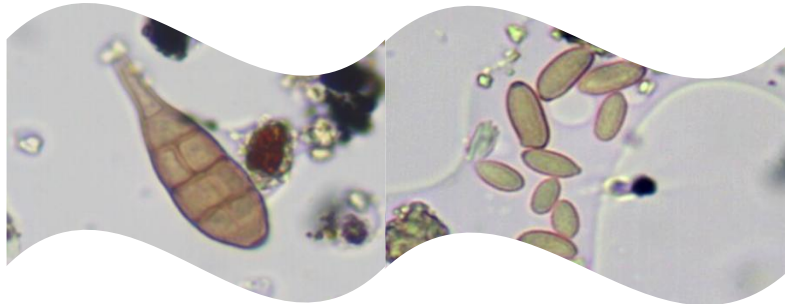




Hinc patriam sustinet

**Instituto Superior de Agronomia**  
**Universidade Técnica de Lisboa**



## **Espectro de esporos de fungos alergisantes na atmosfera de Lisboa**

**Helena Paula Aguiar Vicente dos Santos**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais**

Orientador: Doutor António Manuel Dorotêa Fabião

Co-orientador: Doutora Ana Paula Ferreira Ramos

### **JÚRI**

Presidente: Doutora Maria Manuela Costa Neves Figueiredo, Professora Catedrática do  
Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Vogais : Doutor António Manuel Dorotêa Fabião, Professor Associado do Instituto Superior  
de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Helena Reis de Noronha Ribeiro de Almeida, Professora Associada  
do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Helena Mendes da Costa Ferreira Correia de Oliveira, Professora  
Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Ana Paula Ferreira Ramos, Professora Auxiliar do Instituto Superior de  
Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Lisboa, 2011

---

## AGRADECIMENTOS

Esta dissertação foi efectuada no âmbito do Projecto de Investigação “Efeitos da Poluição Atmosférica e do Estado Sanitário das Árvores na Produção, Morfologia e Identificação do Grão de Pólen”, financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) com a referência PTDC/AMB/64929/2006.

Ao Professor Associado António Fabião e à Professora Auxiliar Ana Paula Ramos agradeço a orientação, o acompanhamento e a disponibilidade prestadas ao longo de todas as etapas percorridas para a realização deste trabalho;

À Professora Catedrática Manuela Neves agradeço a indispensável colaboração e apoio para o tratamento estatístico dos dados da componente laboratorial e de campo;

À Professora Auxiliar Fernanda Valente agradeço o seu auxílio e esclarecimentos prestados à custa dos seus tempos de descanso e lazer;

À Rita Moreira agradeço a sua preciosa colaboração e apoio incondicional facultados nos vários momentos;

Ao meu núcleo familiar pelo ânimo e incentivo sempre constantes e pela magnífica resiliência demonstrada durante este meu percurso;

A todos aqueles, que embora não nomeados, contribuíram e tornaram possível a concretização do presente trabalho.

Bem hajam

**RESUMO**

Vários esporos de fungos, em suspensão na atmosfera, podem actuar como indutores de alergias respiratórias no ser humano. Os géneros *Alternaria* e *Cladosporium* são referidos, por múltiplos autores, como os fungos alergisantes de maior prevalência e distribuição atmosférica. A monitorização destes fungos e o conhecimento da influência dos diversos elementos do clima na sua distribuição na atmosfera constituem importante contributo para a elaboração de calendários de ocorrências. No presente trabalho pretendeu-se analisar a variação sazonal dos esporos de ambos os fungos e averiguar da interacção entre os elementos do clima e a sua dinâmica. As amostras foram recolhidas, na cidade de Lisboa, entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011, com um captador volumétrico do tipo Hirst. A avaliação dos efeitos dos elementos do clima foi determinada por regressão linear múltipla e aplicação do critério de AIC. Os resultados confirmaram a permanência de ambos os fungos com nítida predominância para *Cladosporium*. As maiores concentrações ocorreram nos meses Junho e Julho. A temperatura e a humidade relativa foram os elementos do clima com melhor relação estatística com a abundância de esporos no ar. Considerou-se recomendável a continuação de estudos deste tipo para aprofundamento dos conhecimentos quanto á sua ocorrência na atmosfera.

**Palavras chave:** *Alternaria*. *Cladosporium*. Alergia. Variação sazonal. Temperatura. Humidade relativa.

**ABSTRACT****Spectrum of allergenic fungal spores in the atmosphere of Lisbon**

Outdoor airborne fungal spores may cause respiratory allergic diseases in humans. The genera *Alternaria* and *Cladosporium* are referred by several authors as the most common and prevalent allergenic fungi distributed in atmosphere. Monitoring of these fungi and the knowledge on the influence of climate on their distribution and abundance are important contributions to the elaboration of calendars of occurrence. The present work aimed at analyzing the seasonal variation in the concentration of spores of both fungal species and establishing relationships between meteorological parameters and their dynamics. The samples were collected in the city of Lisbon, between February 2009 and February 2011, with a volumetric Hirst-type trap. The assessment of effects of meteorological parameters was determined through multiple linear regression and application of the AIC criteria. Results confirmed the permanence of both fungi with a distinct predominance for *Cladosporium*. The highest concentrations of spores occurred in the months of June and July. Temperature and relative humidity of atmosphere were found to be the parameters best correlated with the abundance of those fungal spores in the atmosphere. Continuing of studies of this kind was considered to be recommendable to improve knowledge on the occurrence of these fungal spores in atmosphere.

**Keywords:** *Alternaria*. *Cladosporium*. Allergy. Seasonal variation. Temperature. Relative humidity.

## Extended Abstract

### Spectrum of allergenic fungal spores in the atmosphere of Lisbon

Fungal spores are the largest component of the organic particles in the indoor and outdoor atmosphere, characterized by a widespread and high adaptability to different habitats. The genera of fungi belonging to the mitosporic group can act as saprophytes or parasites with pathogenic effects on various plant species, and or cause symptoms of allergic disease in humans through their airborne spores. Two genera within this group, *Alternaria* and *Cladosporium*, are considered by many authors as the most prevalent and commonly distributed in atmosphere, with reference to serious respiratory problems such as asthma and allergic rhinitis. Monitoring of spores of these fungi in atmosphere, as well as evaluation of the influence of climatic parameters on seasonal variation of the concentration of their airborne spores, are an important contribution to occurrence calendars, enabling the agricultural sector to increase the effective use of pesticides and the health sector to forecast and control the risk of acute allergic diseases. In this context, the aims of this study were: a) to analyze the prevalence and seasonal variation of the concentration of airborne spores of *Alternaria* and *Cladosporium* in the atmosphere of Lisbon; b) to determine how the climatic parameters influence the dynamic behaviour of these fungal spores. The samples were collected between February 2009 and February 2011, in Lisbon, with a volumetric Hirst-type trap. The identification and counting of spores was carried out with the aid of an optical microscope, using the method of Rogers & Muilenberg (2001) to convert sample counting to amount of spores per cubic meter of air. The evaluation of the effects of meteorological parameters was performed by multiple linear regression, using the R statistical software (version 2.12.0) and applying the criteria of AIC. The results confirmed the persistence of both fungi throughout the time period of the study, with a distinct predominance of *Cladosporium*. For both genera the highest concentrations occurred in the months of June and July and the lowest in the month of April. The temperature and the relative humidity, proved to be the parameters with best statistical relationship with airborne spore abundance which have positive correlation with temperature and negative with relative humidity. Our results also suggest that other climatic parameters may be related to airborne spore abundance, recommending further research within this subject.

## INDICE

|   |     |
|---|-----|
| Lista de Quadros .....  | VI  |
| Lista de Figuras.....   | VII |
| 1. Introdução .....   | 1   |
| 2. Material e Métodos .....   | 7   |
| 2.1. Localização .....  | 7   |
| 2.2. Monitorização de esporos de fungos na atmosfera .....                              | 8   |
| 2.2.1. Capturador volumétrico tipo Hirst .....  | 8   |
| 2.2.2. Preparação das amostras para observação .....                                    | 11  |
| 2.3. Recolha e amostragem .....   | 12  |
| 2.4. Métodos de análise .....   | 14  |
| 3. Resultados .....   | 15  |
| 3.1. Dinâmica dos esporos de <i>Alternaria</i> e <i>Cladosporium</i> na atmosfera ..... | 15  |
| 3.2. Efeito dos elementos do clima na variação da concentração dos esporos .....        | 17  |
| 4. Discussão .....  | 26  |
| 5. Conclusões .....   | 31  |
| 6. Referências bibliográficas .....   | 33  |
| 7. Anexos .....   | 41  |

---

**Lista de Quadros**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Quadro 1</b> - Géneros de fungos mais frequentemente associados a alergias.....  | <b>3</b>  |
| <b>Quadro 2</b> - Número total de esporos de <i>Alternaria</i> e de <i>Cladosporium</i> por m <sup>3</sup> observados entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011.....  | <b>17</b> |
| <b>Quadro 3</b> - Valores dos coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração de esporos de <i>Cladosporium</i> e as variáveis climáticas para os diferentes períodos de tempo analisados.....   | <b>18</b> |
| <b>Quadro 4</b> - Valores dos coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração de esporos de <i>Alternaria</i> e as variáveis climáticas para os diferentes períodos de tempo analisados.....   | <b>18</b> |
| <b>Quadro 5</b> – Coeficientes de regressão relativamente às variáveis climáticas consideradas e a concentração esporos (transformada) de <i>Cladosporium</i> e respectivos coeficientes de determinação R <sup>2</sup> e R <sup>2</sup> ajustado ..... | <b>19</b> |
| <b>Quadro6</b> - Coeficientes de regressão relativamente às variáveis climáticas consideradas e a concentração esporos (transformada) de <i>Alternaria</i> e respectivos coeficientes de determinação R <sup>2</sup> e R <sup>2</sup> ajustado.....     | <b>19</b> |
| <b>Quadro7</b> - Resultados finais da selecção AIC das variáveis independentes para <i>Cladosporium</i> .....   | <b>21</b> |
| <b>Quadro 8</b> - Resultados finais da selecção AIC das variáveis independentes para <i>Alternaria</i> .....  | <b>23</b> |

---

**Lista de Figuras**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Figura 1</b> - Esporos de <i>Alternaria</i> sp. onde se distinguem septos transversais e longitudinais (A) e esporos de <i>Cladosporium</i> sp. onde são visíveis septos e cicatrizes de abscisão (B).....  | <b>5</b>  |
| <b>Figura 2</b> - Fotografia aérea do Jardim do Campo Grande, Lisboa, com indicação da localização do Museu da Cidade.....   | <b>7</b>  |
| <b>Figura 3</b> - Capturador volumétrico do tipo Hirst instalado na cobertura de um edifício no Museu da Cidade, em Lisboa. Aspecto da localização (A) e pormenor do aparelho no local (B).....  | <b>9</b>  |
| <b>Figura 4</b> - Capturador volumétrico do tipo Hirst (A) e corte esquemático da unidade de impacto (B)...  | <b>9</b>  |
| <b>Figura 5</b> - Detalhes do capturador volumétrico do tipo Hirst, aspectos da preparação da fita Melinex® e ajustamento do fluxo de ar: (A) orifício de aspiração; (B) tambor com fita Melinex®; (C) leme; (D) colocação da fita Melinex® e (E) pincelagem com silicone; (F) colocação do tambor alinhado com o mecanismo de relógio; (G) marcação da fita e (H) medição do volume de ar com fluxómetro..... | <b>11</b> |
| <b>Figura 6</b> - Seccionamento da fita Melinex® em períodos de 24 horas.....  | <b>12</b> |
| <b>Figura 7</b> - Montagem da secção da fita entre lâmina e lamela de vidro para observação ao microscópio.....  | <b>12</b> |
| <b>Figura 8</b> - Representação esquemática dos campos ópticos da lâmina para contagem de esporos de <i>Alternaria</i> e <i>Cladosporium</i> .....   | <b>13</b> |
| <b>Figura 9</b> -Número total de esporos de <i>Cladosporium</i> (A) e de <i>Alternaria</i> (B) por metro cúbico, entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011.....  | <b>16</b> |
| <b>Figura 10</b> -Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de <i>Cladosporium</i> entre 2009 e 2011: Velocidade do vento (Vel.Vento), Humidade relativa (HR) Precipitação (Pp) e Temperatura mínima (Temp.min.).....  | <b>21</b> |
| <b>Figura 11</b> - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de <i>Cladosporium</i> em 2009: Humidade relativa (HR), Temperatura mínima (Temp.min.) e Velocidade do vento (Vel.Vento)...   | <b>22</b> |

- Figura 12** - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Cladosporium* em 2010: Precipitação (Pp), Velocidade do vento (Vel.Vento) e Temperatura máxima (Temp máx)..... **22**
- Figura 13** - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Alternaria* entre 2009 a 2011: Humidade relativa (HR), Precipitação (Pp), Temperatura mínima (Temp.min.) e Temperatura máxima (Temp máx)..... **24**
- Figura 14** - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Alternaria* em 2009: Humidade relativa (HR) e Temperatura mínima (Temp.min.)..... **24**
- Figura 15** - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Alternaria* em 2010: Humidade relativa (HR), Precipitação (Pp.) e Temperatura máxima (Temp máx)..... **25**

## 1. Introdução

Na atmosfera de ambientes interiores e exteriores circulam variadas partículas, inorgânicas e orgânicas, como sejam vírus, bactérias, esporos, entre outras substâncias, provenientes de diversas origens. A maior fracção desta componente é constituída por esporos de fungos, numa proporção de 100 a 1000 vezes mais numerosos que outras biopartículas como os grãos de pólen (Gravesen, 1979; Adhikari, 2003; Nunes *et al.*, 2008; Grinn-Gofroñ & Rapiejko, 2009; Abu -Dieyeh *et al.*, 2010). A elevada concentração de esporos de fungos na atmosfera pode ser explicada por estes apresentarem uma grande variabilidade de características designadamente, forma, dimensões, higroscopicidade, estrutura e composição.

Acresce que os fungos produtores destes esporos são capazes de crescer em condições ambientais extremas, por terem grande capacidade colonizadora de muitos e variados tipos de substratos (solo, tecido vegetal vivo ou em decomposição, tecido animal, pó da casa, têxteis, diversos materiais). Muitos destes fungos são considerados ubíquos e podem ser saprófitas, parasitas ou ainda decompositores (Gravesen, 1979; Fernández *et al.*, 1998; Pantoja *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2009).

A variação da composição, da concentração e da distribuição geográfica destas partículas na atmosfera, resultam de uma complexa interacção entre factores bióticos e climáticos, por um lado, e processos físicos por outro, sendo ainda escasso o conhecimento acerca dessas relações (Angulo-Romero *et al.*, 1999; Erkara *et al.*, 2008; Grinn-Gofroñ, 2010). Na área da aerobiologia diversos estudos têm sido direccionados para a procura de respostas a questões comuns, tais como: “Como, Porquê e Quando se libertam os esporos para a atmosfera?” (Frenguelli, 1998; Burge, 2002). Estas questões decorrem do reconhecimento da importância de muitos géneros de fungos pela sua relevância como patogénios em plantas herbáceas, arbustivas e arbóreas, e pelo efeito indutor de doenças alérgicas respiratórias no ser humano, por contacto ou inalação.

Com efeito, nas últimas duas décadas tem sido crescente o número de pessoas que padecem deste tipo de doença que pode atingir níveis elevados de gravidade. Estima-se que cerca 25% da população mundial de áreas urbanas e industriais estejam afectadas por sintomatologias alérgicas respiratórias induzidas, entre outras, por fungos. (Esch *et al.*, 2001; D'Amato *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2009a). Segundo Loureiro (2001), são actualmente reconhecidas cerca de 100 espécies de fungos associadas com patologia alérgica através de testes cutâneos de hipersensibilidade e/ou por

testes de provocação brônquica ou nasal, traduzindo-se por quadros de rinite, asma brônquica alérgica, sinusite alérgica entre outras.

Apesar da importância crescente dos fungos nas sociedades actuais, e consequente incremento de estudos em epidemiologia e aerobiologia, é ainda difícil estabelecer uma correlação entre a presença de fungos, num determinado ambiente, e a gravidade e prevalência dos sintomas alérgicos. Ainda de acordo com aquele autor, a diversidade de repercussões clínicas à exposição de fungos pode ser atribuída a características morfológicas dos esporos, ao seu conteúdo enzimático, à tolerância térmica e à radiação UV, ao tempo e modo de exposição e também à sensibilidade de cada indivíduo. Na sintomatologia alérgica, o potencial alergizante dos esporos depende em grande medida da sua dimensão, dado serem fixados em diversas partes do sistema respiratório, com as partículas de menor dimensão, entre 6 e 10µm, a atingirem a parte mais profunda do aparelho respiratório, com manifestações de sintomas de asma, em função do tempo de exposição (Adhikari *et al.*, 2003). Esta é geralmente maior para os fungos comparativamente a pólenes que ocorrem na atmosfera durante algumas semanas, porquanto os esporos permanecem longos meses e podem ser inalados em maior quantidade que os grãos de pólen (Horner *et al.*, 1992; Bush, 2004; Pantoja *et al.*, 2007).

As alergias a fungos, por não estarem tão bem definidas em termos de épocas como outras alergias sazonais e por terem maior complexidade e variabilidade face às alergias induzidas por outras partículas alergizantes, dificultam o diagnóstico e tratamento dos sintomas que ocasionam (Delfino *et al.*, 1997; Esch *et al.*, 2001; Damialis & Gioulekas, 2006; Abu -Dieyeh *et al.*, 2010; Grinn-Gofroń, 2010).

Mais de 50 géneros de fungos têm sido relacionados de forma consistente com sintomas respiratórios alérgicos (Kurup *et al.*, 2000). Na sua maioria são fungos pertencentes ao Phylum Ascomycota, conhecendo-se o potencial alergizante dos esporos dos seus anamorfos (também designados conídios ou mitósporos) (Quadro 1). Contudo, apenas algumas espécies como *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Aspergillus fumigatus* Fresen. e *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link têm sido sistematicamente estudadas, nomeadamente no que diz respeito à caracterização dos alergénios mais relevantes em cada espécie e o seu papel nas patologias alérgicas (Kurup *et al.*, 2000; Breitenbach & Simmon-Nobbe, 2002).

Com efeito, os fungos pertencentes a *Alternaria* Nees e *Cladosporium* Link são citados na bibliografia da especialidade como sendo dos géneros de fungos com maior potencial alergizante, constituindo *A. alternata* e *C. herbarum* as maiores fontes de alergénios inaláveis, quer em ambientes confinados quer ao ar livre, e responsáveis por reacções alérgicas ao nível do aparelho respiratório de nível moderado a elevado – asmas, bronquites

e rinites (Delfino *et al.*, 1997; Mitakakis *et al.*, 1997; Angulo-Romero *et al.*, 1999; D'Amato *et al.*, 2002; Corden *et al.*, 2003; Hasnai *et al.*, 2004; Bruno *et al.*, 2007).

Quadro 1 – Géneros de fungos mais frequentemente associados a alergias (adaptado de Kurup *et al.*, 2000)

|                       |                         |                      |
|-----------------------|-------------------------|----------------------|
| <i>Alternaria</i>     | <i>Epicoccum</i>        | <i>Stachybotrys</i>  |
| <i>Aspergillus</i>    | <i>Fusarium</i>         | <i>Stemphylium</i>   |
| <i>Aureobasidium</i>  | <i>Gliocladium</i>      | <i>Trichoderma</i>   |
| <i>Botrytis</i>       | <i>Helminthosporium</i> | <i>Trichophyton</i>  |
| <i>Cephalosporium</i> | <i>Paecilomyces</i>     | <i>Trichothecium</i> |
| <i>Cladosporium</i>   | <i>Penicillium</i>      | <i>Ulocladium</i>    |
| <i>Curvularia</i>     | <i>Phoma</i>            |                      |
| <i>Drechslera</i>     | <i>Scopulariopsis</i>   |                      |

A incidência da sensibilização a *A. alternata* e *C. herbarum* é variável de país para país, em função das características climáticas, da idade das populações estudadas e do tipo de extracto alergénico utilizado (Breitenbach & Simmon-Nobbe, 2002). Assim, a alergia a fungos é mais frequente em crianças até aos quatro anos de idade e a asma brônquica parece ser a expressão clínica mais usual da exposição a fungos, principalmente *Alternaria* e *Cladosporium* (Kurup *et al.*, 2000). Por outro lado, estudos conduzidos por Horner *et al.* (1995) revelaram uma variabilidade de 3 a 91% na prevalência da sensibilização a fungos dependendo do tipo de pacientes e extractos testados.

De acordo com Bush *et al.* (2004) em estudos realizados nos Estados unidos, mais de 70% de pacientes com alergia a fungos reagiram positivamente a *Alternaria* e mais de 80% de pacientes diagnosticados com asma demonstraram reacções positivas a uma ou mais espécies de fungos.

Em Portugal, são escassos os estudos epidemiológicos e também os de caracterização da respectiva doença alérgica. Estudos efectuados por Palma-Carlos & Sousa Uva (1984) para a determinação da prevalência da patologia alérgica fúngica através de testes cutâneos, resultaram em valores de 2 a 3% na população em geral e de 21,4% numa população atópica. Já na Região Centro de Portugal, numa população dos 20 aos 44 anos de idade Loureiro *et al.* (1996) encontraram uma prevalência de sensibilização a *Alternaria alternata* e *Cladosporium herbarum* de 1%, determinada por testes cutâneos de alergia. Estudos realizados por Bush *et al.* (2004) na Península Ibérica revelaram que em Portugal 3% dos pacientes com sintomas alérgicos respiratórios demonstraram uma reacção positiva quer a *Alternaria* quer a *Cladosporium*, ao passo que em Espanha esse valor ascendeu a 20%.

Segundo Flückinger (2000) o poder alergizante dos esporos de *Alternaria* e *Cladosporium* mantém-se mesmo quando os esporos perdem a sua viabilidade. De acordo com Pulimood *et al.* (2007) no Reino Unido, na época das colheitas cerealíferas, encontram-se elevadas concentrações de esporos de *Cladosporium* e de *Alternaria* na atmosfera, estes últimos aparecendo fragmentados o que lhes permite atingir os níveis inferiores do aparelho respiratório. Estes autores encontraram, para essa época e ano, uma evidente correlação entre o número de registos hospitalares com problemas de asma e os níveis de abundância de fragmentos de esporos de *Alternaria* e *Cladosporium* observados na atmosfera. A indução de sintomas alérgicos manifesta-se quando na atmosfera as concentrações de esporos de fungos sejam superiores a determinados valores, considerando-se para *Cladosporium* spp. valores acima dos 2800 a 3000 esporos/m<sup>3</sup> e para *Alternaria* spp. valores acima dos 50 a 100 esporos/m<sup>3</sup> (Frankland & Davis, 1965; Gravesen, 1979; Kasprzky & Worek, 2006; Grinn-Grofoń & Mika, 2008).

Os fungos dos géneros *Alternaria* e *Cladosporium* apresentam uma ampla distribuição geográfica e podem viver como saprófitas ou parasitas (Yi-Hua, 2007; Grinn-Gofroń & Mika, 2008; O’Gorman & Fuller, 2008; Silva *et al.*, 2009; Erkara *et al.*, 2008). Em zonas temperadas os fungos pertencentes a *Cladosporium* sp. são referidos como os mais comuns entre os fungos que causam alergias, estando relacionados com elevado número de sintomas alérgicos (Fernandez *et al.*, 1998; Hollins *et al.*, 2004; Hasnain *et al.*, 2005; Abu-Dieyeh *et al.*, 2010) para além de assinaláveis impactes sócio – económicos pela acção patogénica em diversas culturas agrícolas (Sánchez *et al.*, 2009).

Diversos estudos aerobiológicos mostram a presença constante de esporos de fungos na atmosfera, e em particular de *Alternaria* e de *Cladosporium* (Fernandez *et al.*, 1998; Henriquez *et al.*, 2001; Ho *et al.*, 2005; Rodriguez-Rajo *et al.*, 2005; Herrero *et al.*, 2006) ainda que as concentrações de *Alternaria* sejam sempre menores comparativamente a *Cladosporium* (Diaz *et al.*, 1998).

A dispersão, transporte e concentração de esporos de fungos na atmosfera é influenciada por diferentes factores, sendo os mais importantes a temperatura, precipitação, luz, humidade relativa e vento, entre outros (Dhingra & Sinclair, 1995; Agrios, 2005).

Diversos estudos têm tentado caracterizar o modo como os diversos parâmetros do clima afectam a composição e as concentrações diárias dos esporos na atmosfera (Stennett & Beggs, 2004; Bruno *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2009b; Quintera *et al.*, 2010). Segundo Stennett & Beggs (2004) nem só a temperatura afecta o ritmo diário e sazonal da ocorrência de esporos de fungos no ar, contudo é ainda difícil estimar que outros factores são prevalentes e qual a sua importância relativa. Ainda que de uma forma geral as concentrações mais elevadas de esporos coincidam com episódios de temperaturas mais

altas, a relação com outros factores é na maioria dos casos inconsistente (Bruno *et al.*, 2009; Grinn-Gofroń & Strzelczak, 2008).

A monitorização dos esporos de fungos, o conhecimento dos processos de dispersão, e das relações entre produção de esporos e as diferentes condições ambientais, revelam-se de particular importância para melhorar a eficácia da aplicação de pesticidas ou para o diagnóstico e controlo de doenças respiratórias alérgicas (Frenquelli, 1998; Damialis & Gioulekas, 2006; Oliveira *et al.*, 2007; Grinn-Gofroń, 2010).

Os fungos pertencentes a *Alternaria* sp. e *Cladosporium* sp. produzem esporos em esporóforos livres, que se libertam quando maduros, mesmo na ausência de humidade, razão pela qual são designados por “dry-air spores” (Oliveira *et al.*, 2009a,b). Os seus esporos encontram-se em maiores concentrações na atmosfera quando o tempo está quente e seco e em condições de vento (Troutt & Levetin, 2001).

A taxonomia das espécies de *Alternaria* é extremamente complexa devido à variabilidade dos caracteres morfológicos, nomeadamente os caracteres respeitantes a forma, cor e biometria dos conídios, que são afectados não só por condições ambientais mas também por factores intrínsecos (Rotem 1994). Assim, os conídios de *Alternaria* spp. apresentam forma muito variável (cilíndricos, elipsoidais a obpiriformes ou obclavados), são corados, desde ligeiramente acastanhados a castanho-escuro, de parede lisa ou verrucosa, com número variável de septos transversais e longitudinais, por vezes com septos oblíquos (Fig. 1A). Os esporos formam-se em esporóforos livres, solitários ou em cadeias mais ou menos longas, e apresentam dimensões muito variáveis (Ellis, 1976).

Da mesma forma, também os esporos dos fungos pertencentes ao género *Cladosporium* apresentam grande variabilidade, quer no que respeita à forma e tamanho, quer à coloração e número de septos (Fig. 1B). Os conídios formam-se em conidióforos corados, formando cadeias mais ou menos longas, simples ou ramificadas (Ellis, 1976).

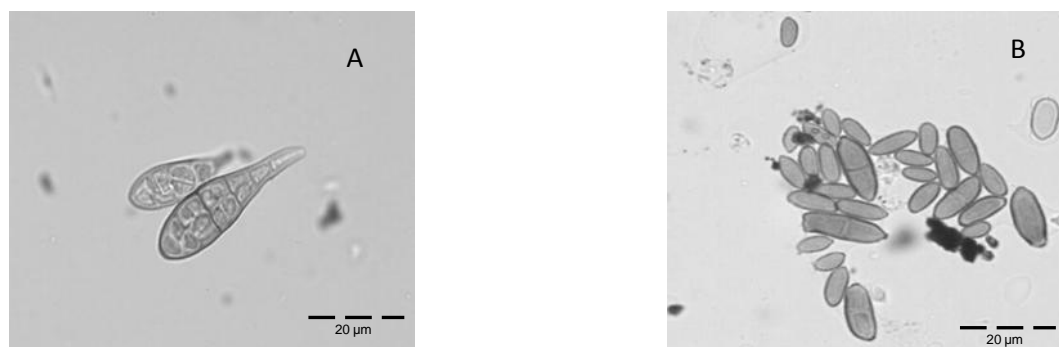


Figura 1 – Esporos de *Alternaria* sp. onde se distinguem septos transversais e longitudinais (A) e esporos de *Cladosporium* sp. onde são visíveis septos e cicatrizes de abscisão (B).

A identificação das espécies no seio destes dois géneros é complexa, sobretudo quando feita unicamente com base em caracteres morfológicos que exibem grande plasticidade, já que frequentemente há sobreposição dos valores das características para as várias espécies (Ellis, 1976; Rotem, 1994).

Considerando a relevância destes dois géneros de fungos tanto em fitopatologia como para a saúde pública, considerando a escassez de estudos aerobiológicos no nosso país, pretendeu-se no presente trabalho contribuir para o conhecimento dos espectros de fungos alergisantes na atmosfera da cidade de Lisboa. Para tal definiram-se duas linhas de acção:

- 1) Analisar a variação de concentração de esporos de fungos dos géneros *Alternaria* e *Cladosporium* entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011;
- 2) Averiguar a influência de elementos do clima – Humidade Relativa, Temperatura máxima e mínima, Precipitação e Velocidade do vento – sobre a dinâmica de esporos atmosféricos para o mesmo período de tempo.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Localização

O local escolhido para o estudo foi o Jardim do Campo Grande, no Concelho de Lisboa (38° 45' N, 9° 9' W, 76 m de altitude), mais exactamente no Museu da Cidade (Fig.2). Neste espaço, propriedade da Câmara Municipal de Lisboa (CML), foi cedido um lugar com boa acessibilidade, seguro e com fornecimento de energia eléctrica onde se instalou, desde o início do mês de Fevereiro de 2009, um captador volumétrico do tipo Hirst (Wood VPPS 2000 ®, da Lanzoni S.R.L) para a recolha de partículas atmosféricas.



Figura 2 – Fotografia aérea do Jardim do Campo Grande, Lisboa, com indicação da localização do Museu da Cidade (fonte: <http://earth.google.com/intl/pt/>).

O Jardim ocupa uma área de 15 ha (CML, 1998) sendo composto por uma variedade de espécies arbóreas ornamentais e não-ornamentais, arbustivas e herbáceas, contabilizando cerca de 1330 exemplares com mais de 60 espécies diferentes. A gestão e manutenção do Jardim são da responsabilidade da CML.

Para analisar a influência dos diversos elementos do clima na variação sazonal das concentrações de esporos na atmosfera da cidade de Lisboa foram coligidos os dados meteorológicos fornecidos pela estação meteorológica situada na Tapada da Ajuda (38° 42'N, 9° 11'W; 60m altitude), que para o objectivo do estudo se considerou representativa do clima da Cidade de Lisboa (Ramos *et al.*2009).

## **2.2.Monitorização de esporos de fungos na atmosfera**

Atendendo a que este trabalho se enquadra nos estudos de aerobiologia, a recolha das amostras seguiu o método utilizado em estudos sobre partículas atmosféricas, como Mitakakis *et al.* (1997), Warner *et al.* (2000), Stennett & Beggs (2004), Yi-Hua *et al.* (2007), Grinn-Gofroń & Mika (2008), ou seja, através da utilização de um capturador volumétrico, na circunstância, tipo Hirst. Segundo Galán *et al.* (2007) este método está estandardizado na Europa sendo usado nos países membros da European Aeroallergen Network (EAN).

### **2.2.1.Capturador volumétrico tipo Hirst**

Este equipamento possui as vantagens da robustez e da facilidade de manuseamento, podendo permanecer ao ar livre sob as mais diversas condições atmosféricas. Neste equipamento o modo como as amostras atmosféricas são recolhidas assemelha-se ao princípio do sistema respiratório humano (Dhingra & Sinclair, 1995). De acordo com Roger & Muilenberg (2001), Galán *et al.* (2007) e Grinn-Gofroń & Rapiejko (2009) a instalação destes equipamentos exige alguns requisitos mínimos como: 1) o capturador deve assentar numa superfície horizontal com boa acessibilidade e na proximidade de fonte de energia eléctrica; 2) não deve ter obstáculos em redor (prédios, muros) que impeçam a livre circulação do ar; 3) o capturador não deve ser colocado junto ao solo de modo a evitar a turbulência aí gerada. Para efeitos do presente trabalho e seguindo os requisitos do equipamento, o aparelho foi colocado a uma altura de mais de 4 metros do solo, assente e fixado numa estrutura adaptada para o efeito (Fig.3).

Para um melhor entendimento sobre o funcionamento deste equipamento apresenta-se uma breve descrição da sua constituição (Gálan *et al.*, 2007) que se encontra ilustrada esquematicamente na Figura 4.

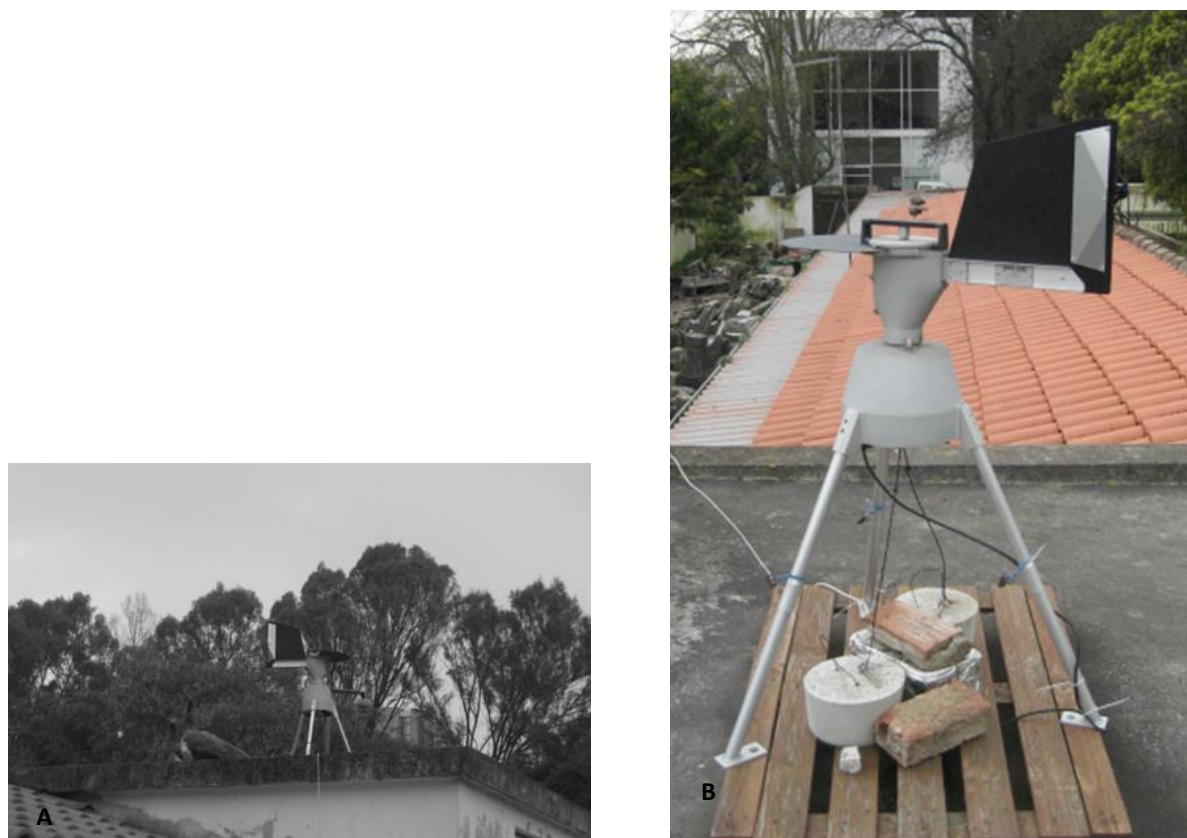


Figura 3 - Capturador volumétrico do tipo Hirst instalado na cobertura de um edifício no Museu da Cidade, em Lisboa. Aspecto da localização (A) e pormenor do aparelho no local (B).

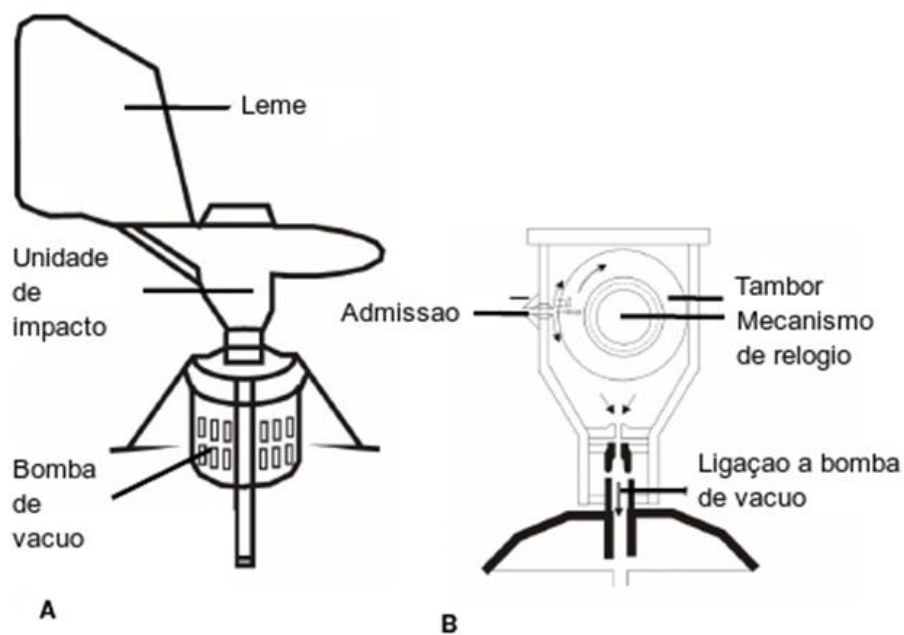


Figura 4 - Capturador volumétrico do tipo Hirst (A) e corte esquemático da unidade de impacto (B) (adaptado de Gálan *et al.* 2007).

A unidade de impacto inclui:

- a) Um orifício de admissão ou aspiração, situado a 4,5 m do solo, medindo 14x2mm (Fig.5 A);
- b) Um suporte circular -tambor onde se instala uma fita com substância aderente (Fig.5 B);
- c) Um mecanismo de relógio, que permite a rotação do tambor (2 mm por hora), garantindo uma amostragem de ar contínua durante 7 dias, com possibilidade de obter dados horários e diários. A adesão das partículas com o mínimo de ressalto é garantida pela aplicação de uma fita Melinex ® coberta com uma substância adesiva sobre a superfície de impacto do tambor, como descrito em b).

O leme (Fig. 5 C), colocado no revestimento exterior da unidade de impacto, funciona de forma a garantir que o orifício de entrada fique sempre posicionado de acordo com a direcção do vento dominante e a maximizar a eficiência de captura das partículas existentes nas correntes atmosféricas.

A bomba de vácuo possui um mecanismo para regular o volume de ar capturado. O débito recomendado para a captura de partículas atmosféricas é de 10l/minuto, sendo este valor similar ao volume de ar inalado pelos pulmões humanos.

Os procedimentos a seguir descritos foram realizados, sistematicamente, uma vez por semana:

- a) Fixação de uma fita Melinex ® no tambor com um pedaço de fita gomada de dupla face, de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante (Fig.5 D);
- b) Revestimento da fita com uma única passagem com uma solução líquida de silicone ®, usando um pincel de cerdas de 12 mm de largura (Fig.5 E);
- c) No local, colocação do tambor com a fita previamente preparada, fazendo-se alinhar a marca vermelha do tambor com a do mecanismo de relógio e dando-se corda até este se deter (Fig. 5 F). Marca-se a fita com o auxílio de uma espátula introduzida no orifício de admissão (Fig. 5 G);
- d) Ajustamento, se necessário, do fluxo de ar através de um fluxómetro (Fig.5 H);



Figura 5 – Detalhes do captador volumétrico do tipo Hirst, aspectos da preparação da fita Melinex® e ajustamento do fluxo de ar: (A) orifício de aspiração; (B) tambor com fita Melinex®; (C) leme; (D) colocação da fita Melinex® e (E) pincelagem com silicone; (F) colocação do tambor alinhado com o mecanismo de relógio; (G) marcação da fita e (H) medição do volume de ar com fluxómetro.

## 2.2. Preparação das amostras para observação

Após a recolha e substituição semanal do tambor, a fita é seccionada em laboratório em períodos de 24 horas, correspondentes a 48 mm de fita. Esta operação é feita sobre uma base acrílica com régua incorporada, sendo cada secção montada entre lâmina e lamela com uma solução corante e fixante® (composta por gelatina e fucsina) própria para o efeito (Figs. 6 e 7).

A observação das lâminas preparadas fez-se após 24 horas de secagem ao ar.

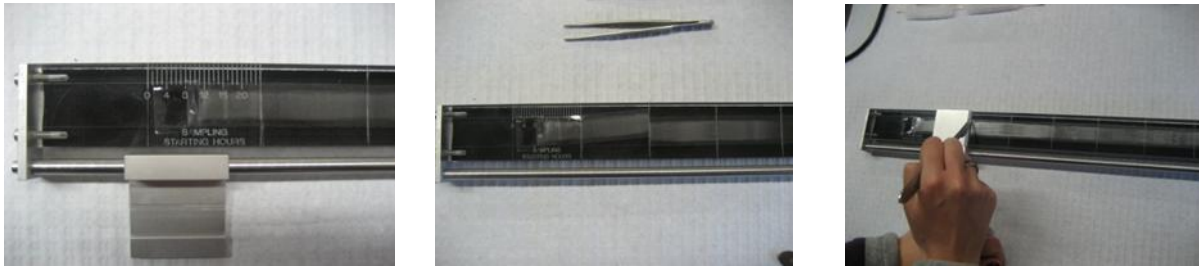


Figura 6 - Seccionamento da fita Melinex ® em períodos de 24 horas.

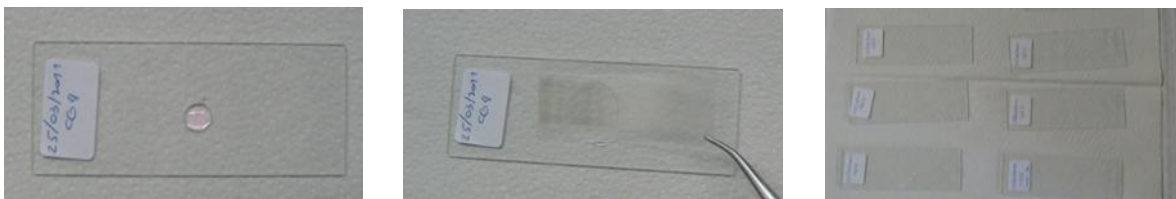


Figura 7 - Montagem da secção da fita entre lâmina e lamela de vidro para observação ao microscópio.

### 2.3.Recolha e amostragem

O estudo da variação da concentração de esporos de *Alternaria* e *Cladosporium* decorreu entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011.

Segundo Frenguelli (2003), a contagem ao microscópio das partículas recolhidas pelos captadores volumétricos poderá ser feita por amostragem, sendo estatisticamente significativa a observação de 10 a 12% da superfície total da lâmina. Ainda segundo este autor, proceder à contagem de uma maior percentagem da área da lâmina não se traduz por resultados de validade superior nem justifica o custo /benefício dessa tarefa.

Por condicionalismos de ordem temporal, relacionados com a morosidade de procedimentos, a identificação e contagem daqueles dos fungos foi feita por amostragem, tendo-se seleccionado aleatoriamente sete dias por mês, entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011. Com o auxílio de um microscópio óptico Olympus CX31 com ampliação de 400x, procedeu-se à identificação dos esporos, com base nos critérios de Ellis (1971,1976) e de Rotem (1994), e à sua contagem aplicando-se o protocolo descrito por Rogers & Muilenberg (2001), ou seja, em cada uma das lâminas e mediante um transepto longitudinal, aproximadamente no centro da fita, contaram-se todos os esporos de *Alternaria* e de *Cladosporium* (Fig.8).

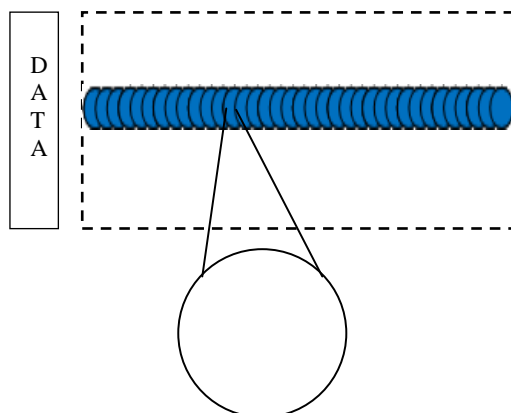


Figura 8– Representação esquemática dos campos ópticos da lâmina para contagem de esporos de *Alternaria* e *Cladosporium*.

Os valores obtidos nas contagens foram lançados numa folha de cálculo Excel (Microsoft Office ® 2003) num formato de tabela com a identificação em colunas distintas da data, número de esporos de *Alternaria* por lâmina, número de esporos por metros cúbico de ar do mesmo *taxon*, número de esporos por lâmina de *Cladosporium* e número de esporos por metro cúbico de ar deste último *taxon*.

O número de esporos de cada fungo por volume de ar ( $n^{\circ}$  de esporos/ $m^3$ ) foi calculado mediante a aplicação de um factor multiplicativo que teve em consideração o diâmetro do campo de visão do microscópio, na objectiva 40x (neste caso de  $0,44 \mu m$ ) e o volume de ar amostrado de 10 litros/min (método de Rogers & Muilenberg, 2001), conforme as etapas seguintes:

Cálculo da concentração média diária de esporos de fungos:

$$N.^{\circ} \text{Esporos} / m^3 = (N.^{\circ} \text{Esporos contados} / V)$$

em que:

$$V \text{ (volume em } m^3) = (X \mu m / 14000 \mu m) \times 0,01 m^3/\text{min} \times 1440 \text{ min}$$

X – diâmetro do campo da objectiva em  $\mu m$

Largura da lâmina – 14 mm = 14000  $\mu m$

Fluxo de ar = 10 litros/min. = 0,01  $m^3$ /min

Tempo exposição – 24 horas = 1440 min.

Diâmetro do campo para objectiva 40x =  $0,44 \mu m$

#### 2.4. Métodos de análise

Os dados obtidos nas contagens dos esporos, expressos em nº de esporos de *Alternaria* ou *Cladosporium* / m<sup>3</sup>/dia e os dados respeitantes à tabela de valores dos factores meteorológicos recolhidos pela respectiva estação meteorológica, foram analisados para os seguintes períodos: entre Fevereiro e Dezembro de 2009; entre Janeiro e Dezembro de 2010 e entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011.

Numa 1ª fase procedeu-se à transformação dos valores de concentração de esporos, pela sua raiz quadrada para modelação a uma distribuição normal. A seguir procedeu-se à estatística descritiva dos dados através do programa Microsoft Excel ® 2007, aplicando-se tanto à variação de concentração de esporos como aos elementos do clima considerados neste trabalho, incluindo a determinação do coeficiente de Pearson (r) entre cada um dos factores meteorológicos e as concentrações de esporos de cada um dos géneros de fungos em estudo. Posteriormente, e para inferência estatística procedeu-se ao tratamento dos referidos dados por análises de regressão com recurso ao programa estatístico de software R ® 2.13.0. (R Development Core Team, 2011) As análises de regressão foram, com recorrência, usadas por diversos autores (por ex. Lyon *et al.*, 1984; Hjelmoors, 1993; Katia *et al.*, 1997; Troutt & Levetin, 2001; Corden, 2003; Yi-Hua *et al.*, 2007; Grinn-Gofroñ & Mika, 2008) aquando da aplicação de um modelo matemático que relacione organismos com o seu meio ambiente baseado em observações sobre a presença ou abundância de esporos de fungos num conjunto de amostras recolhidas em diferentes espaços ou tempo (Hjelmoors, 1993; Troutt & Levetin, 2001).

Em cada um dos períodos foram registadas e comparadas as dinâmicas de esporos de fungos de *Alternaria* e de *Cladosporium* ao longo do tempo. A seguir, e para cada um dos *taxa* em separado e em cada um dos períodos de tempo considerados, foram ainda analisados quais os elementos do clima - temperatura máxima e mínima, humidade relativa, precipitação e velocidade do vento - que melhor interacção revelam com a dinâmica dos esporos, através do método de selecção pelo critério de informação Akaike, designado por AIC, efectuado pelo mesmo programa estatístico. Procedimento idêntico, embora com aplicação de outros critérios de selecção, foi encontrado em outros autores (Herrero *et al.*, 1996; Burch & Levetin, 2001; Stennet & Beggs, 2004).

Nas análises de regressão aplicadas, as variáveis dependentes corresponderam à concentração de esporos, enquanto os parâmetros ambientais (elementos do clima) foram as variáveis predictoras ou independentes. Consideraram-se válidas as regressões

estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ), avaliando-se da extensão da explicação do modelo para a variação da concentração de esporos de fungos pelos elementos do clima, através dos coeficientes de determinação  $R^2$  e  $R^2$ ajustado.

### 3. Resultados

No presente capítulo apresentam-se os resultados sobre a variação das concentrações dos esporos dos fungos em estudo ao longo do tempo, bem como os resultados sobre o efeito de diversos elementos do clima na dinâmica das concentrações destes fungos atmosféricos. As análises estatísticas descritivas, o desenvolvimento das inferências estatísticas realizadas e alguns dos gráficos ilustrativos encontram-se nos Anexos I, II e III.

#### 3.1. Dinâmica dos esporos de *Alternaria* e *Cladosporium* na atmosfera

As observações efectuadas entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011 revelaram diferenças acentuadas entre os dois géneros de fungos quanto aos valores de concentração de esporos ocorridos, sendo *Cladosporium* detentor dos valores mais elevados, com médias a variar entre os 250 e os 400 esporos/m<sup>3</sup>/dia e com uma presença constante e contínua em todos os dias observados. Já para *Alternaria*, embora se tenham observado esporos em todos os meses, as contagens foram inferiores às de *Cladosporium*, com médias de 3 a 6 esporos /m<sup>3</sup>/dia.

Numa análise sobre o período global (2009-2011) e para ambos os géneros de fungos, verificou-se uma variação na concentração de esporos do tipo sinusoidal correspondendo, em geral, as maiores concentrações aos meses mais quentes, as menores aos meses mais frios ou chuvosos (Figura 9; Quadro 2).

Numa análise detalhada e de ano a ano, observaram-se dois picos de concentração, que no caso de *Cladosporium* se registaram em Junho e Setembro de 2009, respectivamente com valores superiores a 8600 e a 4000 esporos/m<sup>3</sup> e em Julho e Setembro de 2010, com valores superiores a 5500 e a 6400 esporos/m<sup>3</sup>. Em *Alternaria* no ano de 2009 a concentração máxima de esporos coincidiu também com o mês de Junho, embora em Julho os valores se tenham mantido ainda elevados, seguindo-se o mês de Setembro, à semelhança do registado para *Cladosporium*. Contudo as concentrações máximas de esporos destes fungos foram, para os meses referidos, de 168, 106 e 86 esporos/m<sup>3</sup> respectivamente. No ano de 2010, verificou-se em *Alternaria* um desfaseamento quanto aos meses em que as ocorrências máximas tiveram lugar, com antecipação para Maio, com 65 esporos/m<sup>3</sup>, seguindo-se Junho e de novo Setembro, com contagens de 75 e 53 esporos/m<sup>3</sup>, respectivamente. Quanto aos valores mínimos e no ano de 2009 aconteceram, para *Alternaria*, em Fevereiro e Abril, com 4 e 2 esporos/m<sup>3</sup>, e para *Cladosporium* também em Abril com cerca de 400 esporos/m<sup>3</sup>. No ano de 2010 as concentrações mínimas

registaram-se para *Alternaria* em Janeiro e Fevereiro, com 2 e 1 esporo/m<sup>3</sup>, respectivamente, e para *Cladosporium* nos meses de Março e Abril, com cerca de 300 e 500 esporos/m<sup>3</sup>.

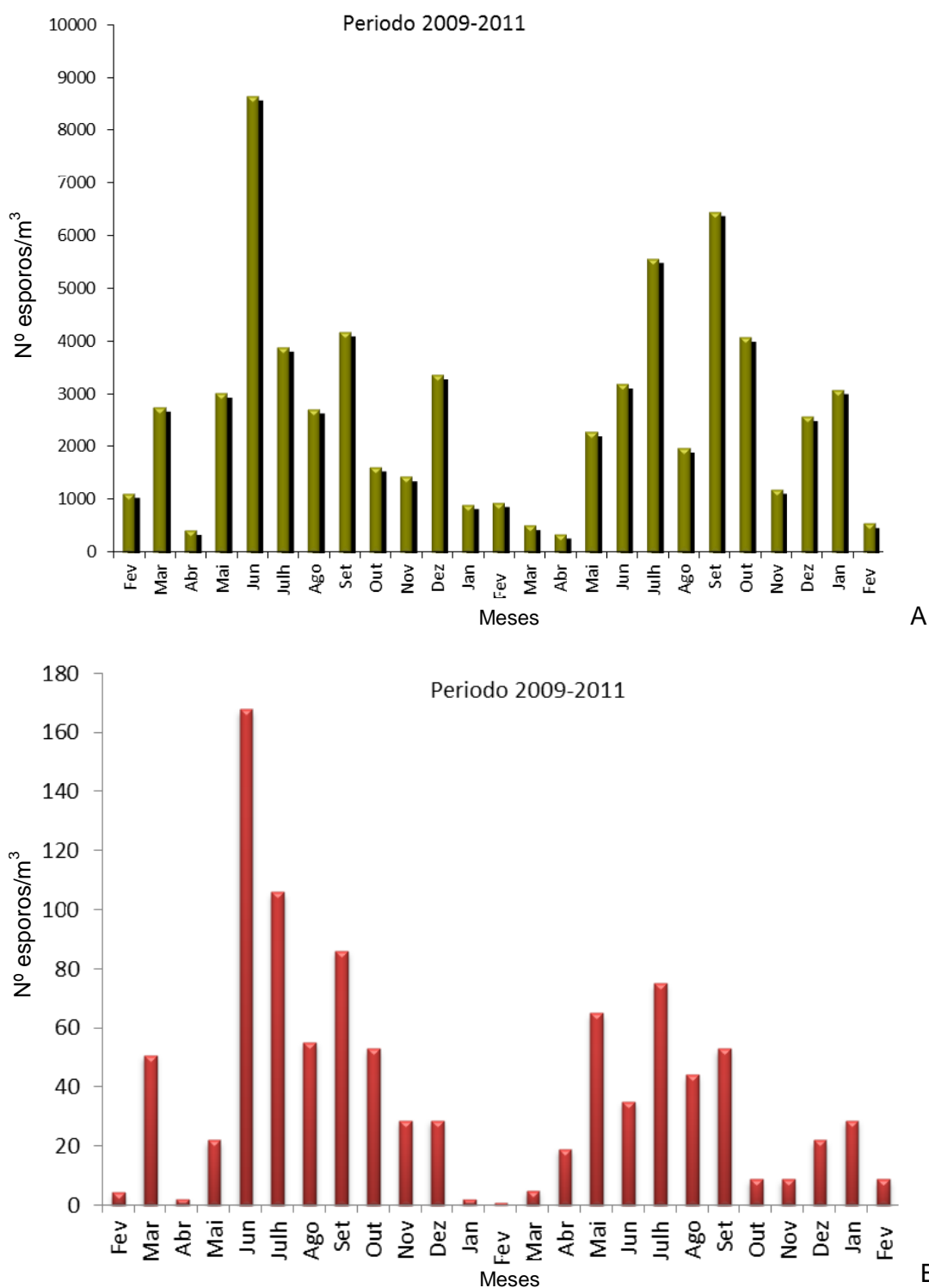


Figura 9 – Número de esporos de *Cladosporium* (A) e de *Alternaria* (B) por metro cúbico, entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011.

Quadro 2 – Número total de esporos de *Alternaria* e de *Cladosporium* por m<sup>3</sup> observados entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011

| Mês       | Nº de esporos / m <sup>3</sup> / mês |                     |
|-----------|--------------------------------------|---------------------|
|           | <i>Alternaria</i>                    | <i>Cladosporium</i> |
| Fevereiro | 4                                    | 1116                |
| Março     | 51                                   | 2749                |
| Abril     | 2                                    | 409                 |
| Maio      | 22                                   | 3009                |
| Junho     | 168                                  | 8644                |
| Julho     | 106                                  | 3882                |
| Agosto    | 55                                   | 2711                |
| Setembro  | 86                                   | 4174                |
| Outubro   | 53                                   | 1613                |
| Novembro  | 29                                   | 1427                |
| Dezembro  | 29                                   | 3359                |
| Janeiro   | 2                                    | 902                 |
| Fevereiro | 1                                    | 939                 |
| Março     | 5                                    | 504                 |
| Abril     | 19                                   | 345                 |
| Maio      | 65                                   | 2280                |
| Junho     | 35                                   | 3184                |
| Julho     | 75                                   | 5566                |
| Agosto    | 4                                    | 1973                |
| Setembro  | 53                                   | 6450                |
| Outubro   | 9                                    | 4072                |
| Novembro  | 9                                    | 1191                |
| Dezembro  | 22                                   | 2568                |
| Janeiro   | 29                                   | 3078                |
| Fevereiro | 9                                    | 539                 |

### 3.2. Efeito dos elementos do clima na variação da concentração dos esporos

Um dos objectivos do trabalho foi averiguar o efeito de diversos elementos do clima, designadamente Humidade Relativa (HR em %), Precipitação (Pp em mm), temperatura máxima (Temp máx em °C), Temperatura mínima (Temp mín em °C) e Velocidade do Vento (Vel.Vento em Km/h), sobre a concentração de esporos observada. A fim de se determinar o efeito de cada um desses elementos na dinâmica atmosférica dos esporos procedeu-se ao cálculo do coeficiente de Pearson (r), primeiro numa abordagem do período global de Fevereiro 2009 a Fevereiro de 2011, e a seguir numa abordagem anual, excepto para 2011 onde só foram feitas contagens e observações durante dois meses. Os resultados constam dos Quadros 3 e 4.

Quadro 3 - Valores dos coeficientes de correlação de Pearson para a concentração de esporos de *Cladosporium* para os diferentes períodos de tempo analisados

|                     | Coeficiente de Pearson (r) |          |          |
|---------------------|----------------------------|----------|----------|
|                     | 2009-2011                  | 2009     | 2010     |
| Humidade Relativa   | -0,39829                   | -0,31716 | -0,45175 |
| Precipitação        | -0,25939                   | -0,12091 | -0,32518 |
| Temperatura mínima  | 0,433552                   | 0,478815 | 0,418115 |
| Temperatura máxima  | 0,503262                   | 0,542107 | 0,504217 |
| Velocidade do Vento | -0,14627                   | -0,1624  | -0,16493 |

Quadro 4 - Valores dos coeficientes de correlação de Pearson para a concentração de esporos de *Alternaria* para os diferentes períodos de tempo analisados

|                     | Coeficiente de Pearson (r) |          |          |
|---------------------|----------------------------|----------|----------|
|                     | 2009-2011                  | 2009     | 2010     |
| Humidade Relativa   | -0,44955                   | -0,22636 | -0,62258 |
| Precipitação        | -0,35654                   | -0,15815 | -0,44456 |
| Temperatura mínima  | 0,530118                   | 0,478815 | 0,562186 |
| Temperatura máxima  | 0,584502                   | 0,542107 | 0,641318 |
| Velocidade do Vento | -0,07029                   | -0,1624  | -0,02626 |

De entre os vários elementos do clima, e para ambos os géneros de fungos, as temperaturas foram os que apresentaram melhor correlação e de sentido positivo, apesar de em termos estatísticos estes valores revelarem uma fraca influência sobre a variação dos esporos. Em oposição, a velocidade do vento foi o elemento com a mais baixa correlação e de sentido negativo, como aconteceu com a precipitação e a humidade relativa. De notar ainda, que as melhores correlações entre as concentrações de esporos e os elementos do clima estabeleceram-se para *Alternaria*.

Conforme referido no ponto 2, procedeu-se à análise de regressão linear múltipla onde se relacionaram todas as variáveis preditoras ou independentes (elementos do clima) e as variáveis dependentes (concentrações de esporos de *Alternaria* e de *Cladosporium*), em cada um dos períodos de tempo considerados, 2009 a 2011, ano de 2009 e ano de 2010, tendo-se obtido os resultados constantes nos Quadros 5 e 6.

Quadro 5 – Coeficientes de regressão relativamente às variáveis climáticas consideradas na modelação e a raiz quadrada da concentração de esporos de *Cladosporium* e respectivos coeficientes de determinação  $R^2$  e  $R^2$  ajustado

| ANO       | 2009-11               |           | 2009                  |          | 2010                  |          |
|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|
|           | Coeficiente regressão | Pr(> t )  | Coeficiente regressão | Pr(> t ) | Coeficiente regressão | Pr(> t ) |
| HR        | -0,09575              | 0,05765 . | -0,13553              | 0,0670 . | -0,08596              | 0,2885   |
| Pp        | -0,12355              | 0,15848   | 0,05157               | 0,8734   | -0,10655              | 0,2933   |
| Temp_min  | 0,34863               | 0,13839   | 0,51630               | 0,1896   | -0,07231              | 0,8401   |
| Temp_max  | 0,26243               | 0,17381   | 0,31981               | 0,3521   | 0,44935               | 0,0948 . |
| Vel.Vento | -0,64066              | 0,02872 * | -0,49667              | 0,3226   | -0,69708              | 0,0788 . |

Códigos da Significância: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* . ' 0,1 ' ' 1

| ANO   | 2009-11   | 2009      | 2010      |
|---|-----------|-----------|-----------|
| Coeficiente de determinação $R^2$ :         | 0,3027    | 0,3314    | 0,3182    |
| Coeficiente de determinação $R^2$ ajustado: | 0,2821    | 0,2843    | 0,2745    |
| p-value:                                    | 6,094e-12 | 2,154e-05 | 1,217e-05 |

Quadro 6 - Coeficientes de regressão relativamente às variáveis climáticas consideradas na modelação e a raiz quadrada da concentração de esporos de *Alternaria* e respectivos coeficientes de determinação  $R^2$  e  $R^2$  ajustado

| ANO       | 2009-11               |            | 2009                  |           | 2010                  |          |
|-----------|-----------------------|------------|-----------------------|-----------|-----------------------|----------|
|           | Coeficiente regressão | Pr(> t )   | Coeficiente regressão | Pr(> t )  | Coeficiente regressão | Pr(> t ) |
| HR        | -0,012633             | 0,111076   | -0,015722             | 0,21686   | -0,02085              | 0,0503 . |
| Pp        | -0,047830             | 0,000631 * | -0,057229             | 0,30888   | -0,03214              | 0,0166 * |
| Temp_min  | 0,094584              | 0,011166 * | 0,221157              | 0,00163 * | 0,02935               | 0,5302   |
| Temp_max  | 0,041286              | 0,174121   | -0,005971             | 0,91985   | 0,05113               | 0,1438   |
| Vel Vento | -0,038107             | 0,405744   | -0,037532             | 0,66519   | -0,01676              | 0,7434   |

Códigos da Significância: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* . ' 0,1 ' ' 1

| ANO   | 2009-11   | 2009      | 2010      |
|---|-----------|-----------|-----------|
| Coeficiente de determinação $R^2$ :         | 0,4144    | 0,4261    | 0,504     |
| Coeficiente de determinação $R^2$ ajustado: | 0,3971    | 0,3857    | 0,4722    |
| p-value:                                    | < 2,2e-16 | 1,353e-07 | 9,514e-11 |

Os coeficientes de determinação  $R^2$  mais elevados, superiores a 40%, foram obtidos para *Alternaria*, enquanto para *Cladosporium* esses coeficientes foram inferiores a 35%. De entre os diversos elementos do clima analisados no período de Fevereiro de 2009 a Fevereiro de 2011 e para *Cladosporium*, a velocidade do vento ( $p < 0,05$ ) seguida da humidade relativa ( $p < 0,1$ ) foram os elementos do clima com maior significância e correlação negativa.

No caso de *Alternaria*, e para o mesmo período de tempo, a precipitação e a temperatura mínima ( $p < 0,05$ ) foram as variáveis independentes mais significativas embora estabelecendo correlações em sentidos opostos, ou seja, negativa para a precipitação e positiva para temperatura.

Verificou-se ainda que, no ano de 2009 e para *Cladosporium*, a humidade relativa foi a variável independente que registou o melhor valor de significância ( $p < 0,1$ ), mantendo-se negativa a correlação. No ano de 2010 também os valores das variáveis com melhores significâncias ( $p < 0,1$ ) foram de novo a velocidade do vento e a temperatura máxima mas com correlações em sentidos opostos, positivo para esta última e negativo para a velocidade do vento, como nos períodos anteriores. De referir que neste mesmo ano foi a temperatura máxima a detentora do valor de correlação de Pearson ( $r$ ) mais elevado e correlação de sentido igualmente positivo (Quadro 3).

No caso de *Alternaria*, e adoptando uma abordagem idêntica, verificou-se para 2009 e à semelhança do resultado do período de Fevereiro de 2009 a Fevereiro de 2011, que a temperatura mínima foi o elemento do clima com melhor significância ( $p < 0,05$ ), mantendo-se o sentido positivo da correlação. Já em 2010 a precipitação foi o elemento do clima que registou maior significância ( $p < 0,05$ ) seguido da humidade relativa ( $p < 0,1$ ), com correlações negativas para ambos.

Pretendendo-se averiguar de entre os elementos do clima os que melhor explicariam a dinâmica atmosférica dos esporos dos fungos, em estudo, procedeu-se, para ambos os géneros, à selecção das variáveis independentes recorrendo ao método de selecção AIC do programa de software indicado no ponto 2 (c.f. Quadros 7 e 8 e Figs. 10 a 15). O tratamento estatístico detalhado remeteu-se para o Anexo II e III.

A velocidade do vento foi a variável relevante em todos os períodos observados tendo sido significativa ( $p < 0,01148$ ) apenas quando a totalidade dos dados foi considerada (período 2009-2011). Quanto à temperatura verificou-se que quer a variável Temp máx quer a Temp. min são importantes na explicação da variabilidade da concentração de esporos com valores elevados de significância ( $p < 2,24 \times 10^{-5}$ ). Quanto ao  $R^2$  ajustado, dos submodelos seleccionados, observou-se uma ligeira subida (cerca de 1%) relativamente aos valores obtidos com todas as variáveis predictoras. Nas Figuras 10 a 12 representam-se os

elementos do clima que melhor explicaram a variação da abundância dos esporos de *Cladosporium*.

Quadro 7 - Resultados finais da selecção AIC das variáveis independentes para *Cladosporium*

| ANO       | 2009-11                |              | 2009                   |              | 2010                   |              |
|-----------|------------------------|--------------|------------------------|--------------|------------------------|--------------|
|           | Coefficiente regressão | Pr(> t )     | Coefficiente regressão | Pr(> t )     | Coefficiente regressão | Pr(> t )     |
| HR        | 0,13085                | 0,00278 **   | -0,16950               | 0,005492 **  | -0,14326               | 0,13257      |
| Pb        | -0,14206               | 0,10193      |                        |              |                        |              |
| Temp.min  | 0,61486                | 4,77e-06 *** | 0,83703                | 2,24e-05 *** |                        |              |
| Temp.max  |                        |              |                        |              | 0,52908                | 1,10e-05 *** |
| Vel.Vento | -0,72643               | 0,01148 *    | -0,68933               | 0,123194     | -0,61236               | 0,11260      |

Códigos de Significância: 0 \*\*\*\* 0,001 \*\*\* 0,01 \*\* 0,05 \* , 0,1 ' ' 1

| ANO   | 2009-11   | 2009      | 2010      |
|---|-----------|-----------|-----------|
| Coefficiente de determinação R <sup>2</sup> :         | 0,295     | 0,3232    | 0,3075    |
| Coefficiente de determinação R <sup>2</sup> ajustado: | 0,2784    | 0,2953    | 0,2816    |
| p-value:  | 3,258e-12 | 2,613e-06 | 1,693e-06 |

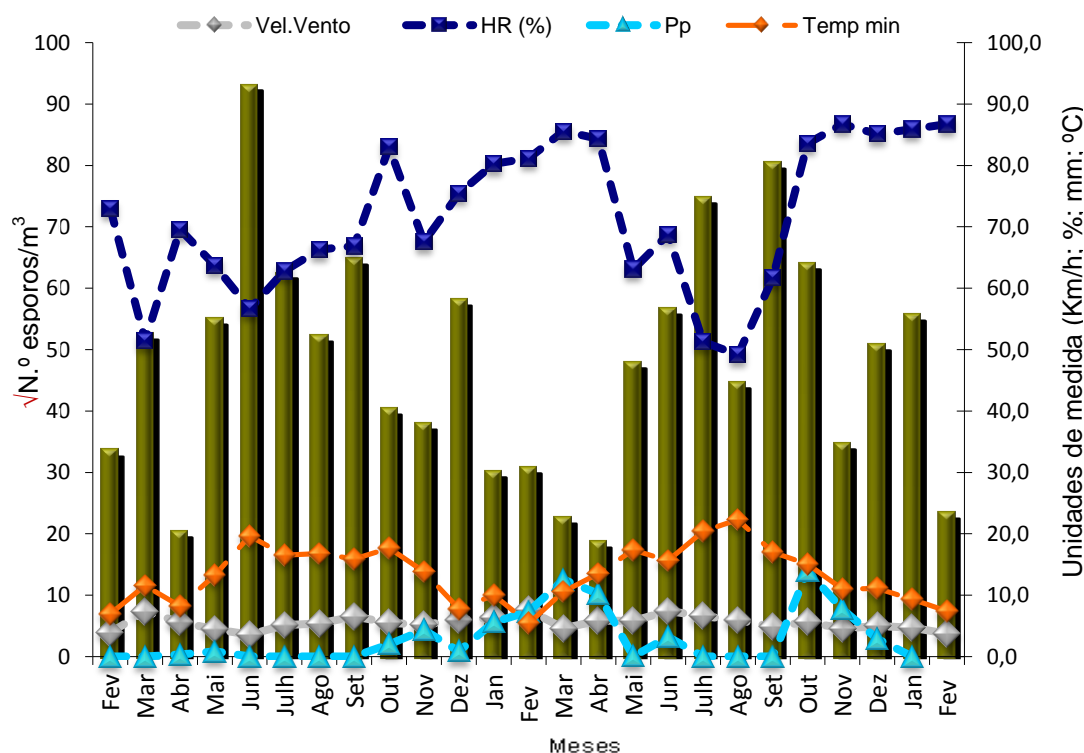


Figura 10 - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Cladosporium* entre 2009 e 2011: Velocidade do vento (Vel.Vento), Humidade relativa (HR) Precipitação (Pp) e Temperatura mínima (Temp.min.) -.

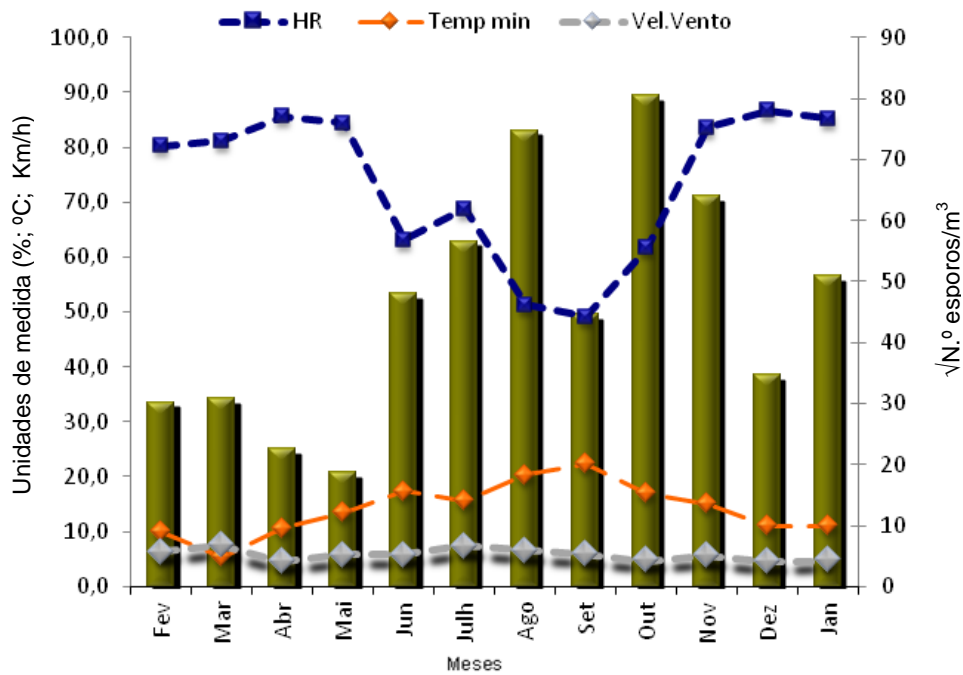


Figura 11 - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Cladosporium* em 2009: Humidade relativa (HR), Temperatura mínima (Temp.min.) e Velocidade do vento (Vel.Vento).

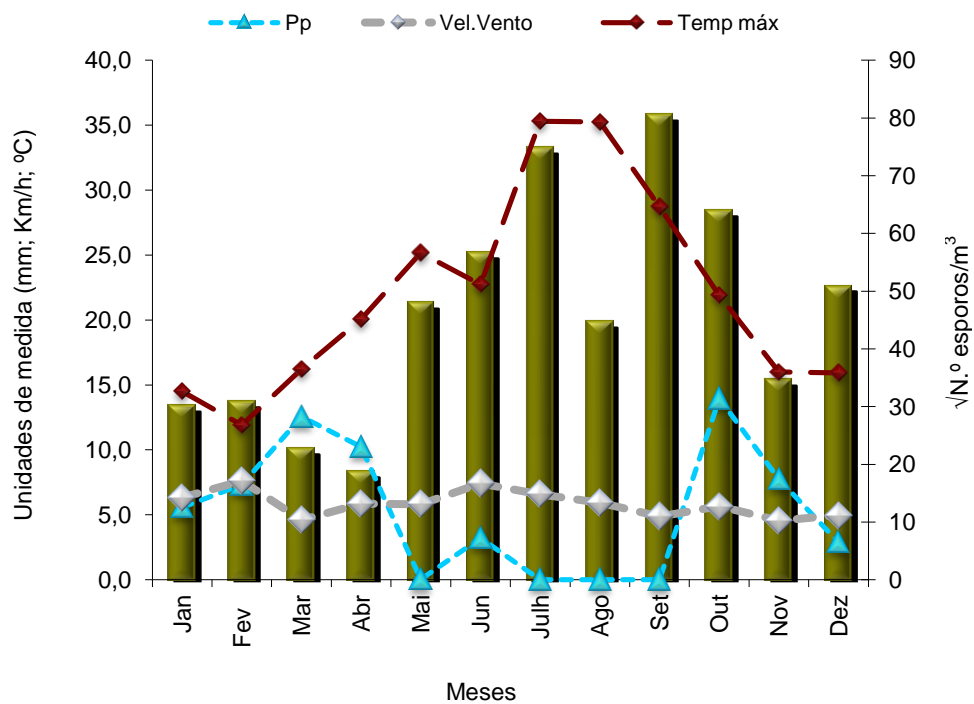


Figura 12 - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Cladosporium* em 2010: Precipitação (Pp), Velocidade do vento (Vel.Vento) e Temperatura máxima (Temp máx).

No Quadro 8 apresentam-se os resultados finais da selecção pelo método AIC aplicado a *Alternaria*.

Quadro 8 - Resultados finais da selecção AIC das variáveis independentes para *Alternaria*

| ANO      | 2009-11               |              | 2009                  |            | 2010                  |            |
|----------|-----------------------|--------------|-----------------------|------------|-----------------------|------------|
|          | Coeficiente regressão | Pr(> t )     | Coeficiente regressão | Pr(> t )   | Coeficiente regressão | Pr(> t )   |
| HR       | -0,010920             | 0,152997     | 0,05393               | 0,24077    | -0,01974              | 0,05547 .  |
| Pb       | -0,050416             | 0,000223 *** |                       |            | -0,03214              | 0,01172 *  |
| Temp_min | 0,088914              | 0,015047 *   | 0,16481               | 0,00565 ** |                       |            |
| Temp_max | 0,046738              | 0,115071     |                       |            | 0,06904               | 0,00125 ** |

Códigos de Significância: 0 '\*\*\*' 0,001 '\*\*' 0,01 '\*' 0,05 '.' 0,1 '.' 1

| ANO   | 2009-11   | 2009      | 2010      |
|---|-----------|-----------|-----------|
| Coeficiente de determinação R <sup>2</sup> :          | 0,412     | 0,3999    | 0,5007    |
| Coeficiente de determinação R <sup>2</sup> ajustado:: | 0,3982    | 0,3837    | 0,482     |
| <i>p-value</i> :                                      | < 2,2e-16 | 6,232e-09 | 4,425e-12 |

No caso de *Alternaria* a Humidade relativa foi a variável independente mais relevante em todos os períodos de tempo analisados, apesar da fraca significância estatística. Já a variável Precipitação apesar de revelar uma significância maior ( $p < 0,000223$ ) não foi uma das variáveis seleccionadas no ano de 2009. Tal como acontecia com *Cladosporium*, também as temperaturas (min e máx) foram igualmente seleccionadas em todos os períodos analisados, com valores de significância a variar entre  $p < 0,015047 *$  e  $p < 0,00125 **$ , apresentando uma correlação positiva com a abundância de esporos. À semelhança do apresentado para *Cladosporium*, também o aspecto gráfico dos resultados obtidos pelo método de selecção AIC se mostra nas Figuras 13 a 15.

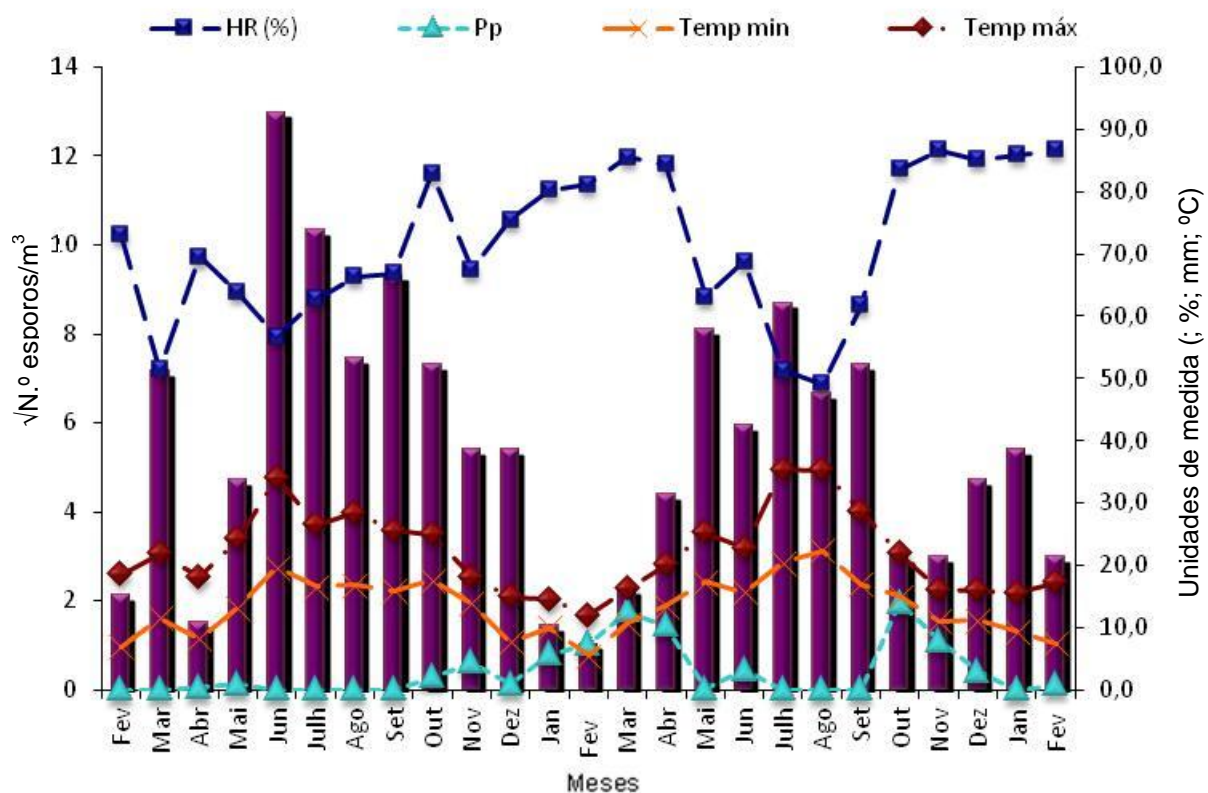


Figura 13 - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Alternaria* entre 2009 a 2011: Humidade relativa (HR), Precipitação (Pp.), Temperatura mínima (Temp.min.) e Temperatura máxima (Temp máx).

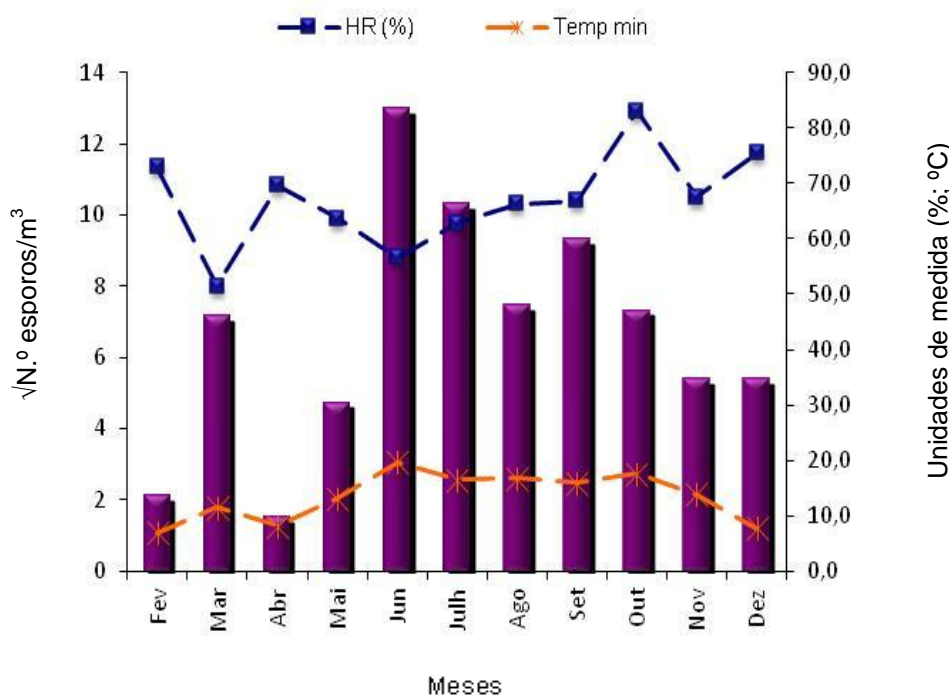


Figura 14 - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Alternaria* em 2009: Humidade relativa (HR) e Temperatura mínima (Temp.min.).

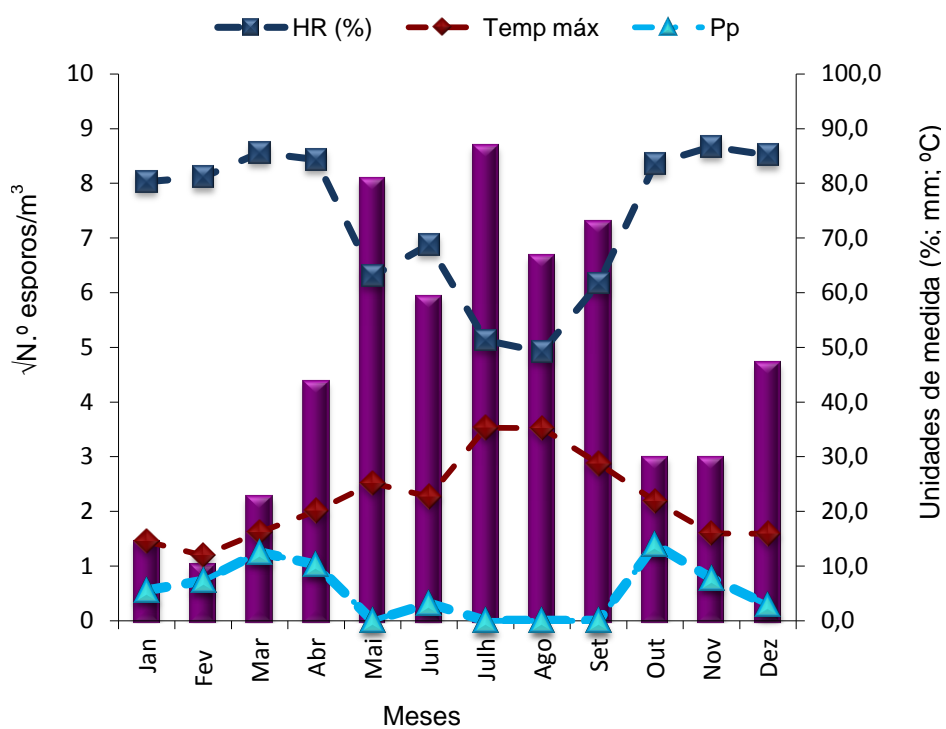


Figura 15 - Elementos do clima que melhor explicaram a dinâmica dos esporos de *Alternaria* em 2010: Humidade relativa (HR), Precipitação (Pp) e Temperatura máxima (Temp máx).

Em síntese, e para o período entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011 a Humidade relativa do ar, a Velocidade do vento e a Precipitação tiveram uma correlação negativa com a abundância de esporos dos fungos estudados ao inverso do observado para as Temperaturas máxima e mínima.

#### 4. DISCUSSÃO

Para o período em estudo, entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011, verificou-se a presença constante de esporos de fungos pertencentes a *Alternaria* e *Cladosporium* na atmosfera de Lisboa, ainda que, ocasionalmente se tenham registado alguns dias com ausência de esporos de *Alternaria*. A concentração de esporos de *Cladosporium* na atmosfera revelou ser cerca de 10 vezes superior à de *Alternaria*.

Situação semelhante já havia sido observada por Moreira (2009) em estudos preliminares na cidade de Lisboa. Também os dados obtidos por Lyon *et al.* (1984) para Manhattan, Kansas, bem como por Herrero *et al.* (2006) para Madrid, Espanha, e por Oliveira *et al.* (2009a; 2009b) para a cidade do Porto confirmam o mesmo padrão de predominância para os esporos destes dois géneros de fungos na atmosfera. Da mesma forma, estudos aerobiológicos levados a cabo em Melbourne – Austrália, entre 1991 e 1994, por Mitakakis *et al.* (1997), evidenciaram a dominância de esporos de *Cladosporium*, com 46% a 72% do total de esporos contados, face aos de *Alternaria* com 0,6 a 1,5% de presença. Ho *et al.* (2005) em Hualien – Taiwan, num estudo para monitorização aerobiológica de esporos de *Cladosporium* registou uma frequência de 96% ao passo que para *Alternaria* o registo foi de 20%. Nos estudos de O’Gorman (2008), em quatro locais de Dublin-Irlanda, a maior fracção da composição de esporos de fungos na atmosfera foi atribuída a *Cladosporium* em oposição a *Alternaria* cujos registos não ultrapassaram os 0,7%. Em Portugal Nunes *et al.* (2008), no estudo sobre a diversidade de esporos de fungos atmosféricos, realizado em Coimbra, Évora, Lisboa, Portimão e Porto, verificaram uma maior prevalência (40 a 50%) para *Cladosporium* enquanto para *Alternaria* os registos foram de 3% a 7%. Magyar *et al.* (2009) referem igualmente o género *Cladosporium* como dominante no estudo sobre a biodiversidade de esporos de fungos na atmosfera na região Central de Itália, onde o clima é tipicamente mediterrânico.

As oscilações interanuais e intranuais das concentrações máximas e mínimas observadas para os esporos de *Alternaria* e *Cladosporium*, encontram alguma semelhança com trabalhos de vários autores em diferentes regiões geográficas: por exemplo, Hjelmroos (1993) em Estocolmo–Suécia, Fernandez *et al.* (1998) em León – NW de Espanha, Munuera *et al.* (2001) em Murcia –NE de Espanha, Troutt & Levetin (2001) e Kasprzyk & Worek (2006) no SE da Polónia, Erkara *et al.* (2008) na Turquia, Grinn-Gofroń & Mika (2008) na Polónia, Oliveira *et al.* (2010) no Porto e em Amares, e Mallo *et al.* (2011) na Argentina. Embora com alguns desfasamentos, foi no final do Inverno (Fevereiro a Abril) que ocorreram as concentrações mais baixas de esporos, enquanto que os valores máximos se registaram

nos meses de Verão e princípio de Outono (Junho e Setembro), um padrão de distribuição idêntico foi registado por Herrero *et al.* (2006) em Madrid: dois picos de abundância de esporos de *Cladosporium* em Junho e Outubro no ano de 2003. Também Kasprzyk & Worek (2006) em dois locais do SE da Polónia, numa zona urbana e noutra rural, e durante dois anos de observações, verificaram a ocorrência de maiores concentrações de esporos, quer de *Alternaria* quer de *Cladosporium*, entre Junho e Setembro., semelhante ao estudo de Oliveira *et al.* (2007); para a cidade do Porto. Os resultados obtidos noutra estudo efectuado na cidade de Madrid (entre 2003 e 2004) por Sabariego *et al.* (2007) foram coincidentes com os resultados de Herrero *et al.* (2006.) Rizzi-Longo *et al.* (2009) em estudos aerobiológicos levados a cabo em Trieste -Itália, entre 1993 e 2004, verificaram também que as maiores concentrações de esporos de *Alternaria* ocorreram nos meses de Junho a Setembro. Ainda Oliveira *et al.* (2009a b) indicam também um comportamento idêntico para os dois géneros de fungos com ocorrência de concentração máxima de esporos na época de Verão (Julho e Agosto.). Este comportamento é característico dos fungos produtores de “dry-spores”, cuja esporulação é favorecida por tempo seco e temperaturas mais elevadas, nos quais se incluem os géneros *Cladosporium* e *Alternaria* (Stennet & Biggs, 2004; Silva *et al.*, 2009).

Ainda sobre a dinâmica dos esporos destes fungos na atmosfera, os trabalhos de Herrero *et al.* (1996), Munuera *et al.* (2001) e Grinn-Gofroń & Rapiejko (2009) verificaram a ocorrência de duas épocas de máxima concentração de esporos na Primavera-Verão e no Outono. De referir que Mallo (2011) num estudo sobre composição de esporos de fungos na atmosfera da cidade de La Plata, na Argentina, registou, para além de diversidade taxonómica, flutuações sazonais nas concentrações dos esporos ao longo do ano, correspondendo os valores mais elevados aos meses de temperaturas mais amenas e mais secos. Em termos quantitativos, a concentração de esporos /m<sup>3</sup>, quer para *Cladosporium* quer para *Alternaria*, foi da mesma ordem de grandeza dos valores encontrados em Palencia – Espanha, por Herrero *et al.* (1996), local onde se registaram concentrações médias mensais de esporos de *Alternaria* inferiores a 60 esporos /m<sup>3</sup> e para *Cladosporium* inferiores a 380 esporos/m<sup>3</sup>; já Oliveira *et al.* (2007) e (2009), para a cidade do Porto, encontraram médias diárias de 3 esporos de *Alternaria*/m<sup>3</sup> e máximos de 31 e 49 esporos/m<sup>3</sup>, contrastando com as concentrações de esporos de *Cladosporium* cujos valores médios diários foram da ordem dos 170 esporos/m<sup>3</sup> e com valores máximos de 1400 e 1700 esporos/m<sup>3</sup>. Pelo contrário Burch & Levetin (2002) em Tulsa, Oklahoma – EUA, Corden *et al.* (2003) em Cardiff e Derby, Reino Unido, e Sakian & Iceoglu (2003) em Ankara na Turquia indicam valores de concentrações de esporos de *Cladosporium* da ordem das dezenas e centenas de milhar (20 000 esporos/m<sup>3</sup> a 200 000 esporos/m<sup>3</sup>) e para *Alternaria* variações de 500 esporos/m<sup>3</sup> a

4000 esporos/m<sup>3</sup>, tendo-se registado vários dias com concentrações de 1000 esporos/m<sup>3</sup> em Derby e Ankara

No respeitante aos valores de concentrações de esporos a partir dos quais podem ocorrer sintomas alérgicos, considerado para *Cladosporium* spp. acima dos 2800 esporos/m<sup>3</sup> e para *Alternaria* spp. acima dos 50 esporos/m<sup>3</sup> (Gravesen, 1979; Grinn-Gofroñ & Mika, 2008), no presente trabalho e durante os 25 meses de observações houve registo de apenas 2 dias, em Junho 2009, onde se atingiu o valor de 55 esporos/m<sup>3</sup> para *Alternaria*. Na cidade do Porto, Oliveira *et al.* (2007; 2010) também verificaram concentrações de esporos, na sua maioria, abaixo dos limites indutores de alergias, explicando esse facto com a proximidade do rio Douro e do oceano Atlântico. O mesmo aconteceu com Corden *et al.* (2003) que indica a proximidade à costa marítima como um dos factores influentes para a diferença de valores nas concentrações de esporos de fungos de *Alternaria* registados em duas cidades do Reino Unido (Cardiff junto à costa e Derby a norte de Londres). Também Rodriguez-Rajo *et al.* (2005) em três zonas da Região da Galiza (Orense, Trives e Vigo) em Espanha verificaram a ocorrência de valores mais baixos de esporos em zonas abaixo dos 1000 m de altitude ou junto a zonas costeiras. Por outro lado, autores de estudos realizados nas região do sudeste de Espanha e de Madrid verificaram não só valores mais altos na concentração de esporos como também desfasamentos quanto ao(s) mês(es) do ano em que ocorrem esses valores (Herrero *et al.*, 1996; Angulo-Romero, 1999; Munuera *et al.*, 2001;). Estudos realizados em zonas urbanas e zonas rurais ou zonas próximas de áreas agricultadas evidenciaram diferenças significativas quanto à concentração de esporos, apresentando estas últimas as concentrações mais elevadas (Corden, 2003; Herrero, 2006; Kaspzyk, 2006; Oliveira *et al.*, 2009; 2010).

Sobre a relação dos elementos do clima na variação da concentração dos fungos atmosféricos, desde logo se coloca a questão da influência desses elementos na variação quantitativa e de frequência dos esporos de fungos. Um estudo de Abu-Dieyeh *et al.* (2010) refere a divergência entre autores quanto à relevância dos efeitos dos parâmetros meteorológicos na concentração de esporos.

Se, por um lado, estudos de diversos autores (Mitakakis *et al.* 1997; Sakiyan & Iceoglu, 2003; Hollins *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2005; Damialis, 2006; Bruno *et al.*, 2007; O’Gorman, 2008; Grinn-Gofroñ, 2009; Oliveira *et al.* 2009a; Quintera *et al.*, 2010; Kalyoncu, 2010) verificaram e identificaram o efeito de variáveis meteorológicos, embora com correlações diferentes, na de concentração dos diversos fungos na atmosfera. Pelo contrário, Hjelmroos (1993) indica não existir correlação estatisticamente significativa entre a concentração de esporos de fungos na atmosfera e condições climáticas. Katial *et al.* (1997)

também não encontraram relação entre a abundância de esporos de *Alternaria* e as variáveis meteorológicas.

Trabalhos de Li & Kendrick (1994), para Kitchener-Waterloo a sul de Ontário evidenciaram a influência de factores ambientais, designadamente meteorológicos, na variação de abundância de esporos de fungos na atmosfera. Mitakakis & Guest (2001), Cordon *et al.* (2003) e Erkara *et al.* (2008) referem a influência dos factores meteorológicos na sazonalidade destes esporos como aditivos a outros factores ambientais, nomeadamente, tipo de vegetação e respectivos ciclos vegetativos. Já Rodriguez-Rajo *et al.* (2005) referem que os elementos do clima só por si são incapazes de reflectir o estado global da atmosfera, justificando a dificuldade de evidenciar e individualizar o efeito desses elementos ~~des~~ na variação das concentrações de esporos de fungos pela complexidade da dinâmica dos seus comportamentos. Ho *et al.* (2005), Fernandez *et al.* (1998) Mitakakis *et al.* (2000) e Abu-Dieyeh *et al.* (2010) atribuem, igualmente, a complexidade da dinâmica das partículas aerobiológicas na atmosfera a influências diversas, incluindo o clima, a localização geográfica, o coberto vegetal e factores poluentes e antropogénicos.

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem a existência de relações significativas entre a abundância de esporos de *Cladosporium* e *Alternaria* na atmosfera e a humidade relativa e a temperatura, sendo menos clara a influência da precipitação e da velocidade do vento.

Outros trabalhos, designadamente de Sabariego *et al.* (2000), Troutt & Levetin (2001), Burch & Levetin (2001) e Stennett & Beggs (2004), utilizando modelos estatísticos idênticos, obtiveram resultados igualmente indicadores de uma influência dos elementos do clima na concentração de esporos de fungos na atmosfera.

Na bibliografia consultada foram igualmente encontradas situações díspares e muito flutuantes em termos da significância das variáveis predictoras e do sentido estabelecido das respectivas correlações. No presente trabalho verificou-se que as temperaturas, a humidade relativa e a seguir a precipitação (cuja relevância se manifestou para *Alternaria*), foram os factores meteorológicos com maior relevância e significância nos diversos períodos de tempo analisados, mas com correlações de sinal contrário. Estes resultados foram concordantes com os trabalhos de Sabariego *et al.* (2000), Troutt & Levetin (2001), Oliveira (2009b), Rizzi-Longo *et al.* (2009) e Stepalska & Wolek (2005), em que se apresentam correlações positivas com a temperatura para ambos os fungos, e correlação negativa para precipitação e humidade relativa. Sobre o efeito da precipitação e humidade relativa, existe alguma controvérsia por quanto existem autores que referem uma correlação positiva (Hjelmroos (1993); Herrero *et al.*, 1996, Rodriguez-Rajo, 2005), enquanto Mitakakis (1997) e Stennett & Beggs (2004) verificam uma correlação negativa com a precipitação o que,

segundo aqueles autores, está de acordo com o facto de se tratar de “dry-air spores”. Outros autores, como Quintera *et al.* (2010) encontraram uma dupla acção, para a variável precipitação, com efeitos positivos quando ocorre em pequenas quantidades e efeito inverso quando ocorre precipitação com forte intensidade, produzindo uma acção de lavagem dos esporos na atmosfera. No entanto, Rich & Waggoner (1962) indicam que a relação entre a quantidade de esporos de *Cladosporium* e a precipitação está dependente da intensidade da mesma mas de forma oposta. Segundo aquele autor, se a queda de chuva for mais ligeira tem um efeito de lavagem enquanto um aguaceiro mais forte transporta mais esporos para o ar, por efeito de salpico. Ainda segundo Katial *et al.* (1997), isto poderá ser uma explicação para a controvérsia encontrada na bibliografia sobre efeito da precipitação e os dados de contagens para os esporos de *Cladosporium*. Por outro lado, Ho *et al.* (2005) também registaram correlação positiva com a humidade relativa, contudo referiram a existência de efeitos mistos para este parâmetro e para a precipitação, consoante as exigências em termos dos teores de humidade atmosféricas para a esporulação, ou seja, com correlações negativas para o caso dos dois géneros em análise, que se enquadram nas características dos fungos produtores de “dry-air spores”, e em que a precipitação exerce uma acção de lavagem com remoção dos esporos.

O vento é outro dos parâmetros igualmente polémico quanto à sua influência. Munuera, *et al.* (2001) referem para *Alternaria* a existência de efeitos opostos conforme a velocidade (não indicando valores) sendo favorável quando a velocidades baixas. Li & Kendrick (1994) registaram uma resposta favorável para *Alternaria* e *Cladosporium* à acção do vento, potenciada com a diminuição da humidade relativa. Por outro lado Burch & Levetin (2002) e Sabriego *et al.* (2002) não encontraram qualquer relação com o vento. Nos resultados deste trabalho, este factor surgiu com relevância significativa e uma correlação negativa para *Cladosporium*, em todos os períodos de tempo analisados, o que foi concordante com os estudos de Lyon *et al.* (1984) em Manhattan, Kansas, EUA, e de Damialis & Gioulekas (2000), em Thessaloniki, segunda maior cidade da Grécia.

## 5. Conclusões

O presente trabalho confirmou a presença ao longo do ano de esporos de *Alternaria* e de *Cladosporium* na atmosfera de Lisboa, tendo este último fungo uma presença dominante em termos de número de esporos contados. Confirma-se também um comportamento similar para os dois géneros de fungos, tanto nas variações interanuais da concentração de esporos como nas épocas de ocorrência das concentrações mais elevadas, correspondendo de um modo geral, aos meses de temperaturas mais quente e humidade relativa mais baixa. Este comportamento é concordante com as condições atmosféricas mais favoráveis à esporulação e disseminação dos esporos de fungos característico dos fungos produtores de “dry spores”, nos quais estes dois géneros mitospóricos se integram.

Relativamente aos valores de concentrações indutoras de sintomas alérgicos, designadamente para esporos de fungos de *Alternaria*, verificou-se ter sido apenas de dois, o número de dias com registo de ocorrência de concentração de esporos capaz de induzir sintomas alérgicos respiratórios (a partir dos 50 esporos/m<sup>3</sup>). Assim, durante os meses em que decorreu o presente trabalho, a atmosfera de Lisboa revelou um baixo risco para a indução de problemas respiratórios de origem alérgica, induzidos por fungos dos géneros *Alternaria* e *Cladosporium*.

Quanto à interferência dos elementos do clima na dinâmica comportamental destes fungos, verificou-se que entre os elementos do clima considerados, a temperatura (máxima ou mínima), a precipitação e a humidade relativa foram os mais consistentes no tocante aos efeitos sobre a variação das concentrações dos esporos na atmosfera.

Atendendo aos resultados das inferências estatísticas quanto à relação entre as variáveis meteorológicas e as concentrações dos esporos, revelaram-se constituírem um contributo para compreender o comportamento dos esporos de fungos na atmosfera, por certo, outros factores que conjugados com estes permitirão um melhor entendimento dessa dinâmica.

Por fim, de referir a necessidade de dar continuidade aos estudos presentes, com o objectivo de determinação de um modelo previsional sobre a dinâmica dos esporos de *Alternaria* e de *Cladosporium* em função dos elementos do clima, bem como de outros factores como a proximidade do mar ou os níveis de poluição ambiental. O estabelecimento de um modelo deste tipo permitirá a determinação das épocas de potencial risco para problemas respiratórios alérgicos relacionados com fungos, à semelhança do que já existe em relação a problemas respiratórios alérgicos relacionados com pólenes.

Este tem sido o objectivo de vários autores e investigadores de diversas áreas científicas, nomeadamente na área da saúde pública, onde o conhecimento sobre o comportamento, na

atmosfera, dos esporos destes fungos com potencial alergizante é de relevante importância para a prevenção de doenças respiratórias de origem alérgica relacionadas com fungos.

## 6. Referências bibliográficas

Abu-Dieyeh, M., Barham, R., Abu-Elteen, K., Al-Rashidi, R., Shaheen, I. 2010. Seasonal variations of fungal spore populations in the atmosphere of Zarca area, Jordan. *Aerobiologia*.(em publicação, DOI 10.1007/s10453-010-9162-2).

Adhikari, A., Sen, M. M., Gupta-Bhattacharya, S., Chanda, S. 2003. Volumetric assessment of airborne fungi in two sections of rural indoor dairy cattle shed. *Environment International* 29: 1071-1078.

Agrios, G. 2005. *Plant Pathology*.5th Edition. Academic Press. California.

Angulo-Romero, J. Mediavilla-Molina, A., Domínguez-Vilches, E. 1999. Conidia of *Alternaria* in the atmosphere of the city of Cordoba, Spain in relation to meteorological parameters. *Int J Biometeorol* 43: 45-49.

Bruno, A. A., Pace, L., Tomassetti, B., Coppola, E., Verdecchia, M., Pacioni, G., Visconti, G. 2007. Estimation of fungal spore concentrations associated to meteorological variables. *Aerobiologia* 23: 221-228.

Breitenbach, M., Simon-Nobbe, B. 2002. The Allergens of *Cladosporium herbarum* and *Alternaria alternata*. *ChemImmunol*81: 48–72.

Burch, M., Levetin, E., 2002. Effect of meteorological conditions on spore plumes. *Int J Biometeorol* 46: 107-117.

Burge, H. A. 2002. An update on pollen and fungal spore aerobiology. *J Allergy Clin Immunol*110: 544-552.

Bush, R., Prochnau, J. 2004. *Alternaria*-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 113: 227-234.

Corden, J. M., Millington, W. M., Mullins, J., 2003. Long-term and a regional variation in the aerollergen *Alternaria* in Cardiff and Derby UK are differences in climate and cereal production having effect? *Aerobiologia* 19: 191-199.

- D'Amato, G., Liccardi, G., D'Amato, M., Cazzola, M., 2002. Outdoor air pollution, climatic changes and allergic bronchial asthma. *European Respiratory Journal* 20: 763-776.
- Damialis, A., Gioulekas, D. 2006. Airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Greece: Forecasting possibilities. *Grana* 45: 122-129.
- Delfino, R., Zeiger, R., Seltzer, J., Street, D., Matteucci, R., Anderson, P., Koutrakis, P. 1997. The effect of Outdoor Fungal Spore Concentrations on Daily Asthma Severity. *Environmental Health Perspectives* 105: 622-635.
- Dhingra, O. D., Sinclair, J. B. 1995. *Basic Plant Pathology Methods*. 2nd Edition. CRC PressInc. Florida.
- Diaz, M. R., Iglesias, I., Jato, V. 1998. Seasonal variation of airborne fungal spore concentrations in a vineyard of North-West Spain. *Aerobiologia* 14: 221-227.
- Ellis, M. B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Common wealth Mycological Institute. Slough.
- Ellis, M. B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Common wealth Mycological Institute. Slough.
- Erkara, I., Asan, A., Yilmaz, V., Pehlivan, S., Okten, S. 2008. Airborne *Alternaria* and *Cladosporium* species and relationships with meteorological conditions in Eskisehir City, Turkey. *Environ Monit Assess* 144: 31-41.
- Esch, E. R., Hartsell, J. C., Crenshaw, R., Jacobson, S. R. 2001. Common Allergenic Pollens, Fungi, Animals, and Arthropods. *Clinical Review in Allergy and Immunology* 21.
- Fernandez, D., Valencia, R. M., Molnar, T., Veja, A., Sagüés, E. 1998. Daily and seasonal variations of *Alternaria* and *Cladosporium* airborne spores in León (North-West, Spain). *Aerobiologia* 14: 215-220.
- Flückiger, B., Koller, T., Moon, C. 2000. Comparison of airborne spore concentrations and fungal allergen content. *Aerobiologia* 16: 393-396.

Frankland, A. W., Davies, R. R. 1965. Allergie aux spores de moisissures en Angleterre. *Le Poumon et le Coeur* 21: 11-23.

Frenguelli, G. 1998. The contribution of aerobiology to agriculture. *Aerobiologia* 14: 95-100.

Frenguelli, G. 2003. Basic microscopy, calculating the field of view, scanning of slides, source of error. *Postepy Dermatologii Alergologii* XX4: 227-229.

Galán, C., Cariñanos, P., Alcázar, P., Domínguez, E. 2007. Spanish Aerobiology Network (REA): Management and Quality Manual. *Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba*. Córdoba.

Gravesen, S., 1979. Fungi as a Cause of Allergic Disease. *Allergy* 34: 135-154.

Grinn-Gofroń, A., Mika, A. 2008. Selected airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Szczecin, Poland, 2004-2006. *Aerobiologia* 24: 89-97.

Grinn-Gofroń, A., Strzelczak, A. 2008. Artificial neural network models of relationships between *Alternaria* spores and meteorological factors in Szczecin (Poland). *Int. J. Biometeorol* 52: 859-868.

Grinn-Gofroń, A., Rapiejko, P. 2009. Occurrence of *Cladosporium* spp. and *Alternaria* spp. spores in Western, Northern and Central-Eastern Poland in 2004-2006 and relation to some meteorological factors. *Atmospheric Research* 93: 747-758.

Grinn-Gofroń, A. 2010. Airborne *Aspergillus* and *Penicillium* in the atmosphere of Szczecin, (Poland) (2004-2009). *Aerobiologia*. (em publicação, DOI10.1007/s10453-010-9177-8).

Hasnain, S., Fatima, K., Al-Frayh, A., Al-Sedairy, S. 2005. One-Year pollen and spore calendars of Saudi Arabia: Al-Khobar, Abha and Hofuf. *Aerobiologia* 21: 241-247.

Henríquez, V. I., Villegas, G., Nolla, J. M. 2001. Airborne fungi monitoring in Santiago, Chile. *Aerobiologia* 17: 137-142.

Herrero, B., Fombella-Blanco, M. A., Fernández-González, D., Valencia-Barrera, R. M. 1996. The Role of meteorological factors in determining the annual variation of *Alternaria* and

*Cladosporium* spores in the atmosphere of Palencia, 1990-1992. *Int J Biometeorol* 39: 139-142.

Herrero, A. D., Silvia, S. R., Monserrat, G. B., Patricia, C. M. 2006. Study of airborne fungal spores in Madrid, Spain. *Aerobiologia* 22: 135-142.

Hjelmoors, M., 1993. Relationship between airborne fungal spore presence and weather variables: *Cladosporium* and *Alternaria*. *Grana* 32: 40-47.

Ho, Hsiao-Man, Rao, C., Hsu, Hsiao-Hsien, Chiu, Y., Liu, C., Chao, H. J. 2005. Characteristics and determinants of ambient fungal spores in Hualien, Taiwan. *Atmospheric Environment* 39: 5839-5850.

Hollins, P., Kettlewell, P., Atkinson, M., Stephenson, D., Corden, J., Millington, W., Mullins, J. 2004. Relationships between airborne fungal spore concentration of *Cladosporium* and the summer climate at two sites in Britain. *International Journal of Biometeorol* 48: 137-141.

Horner, W. E., O'Neil, C., Lehrer, S. 1992. Basidiospore Aeroallergens. *Clinical Reviews in Allergy* 10: 191-211.

Horner, W. E., Helbling, A., Salvaggio, J. E., Lehrer, S. B. 1995. Fungal Allergens. *Clin Microbiol Rev* 40: 161-79.

Kalyoncu, F. 2010. Relationship between airborne fungal allergens and meteorological factors in Manisa City, Turkey. *Environ Monit Assess* 165: 553-558.

Kasprzky, I., Worek, M. 2006. Airborne fungal spores in urban and rural environments in Poland. *Aerobiologia* 22: 169-176.

Katial, R., Zhang, Y., Jones, R., Dyer, P. 1997. Atmospheric mold spore counts in relation to meteorological parameters. *Int J Biometeorol* 41: 17-22.

Kurup, V., P., Shen, H., Banerjee, B. 2000. Respiratory fungal allergy. *Microbes and Infection* 2: 1101-1110.

Li, De-Wei, Kendrick, B. 1994. Functional relationships between airborne fungal spores and environmental factors in Kitchener-Waterloo, Ontario, as detected by Canonical correspondence analysis. *Grana* 33: 3, 166-176.

Loureiro, C. 2001 Patologia alérgica a fungos Fungos e alergia respiratória *Rev. Port. Imunoalergol* 9: 125-128.

Lyon, F. L., Kramer, C. L., Eversmeyer, M. G. 1984. Variation of air spora in the atmosphere due to weather conditions. *Grana* 23: 177-181.

Magyar, D., Frenguelli, G., Bricchi, E., Tedeschini, E., Csontos, P., Li, De-Wei, Bobvos, J. 2009. The biodiversity of air spora in an Italian vineyard. *Aerobiologia* 25: 99-109.

Mallo, A. C., Nitiu, S. D., Sambeth, C. G. M. 2011. Airborne fungal spore content in the atmosphere of the city of La Plata, Argentina. *Aerobiologia* 27:77-84.

Mitakakis, T., Ong, E. K., Stevens, A., Guest, D., Knox, B. R. 1997. Incidence of *Cladosporium*, *Alternaria* and total fungal spores in the atmosphere of Melbourne(Australia) over three years. *Aerobiologia* 13: 83-90.

Mitakakis, T., Mcgee, Clift, A. P.A. 2000. The effect of local cropping activities and weather on the airborne concentration of allergenic *Alternaria* spores in rural Australia. *Grana* 40: 230-239.

Mitakakis, T. & Guest, David, I. 2001. A fungal spore calendar for atmosphere of Melbourne, Australia, for the year 1993. *Aerobiologia* 17: 171-176.

Moreira, R.S.L. 2009. *Contribuição para o conhecimento da relação entre a disseminação aérea de fungos e o estado sanitário de árvores urbanas na cidade de Lisboa*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais. UTL, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Munera, Ginger, M., Garcia, Carrion, J. S., Camacho, Navarra, C. 2001. Airborne *Alternaria* spores in SE Spain(1993-98). *Grana* 40: 111-118.

Nunes, C. C., Ferreira, B. M., Almeida, M. M., Gaspar, A, Loureiro, C., Falcão, H., Todo-Bom, A., Caeiro, E., Brandão, R. 2008. Fungos na atmosfera de Portugal. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia* 16: 377-394.

O' Gorman, C. M., Fuller, H. T., 2008. Prevalence of culturable airborne spores of selected allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *Atmospheric Environment* 42: 4355-4368.

Oliveira, M., Ribeiro, H. 2005. Annual variation of fungal spores in atmosphere of Porto: 2003. *Ann Agric Environ Med.*12(2): 309-15.

Oliveira, M., Ribeiro, H., Delgado, J. L., Abreu, I., 2007. Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alergológicas. *Rev Por Imunoalergologia* 15:61-85.

Oliveira, M., Ribeiro, H., Delgado, J. L., Abreu, I., 2009a. Seasonal and intradiurnal variation of allergenic fungal spores in urban and rural areas of the North of Portugal. *Alergologia* 25: 85-98.

Oliveira, M., Ribeiro, H., Delgado, J. L., Abreu I. 2009b. The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanization level. *International Journal of Biometeorology* 53: 61-73.

Oliveira, M., Ribeiro, H, Delgado, L., Fonseca, J., Castel-Branco, M. G., Abreu,I. 2010. Outdoor Allergenic Fungal Spores: Comparasion Between an Urban and a Rural Area in Northern of Portugal.*J Investing Allergol Clin Immunol* 20: 117-128.

Palma-Carlos, A. G, Sousa Uva, A. 1984. Mould Allergy in Portugal, p.105. In Knud Wilken-Jensen and Suzanne Gravesen (ed) Atlas of Moulds in Europe Causing Respiratory Allergy.Foundation for Allergy Research in Europe. ASK Publishing (*cit. in Loureiro, 2001*).

Pantoja, L. D. M., Couto, M. S., Paixão, G. C., 2007. Diversidade de Bioaerossóis Presentes em Ambientes Urbanizados e Preservados de um Campus Universitário. *Biológico*. São Paulo 69: 41-47.

Pulimood, T. B., Corden, J. M., Bryden, C., Sharples, L., Nasser, S. M. 2007 Epidemic asthma and the role of the fungal mold *Alternaria alternata*. *J.Allergy Clin Immunol* Vol 120 number 3: 610-617.

Quintera, E., Riviera-Mariani, F., Bolaños-Rosero, B. 2010. Analysis of environmental factors and their effects on fungal spores in the atmosphere of a tropical urban area (San Juan, Puerto Rico). *Aerobiologia* 26.

R Development Core Team (2011) .R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria. ISBN 3 – 900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

Ramos, A. P., Caetano, M. F., Fabião, A., Fabião, A. M. 2009. Estado Sanitário se Árvores Urbanas e sua Relação com a Disseminação Aérea de fungos. *In Actas do 6º Congresso Florestal Nacional*, Outubro, Ponta Delgada.

Rich, S., Waggoner, P. 1962 Atmosphere concentration of *Cladosporium* spores. *Science* 137: 962 -967.

Rizzi-Longo, L., Pizzulin-Sauli, M., Ganis, P. 2009. Seasonal occurrence of *Alternaria* (1993-2004) and *Epicoccum* (1994-2004) spores in Trieste (NE Italy). *Annual Agricultural Environmental Medicine* 16: 63-70.

Rodríguez-Rajo, F. J., Inglesias, I., Jato, V. 2005. Variation assessment of airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores at different bioclimatical conditions. *Mycol. Res.* 109: 497-507.

Rogers, C., Muilenberg, M. 2001. Pan-American Aerobiology Association Standardized Protocols - Comprehensive Guidelines for the operation of Hirst-Type suction Bioaerosol Samples. *The Pan-American Aerobiology Association*.

Rotem, J. 1994. *The Genus Alternaria. Biology, Epidemiology and Pathogenicity*. The American Phytopathological Society Press.

Sabariego, S., Guardia, C. D., Alba, F. 2000. The effect of meteorological factors on the daily variation of airborne fungal spores in Granada (southern Spain). *Int J Biometeorol* 44: 1-5.

Sabariego, S., Díez, A., Gutiérrez, M. 2007. Monitoring of airborne fungi in Madrid (Spain). *Acta Bot. Croat.* 66: 117-126.

Sakiyan, N., Iceoglu, Ö. 2003. Atmospheric Concentrations of *Cladosporium* Link and *Alternaria* Nées Spores in Ankara and the Effects of Meteorological Factors. *Turk J Bot* 27: 77-81.

Sánchez, E. R., Rodriguez de la Cruz, D., Sanchis, M. M. E., Sánchez. 2009. Meteorological and agricultural effects on airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores and clinical aspects in Valladolid (Spain). *Ann Agric Environ Med* 16: 53-61.

Santos, H.P.V., Moreira R., Fabião, A., Ramos, A.P., Caetano M. F. 2011. Espectro de esporos de fungos alergisantes na atmosfera de Lisboa. *Comunicação oral no Seminário de Divulgação Técnica "Árvores urbanas e alergias: mitos e factos"*, Junho, Lisboa.

Silva, F. P., Wandreilla, M. G., Carvalho, I. F., Dallacort, R. 2009. Sazonalidade de *Cladosporium* sp (fungo anemófilo) na cidade de Tangará da Serra-MT em função dos fatores ambientais no período de um ano. 2ª Jornada Científica de Unem at Outubro Barra de Burges. MT. Univ Estado Mato Grosso.

Stennett, P. J., Beggs, P. J. 2004. *Alternaria* spores in the atmosphere of Sidney, Australia, and relationships with meteorological factors. *Int J Biometeorol* 49: 98-105.

Stepalska, D. & Wolek, J. 2005. Variation in fungal spore concentrations of selected taxa associated to weather conditions in Cracow, Poland, in 1997. *Aerobiologia* 21:43-52.

Troutt, C., Levetin, E., 2001. Correlation of spring spore concentrations and meteorological conditions in Tulsa, Oklahoma. *Int J Biometeorol* 45: 64-74.

Warner, F. E., McCartney, H. A. & Emberlin, J. 2000. Wind tunnel comparison of the collection efficiency of three Hirst-type volumetric sampler drum coatings. *Aerobiologia* 16: 25-28.

Yi-Hua, Wu, Chan, Chang-Chuan, Rao, C. Y., Lee, Chung-Te, Hsu, Hsiao-Hsien, Chao, H. J. 2007. Characteristics, determinants, and spatial variations of ambient fungal levels in the subtropical Taipei metropolis. *Atmospheric Environment* 41: 2500–2509.

## 7. ANEXOS

**ANEXO I****Estatística descritiva**Quadro 1 – Análise da concentração de esporos de *Cladosporium* sp. Observados entre Fevereiro 2009 a Fevereiro 2011

| <b>2009-2011</b> | <b>Fev-09</b> | <b>Mar-09</b> | <b>Abr-09</b> | <b>Mai-09</b> | <b>Jun-09</b> | <b>Jul-09</b> |
|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Máximo           | 354           | 765           | 115           | 877           | 2139          | 1127          |
| Mínimo           | 75            | 106           | 18            | 181           | 508           | 259           |
| Total            | 1116          | 2749          | 409           | 3009          | 8644          | 3882          |
| Média            | 159           | 393           | 58            | 430           | 1235          | 555           |
| Mediana          | 135           | 345           | 55            | 404           | 1220          | 473           |
| Desvio           | 90            | 250           | 41            | 228           | 499           | 303           |
| Variância        | 8190          | 62509         | 1713          | 51858         | 249127        | 91892         |

| <b>2009-2011</b><br>(cont.) | <b>Ago-09</b> | <b>Set-09</b> | <b>Out-09</b> | <b>Nov-09</b> | <b>Dez-09</b> | <b>Jan-10</b> |
|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Máximo                      | 928           | 1288          | 475           | 424           | 639           | 197           |
| Mínimo                      | 46            | 212           | 55            | 80            | 303           | 60            |
| Total                       | 2711          | 4174          | 1613          | 1427          | 3359          | 902           |
| Média                       | 387           | 596           | 230           | 204           | 480           | 129           |
| Mediana                     | 340           | 510           | 166           | 199           | 510           | 110           |
| Desvio                      | 286           | 378           | 154           | 121           | 135           | 56            |
| Variância                   | 81699         | 142882        | 23563         | 14593         | 18269         | 3105          |

| <b>2009-2011</b><br>(cont.) | <b>Fev-10</b> | <b>Mar-10</b> | <b>Abr-10</b> | <b>Mai-10</b> | <b>Jun-10</b> | <b>Jul-10</b> |
|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Máximo                      | 292           | 190           | 192           | 700           | 1005          | 1317          |
| Mínimo                      | 27            | 13            | 4             | 80            | 106           | 325           |
| Total                       | 939           | 504           | 345           | 2280          | 3184          | 5566          |
| Média                       | 134           | 72            | 49            | 326           | 795           | 795           |
| Mediana                     | 133           | 68            | 27            | 168           | 289           | 804           |
| Desvio                      | 83            | 64            | 65            | 262           | 320           | 373           |
| Variância                   | 6955          | 4083          | 4241          | 68608         | 102622        | 139243        |

| <b>2009-2011</b><br>(cont.) | <b>Ago-10</b> | <b>Set-10</b> | <b>Out-10</b> | <b>Nov-10</b> | <b>Dez-10</b> | <b>Jan-11</b> | <b>Fev-11</b> |
|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Máximo                      | 581           | 1503          | 1410          | 276           | 716           | 1078          | 424           |
| Mínimo                      | 20            | 217           | 150           | 84            | 80            | 179           | 80            |
| Total                       | 1973          | 6450          | 4072          | 1191          | 2568          | 3078          | 1427          |
| Média                       | 282           | 921           | 582           | 170           | 367           | 440           | 204           |
| Mediana                     | 254           | 802           | 349           | 190           | 281           | 314           | 199           |
| Desvio                      | 194           | 448           | 490           | 67            | 230           | 324           | 121           |
| Variância                   | 37721         | 200761        | 239892        | 4472          | 52897         | 121229        | 14593         |

Quadro 2 – Análise da concentração de esporos de *Cladosporium* em três períodos distintos: 2009-2011, 2009 e 2010

| <i>Cladosporium</i> | 2009-11 | 2009   | 2010   | 2011  |
|---------------------|---------|--------|--------|-------|
| Máximo              | 2139    | 2139   | 1503   | 1078  |
| Mínimo              | 4       | 18     | 4      | 22    |
| Total               | 66683   | 33093  | 29973  | 3617  |
| Média               | 381     | 430    | 357    | 258   |
| Mediana             | 254     | 340    | 198    | 162   |
| Desvio              | 375     | 388    | 371    | 291   |
| Variância           | 140417  | 150922 | 137556 | 84804 |

Quadro 3- Análise da concentração de esporos de *Alternaria* observados entre Fevereiro 2009 a Fevereiro 2011

| 2009-2011 | Fev-09 | Mar-09 | Abr-09 | Mai-09 | Jun-09 | Jul-09 | Ago-09 | Set-09 |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Máximo    | 2      | 13     | 2      | 7      | 55     | 33     | 20     | 29     |
| Mínimo    | 0      | 2      | 0      | 0      | 4      | 2      | 4      | 2      |
| Total     | 4      | 51     | 2      | 22     | 168    | 106    | 55     | 86     |
| Média     | 1      | 7      | 0      | 3      | 24     | 15     | 8      | 12     |
| Mediana   | 0      | 7      | 0      | 2      | 18     | 15     | 7      | 9      |
| Desvio    | 1      | 4      | 1      | 2      | 18     | 11     | 6      | 11     |
| Variância | 1      | 13     | 1      | 5      | 334    | 131    | 31     | 112    |

| 2009-2011(cont.) | Out-09 | Nov-09 | Dez-09 | Jan-10 | Fev-10 | Mar-10 | Abr-10 | Mai-10 |
|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Máximo           | 20     | 9      | 7      | 1      | 1      | 2      | 9      | 19     |
| Mínimo           | 2      | 0      | 2      | 0      | 0      | 0      | 0      | 1      |
| Total            | 53     | 29     | 29     | 2      | 1      | 5      | 19     | 65     |
| Média            | 8      | 4      | 4      | 0      | 0      | 1      | 3      | 9      |
| Mediana          | 7      | 4      | 4      | 0      | 0      | 0      | 2      | 9      |
| Desvio           | 6      | 3      | 2      | 0      | 0      | 1      | 3      | 7      |
| Variância        | 39     | 9      | 4      | 0      | 0      | 1      | 11     | 48     |

| 2009-2011 (cont.) | Jun-10 | Jul-10 | Ago-10 | Set-10 | Out-10 | Nov-10 | Dez-10 | Jan-11 | Fev-11 |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Máximo            | 10     | 22     | 15     | 18     | 4      | 7      | 11     | 11     | 2      |
| Mínimo            | 2      | 0      | 2      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| Total             | 35     | 75     | 44     | 53     | 9      | 9      | 22     | 29     | 9      |
| Média             | 11     | 11     | 6      | 8      | 1      | 1      | 3      | 4      | 1      |
| Mediana           | 4      | 11     | 7      | 7      | 0      | 0      | 2      | 3      | 2      |
| Desvio            | 4      | 7      | 5      | 6      | 2      | 3      | 4      | 4      | 1      |
| Variância         | 12     | 53     | 23     | 37     | 3      | 6      | 16     | 16     | 1      |

Quadro 4- Análise da concentração de esporos de *Alternaria* em três períodos distintos: 2009-11, 2009 e 2010

| <i>Alternaria</i> | 2009-11 | 2009 | 2010 | 2011 |
|-------------------|---------|------|------|------|
| Máximo            | 55      | 55   | 22   | 11   |
| Mínimo            | 0       | 0    | 0    | 0    |
| Total             | 982     | 605  | 339  | 38   |
| Média             | 6       | 8    | 4    | 3    |
| Mediana           | 2       | 4    | 2    | 2    |
| Desvio            | 8       | 10   | 5    | 3    |
| Variância         | 61      | 99   | 28   | 9    |

Quadro 5- Estatística descritiva dos elementos do clima para o período de 2009 a 2011

| 2009-11   | Humidade Relativa | Precipitação | Temperatura mínima | Temperatura máxima | Velocidade Vento |
|-----------|-------------------|--------------|--------------------|--------------------|------------------|
| Máximo    | 100,0             | 47,0         | 28,0               | 39,6               | 12,9             |
| Mínimo    | 35,5              | 0,0          | 3,0                | 9,5                | 1,1              |
| Total     | 72,3              | 2,9          | 13,3               | 22,0               | 5,5              |
| Média     | 74,0              | 0,0          | 13,5               | 20,0               | 5,2              |
| Mediana   | 15,9              | 7,3          | 4,9                | 6,9                | 2,1              |
| Desvio    | 252,3             | 54,0         | 23,9               | 48,1               | 4,4              |
| Variância | 100,0             | 47,0         | 28,0               | 39,6               | 12,9             |

Quadro 6 - Estatística descritiva dos elementos do clima para o período de 2009

| 2009      | Humidade Relativa | Precipitação | Temperatura mínima | Temperatura máxima | Velocidade Vento |
|-----------|-------------------|--------------|--------------------|--------------------|------------------|
| Máximo    | 95,0              | 20,6         | 20,9               | 35,3               | 12,9             |
| Mínimo    | 43,0              | 0,0          | 3,0                | 10,0               | 2,2              |
| Total     | 68,5              | 0,8          | 13,2               | 23,1               | 5,3              |
| Média     | 67,5              | 0,0          | 14,2               | 24,2               | 5,0              |
| Mediana   | 14,2              | 2,8          | 4,5                | 5,8                | 1,9              |
| Desvio    | 200,9             | 8,1          | 20,7               | 33,2               | 3,6              |
| Variância | 95,0              | 20,6         | 20,9               | 35,3               | 12,9             |

Quadro 7 - Estatística descritiva dos elementos do clima para o período de 2010

| 2010      | Humidade Relativa | Precipitação | Temperatura mínima | Temperatura máxima | Velocidade Vento |
|-----------|-------------------|--------------|--------------------|--------------------|------------------|
| Máximo    | 100,0             | 47,0         | 28,0               | 39,6               | 12,6             |
| Mínimo    | 35,5              | 0,0          | 3,0                | 9,5                | 1,1              |
| Total     | 73,4              | 5,3          | 14,1               | 22,0               | 5,8              |
| Média     | 75,5              | 0,0          | 13,8               | 20,1               | 5,6              |
| Mediana   | 16,9              | 9,7          | 5,1                | 8,0                | 2,3              |
| Desvio    | 284,9             | 94,4         | 25,7               | 63,7               | 5,2              |
| Variância | 100,0             | 47,0         | 28,0               | 39,6               | 12,6             |

Quadro 8 - Coeficiente de correlação linear de Pearson( r ) entre os valores de concentração (transformada) de esporos e *Cladosporium* e os elementos do clima

| Valores de r        | 2009-2011 | 2009     | 2010     |
|---------------------|-----------|----------|----------|
| Humidade Relativa   | -0,39829  | -0,31716 | -0,45175 |
| Precipitação        | -0,25939  | -0,12091 | -0,32518 |
| Temperatura mínima  | 0,433552  | 0,478815 | 0,418115 |
| Temperatura máxima  | 0,503262  | 0,542107 | 0,504217 |
| Velocidade do Vento | -0,14627  | -0,1624  | -0,16493 |

Quadro 9 - Coeficiente de correlação linear de Pearson( r ) entre os valores de concentração (transformada) de esporos de *Alternaria* e os elementos do clima

| Valores de r        | 2009-2011 | 2009     | 2010     |
|---------------------|-----------|----------|----------|
| Humidade Relativa   | -0,44955  | -0,22636 | -0,62258 |
| Precipitação        | -0,35654  | -0,15815 | -0,44456 |
| Temperatura mínima  | 0,530118  | 0,478815 | 0,562186 |
| Temperatura máxima  | 0,584502  | 0,542107 | 0,641318 |
| Velocidade do Vento | -0,07029  | -0,1624  | -0,02626 |

## ANEXO II

**Inferência estatística** - Relação dos elementos do clima com a variação das concentrações de esporos de *Cladosporium* e *Alternaria* com aplicação do Programa de software R (versão 2.13.0)

**Quadro 1- Resultados da análise para *Cladosporium* no período entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011**

```

Min      1Q      Median      3Q      Max
-25.1498 -5.2709 -0.7399  4.8030  21.2015

Coefficients:
              Estimate Std. Error  t value  Pr(>|t|)
(Intercept)  17.75240    5.98344   2.967   0.00344 **
HR            -0.09575    0.05010  -1.911   0.05765 .
Pb           -0.12355    0.08723  -1.416   0.15848
Temp_min      0.34863    0.23416   1.489   0.13839
Temp_max      0.26243    0.19214   1.366   0.17381
Vento        -0.64066    0.29040  -2.206   0.02872 *

```

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 7.541 on 169 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.3027, Adjusted R-squared: 0.2821

F-statistic: 14.67 on 5 and 169 DF, p-value: 6.094e-12

**Quadro 2 - Simplificação do modelo anterior utilizando o critério AIC (Akaike)**

Start: AIC=713.02 sqrt(Cladosporium) ~ HR + Pb + Temp\_min + Temp\_max + Vento

```

Df Sum of Sq  RSS    AIC
- Temp_max  1    106.08 9716.5 712.94
<none>                                9610.4 713.02
- Pb        1    114.09 9724.5 713.08
- Temp_min  1    126.06 9736.5 713.30
- HR        1    207.75 9818.2 714.76
- Vento     1    276.77 9887.2 715.99

```

Step: AIC=712.94 sqrt(Cladosporium) ~ HR + Pb + Temp\_min + Vento

```

Df Sum of Sq  RSS    AIC
<none>                                9716.5 712.94
- Pb        1    154.56 9871.1 713.70
- Vento     1    373.28 10089.8 717.54
- HR        1    526.50 10243.0 720.17
- Temp_min  1    1276.87 10993.4 732.55

```

Coefficients:

| (Intercept) | HR      | Pb      | Temp_min | Vento   |
|-------------|---------|---------|----------|---------|
| 23.0596     | -0.1308 | -0.1421 | 0.6149   | -0.7264 |

Residuals:

| Min      | 1Q      | Median  | 3Q     | Max     |
|----------|---------|---------|--------|---------|
| -24.9803 | -5.1235 | -0.9812 | 4.4990 | 20.6284 |

Coefficients:

|             | Estimate | Std. Error | t value | Pr(> t )     |
|-------------|----------|------------|---------|--------------|
| (Intercept) | 23.05959 | 4.56157    | 5.055   | 1.10e-06 *** |
| HR          | -0.13085 | 0.04311    | -3.035  | 0.00278 **   |
| Pb          | -0.14206 | 0.08639    | -1.644  | 0.10193      |
| Temp_min    | 0.61486  | 0.13009    | 4.727   | 4.77e-06 *** |
| Vento       | -0.72643 | 0.28425    | -2.556  | 0.01148 *    |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 7.56 on 170 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.295, Adjusted R-squared: 0.2784

F-statistic: 17.78 on 4 and 170 DF, p-value: 3.258e-12

**Quadro 3 - Resultados da análise para *Cladosporium* no ano de 2009**

Residuals:

| Min     | 1Q     | Median | 3Q    | Max    |
|---------|--------|--------|-------|--------|
| -14.569 | -5.363 | -0.698 | 4.939 | 19.206 |

Coefficients:

|             | Estimate | Std. Error | t value | Pr(> t ) |
|-------------|----------|------------|---------|----------|
| (Intercept) | 16.48059 | 9.19516    | 1.792   | 0.0773 . |
| HR          | -0.13553 | 0.07285    | -1.860  | 0.0670 . |
| Pb          | 0.05157  | 0.32240    | 0.160   | 0.8734   |
| Temp_min    | 0.51630  | 0.38979    | 1.325   | 0.1896   |
| Temp_max    | 0.31981  | 0.34143    | 0.937   | 0.3521   |
| Vento       | -0.49667 | 0.49868    | -0.996  | 0.3226   |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 7.319 on 71 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.3314, Adjusted R-squared: 0.2843

F-statistic: 7.039 on 5 and 71 DF, p-value: 2.154e-05

**Quadro 4 - Simplificação do modelo anterior utilizando o critério AIC**

Start: AIC=312.29

sqrt(Cladosporium) ~ HR + Pb + Temp\_min + Temp\_max + Vento

| Df         | Sum of Sq | RSS     | AIC           |
|------------|-----------|---------|---------------|
| - Pb       | 1         | 1.371   | 3804.8 310.32 |
| - Temp_max | 1         | 47.001  | 3850.5 311.24 |
| - Vento    | 1         | 53.140  | 3856.6 311.36 |
| - Temp_min | 1         | 93.984  | 3897.5 312.17 |
| <none>     |           |         | 3803.5 312.29 |
| - HR       | 1         | 185.379 | 3988.8 313.95 |

Step: AIC=310.32

sqrt(Cladosporium) ~ HR + Temp\_min + Temp\_max + Vento

| Df         | Sum of Sq | RSS     | AIC           |
|------------|-----------|---------|---------------|
| - Temp_max | 1         | 45.631  | 3850.5 309.24 |
| - Vento    | 1         | 51.931  | 3856.8 309.36 |
| <none>     |           |         | 3804.8 310.32 |
| - Temp_min | 1         | 100.557 | 3905.4 310.33 |
| - HR       | 1         | 186.313 | 3991.2 312.00 |

Step: AIC=309.24

sqrt(Cladosporium) ~ HR + Temp\_min + Vento

| Df         | Sum of Sq | RSS     | AIC           |
|------------|-----------|---------|---------------|
| <none>     |           |         | 3850.5 309.24 |
| - Vento    | 1         | 128.29  | 3978.8 309.76 |
| - HR       | 1         | 432.00  | 4282.5 315.42 |
| - Temp_min | 1         | 1083.24 | 4933.7 326.32 |

Residuals:

| Min     | 1Q     | Median | 3Q    | Max    |
|---------|--------|--------|-------|--------|
| -14.502 | -5.552 | -1.047 | 5.381 | 18.440 |

Coefficients:

|             | Estimate | Std. Error | t value | Pr(> t )     |
|-------------|----------|------------|---------|--------------|
| (Intercept) | 23.00629 | 5.70735    | 4.031   | 0.000135 *** |
| HR          | -0.16950 | 0.05923    | -2.862  | 0.005492 **  |
| Temp_min    | 0.83703  | 0.18470    | 4.532   | 2.24e-05 *** |
| Vento       | -0.68933 | 0.44201    | -1.560  | 0.123194     |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 7.263 on 73 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.3232, Adjusted R-squared: 0.2953

F-statistic: 11.62 on 3 and 73 DF, p-value: 2.613e-06

**Quadro 5 - Resultados da análise para *Cladosporium* no ano de 2010**

Residuals:

| Min      | 1Q      | Median  | 3Q     | Max     |
|----------|---------|---------|--------|---------|
| -23.1931 | -5.4932 | -0.8078 | 4.5741 | 20.6189 |

Coefficients:

|             | Estimate | Std. Error | t value | Pr(> t ) |
|-------------|----------|------------|---------|----------|
| (Intercept) | 18.65627 | 9.30604    | 2.005   | 0.0485 * |
| HR          | -0.08596 | 0.08044    | -1.069  | 0.2885   |
| Pb          | -0.10655 | 0.10069    | -1.058  | 0.2933   |
| Temp_min    | -0.07231 | 0.35711    | -0.202  | 0.8401   |
| Temp_max    | 0.44935  | 0.26569    | 1.691   | 0.0948 . |
| Vento       | -0.69708 | 0.39144    | -1.781  | 0.0788 . |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 7.79 on 78 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.3182, Adjusted R-squared: 0.2745

F-statistic: 7.279 on 5 and 78 DF, p-value: 1.217e-05

**Quadro 6 - Simplificação do modelo anterior utilizando o critério AIC**

**Start: AIC=350.65 sqrt(Cladosporium) ~ HR + Pb + Temp\_min + Temp\_max + Vento**

| Df         | Sum of Sq | RSS     | AIC           |
|------------|-----------|---------|---------------|
| - Temp_min | 1         | 2.488   | 4735.5 348.69 |
| - Pb       | 1         | 67.936  | 4800.9 349.84 |
| - HR       | 1         | 69.296  | 4802.3 349.87 |
| <none>     |           |         | 4733.0 350.65 |
| - Temp_max | 1         | 173.564 | 4906.5 351.67 |
| - Vento    | 1         | 192.432 | 4925.4 351.99 |

Step: AIC=348.69 sqrt(Cladosporium) ~ HR + Pb + Temp\_max + Vento

| Df         | Sum of Sq | RSS    | AIC           |
|------------|-----------|--------|---------------|
| - HR       | 1         | 71.24  | 4806.7 347.94 |
| - Pb       | 1         | 72.70  | 4808.2 347.97 |
| <none>     |           |        | 4735.5 348.69 |
| - Vento    | 1         | 192.31 | 4927.8 350.03 |
| - Temp_max | 1         | 390.65 | 5126.1 353.35 |

Step: AIC=347.94 sqrt(Cladosporium) ~ Pb + Temp\_max + Vento

| Df         | Sum of Sq | RSS     | AIC           |
|------------|-----------|---------|---------------|
| <none>     |           | 4806.7  | 347.94        |
| - Pb       | 1         | 138.73  | 4945.4 348.33 |
| - Vento    | 1         | 154.63  | 4961.3 348.60 |
| - Temp_max | 1         | 1322.34 | 6129.0 366.36 |

#### Residuals:

| Min      | 1Q      | Median  | 3Q     | Max     |
|----------|---------|---------|--------|---------|
| -22.5425 | -5.2461 | -0.4551 | 4.5143 | 19.5658 |

#### Coefficients:

|             | Estimate | Std. Error | t value | Pr(> t )     |
|-------------|----------|------------|---------|--------------|
| (Intercept) | 9.27372  | 3.36592    | 2.755   | 0.00726 **   |
| Pb          | -0.14326 | 0.09428    | -1.520  | 0.13257      |
| Temp_max    | 0.52908  | 0.11278    | 4.691   | 1.10e-05 *** |
| Vento       | -0.61236 | 0.38171    | -1.604  | 0.11260      |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 7.751 on 80 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.3075, Adjusted R-squared: 0.2816

F-statistic: 11.84 on 3 and 80 DF, p-value: 1.693e-06

### Quadro 7 - Resultados da análise para *Alternaria* para o período entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011

#### Residuals:

| Min      | 1Q       | Median  | 3Q      | Max     |
|----------|----------|---------|---------|---------|
| -3.51156 | -0.87607 | 0.02859 | 0.68683 | 4.21781 |

#### Coefficients:

|             | Estimate  | Std. Error | t value | Pr(> t )     |
|-------------|-----------|------------|---------|--------------|
| (Intercept) | 0.908391  | 0.942012   | 0.964   | 0.336268     |
| HR          | -0.012633 | 0.007887   | -1.602  | 0.111076     |
| Pb          | -0.047830 | 0.013732   | -3.483  | 0.000631 *** |
| Temp_min    | 0.094584  | 0.036866   | 2.566   | 0.011166 *   |
| Temp_max    | 0.041286  | 0.030250   | 1.365   | 0.174121     |
| Vento       | -0.038107 | 0.045720   | -0.833  | 0.405744     |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.187 on 169 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.4144, Adjusted R-squared: 0.3971

F-statistic: 23.92 on 5 and 169 DF, p-value: < 2.2e-16

**Quadro 8 - Simplificação do modelo anterior pelo AIC**

Start: AIC=65.96 sqrt(Alternaria) ~ HR + Pb + Temp\_min + Temp\_max + Vento

| Df         | Sum of Sq | RSS     | AIC           |
|------------|-----------|---------|---------------|
| - Vento    | 1         | 0.9792  | 239.19 64.679 |
| - Temp_max | 1         | 2.6256  | 240.83 65.880 |
| <none>     |           |         | 238.21 65.961 |
| - HR       | 1         | 3.6163  | 241.82 66.598 |
| - Temp_min | 1         | 9.2782  | 247.48 70.648 |
| - Pb       | 1         | 17.0991 | 255.31 76.093 |

Step: AIC=64.68 sqrt(Alternaria) ~ HR + Pb + Temp\_min + Temp\_max

| Df         | Sum of Sq | RSS     | AIC           |
|------------|-----------|---------|---------------|
| <none>     |           |         | 239.19 64.679 |
| - HR       | 1         | 2.8991  | 242.08 64.788 |
| - Temp_max | 1         | 3.5298  | 242.72 65.243 |
| - Temp_min | 1         | 8.4882  | 247.67 68.782 |
| - Pb       | 1         | 20.0193 | 259.20 76.746 |

Coefficients:

| (Intercept) | HR       | Pb       | Temp_min | Temp_max |
|-------------|----------|----------|----------|----------|
| 0.53942     | -0.01092 | -0.05042 | 0.08891  | 0.04674  |

Residuals:

| Min     | 1Q      | Median | 3Q     | Max    |
|---------|---------|--------|--------|--------|
| -3.5642 | -0.8757 | 0.0123 | 0.7091 | 4.3170 |

Coefficients:

|             | Estimate  | Std. Error | t value | Pr(> t )     |
|-------------|-----------|------------|---------|--------------|
| (Intercept) | 0.539418  | 0.830768   | 0.649   | 0.517021     |
| HR          | -0.010920 | 0.007608   | -1.435  | 0.152997     |
| Pb          | -0.050416 | 0.013365   | -3.772  | 0.000223 *** |
| Temp_min    | 0.088914  | 0.036200   | 2.456   | 0.015047 *   |
| Temp_max    | 0.046738  | 0.029508   | 1.584   | 0.115071     |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.186 on 170 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.412, Adjusted R-squared: 0.3982

F-statistic: 29.78 on 4 and 170 DF, p-value: < 2.2e-16

**Quadro 9 - Resultados da análise para *Alternaria* no ano de 2009**

Residuals:

| Min     | 1Q      | Median  | 3Q     | Max    |
|---------|---------|---------|--------|--------|
| -2.7924 | -0.9758 | -0.1262 | 0.8217 | 3.3002 |

Coefficients:

|             | Estimate  | Std. Error | t value | Pr(> t )   |
|-------------|-----------|------------|---------|------------|
| (Intercept) | 0.824688  | 1.592545   | 0.518   | 0.60618    |
| HR          | -0.015722 | 0.012618   | -1.246  | 0.21686    |
| Pb          | -0.057229 | 0.055837   | -1.025  | 0.30888    |
| Temp_min    | 0.221157  | 0.067509   | 3.276   | 0.00163 ** |
| Temp_max    | -0.005971 | 0.059133   | -0.101  | 0.91985    |
| Vento       | -0.037532 | 0.086368   | -0.435  | 0.66519    |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.268 on 71 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.4261, Adjusted R-squared: 0.3857

F-statistic: 10.54 on 5 and 71 DF, p-value: 1.353e-07

**Quadro 10 - Simplificação do modelo anterior utilizando o critério AIC**

Start: AIC=42.27 sqrt(Alternaria) ~ HR + Pb + Temp\_min + Temp\_max + Vento

| Df         | Sum of Sq | RSS     | AIC           |
|------------|-----------|---------|---------------|
| - Temp_max | 1         | 0.0164  | 114.11 40.286 |
| - Vento    | 1         | 0.3035  | 114.39 40.479 |
| - Pb       | 1         | 1.6880  | 115.78 41.405 |
| - HR       | 1         | 2.4947  | 116.58 41.940 |
| <none>     |           |         | 114.09 42.274 |
| - Temp_min | 1         | 17.2448 | 131.33 51.113 |

Step: AIC=40.29 sqrt(Alternaria) ~ HR + Pb + Temp\_min + Vento

| Df         | Sum of Sq | RSS    | AIC           |
|------------|-----------|--------|---------------|
| - Vento    | 1         | 0.299  | 114.40 38.487 |
| - Pb       | 1         | 1.681  | 115.79 39.412 |
| <none>     |           |        | 114.11 40.286 |
| - HR       | 1         | 3.052  | 117.16 40.318 |
| - Temp_min | 1         | 71.516 | 185.62 75.753 |

Step: AIC=38.49 sqrt(Alternaria) ~ HR + Pb + Temp\_min

| Df         | Sum of Sq | RSS    | AIC           |
|------------|-----------|--------|---------------|
| - Pb       | 1         | 2.052  | 116.46 37.856 |
| - HR       | 1         | 2.869  | 117.27 38.394 |
| <none>     |           |        | 114.40 38.487 |
| - Temp_min | 1         | 72.530 | 186.94 74.295 |

Step: AIC=37.86 sqrt(Alternaria) ~ HR + Temp\_min

| Df         | Sum of Sq | RSS    | AIC           |
|------------|-----------|--------|---------------|
| <none>     |           |        | 116.46 37.856 |
| - HR       | 1         | 5.096  | 121.55 39.154 |
| - Temp_min | 1         | 72.150 | 188.61 72.981 |

Coefficients:

| (Intercept) | HR       | Temp_min |
|-------------|----------|----------|
| 0.70197     | -0.01838 | 0.21555  |

Residuals:

| Min      | 1Q       | Median   | 3Q      | Max     |
|----------|----------|----------|---------|---------|
| -2.50099 | -1.06991 | -0.06711 | 0.83786 | 3.57278 |

Coefficients:

|             | Estimate | Std. Error | t value | Pr(> t )   |
|-------------|----------|------------|---------|------------|
| (Intercept) | -1.13154 | 0.61239    | -1.848  | 0.06864 .  |
| Temp_min    | 0.16481  | 0.05782    | 2.850   | 0.00565 ** |
| HR          | 0.05393  | 0.04561    | 1.183   | 0.24077    |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.27 on 74 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.3999, Adjusted R-squared: 0.3837

F-statistic: 24.66 on 2 and 74 DF, p-value: 6.232e-09

**Quadro 11 - Resultados da análise para *Alternaria* no ano de 2010**

Residuals:

| Min     | 1Q      | Median  | 3Q     | Max    |
|---------|---------|---------|--------|--------|
| -3.2182 | -0.7114 | -0.0694 | 0.8104 | 2.0545 |

Coefficients:

|             | Estimate | Std. Error | t value | Pr(> t ) |
|-------------|----------|------------|---------|----------|
| (Intercept) | 1.71249  | 1.21287    | 1.412   | 0.1619   |
| HR          | -0.02085 | 0.01048    | -1.988  | 0.0503 . |
| Pb          | -0.03214 | 0.01312    | -2.449  | 0.0166 * |
| Temp_min    | 0.02935  | 0.04654    | 0.631   | 0.5302   |
| Temp_max    | 0.05113  | 0.03463    | 1.477   | 0.1438   |
| Vento       | -0.01676 | 0.05102    | -0.328  | 0.7434   |

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.015 on 78 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.504, Adjusted R-squared: 0.4722

F-statistic: 15.85 on 5 and 78 DF, p-value: 9.514e-11

**Quadro 12 - Simplificação do modelo anterior utilizando o critério AIC**Start: AIC=8.32 sqrt(*Alternaria*) ~ HR + Pb + Temp\_min + Temp\_max + Vento

|            | Df | Sum of Sq | RSS    | AIC     |
|------------|----|-----------|--------|---------|
| - Vento    | 1  | 0.1112    | 80.507 | 6.4326  |
| - Temp_min | 1  | 0.4098    | 80.806 | 6.7436  |
| <none>     |    |           | 80.396 | 8.3165  |
| - Temp_max | 1  | 2.2473    | 82.643 | 8.6323  |
| - HR       | 1  | 4.0751    | 84.471 | 10.4699 |
| - Pb       | 1  | 6.1813    | 86.577 | 12.5386 |

Step: AIC=6.43

sqrt(*Alternaria*) ~ HR + Pb + Temp\_min + Temp\_max

|            | Df | Sum of Sq | RSS    | AIC     |
|------------|----|-----------|--------|---------|
| - Temp_min | 1  | 0.4110    | 80.918 | 4.8604  |
| <none>     |    |           | 80.507 | 6.4326  |
| - Temp_max | 1  | 2.2922    | 82.800 | 6.7909  |
| - HR       | 1  | 3.9686    | 84.476 | 8.4746  |
| - Pb       | 1  | 7.0636    | 87.571 | 11.4971 |

Step: AIC=4.86

```
sqrt(Alternaria) ~ HR + Pb + Temp_max
```

| Df         | Sum of Sq | RSS     | AIC            |
|------------|-----------|---------|----------------|
| <none>     | 80.918    | 4.8604  |                |
| - HR       | 1         | 3.8208  | 84.739 6.7359  |
| - Pb       | 1         | 6.7318  | 87.650 9.5731  |
| - Temp_max | 1         | 11.3322 | 92.251 13.8701 |

Coefficients:

| (Intercept) | HR       | Pb       | Temp_max |
|-------------|----------|----------|----------|
| 1.55384     | -0.01974 | -0.03214 | 0.06904  |

Residuals:

| Min     | 1Q      | Median | 3Q     | Max    |
|---------|---------|--------|--------|--------|
| -3.3129 | -0.6789 | 0.0227 | 0.7563 | 2.1006 |

Coefficients:

|             | Estimate | Std. Error | t value | Pr(> t )   |
|-------------|----------|------------|---------|------------|
| (Intercept) | 1.55384  | 1.10898    | 1.401   | 0.16504    |
| HR          | -0.01974 | 0.01016    | -1.944  | 0.05547 .  |
| Pb          | -0.03214 | 0.01246    | -2.580  | 0.01172 *  |
| Temp_max    | 0.06904  | 0.02063    | 3.347   | 0.00125 ** |

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.006 on 80 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.5007, Adjusted R-squared: 0.482

F-statistic: 26.74 on 3 and 80 DF, p-value: 4.425e-12

## ANEXO III

## Análise descritiva

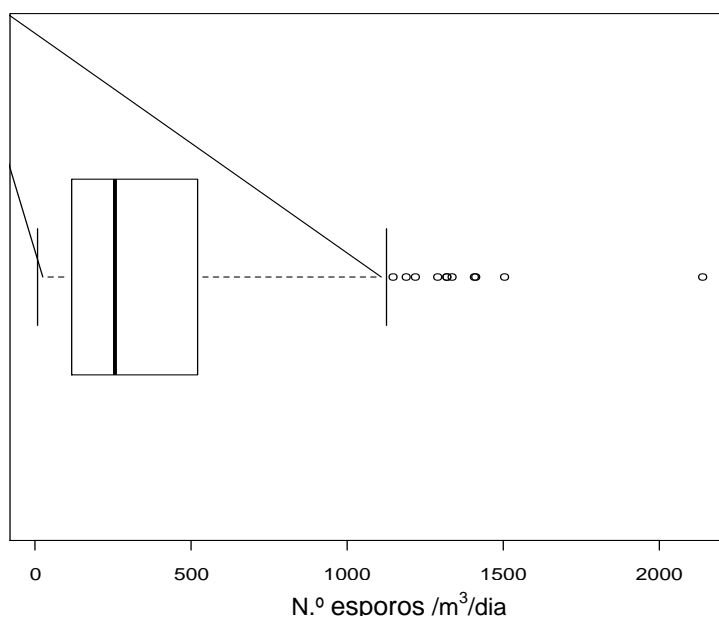


Figura 1 – Caixa de bigodes dos valores de concentração de esporos de *Cladosporium* registados entre Fevereiro de 2009 a Fevereiro de 2011

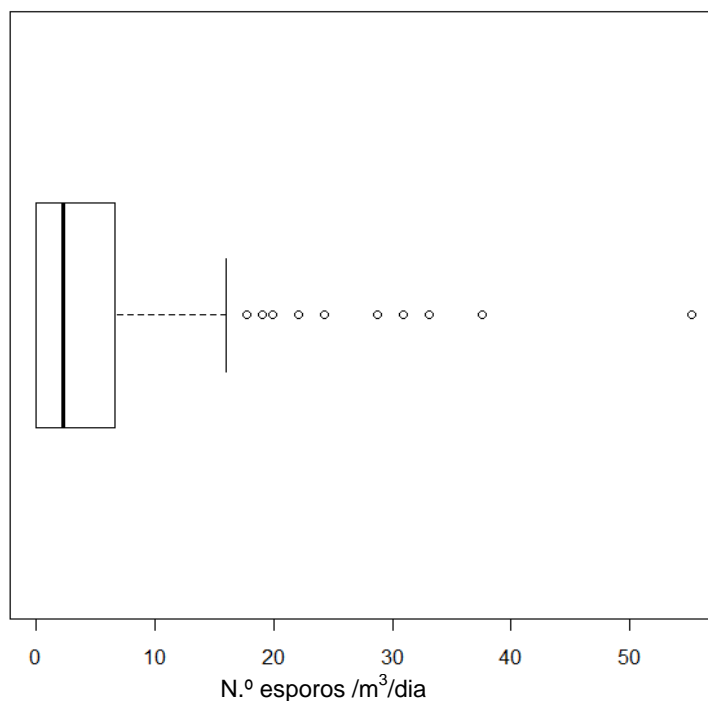


Figura 2 – Caixa de bigodes dos valores de concentração de esporos de *Alternaria* registados entre Fevereiro de 2009 a Fevereiro de 2011

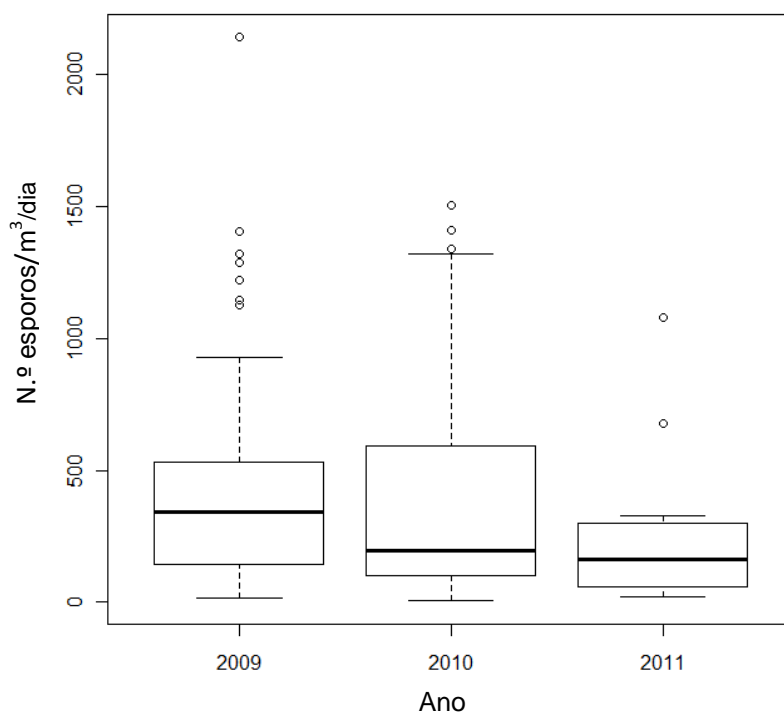


Figura 3 – Caixa de bigodes dos valores de concentração de esporos de *Cladosporium* nos anos de 2009, 2010 e 2011

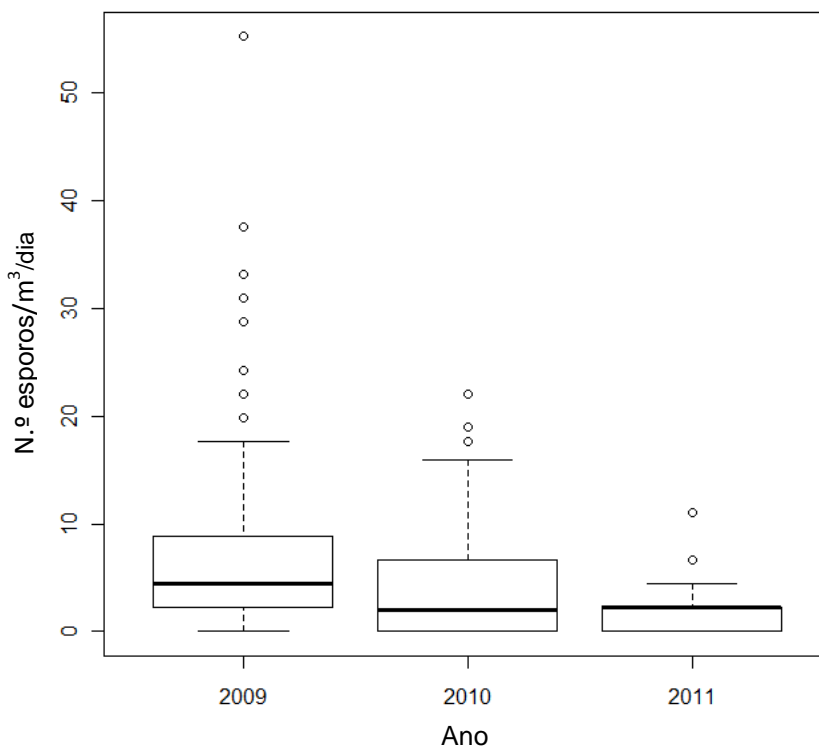


Figura 4 - Caixa de bigodes dos valores de concentração de esporos de *Alternaria* nos anos de 2009, 2010 e 2011

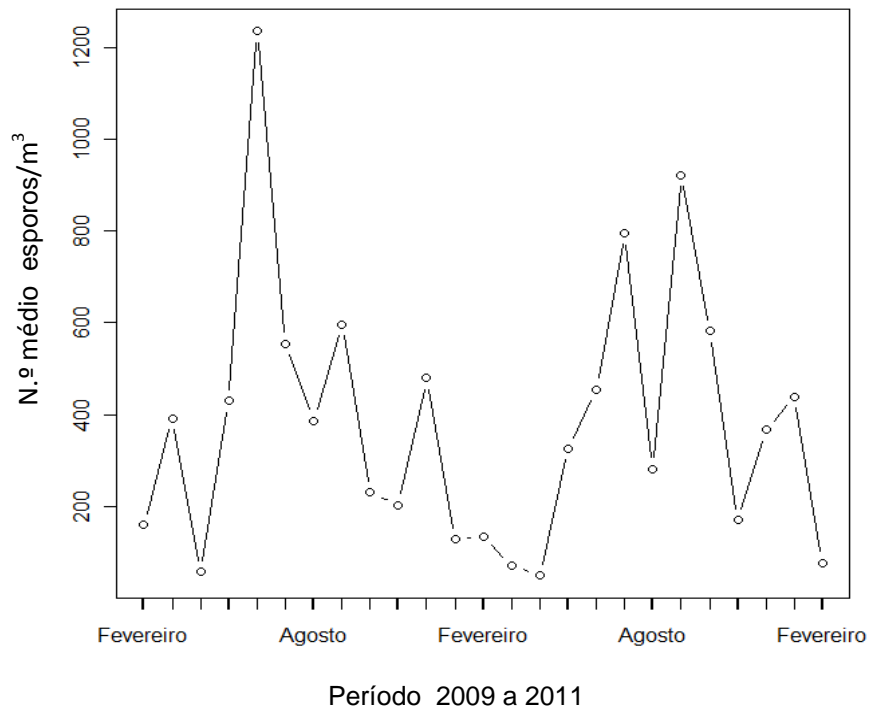


Figura 5 - Variação da concentração de esporos de *Cladosporium* ocorrida entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011

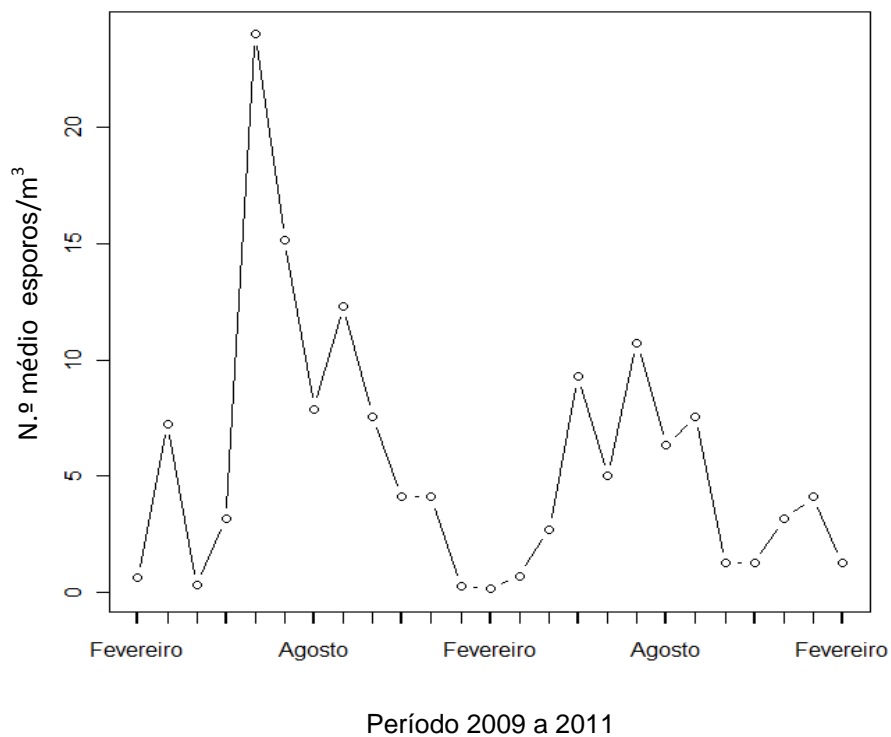


Figura 6 - Variação da concentração de esporos de *Alternaria* ocorrida entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2011

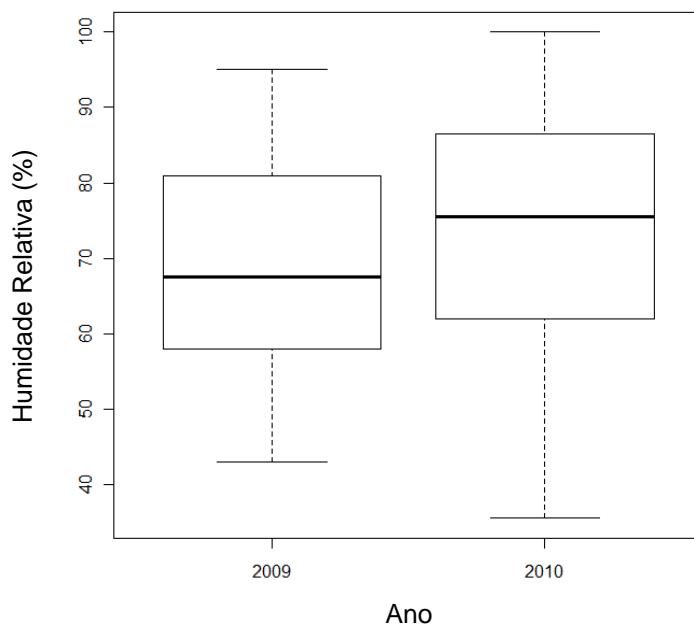


Figura 7 - Caixa de bigodes da distribuição dos valores diários de humidade relativa ocorridos nos anos de 2009 e 2010

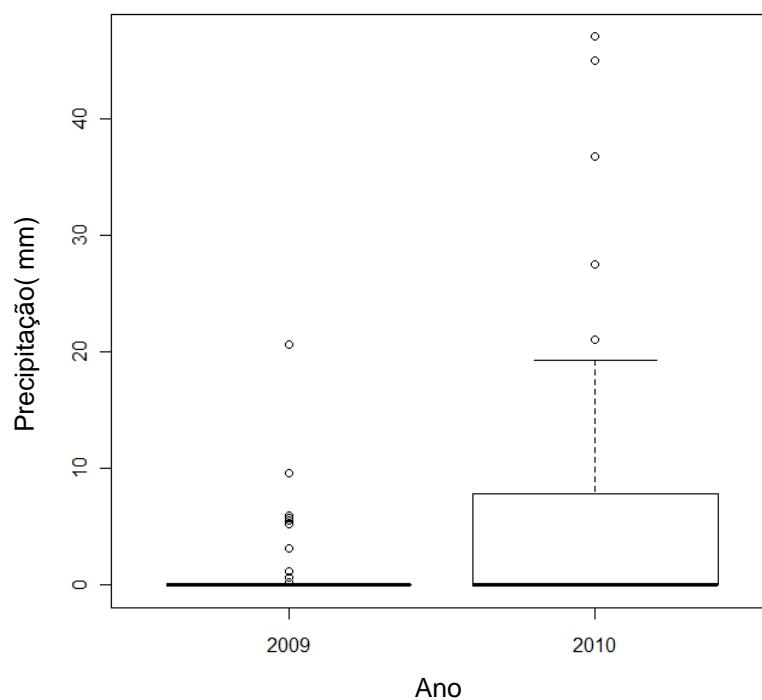


Figura 8 - Boxplots da distribuição dos valores diários de precipitação ocorridos nos anos de 2009 e 2010

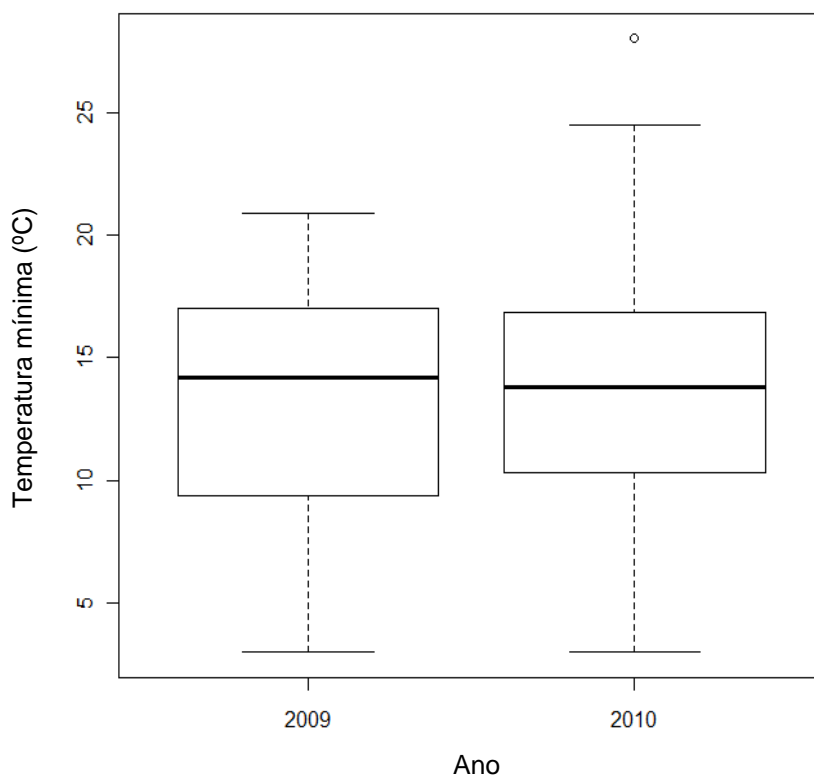


Figura 9 – Caixa de bigodes da distribuição dos valores diários de Temperatura mínima ocorridos nos anos de 2009 e 2010

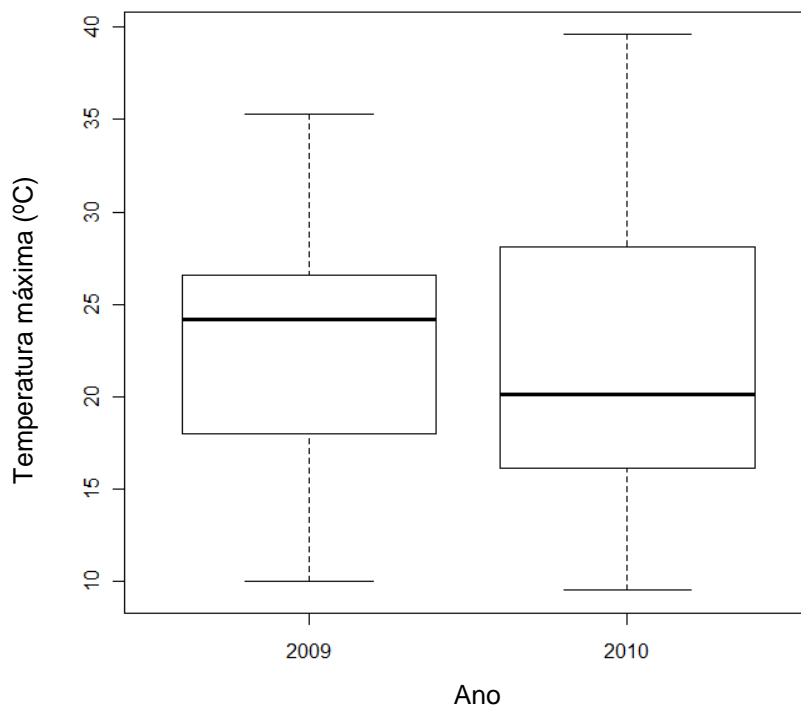


Figura 10 – Caixa de bigodes da distribuição dos valores diários de Temperatura máxima ocorridos nos anos de 2009 e 2010

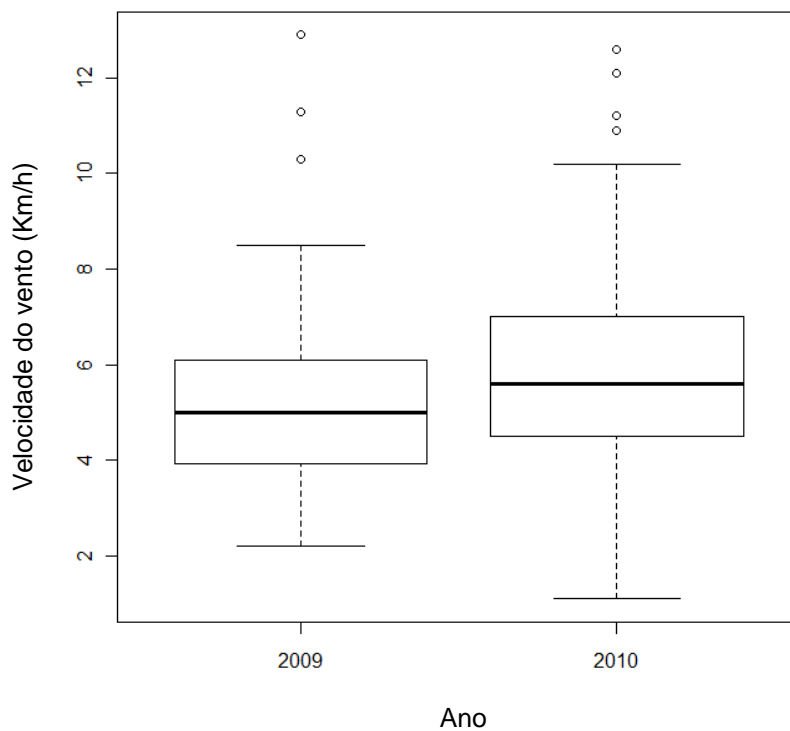


Figura 11 – Caixa de bigodes da distribuição dos valores diários de Velocidade do vento ocorridos nos anos de 2009 e 2010

## ESTATÍSTICA DESCRITIVA

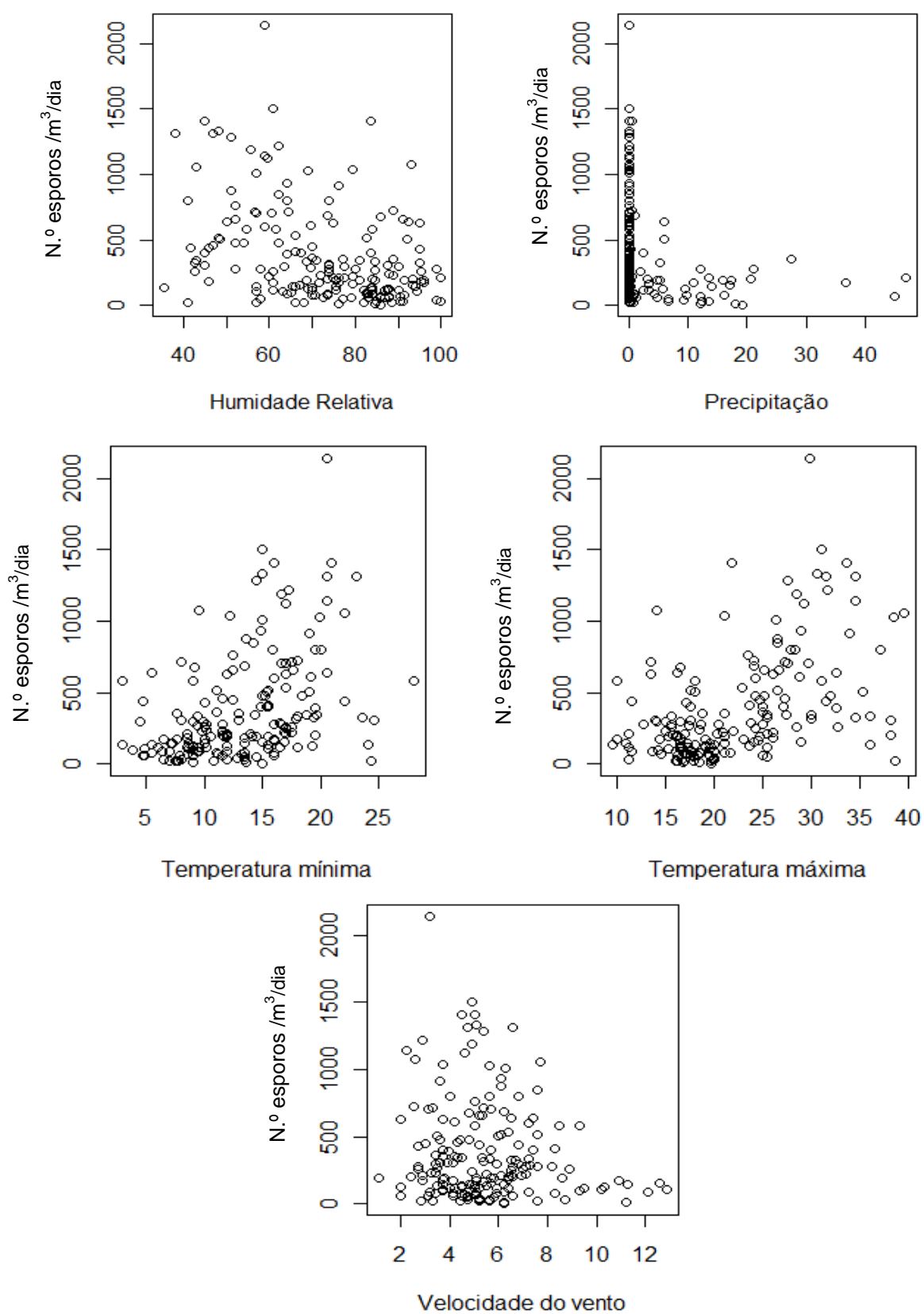


Figura 12 - Relação de cada um dos elementos do clima com a concentração de esporos de *Cladosporium* observada entre Fevereiro de 2009 a Fevereiro de 2011

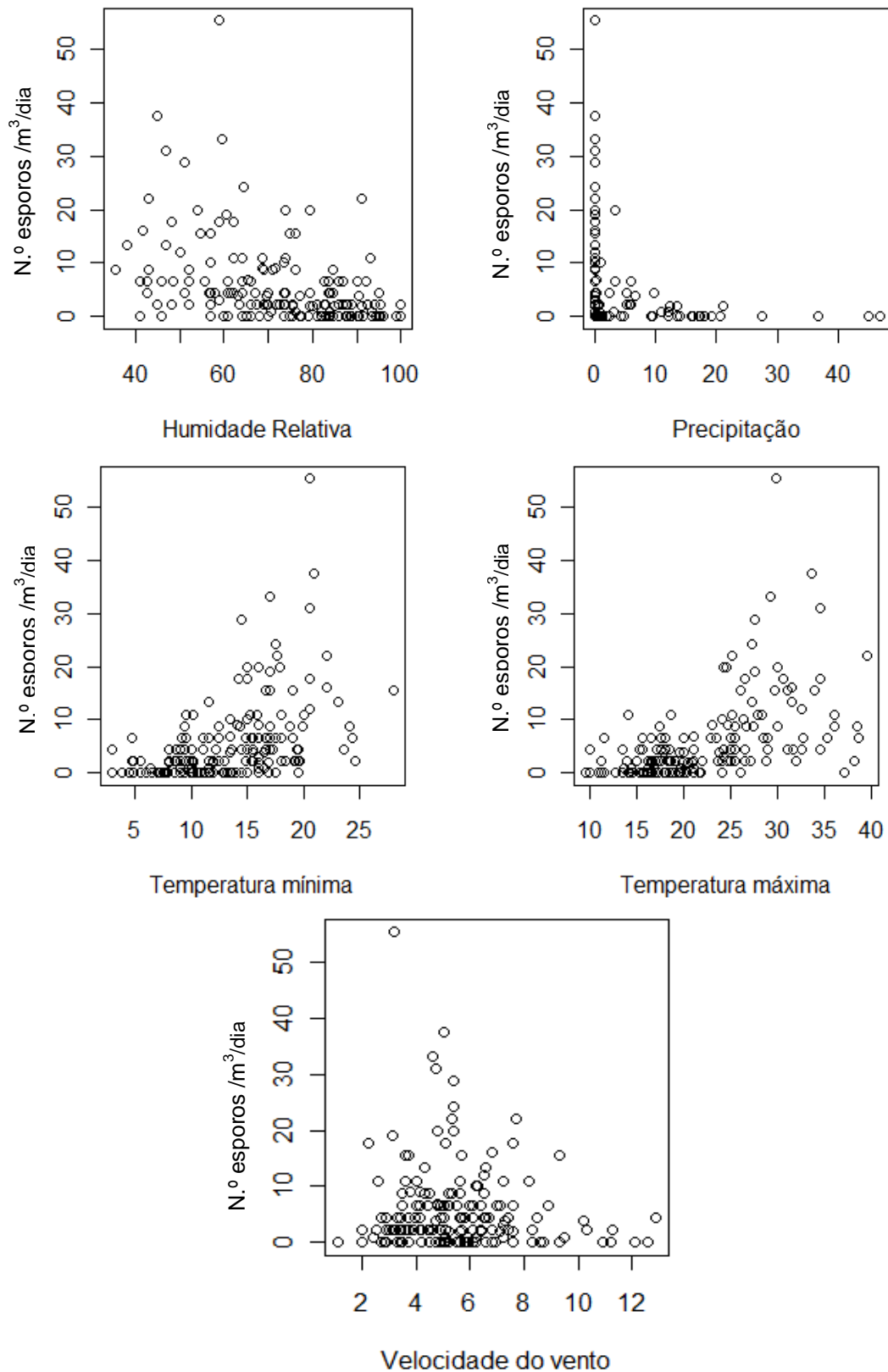


Figura 13 - Relação de cada um dos elementos do clima com a concentração de esporos de *Alternaria* observada entre Fevereiro de 2009 a Fevereiro de 2011