; 20, *Nigrospora*; 21, *Pithomyces*; 22, *Pleospora*; 23, *Polythrincium*;

El número total de taxones identificados ha sido de 77 mediante BIAS y 27 con BURKARD (Gráficas 1 y 2); además, se han establecido otros grupos más amplios en los que incluimos ascósporas, Aspergíleas, basidiósporas, levaduras, *Mycelia Sterilia* y desconocidos; este último grupo incluye tanto colonias que no se han desarrollado suficientemente para su identificación (BIAS), como aquellas esporas que por las limitaciones que presentan los métodos de captación sobre medio inerte, no han podido ser identificadas (BURKARD). En este trabajo, hemos considerado incluidas bajo el término genérico de "esporas", tanto las de origen sexual como asexual (conidios).

Para ambos métodos, el número de esporas contabilizadas se expresa en las Gráficas 1 y 2. A la vista de estos datos, se puede concluir que los taxones más abundantemente recolectados fueron: *Cladosporium*, *Ustilago*, Aspergíleas y *Alternaria* (BURKARD); y *Aspergillus fumigatus*, *Mycelia Sterilia*, *Aspergillus niger* y *Cladosporium cladosporioides* (BIAS).

Uno de los objetivos de este trabajo es comprobar si existen diferencias cuantitativas

TAXONES	BURKARD	BIAS
<i>Alternaria</i>	2.820	4.81
<i>Arthrinium</i>	0.010	0.06
<i>Cladosporium</i>	65.980	9.48
<i>Curvularia</i>	0.010	0.03
<i>Drechlera</i>	0.080	0.02
<i>Emericella nidulans</i>	0.001	0.82
<i>Nigrospora</i>	0.140	0.02
<i>Rhizopus</i>	0.001	1.03

TABLA 1.- Porcentaje de cada taxon en el total de esporas/colonias contabilizadas.

TAXONES	HORAS		
	10.00	12.30	17.00
A.- BURKARD			
<i>Alternaria</i>			+
Ascósporas	+		
Aspergíleas			+
Basidiósporas	+		
<i>Cladosporium</i>			+
<i>Deighoniella</i>			+
<i>Epicoccum</i>			+
<i>Erysiphe</i>			+
<i>Leptosphaeria</i>	+		
<i>Nigrospora</i>			+
<i>Polythrincium</i>		+	
<i>Ustilago</i>			+
B.- BIAS			
TAXONES	10.00	12.30	17.00
<i>Alternaria tenuis</i>			+
<i>Alternaria sp.</i>			+
<i>Aspergillus candidus</i>	+		
<i>Aspergillus fumigatus</i>		+	
<i>Aspergillus niger</i>	+		
<i>Aspergillus ochraceus</i>		+	
<i>Aspergillus oryzae</i>	+		
<i>Aspergillus terreus</i>	+		
<i>Aspergillus sp.</i>	+		
<i>Cladosporium cladosporioides</i>			+
<i>Cladosporium sp.</i>			+
<i>Fusarium sp.</i>		+	
<i>Mucor indicus</i>	+		
<i>Mucor sp.</i>	+		
<i>Paecilomyces variotii</i>	+		
<i>Penicillium</i> ser. <i>Citrina</i>	+		
<i>Rhizopus nigricans</i>	+		

TABLA 2.- Representa los taxones en los que se ha encontrado significación respecto a la hora de recogida de muestras con cada captador.

entre los taxones detectados con ambos métodos. Como quiera que sólo ocho taxones coinciden en ser recolectados tanto en BIAS como en BURKARD, la comparación entre ambos métodos sólo ha sido posible en ocho casos. Por ello, en la Tabla 1 sólo aparecen dichos taxones (*Alternaria*, *Arthrinium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Drechlera*, *Emericella nidulans*, *Nigrospora* y *Rhizopus*), dándose a conocer el porcentaje que representa cada taxón en el total de esporas o colonias recolectadas con cada método. En este sentido, se puede destacar que el porcentaje de conidios de *Cladosporium* fue mucho más

elevado mediante el método inerte (65.98%) que el de las colonias contabilizadas sobre medio de cultivo (9.48%). Sin embargo, el porcentaje de colonias de *Alternaria* identificadas mediante este último, fue mayor que el número de conidios recogidos con BURKARD (4.81% y 2.82% respectivamente).

En relación con estos datos, hay que reseñar que los taxones citados son representativos del total de esporas recogidas con BURKARD, mientras que sólo representan una mínima parte de las colonias contabilizadas mediante el método BIAS. El total de esporas y colonias que se contaron con ambos captadores se representa en la Gráfica 4, donde se observan las diferencias respecto al total (100 %), existentes entre los dos métodos de muestreo utilizados en este trabajo.

Por otro lado, para conocer si existen diferencias a lo largo del día respecto al número de esporas de cada taxón presentes en el aire, se aplicó a los resultados un análisis de varianza de dos fuentes de variación (días y horas) sin repetición. Este análisis, permite concluir que 12 taxones de los aislados con el BURKARD (Tabla 2A) y 17 de los aislados con el BIAS (Tabla 2B), presentaron diferencias significativas en cuanto al número de esporas recolectadas a las distintas horas muestreadas.

Un elemento que nos ha parecido interesante conocer, es entre que las horas se producen estas diferencias significativas. Para ello, se aplicó una prueba de significación de la "t". Los resultados muestran (Tabla 2, A y B), que los taxones recogidos con BIAS son más frecuentes en el aire a las 10 h, mientras que los recogidos con BURKARD lo son a

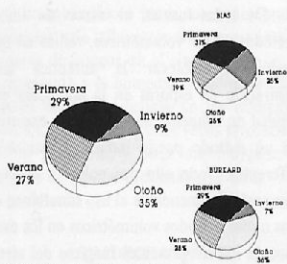
las 17 h; este hecho, que en principio podría ser contradictorio, se explica por que la mayoría de los taxones con diferencia significativa entre horas, son diferentes en los dos métodos, a excepción de *Cladosporium* y *Alternaria*; géneros que se recogen más abundantemente a las 17 h, tanto con un método como con el otro.

Es necesario destacar también, el hecho de que la mayoría de las especies de *Aspergillus* (excepto *A. fumigatus* y *A. ochraceus*), abundan más a horas tempranas de la mañana (Tabla 2B), cuando la humedad es más alta y las temperaturas más bajas, fenómeno que confirma lo señalado anteriormente por CALVO & al. (1980b), que observaron este mismo fenómeno en la atmósfera de Barcelona.

Por otro lado, y para comparar estadísticamente los dos métodos utilizados, se ha seleccionado el número de esporas de los taxones que han sido recolectados con ambos métodos, para lo que se ha realizado un análisis de varianza jerarquizado en el que los grupos de muestras se clasifican según un solo criterio: el método utilizado. Los resultados, expresados en la Tabla 3, indican el grado de significación de cada uno de estos taxones,

TAXONES	F	P
<i>Alternaria</i>	39.340**	0.0046
<i>Arthrinium</i>	0.261	0.6368
<i>Cladosporium</i>	205.720***	0.0007
<i>Curvularia</i>	5.273	0.0829
<i>Drechsteria</i>	773.650***	0.0003
<i>Emericella nidulans</i>	1431.480***	0.0002
<i>Nigrospora</i>	4.057	0.1137
<i>Rhizopus</i>	85.470*	0.0017

Tabla 3.- Análisis de varianza, que muestra el grado de significación (F. * = 95%; ** = 99%; *** = 99.9%)



GRAFICA 3.- Porcentajes totales de esporas/colonias recogidas en cada estación.

puediéndose comprobar que existen diferencias significativas en relación al número de esporas contadas en cada método en cinco de los ocho taxones considerados: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Emericella nidulans* y *Rhizopus*. De *Cladosporium* y *Drechslera* se han aislado un mayor número de esporas con BURKARD que con BIAS, mientras que *Alternaria*, *Emericella nidulans* y *Rhizopus* presentan un número más elevado con el segundo de los métodos (Tabla 1).

Por último, y para conocer la influencia de los parámetros meteorológicos en la presencia de esporas en el aire, se han construido tres matrices de correlación que nos muestran que la temperatura y la humedad relativa son los parámetros meteorológicos que más influyen, afectando principalmente a los taxones de los que recogimos un alto número de esporas.

En relación al total de esporas recolectadas, puede decirse que aunque algunos autores (BURGE, 1986) señalan que en los hongos no se presentan patrones de variación estacional claramente definidos, nosotros, al igual que CALVO & al. (1976), hemos en-

contrado que la temperatura y la humedad, entre otros factores, pueden ejercer una gran influencia en el desarrollo, predominio o incidencia de los propágulos fúngicos en el aire de un lugar o en una determinada época del año. Otros autores también hacen referencia a esta estacionalidad: DAVIES & al. (1963), y más recientemente PENNYCOOK (1980). En nuestro caso el otoño es la estación en la que se han recogido un mayor número de esporas totales (34,71% del total) seguida de la primavera (29,5%), mientras que en invierno se recolectaron un número significativamente menor de esporas (8,88%) (Gráfica 3). En esta misma Gráfica se representan individualmente las variaciones estacionales de las esporas recogidas con el BIAS y el BURKARD. En la Gráfica 4, se representan las variaciones mensuales del total de esporas recogidas con cada uno de los dos captadores.

DISCUSION

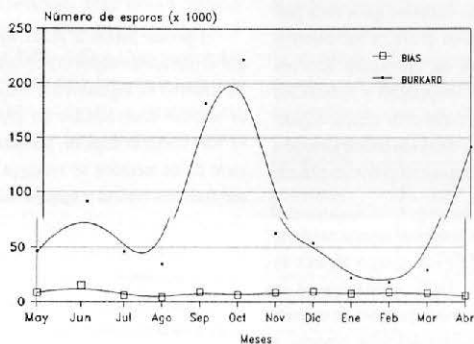
El primer hecho a tener en cuenta, es que el número de esporas contabilizadas con BURKARD es, lógicamente muy superior al de colonias desarrolladas en BIAS (Gráfica 4). Este hecho se explica, porque con el primero de los métodos se recogen y contabilizan tanto las esporas capaces de germinar y desarrollarse en medio de cultivo, como las que no, y de las primeras, tanto las viables como las no viables, mientras que con el segundo método, sólo se cuentan las esporas viables de las especies capaces de germinar y formar una colonia sobre medio de cultivo. Como se indicó anteriormente, sólo *Alter-*

naria, *Emericella nidulans* y *Rhizopus* han sido recogidos en mayor número en BIAS que en BURKARD.

A pesar de este hecho, el muestreador BURKARD presenta el inconveniente de que sólo permite, en el mejor de los casos, la identificación hasta nivel genérico, a diferencia del BIAS, donde, aunque sólo se tienen en cuenta las esporas viables, es posible la identificación hasta el nivel específico. Aunque no todas son ventajas, puesto que en este último caso puede favorecerse el crecimiento de unos u otros taxones según el medio de cultivo utilizado, o se pueden producir pérdidas causadas por los rebotes de las esporas sobre el medio, o bien el enmascaramiento de las colonias de crecimiento rápido sobre las de desarrollo más lento, que impide la identificación de estas últimas. Todo esto, puede dar lugar a que la concentración en las placas, sea inferior a la que realmente existe en el aire.

De todas formas, el interés de ambos métodos, al ser volumétricos, radica en que permiten establecer la auténtica concentración de esporas en la atmósfera por unidad de volumen, aunque el uso exclusivo de un método puede inducir a resultados diferentes. Todo ello nos obliga a concluir que sería recomendable el uso simultáneo de dos o más métodos volumétricos en los estudios de los componentes fúngicos del aire y sus variaciones anuales, lo que permitiría, probablemente, la obtención de resultados más acordes con la realidad.

Por último, y aunque algunos autores (CALVO & al., 1980a y NOGALES, 1986) concluyen que, en general no existen diferencias significativas entre horas de muestreo, de nuestro trabajo parece desprenderse, que al menos algunos taxones como *Alternaria* y *Cladosporium*, y en particular *A. tenuis* y *C. cladosporioides*, son más frecuentes en la atmósfera por la tarde (17.00 h).



GRAFICA 4.- Variación mensual del total de esporas/colonias recogidas con cada captador.

En relación con los factores meteorológicos, los más influyentes en la presencia de esporas de hongos en el aire parecen ser la temperatura y la humedad. Ambos, se comportan de forma distinta en los diferentes taxones recolectados, unas veces favoreciendo su presencia, y otras disminuyendo el número de esporas presentes en el aire.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la CICYT mediante el proyecto número PB 85-0463.

BIBLIOGRAFIA

- BOURDILLON, R.B., O.M. LIDWELL & J.C. THOMAS (1941) A slit sampler for collecting and counting airborne bacteria. *J. Hyg., Camb.* 41:197-224.
- BURGE, H.A. (1986) Some comments on the aerobiology of fungus spores. *Grana* 25:143-146.
- BURGE, H.A., J.R. BOISE, J.A. RUTHERFORD & W.R. SOLOMON (1977) Comparative recoveries of airborne fungus spores by viable and no viable modes of volumetric collection. *Mycopathol.* 64:67-72.
- CALVO, M.A., J. GUARRO & G. SUAREZ (1976). Los hongos como agentes etiológicos de enfermedades pulmonares: su incidencia en Barcelona. *Anal. Med. Cir.* 61:329-340.
- CALVO, M.A., J. GUARRO, G. SUAREZ & C. RAMIREZ (1980a) Air-borne fungi in Barcelona city (Spain). I. A two-year study (1976-1978). *Mycopathol.* 71:89-93.
- CALVO, M.A., J. GUARRO, G. SUAREZ & C. RAMIREZ (1980b) Air-borne fungi in the air of Barcelona, Spain. III. The genus *Aspergillus* Link. *Mycopathol.* 71:41-43.
- DAVIES, R., M. DENNY & L. NEWTON (1963) A comparison between the summer and autumn airsporas at London and Liverpool. *Act. Allergol.* 8:131-147.
- HIRST, J.M. (1952) An automatic volumetric spore-trap. *Ann. Appl. Biol.* 39(2):257-265.
- ISOARD, P., J. CHASSAGNE & J. MICHEL-BRUN (1981) Etudes quantitatives et qualitatives des microorganismes atmosphériques. *Lyon Med.* 245:67-70.
- KRAMER, C.L., S.M. PADY & B.J. WILEY (1963) Kansas Aeromycology. XIII. Diurnal studies 1959-1960. *Mycologia* 55(4):380-401.
- KRAMER, C.L., S.M. PADY & B.J. WILEY (1964) Kansas Aeromycology. XIV. Diurnal studies 1961-1962. *Trans. Kansas Acad. Sci.* 67(3):442-459.
- MÄKYNEN, Y. & A. RANTIO-LEHTIMÄKI (1979) Diurnal variation of airborne fungal spores in Turku, Finland, in 1974. *Rep. Aerobiol. Lab. Univ. Turku.*
- McDONALD, M.S. & B.J. O'DRISCOLL (1980) Aerobiological studies based in Galway. A comparison of pollen and spore counts over two seasons of widely differing weather conditions. *Clin. Allerg.* 10:211-215.
- NOGALES M.T. (1986) Variación estacional de la micoflora aerovagante de Córdoba, y su relación con los parámetros físicos. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- NOGALES, M.T., E. DOMINGUEZ, C. GALAN & E. RUIZ DE CLAVIJO (1986) Variación estacional del contenido en esporas del género *Alternaria* Nees ex Fr. en el aire de la ciudad de Córdoba (España). *Allergol. Immunopathol.* 14:115-119.
- PADY, S.M., C.L. KRAMER & B.J. WILEY (1962) Kansas Aeromycology. XII. Materials, methods and general results of diurnal studies 1959-1960. *Mycologia* 54(2):168-180.
- PENNYCOOK, S.R. (1980) The air spora of Auckland city New-Zeland. I. Seasonal and diel periodicities. *N.Z. Sci.* 23(1):27-38.
- SNEDECOR, G.W. & W.G. COCHRAN (1971). *Métodos estadísticos*. C.E.C.S.A. México.
- SOLOMON, W.R., H.A. BURGE, J.R. BOISE & M. BECKER (1980) Comparative particle recoveries by the retracting Rotorod, Rotoslide and Burkard spore-trap sampling in a compact array. *Int. J. Biometeorol.* 24(2):107-116.
- TUITE, J. (1969) *Plant pathological methods fungi and bacteria*. Burgess Publishing, USA.