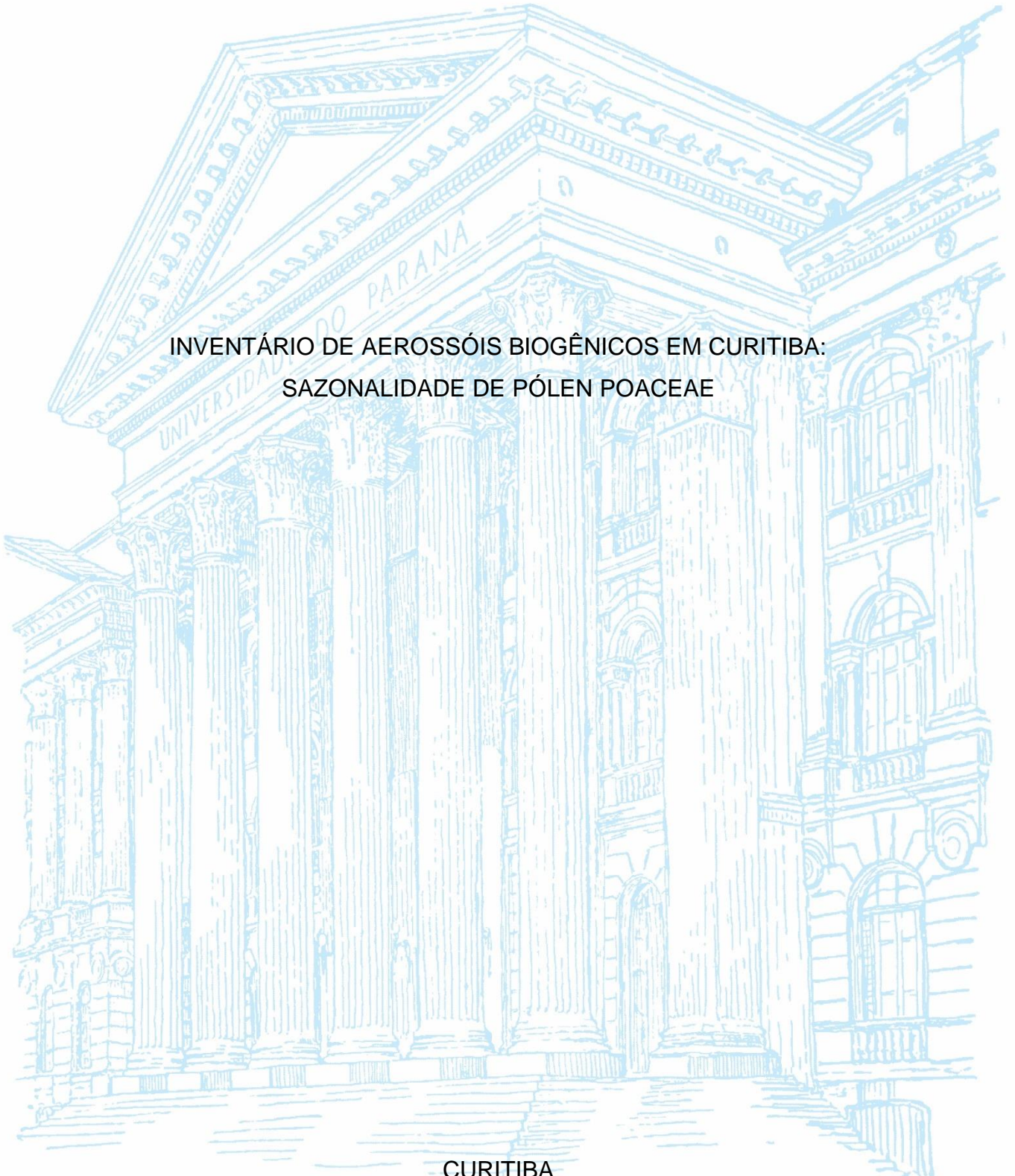


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIANA FRANCIS DE CAMARGO

INVENTÁRIO DE AEROSSÓIS BIOGÊNICOS EM CURITIBA:
SAZONALIDADE DE PÓLEN POACEAE



CURITIBA

2019

JULIANA FRANCIS DE CAMARGO

INVENTÁRIO DE AEROSSÓIS BIOGÊNICOS EM CURITIBA:
SAZONALIDADE DE PÓLEN POACEAE

Trabalho de Conclusão de Curso como requisito parcial à conclusão do curso de Engenharia Ambiental, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo H. M. Godoi

CURITIBA

2019



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE TECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL


TERMO DE APROVAÇÃO DE PROJETO FINAL

JULIANA FRANCIS DE CAMARGO

INVENTÁRIO DE AEROSSÓIS BIOGÊNICOS EM CURITIBA: SAZONALIDADE DE PÓLEN POACEAE

Projeto Final de Curso, aprovado como requisito parcial para a obtenção do Diploma de Bacharel em Engenharia Ambiental no Curso de Graduação em Engenharia Ambiental do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, com nota 10,0, pela seguinte banca examinadora:

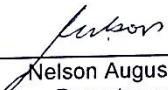
Orientador:


Ricardo Henrique M. Godoi
Departamento de Engenharia Ambiental / UFPR

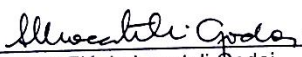
Membro 1:


Ricardo Henrique M. Godoi
Departamento de Engenharia Ambiental / UFPR

Membro 2:


Nelson Augusto Rosário Filho
Departamento de Pediatria / UFPR

Membra 3:


Ana Flávia Locateli Godoi
Departamento de Engenharia Ambiental / UFPR

Curitiba, 09 de dezembro de 2019

RESUMO

As doenças alérgicas vêm sendo consideradas um problema epidêmico no mundo, afetando cerca de 10 a 30% da população mundial, sendo os polens os desencadeadores mais frequentes de doenças alérgicas no ser humano. A polinose é a doença decorrente da sensibilização ao pólen e é considerada a forma sazonal aguda da rinite alérgica e/ou asma brônquica mediada pelo anticorpo imunoglobina E (IgE). Em termos de alergenicidade, a família Poaceae é aquela com o maior número de gêneros de plantas com indução para a polinose, uma vez que liberam alta quantidade de pólen na atmosfera e são largamente distribuídas em todos os continentes. O presente trabalho quantificou, de maneira exploratória, a concentração de polens da família Poaceae na cidade de Curitiba e comparou a curva de distribuição de polens com os dados da década de 80 e 90. Além disso, classificou a concentração diária de gramínea segundo a *National Allergy Bureau* (NAB) e estimou a relação entre os picos de pólen e os casos de alergia respiratória registrados pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O equipamento de amostragem é o captador volumétrico Burkard do tipo Hirst, sendo instalado no Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, a uma altura de aproximadamente 25 metros do solo. Os polens amostrados foram contabilizados e então classificados em pólen total (PT) e pólen Poaceae. O pico de concentração diária de pólen total ocorreu no começo do mês de agosto, correspondendo a 302 grãos/m³. O mês de agosto também concentrou 8 dos maiores picos diários de concentração de pólen total, sendo 7 deles superiores a 200 grãos/m³. Foi encontrado pólen Poaceae ao longo de todo o ano de 2018 e o maior pico de concentração foi de 27 grãos/m³ em agosto e setembro. Observa-se que na média anual, as gramíneas foram responsáveis por 10% dos polens amostrados. Os dados nas décadas de 80 e 90 em Curitiba observaram picos de pólen de gramíneas no mês de novembro e período de polinização entre os meses de outubro e abril. No entanto, o mesmo não foi obtido para o ano de 2018, uma vez que a época de polinização das gramíneas se adiantou em 2 meses, agora com início em agosto, e o pico de concentração também sendo transferido para os meses de agosto e setembro. Em relação ao pólen total, a umidade relativa teve correlação moderada e foi o parâmetro mais relevante segundo o coeficiente de Spearman. Em relação ao pólen Poaceae, as condições meteorológicas mais importantes foram a temperatura (média, mínima, alta) e a radiação solar, todas com correlação fraca. Foi possível observar que os casos de alergia na cidade de Curitiba seguiram as mesmas tendências de aumento e diminuição das concentrações médias de pólen Poaceae entre os meses de julho-dezembro. O mês com o maior número de casos de alergia foi o mês de agosto, o mesmo em que foram encontrados os picos de pólen total e pólen Poaceae. Após esse mês, os casos de alergia e as concentrações mensais de pólen decresceram.

Palavras-chave: Pólen. Poaceae. Polinose. Curitiba. Sazonalidade. Amostrador Burkard.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – VARIEDADES MORFOLÓGICAS DE DIFERENTES GRÃOS DE PÓLEN	13
FIGURA 2 - ESTRUTURAS DE UMA FLOR MADURA.....	14
FIGURA 3 - PADRÕES DA ESTRUTURA DA PAREDE EXINA DE POLENS	15
FIGURA 4 - ESTRUTURAS NA FLOR DAS GRAMÍNEAS.....	18
FIGURA 5 - TAXONOMIA DA FAMÍLIA POACEAE	19
FIGURA 6 – PÓLEN POACEAE EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	20
FIGURA 7 – PÓLEN POACEAE ATRAVÉS DA MICROSCOPIA ÓTICA	21
FIGURA 8 - ROMPIMENTO DO PÓLEN DA ESPÉCIE <i>LOLIUM PERENNE</i> , FAMÍLIA POACEAE	24
FIGURA 9 - LOCALIZAÇÃO DO AMOSTRADOR E DA CIDADE DE CURITIBA.....	27
FIGURA 10 - AMOSTRADOR BURKARD TIPO HIRST, <i>SPOREWATCH SPORE SAMPLER</i>	28
FIGURA 11 - ESQUEMA DO AMOSTRADOR.....	29
FIGURA 12 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA AMOSTRAGEM.....	29
FIGURA 13 - PÓLEN POACEAE VISTO POR MEIO DO MICROSCÓPIO ÓTICO ..	35
FIGURA 14 - POACEAE NO MÊS DE AGOSTO DE 2018	36
FIGURA 15 - CONCENTRAÇÕES DIÁRIAS DE PÓLEN TOTAL E PÓLEN POACEAE AO LONGO DO ANO DE 2018	37
FIGURA 16 – MÉDIAS MENSAIS DAS CONCENTRAÇÕES DE PÓLEN TOTAL E PÓLEN POACEAE.....	37
FIGURA 17 - PORCENTAGEM DE PÓLEN ACUMULADO MENSAL.....	38
FIGURA 18 - COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DE PÓLEN DE GRAMÍNEA AO LONGO DOS ANOS DE 2018 E 1981/1982	40
FIGURA 19 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DIÁRIAS DE PÓLEN E DADOS METEOROLÓGICOS	41
FIGURA 20 – LIMIARES BIOLÓGICOS E ALÉRGICOS PARA A CONCENTRAÇÃO DIÁRIA DE POACEAE	43
FIGURA 21 – CONCENTRAÇÕES MENSAIS DE PÓLEN POACEAE E CASOS AMBULATORIAIS DE ALERGIA NA CIDADE DE CURITIBA	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PARÂMETROS PARA CLASSIFICAR A CONCENTRAÇÃO DIÁRIA DE GRAMÍNEAS SEGUNDO A <i>NATIONAL ALLERGY BUREAU</i> (NAB)	33
TABELA 2 - CLASSIFICAÇÃO DA CORRELAÇÃO EM FUNÇÃO DO VALOR DO R DE SPEARMAN	34
TABELA 3 - CONCENTRAÇÃO DE PÓLEN POACEAE E CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A NAB.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AAAAI's - *American Academy of Allergy Asthma & Immunology* (Academia Americana de Alergia, Asma e Imunologia)
- CID-10 - Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde
- DATASUS - Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do Brasil
- Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- IBGE - Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística
- IgE - Anticorpo Imunoglobina E
- IPCC - *Intergovernmental Panel on Climate Change* (Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas)
- ISAAC - *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* (Estudo Internacional de Asma e Alergias na Infância)
- IUIS - *International Union of Immunological Societies* (União Internacional das Sociedades Imunológicas)
- FC - Fator de Correção
- NAB - *National Allergy Bureau* (Agência Nacional de Alergia)
- UFPR - Universidade Federal do Paraná
- PT - Pólen Total
- SIMEPAR - Sistema Meteorológico do Paraná
- SUS - Sistema Único de Saúde
- TAR - *Third Assessment Report* (Terceiro Relatório de Avaliação)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
1.1	OBJETIVOS.....	10
1.1.1	Objetivo Geral.....	10
1.1.2	Objetivos Específicos.....	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1	SAÚDE POPULACIONAL.....	11
2.2	AEROSSÓIS.....	11
2.2.1	Bioaerossóis.....	12
2.3	PÓLEN.....	12
2.3.1	Morfologia Polínica.....	14
2.3.2	Polinização.....	16
2.3.3	Polens alergênicos.....	17
2.4	FAMÍLIA POACEAE.....	18
2.4.1	Fenologia das gramíneas.....	19
2.4.2	Polens da Família Poaceae.....	20
2.5	ALERGENICIDADE DO PÓLEN.....	21
2.5.1	Resposta Imunológica e Alergia.....	21
2.5.2	A Doença Polinose.....	22
2.5.3	Alérgenos Polínicos.....	23
2.5.4	Polinose no Brasil.....	24
2.5.5	Polinose em Curitiba.....	25
3	METODOLOGIA.....	27
3.1	LOCAL DE AMOSTRAGEM.....	27
3.2	EQUIPAMENTO DE AMOSTRAGEM.....	28
3.3	PERÍODO DE AMOSTRAGEM.....	29
3.4	MONTAGEM DAS AMOSTRAS.....	30
3.5	ANÁLISE MICROSCÓPICA.....	30
3.6	CONTAGEM DAS PARTÍCULAS.....	31
3.7	RINITE ALÉRGICA.....	32
3.8	CLASSIFICAÇÃO DE INTENSIDADE POLÍNICA.....	33
3.9	DADOS METEOROLÓGICOS.....	33
3.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1	IMAGENS NO MICROSCÓPIO	35
4.2	CONCENTRAÇÕES.....	36
4.3	DADOS METEREOLÓGICOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
4.4	DADOS DE RINITE ALÉRGICA REGISTRADOS NO SUS	42
4.5	FATORES EXTERNOS QUE PODEM IMPLICAR EM ALTERAÇÕES NOS MECANISMOS DE POLINIZAÇÃO	44
4.5.1	Mudanças climáticas	44
4.5.2	Uso de gramíneas na pecuária	45
5	CONCLUSÕES	47
	REFERÊNCIAS	49
	APÊNDICE A - RECEITAS E PROCEDIMENTOS DE PREPARAÇÃO	57

1 INTRODUÇÃO

As doenças alérgicas vêm sendo consideradas um problema epidêmico no mundo. Nos países desenvolvidos, as alergias já são descritas como doenças crônicas comuns. Já nos países em desenvolvimento, os casos de alergia também vêm crescendo ao longo dos últimos anos, apesar de ainda não liderarem no ranking de doenças crônicas (WARNER et al., 2006).

Os polens são as origens mais comuns de alérgenos no ar e são os desencadeadores mais frequentes de doenças alérgicas no ser humano. A polinose é a doença decorrente da sensibilização ao pólen e é considerada a forma sazonal aguda da rinite alérgica e/ou asma brônquica mediada pelo anticorpo imunoglobina E (IgE). Estima-se que 10% da população mundial sofra de rinoconjuntivite alérgica, polinose ou asma alérgica, porém, esse número alcança 25% quando se avalia cidades densamente industrializadas (CALDERON-EZQUERRO et al., 2018; ROSARIO FILHO, 1997).

Polens provenientes de várias espécies podem potencialmente provocar reações alérgicas ao longo do ano de acordo com as estações e as épocas de polinização das plantas. Os polens alergênicos representam em geral de 30 a 40% do total de polens identificados, porém, quando essas espécies de plantas estão em sua época de florescência e polinização, os seus polens alergênicos são dominantes na atmosfera (KNOX; SUPHIOGLU, 1996).

Dentre essas plantas com pólen de alta alergenicidade, aquelas da família Poaceae são as que provocam o maior número de casos de polinose no mundo (VERGAMINI et al., 2006). Em estudos de testes cutâneos com diferentes espécies de gramíneas para avaliar a reatividade alérgica, concluiu-se que a espécie *Lolium multiflorum* é que suscita o maior número de casos de alergia e desencadeia as reações alérgicas mais intensas (ROSARIO FILHO, 1997).

Os primeiros casos de polinose foram registrados no Brasil aproximadamente nos anos de 1970 através da observação clínica de casos de alergia sazonal (ROSARIO FILHO, 1997). Também se constatou que as ocorrências eram concentradas na região Sul do Brasil e de que a sensibilização ao pólen de gramínea em crianças só era observada naquelas que residiam nesses estados (ROSARIO FILHO, 2002).

Essa conjuntura motivou a realização de amostragens de biogênicos para estimar a concentração de polens na atmosfera no Sul do país. Na cidade de Curitiba, foram feitas cinco investigações entre os anos de 1940-1990 (LIMA, A. O. et al., 1945; FERREIRA, L. H.; 1963; SEABRA, O.; FRANÇA, AT. T.; ROSARIO FILHO, 1983).

Porém, como as atividades humanas impactam o uso de solo e a distribuição da flora da cidade, essas medições podem estar ultrapassadas e não corresponderem com a atual concentração dos biogênicos na atmosfera de Curitiba e, por consequência, o seu impacto na saúde da população (ROSARIO-FILHO, 2012). Por esse motivo, estabeleceu-se no ano de 2018 o monitoramento na cidade de Curitiba para estimar as atuais concentrações polínicas na capital.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Quantificar de maneira exploratória, a concentração de biogênicos na cidade de Curitiba e comparar a curva de distribuição de polens com os dados da década de 80 e 90. Na sequência, classificar a concentração diária de gramínea segundo a *National Allergy Bureau* (NAB) e estimar a relação entre os picos de pólen e os casos de alergia respiratória registrados pelo Sistema Único de Saúde na cidade de Curitiba (SUS).

1.1.2 Objetivos Específicos

1. Amostrar os aerossóis biogênicos utilizando um amostrador volumétrico Burkard do tipo Hirst, durante o ano de 2018 na cidade de Curitiba.
2. Contabilização diária de pólen total utilizando um corante com base de fucsina.
3. Identificar os polens da família Poaceae através das imagens obtidas por microscopia ótica e comparação com as informações contidas nos atlas palinológicos.
4. Avaliar a sazonalidade dos polens da família Poaceae ao longo do ano de 2018 e comparar com outras bases de dados disponíveis.
5. Analisar a relação entre concentração de pólen de gramínea e alergia respiratória no SUS.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SAÚDE POPULACIONAL

O número de casos de doenças alérgicas vem crescendo, o que resulta em um problema mundial que afeta cerca de 10 a 30% da população ao todo, todavia as razões para esse aumento nas últimas décadas não são ainda compreendidas (RING, 2012). As doenças alérgicas estão na lista das 6 doenças crônicas mundialmente mais comuns e são também as doenças mais frequentes na infância (CALDERON-EZQUERRO et al., 2018).

As origens das doenças respiratórias são complexas e incluem a interação entre predisposição genética e fatores ambientais (internos ou externos), sendo assim, a gravidade das doenças alérgicas é determinada pela suscetibilidade do paciente e por fatores ambientais capazes de induzir resposta imunológica por anticorpos da classe E (IgE) (BONO et al., 2016; PEDEN; REED, 2010).

Constatou-se na Suécia que cerca de 30% das doenças alérgicas ocorridas no país eram causadas por pólen, sendo a segunda maior causa de problemas alérgicos, perdendo apenas para alergias causadas por fatores internos, como o contato com pelos de animais (45%) (KNOX, 1979; MOORE; WEBB; COLLINSON, 1991). Portanto, os fatores ambientais externos mais relevantes no desencadeamento de respostas imunológicas são os bioaerossóis e, mais especificamente, os polens.

2.2 AEROSSÓIS

Aerossóis são sistemas coloidais de partículas líquidas ou sólidas envoltas em gás com diâmetro que variam de 1 ηm até 100 μm . A distribuição de tamanho é uma característica importante na diferenciação dos aerossóis e é determinada pelos processos de formação da partícula e pelas reações físicas e químicas que acontecem após a dispersão do aerossol na atmosfera (GEORGAKOPOULOS et al., 2009; WALTER, 2011).

Caracterizam-se aerossóis quanto a sua formação, sendo os primários aqueles emitidos diretamente na atmosfera, e os secundários aqueles formados a partir da condensação de gases em torno do coloide, sendo possível a ocorrência de reações químicas no contato do aerossol com o gás e a consequente mudança de

características da partícula (DESPRÉS et al., 2012). Dentro do grupo dos aerossóis, há também o subgrupo das partículas coloidais biogênicas constituídas por componentes vegetais, cuja denominação específica é bioaerossol.

2.2.1 Bioaerossóis

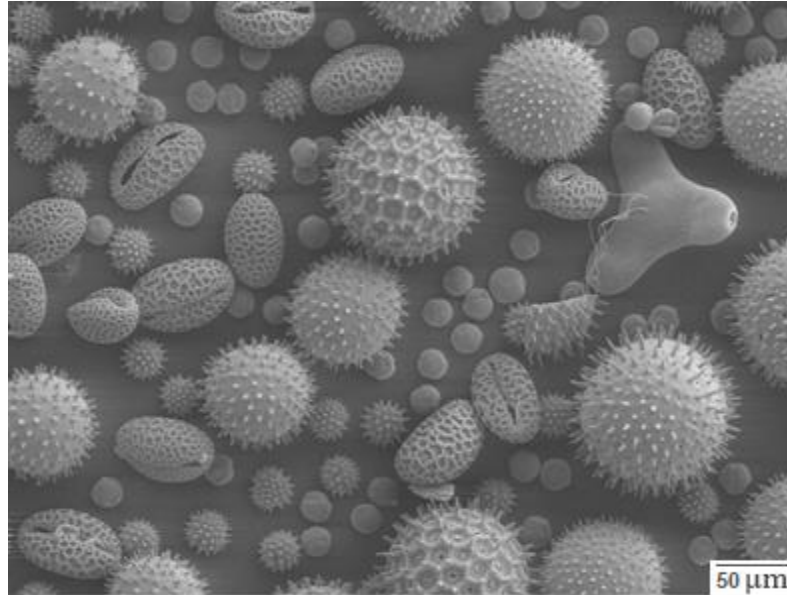
Os bioaerossóis são partículas de origem biogênica suspensas no ar e incluem as bactérias, os esporos de fungos e seus fragmentos, polens, vírus, algas, cianobactérias, fragmentos e dejetos de insetos e invertebrados (LACEY; WEST, 2006). A influência das partículas biogênicas nos processos atmosféricos da Terra era subestimada pela comunidade científica da área. Em parte, porque acreditava-se que a proporção de bioaerossóis era insignificante frente a porção de aerossóis não-biogênicos na atmosfera, como o sal oceânico, sulfatos e minerais (JAENICKE, 2005).

Segundo o Terceiro Relatório de Avaliação (TAR) do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC) de 2001, a média de partículas primárias biogênicas estimada foi de 56 Tg/ano, um número muito inferior se comparado com a estimativa de 3340 Tg/ano de sal marinho e 2150 Tg/ano de poeira. Porém, pesquisas mais recentes apontaram que a concentração de bioaerossóis pode chegar à 1000 Tg/ano (JAENICKE, 2005). Todavia, a influência dos biogênicos na atmosférica é de difícil compreensão pela alta complexidade dos processos químicos e físicos relacionados a sua formação e dispersão.

2.3 PÓLEN

Os polens são os maiores bioaerossóis de formação primária. As primeiras observações do pólen foram feitas por Nehemiah Grew (1641-1712) e Marcelo Malpighi (1628-1698), nas quais constataram como os polens variavam de cor e formato entre si (FIGURA 1). Porém, foi somente com o desenvolvimento dos microscópios óticos nos séculos XIX e XX, que o estudo dessas estruturas se desenvolveu principalmente através da identificação de famílias e gêneros de plantas a partir de seus polens. Assim, criou-se a ciência chamada palinologia, responsável pelo estudo das estruturas externas e internas dos polens e os seus mecanismos de produção e dispersão (DESPRÉS et al., 2012; GASPARINO; CRUZ-BARROS, 2006; O'HERIR; HOLGATE; SHEIKH, 2017).

FIGURA 1 – VARIEDADES MORFOLÓGICAS DE DIFERENTES GRÃOS DE PÓLEN

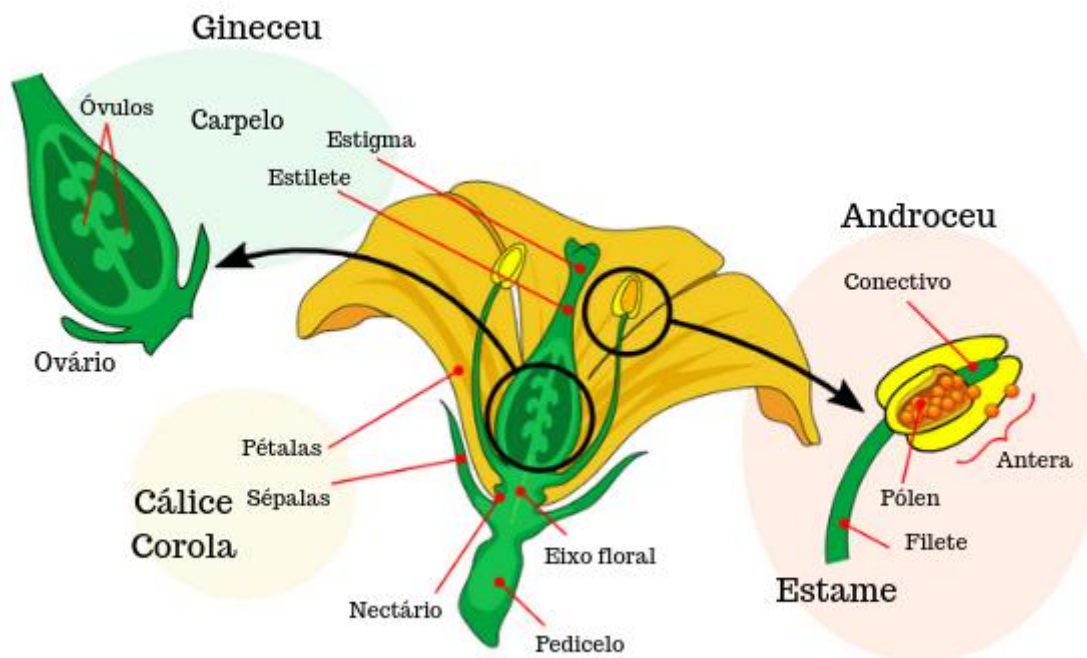


FONTE: Adaptada de Howard L. E Daghlian C. (2018).

Os polens fazem parte das plantas com sementes, classificadas como angiospermas e gimnospermas, sendo que o seu local de produção varia segundo esses dois grupos de plantas. No caso das gimnospermas, as sementes são nuas e o pólen é produzido nos estróbilos masculinos. Ao passo que, as sementes das angiospermas são protegidas pelos frutos e o pólen é produzido nas flores, mais precisamente nas anteras.

As flores são estruturas responsáveis pela reprodução sexuada das plantas angiospermas. Uma flor completa é aquela composta por todos os quatro verticilos florais, são eles o cálice (composta pelas sépalas, parte externa geralmente verde e com função de proteção), a corola (parte interna do cálice, são as pétalas geralmente coloridas), o androceu (conjunto de estames, sendo estes os gametas masculinos da flor) e o gineceu (conjunto de carpelos, nome dado aos gametas femininos da flor, composto de estigma, estilete e do ovário). O estame é composto pelo filete e antera, onde são produzidos os grãos de pólen e assim liberados uma vez que a flor esteja madura (FIGURA 2) (GASPARINO; CRUZ-BARROS, 2006; SÓ BIOLOGIA, 2019).

FIGURA 2 - ESTRUTURAS DE UMA FLOR MADURA



FONTE: Adaptada de Ruiz (2007).

Os carpelos possuem duas regiões, uma região basal alongada denominada de ovário, e uma região superior delgada que termina em uma área chamada estigma. Dessa forma, a polinização é o nome dado ao transporte dos gametas masculinos (o pólen) até o estigma da flor, sendo então sucedido pela formação do fruto e das sementes da planta, cumprindo assim o ciclo de reprodução sexuada das angiospermas (PERUQUETTI; TEIXEIRA; COELHO, 2017).

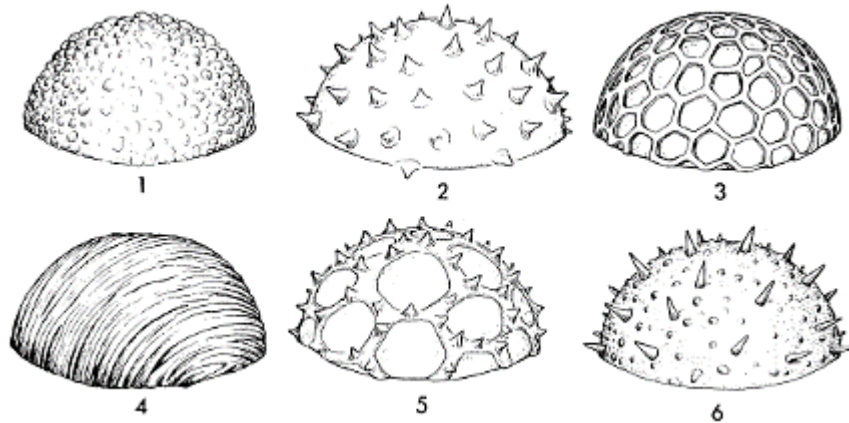
2.3.1 Morfologia Polínica

Segundo Gasparino e Cruz-Barros (2006), é através da morfologia e da comparação entre outros tipos de pólen que se faz o estudo e a identificação dessas partículas biogênicas. Os fatores relevantes são o tamanho, as características das aberturas, a parede de proteção, unidade polínica e o formato dos grãos.

Em geral, os polens variam de tamanho de 10 a 100 μm de diâmetro. A parede de proteção possui duas camadas principais, a intina, interna e menos rígida composta por celulose e pectina, e a externa chamada exina, mais rígida e composta

por esporopolenina¹. A escultura do pólen depende das características da parede, que podem ser lisas, espinhosas, estriadas, reticuladas etc. (FIGURA 3).

FIGURA 3 - PADRÕES DA ESTRUTURA DA PAREDE EXINA DE POLENS



FONTE: IWANAMI, Y.; SASAKUMA, T.; YAMADA, Y., (1988).

NOTA: 1. Estrutura com protuberâncias 2. Estrutura espinhosa 3. Estrutura entrelaçada 4. Estrutura tipo digital 5. Combinação das estruturas de rede e espinhosa 6. Combinação das estruturas com protuberâncias e espinhosa.

Além das estruturas físicas, a parede exina pode ter ou não aberturas. Essas aberturas podem ser circulares, chamadas de poro, alongadas ou ainda ser uma combinação dessas duas, pois alguns tipos de pólen podem apresentar várias aberturas no mesmo grão. Paralelamente, o formato do pólen pode variar entre circulares, retangulares, triangulares, dentre outros. Por fim, os polens podem estar isolados ou agrupados, construindo a chamada unidade polínica (RUDAL, 1992; GASPARINO; CRUZ-BARROS, 2006; DESPRÉS et al., 2012).

O pólen internamente possui núcleo vegetativo (responsável pela formação do tubo polínico após o contato com o estigma), germinativo (responsável por fecundar o óvulo), organelas intracelulares, grânulos de amido e partículas de polissacarídeos reduzidas. Além do mais, estão presentes no citoplasma proteínas e glicoproteínas com características alergênicas e com função biológica ainda desconhecida (ANDERSSON; LIDHOLM, 2003; KNOX; SUPHIOGLU, 1996; TAKETOMI et al., 2006). Logo, a morfologia polínica está diretamente relacionada com a estratégia de polinização desenvolvida pela planta.

¹ Polímero de alta resistência para a proteção do grão de pólen, evitando a desidratação e decomposição biológica (CRIPTOGAMAS, 2019).

2.3.2 Polinização

Existem três tipos de polinização, a direta, indireta e cruzada. A polinização direta é a autopolinização que acontece na mesma flor. Por outro lado, a polinização indireta ocorre entre flores da mesma planta, quando esta possui mais de uma flor, e a polinização cruzada é aquela entre flores de diferentes plantas da mesma espécie. As polinizações indireta e cruzada dependem de estratégias para que o pólen alcance o estigma, obtidas por meio de adaptações morfológicas ocorridas nas flores, como a possibilidade de atrair insetos ou de se dispersar pelo vento. Aquelas que dependem dos insetos normalmente são vibrantes, possuem cheiros ou néctar para atraí-los. No entanto, as flores que se polinizam pelo vento normalmente possuem estigmas mais alongados e não são tão chamativas (PERUQUETTI; TEIXEIRA; COELHO, 2017; MORIZ, 2019).

A polinização pelo vento é denominada anemófila. Para aumentar as chances de polinização, essas plantas produzem grandes quantidades de pólen para serem dispersos. O milho da família Poaceae é um exemplo dessa estratégia, uma vez que chega a produzir até 50 milhões de grãos de pólen por planta (BARROS; CALADO, 2014). A concentração de polens no ar é sazonal e segue os ciclos de floração das plantas que os produzem. Normalmente, a concentração aumenta 1-2 horas após o amanhecer, atingem um pico após algumas horas e diminuem de concentração durante a tarde, apresentando assim um ciclo diurno (DESPRÉS et al., 2012; JONES; HARRISON, 2004; RIBEIRO; ABREU, 2014).

O tempo de residência do pólen na atmosfera é determinado pela sua velocidade terminal de decantação. Fatores como o formato, densidade e diâmetro são responsáveis pela grande variação de tempo de residência entre os diferentes tipos de pólen. Além disso, o aumento da temperatura pode induzir o aumento da instabilidade da atmosfera, facilitando a dispersão dos bioaerossóis. O tempo de residência tem impacto na dispersão horizontal das partículas, conseqüentemente, na distância entre a pólen e a sua planta de origem (KUPARINEN et al., 2009; DIGIOVANNI et al., 1995; DIEHL et al., 2001; DESPRÉS; HUFFMAN, 2012)

Fatores meteorológicos afetam positiva ou negativamente o desenvolvimento da planta, floração e concentração polínica na atmosfera. A umidade relativa e a temperatura influenciam na produção e liberação dos polens, pois afetam a formação e abertura das anteras para liberação do pólen (FIGURA 2). A velocidade do vento

favorece na liberação de polens de plantas anemófilas, mas dilui a concentração de pólen na atmosfera. Por fim, a precipitação influencia positivamente na concentração de pólen na atmosfera se ocorrer durante o crescimento da planta, uma vez que no geral, aumenta a produção polínica na planta. Porém, caso a precipitação ocorra quando o pólen já foi liberado no ar, a influência é negativa pela lavagem das partículas biogênicas (TEJERA; BERI; BLANCO, 2018).

2.3.3 Polens alergênicos

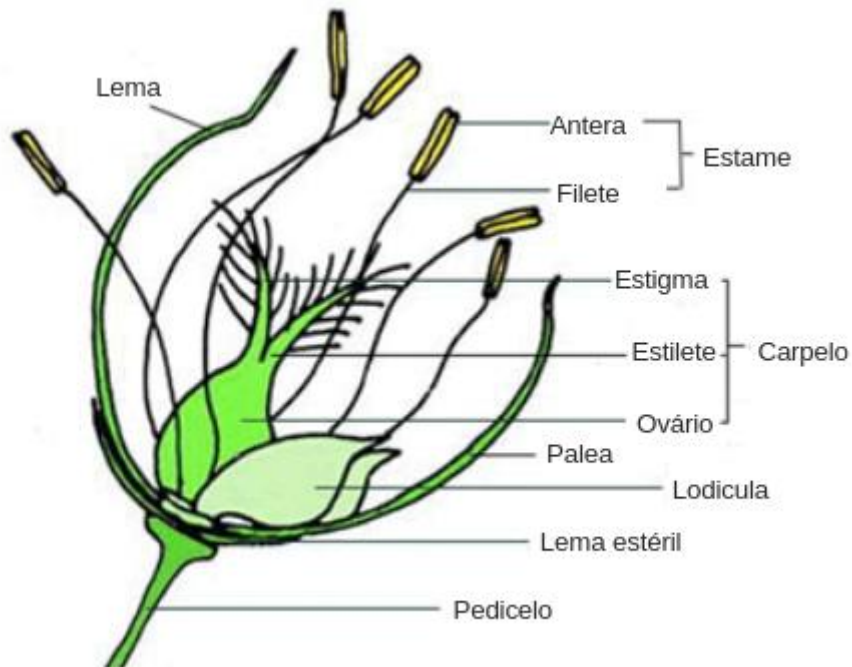
Segundo os postulados de Thommen (1931), as plantas consideradas como provável causa de polinose (ou febre do feno) epidêmica ou disseminada são altamente distribuídas geograficamente, possuem polens alergênicos, com alta taxa de permanência na atmosfera e em altas concentrações. Por todos esses fatores, destina-se o termo “biopoluente” ao pólen, uma vez que ele é capaz de induzir respostas alérgicas em indivíduos suscetíveis a doenças respiratórias. De fato, o pólen é considerado um dos principais aero alérgenos encontrados em áreas urbanas, pois contém substâncias alérgicas capazes de induzir resposta imunológica com a produção de anticorpos da classe E (IgE) (RIBEIRO; ABREU, 2014).

Foi observado repetidas vezes que pessoas que permaneceram em áreas com grandes concentrações de pólen com o tempo desenvolveram sensibilidade a esse pólen em particular, além disso manifestaram sintomas alérgicos quando se mudaram para áreas onde a concentração desse pólen é baixa o suficiente para não provocar sensibilização na população nativa. Por conta desses fatores, é claro o argumento de que a sensibilização da população ao pólen varia de acordo com o local, fato observado na comparação da sensibilização entre duas localidades. Por exemplo, constatou-se que 3% das pessoas que vivem na Inglaterra são sensíveis ao pólen, porém esse número chegou à 15% nos Estados Unidos (HYDE, 1972; COCA; WALZER; THOMMEN, 1931; MOORE; WEBB; COLLINSON, 1991).

Ainda, segundo Hyde (1972) e Coca, Walzer e Thommen, (1931), a família Poaceae é aquela com o maior número de gêneros de plantas com indução para a polinose. As flores da família Poaceae são estruturalmente diferentes de outras angiospermas (FIGURA 2), pois desenvolveram a redução floral durante a perda evolutiva de estruturas. A lodícula é o que restou no lugar das sépalas e pétalas, auxiliando na abertura da flor e exposição dos órgãos reprodutores ao afastar as

folhas modificadas chamadas de lema e de palea. Além do mais, os estames e estigmas protuberantes maximizam a dispersão pelo vento (FIGURA 4) (PORTO, 2009).

FIGURA 4 - ESTRUTURAS NA FLOR DAS GRAMÍNEAS



FONTE: Adaptada de Condrey (2014).

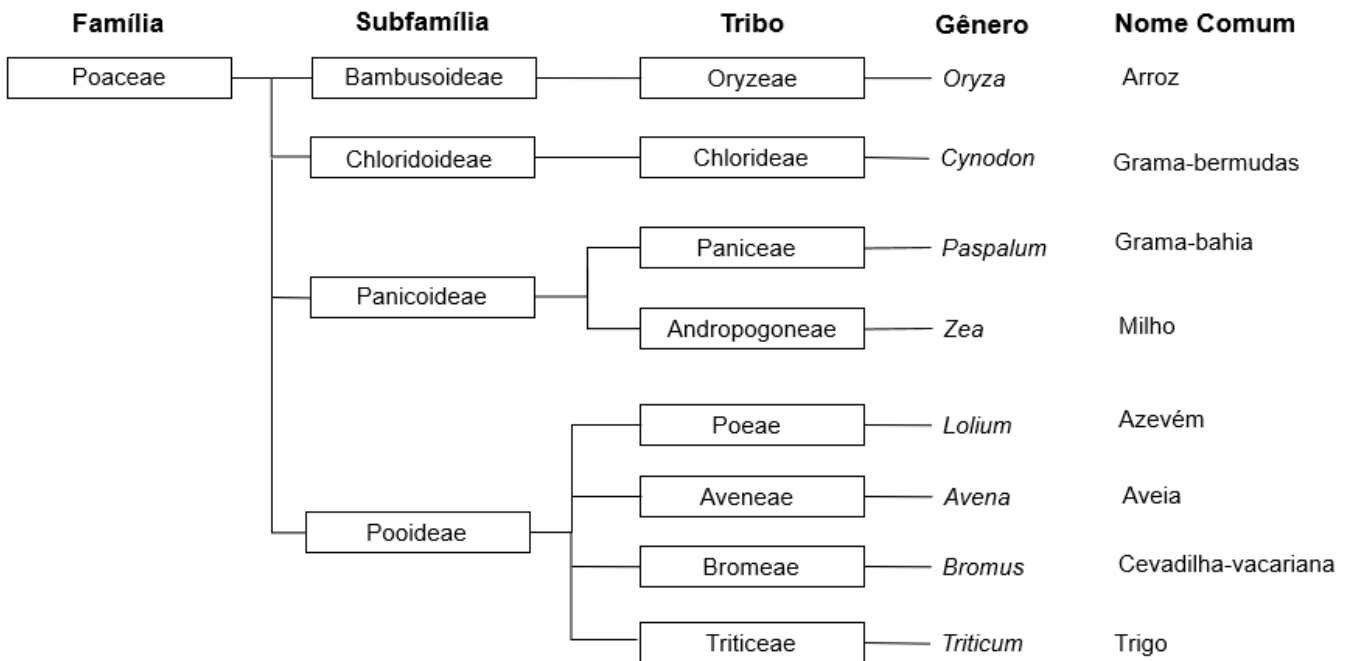
Deste modo, as plantas dessa família liberam alta quantidade de pólen na atmosfera e são largamente distribuídas em todos os continentes, tanto em ambientes urbanizados, como em ambientes aquáticos, desérticos e em outros ecossistemas, com exceção daqueles de altas altitudes. Os ecossistemas que as plantas Poaceae predominam, como os pampas, pradarias e estepes, correspondem a 24% da vegetação no planeta. Ainda, as gramíneas da família Poaceae correspondem a 70% das terras cultivadas (JUDD et al., 2009). Diante do exposto, a família Poaceae é altamente relevante em estudos ao redor do mundo sobre alergias provocadas por bioaerossóis.

2.4 FAMÍLIA POACEAE

A família Poaceae, mais comumente chamada de gramíneas, é constituída por 668 gêneros e aproximadamente 10.000 espécies. No Brasil, estão registradas cerca de 1500 espécies da família Poaceae (SOUZA, 2012). Por se tratar de uma

família grande, as gramíneas foram subdivididas entre subfamílias e tribos. As quatro subfamílias representadas na FIGURA 5 correspondem a 90% das espécies de gramíneas e 95% das espécies alérgicamente relevantes pertencem às subfamílias Chloridoideae, Pooideae e Panicoideae (KELLOGG, 2001).

FIGURA 5 - TAXONOMIA DA FAMÍLIA POACEAE



FONTE: Adaptada de Kliene-Tebbe, J. & Davies, J.M. (2014).

2.4.1 Fenologia das gramíneas

A fenologia é o ramo da ecologia que estuda as variações morfológicas das plantas em decorrências de mudanças climáticas, como a temperatura, luz solar e umidade. A maioria das plantas Poaceae alérgicas são pertencentes a subfamília Pooideae, sendo que podem ser plantas anuais (ciclo de vida curto, morrem no período de um ano) ou perenes (são as consideradas de ciclo de vida longo e que sobrevivem por mais de dois anos) (DAHL et al., 2013).

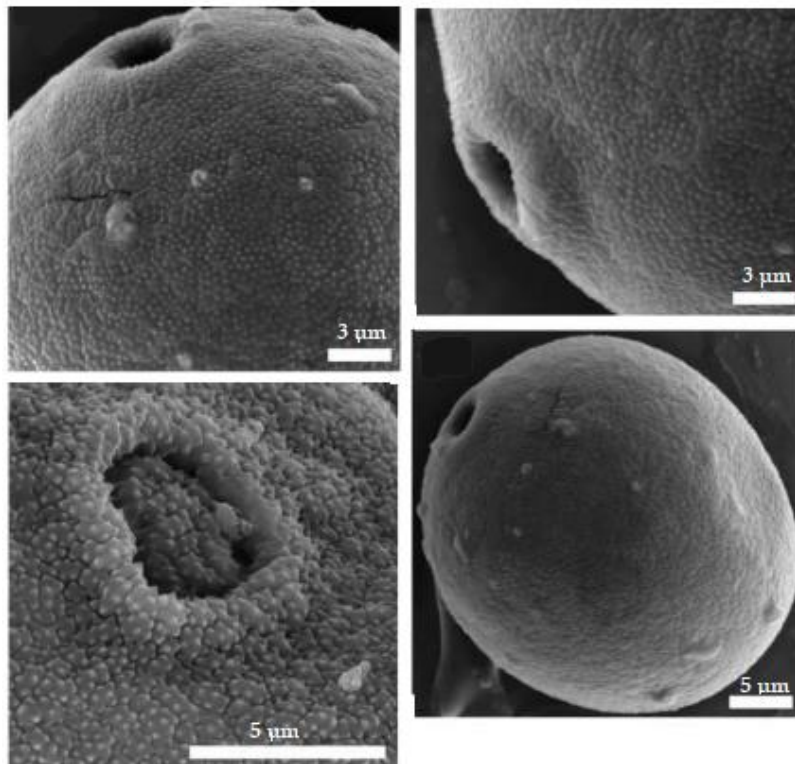
Espécies dentro da família Poaceae respondem diferentemente às condições ambientais em termos de crescimento e florescência. Foi recentemente observado variações da mesma espécie que cresceram em diferentes locais com diferentes condições ambientais. (CEBRINO et al., 2018; DAHL et al., 2013).

2.4.2 Polens da Família Poaceae

Todos os polens das plantas da família Poaceae são arredondados, com um único poro e são morfológicamente muito semelhantes entre as espécies da família Poaceae. Por conta dessas características, não é possível identificar o pólen em nível de gênero e espécie através do microscópio ótico (GUIMARÃES et al., 2018).

A figura 6 mostra o pólen de gramínea em três dimensões através de um microscópio eletrônico de varredura, no qual é possível observar os detalhes da parede externa e do poro. Já a figura 7 mostra o pólen de gramínea registrado por um microscópio ótico. De fato, Moore, Webb e Collinson (1991) salientam que a utilização de microscópios óticos dificulta a identificação dos grãos através do formato, uma vez que só é possível observar dois planos de um objeto de três dimensões.

FIGURA 6 – PÓLEN POACEAE EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

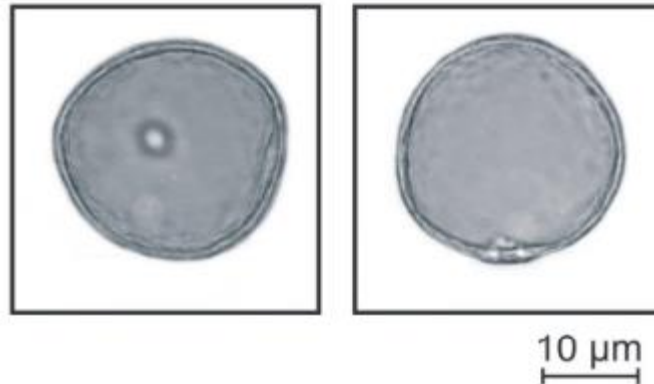


FONTE: Adaptada de GUIMARÃES et al. (2018).

O pólen de gramínea é o principal responsável pela doença polinose em várias partes do mundo (FREIDHOFF et al., 1986). Segundo Hyde (1972), cerca de 60 gêneros de Poaceae foram identificados como alérgicos ou potencialmente alérgicos. O alérgeno que está contido dentro do pólen é liberado quando em contato com a

mucosa nasal ou com os olhos, induzindo a doença polinose nos pacientes sensibilizados. Portanto, a concentração de pólen de gramínea na atmosfera tem influência na gravidade dos sintomas em pacientes com polinose.

FIGURA 7 – PÓLEN POACEAE ATRAVÉS DA MICROSCOPIA ÓTICA



FONTE: Adaptada de RADAESKI; BAUERMANN; PEREIRA (2016).

2.5 ALERGENICIDADE DO PÓLEN

Os polens anemófilos são os de maior relevância para o estudo da alergenicidade polínica, uma vez que estão presentes na atmosfera em grandes concentrações, aumentando a probabilidade de serem inalados pela população e de provocarem resposta imunológica nesses indivíduos (TAKETOMI et al., 2006).

2.5.1 Resposta Imunológica e Alergia

Reações alérgicas são reações de hipersensibilidade imunológicas protagonizadas por anticorpos ou linfócitos T contra antígenos estranhos ao corpo. Dessa forma, a resposta imunológica é exagerada e provoca mais danos ao corpo do que o próprio antígeno provocaria. A classificação de Gell e Coombs divide as reações de hipersensibilidade em quatro tipos. Todavia, o tipo mais relevante para o presente estudo é o tipo I, cujas reações de hipersensibilidade ocorrem em menos de uma hora após a exposição ao antígeno e são mediadas pelo anticorpo imunoglobina E (IgE) (MARTINS, 2008; DELVES, 2019).

Existe uma diferença conceitual entre doença atópica e alérgica, sendo essa última referente a toda e qualquer resposta imune exagerada. Portanto, toda doença atópica é alérgica, mas o contrário não é verdadeiro. O conceito de atopia foi descrito

pela primeira vez em 1923 pelos autores Coca e Cooke, e corresponde a predisposição genética de produzir anticorpos IgE quando em contato com concentrações baixas de alérgenos ambientais. Portanto, todas as doenças atópicas são distúrbios de hipersensibilidade do tipo I, dentre elas estão a rinite alérgica, conjuntivite alérgica, polinose, asma alérgica e dermatite atópica (DELVES, 2019; BERNARDES, 2007).

Por definição, os alérgenos são substâncias capazes de induzir resposta imunológica através da produção de anticorpos da classe E (IgE) ou por linfócitos T tipo IV. Eles podem vir de fontes externas ou internas ao ambiente doméstico, como são os casos dos ácaros, poeira, insetos, fungos e polens (DUTRA; ROSARIO FILHO; ZAVADNIAK, 2014; DELVES, 2019).

2.5.2 A Doença Polinose

A polinose é considerada a forma sazonal aguda da rinite alérgica e/ou asma brônquica mediada por IgE. Vários tipos de pólen podem provocar reações alérgicas ao longo do ano de acordo com as estações e as épocas de polinização das plantas. Os primeiros sintomas são o coçar do nariz, faringe, olhos e palato, seguidos de espirros, lacrimejamento e secreção nasal. A diferença para o resfriado é a presença de prurido ocular (comichão) e de hiperemia conjuntival. É possível que o paciente também apresente sintomas como irritabilidade, cefaleia frontal, tosse e ofegar asmático. A hiperreatividade brônquica associada com a asma acontece em cerca de 15 a 20% dos indivíduos com polinose (MSDLATINAMERICA, 2019; DELVES, 2019, TAKETOMI et al., 2006).

O diagnóstico da doença é pressuposto pela presença dos sintomas de rinoconjuntivite por mais de uma estação polínica, uma vez que a polinose é caracterizada pela periodicidade anual. Além do mais, outros métodos podem auxiliar no diagnóstico da polinose, como o teste cutâneo com várias espécies de gramínea, testes de provocação nasal e medição das dosagens de IgE específica no sangue (TAKETOMI et al., 2006).

Connell (1968) descreveu que a provocação nasal por alérgenos resulta em inflamação nasal, sendo necessário de 10 a 100 vezes menos grãos de pólen para desencadear os sintomas alérgicos no segundo dia. Esse efeito foi denominado por ele de *priming*. Como consequência, indivíduos com processos inflamatórios perenes

em decorrência de ácaros ou polens de árvores, podem apresentar sintomas de polinose com menores concentrações de pólen de gramíneas do que daqueles pacientes sem outras alergias associadas (ROSARIO FILHO, 1997).

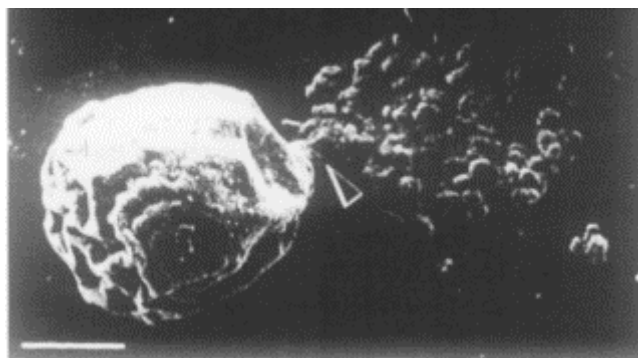
No sul do país, observou-se casos de polinose iniciando em setembro, até outubro e novembro, e em alguns casos, estendendo-se até dezembro e janeiro. A manifestação de sintomas fora da época da polinização das gramíneas pode decorrer de biogênicos que se mantêm dentro dos estabelecimentos ou do efeito *priming* naqueles pacientes mais sensibilizados (ROSARIO FILHO, 1997).

2.5.3 Alérgenos Polínicos

Pelo fato de os polens de gramínea terem diâmetro médio de 20 a 55 μm , os polens intactos não entram nas vias respiratórias inferiores, uma vez que essa região limita a passagem de partículas maiores que 5 μm . No entanto, os alérgenos polínicos desencadeadores de reações alérgicas possuem de 30 ηm a 5 μm de diâmetro e estão no interior dos polens, portanto, o rompimento da parede polínica é um dos pré-requisitos para a sensibilização de pessoas alérgicas (BERNARDES, 2007; DESPRÉS et al., 2012; TAKETOMI et al., 2006).

Acredita-se que os alérgenos sejam proteínas ou glicoproteínas solúveis em água, provocando reações alérgicas rapidamente no sistema respiratório humano. Para isso, existem dois mecanismos de liberação dos alérgenos. O primeiro acontece por difusão em meio isotônico, no qual os alérgenos podem se deslocar para a parede externa exina por difusão quando os polens são hidratados. Esse mecanismo pode ocorrer nas vias aéreas superiores, como a mucosa nasal e conjuntiva. O segundo mecanismo é o rompimento da parede polínica em meios hipotônicos, como a água da chuva (FIGURA 8). Portanto, a liberação dos alérgenos pode ocorrer tanto no ambiente quanto diretamente nas vias respiratórias superiores (KNOX; SUPHIOGLU, 1996; TAKETOMI et al., 2006).

Os alérgenos das gramíneas são classificados pelo *International Union of Immunological Societies - Allergen Nomenclature Subcommittee* (IUIS) em 13 grupos, de acordo com a sua reatividade e homologia estrutural. Aqueles do grupo 1 possuem a maior importância clínica, já que aproximadamente 95% dos pacientes reagem a eles, seguido do grupo 5 que provoca reações em 85% dos pacientes sensibilizados (KNOX; SUPHIOGLU, 1996; TAKETOMI et al., 2006).

FIGURA 8 - ROMPIMENTO DO PÓLEN DA ESPÉCIE *LOLIUM PERENNE*, FAMÍLIA POACEAE

FONTE: Adaptada de Knox e Suphioglu (1996).

NOTA: Ruptura do pólen de *Lolium perene* (Poaceae) osmoticamente em uma precipitação pluvial. A barra de escala representa 10 μm .

2.5.4 Polinose no Brasil

A primeira publicação sobre polinose no Brasil data de 1908, pelo Dr. A. Carini, por meio da qual questionou-se sobre a existência da doença no país. Os estudos brasileiros sobre a polinose iniciaram-se na década de 1940, sendo que até essa época tinham sido registrados somente 4 casos da doença em todo o território nacional. Contudo, Mendes et al. (1958) apontaram em 1958 a existência da polinose no país, porém a doença era encoberta por outras reações alérgicas que modificavam os seus sintomas característicos (SOUZA, 2010; TAKETOMI et al., 2006).

Evidenciou-se a prevalência da polinose em regiões de clima subtropical com estações do ano bem marcadas (VIEIRA; FERREIRA; MATTER, 2005). A remoção das florestas, associado ao clima dos estados do sul do Brasil e a introdução de espécies não-nativas de gramíneas, provavelmente possibilitaram a propagação das gramíneas Poaceae nessas regiões. Dessa forma, a concentração dos polens na atmosfera aumenta significativamente na primavera e começo do verão e, portanto, provavelmente justifica o fato da polinose ser recorrente no sul do Brasil (KNOX; SUPHIOGLU, 1996; VIEIRA, 2002).

Dentre as espécies não-nativas de gramíneas que foram introduzidas nesses estados, está o azevém (*Lolium multiflorum*), espécie trazida por imigrantes europeus, a qual se adaptou muito bem à região e, por isso, pode ser encontrada crescendo desordenadamente pelas cidades. Além disso, essa espécie é usada para pastagem de produção de leite nos meses mais frios e de forragem em sistemas de rotação com culturas de verão, como o milho e a soja (VIEIRA, 2003).

De acordo com testes cutâneos feitos com pacientes de polinose com diferentes tipos de gramínea, a espécie *Lolium multiflorum* é a que provocou mais reações alérgicas, portanto, é considerada a principal espécie de gramínea causadora de polinose. (DUTRA; ROSARIO FILHO; ZAVADNIAK, 2001; ROSARIO-FILHO, 2012; ROSARIO FILHO, 1997). Sendo assim, o estudo da concentração de polens na região sul e a relação com doenças alérgicas é de alta relevância no contexto de saúde populacional no Brasil.

2.5.5 Polinose em Curitiba

A primeira contagem polínica da cidade de Curitiba ocorreu em 1944 por 7 meses seguidos, mostrando que a estação de polinização das gramíneas foi entre os meses de maio e junho (LIMA, A. O. et al., 1945). A segunda contagem polínica foi realizada nos meses de fevereiro e agosto de 1960, no entanto, não foi observada estação polínica das gramíneas, somente da Cupressaceae (SEABRA, O.; FRANÇA, AT. T.; ANDRADE, F. L.; 1961). Outra contagem ocorreu entre os meses de abril dos anos de 1962 a 1963 para polens de monocotiledôneas e gimnospermas (FERREIRA, L. H.; 1963).

Estima-se que os casos de polinose no sul do país começaram entre as décadas de 1970 e 1980, através dos primeiros casos de observação clínica da polinose na cidade de Curitiba, até então considerada exceção no Brasil. De acordo com Rosário Filho (1983), isso motivou uma nova amostragem dos polens aéreos nos anos de 1981 a 1982 para verificar a estação polínica das gramíneas.

A coleta dos polens foi feita através de um anemopalinômetro de Durham pelo método gravimétrico. As lâminas amostradas foram coradas e os polens contados em uma área de 1 cm². A partir dos resultados, foi possível observar dois picos anuais de concentração de pólen de gramíneas, o maior ocorrendo na segunda para a terceira semana de novembro e chegando a 114 grãos/cm², e um pico menor de concentração no mês de março e abril (ROSARIO FILHO, 1983).

Essa amostragem foi repetida 10 anos depois em 1991 e observou-se que o pico dos polens de gramínea ocorreu na segunda semana de novembro, atingindo 105 grãos de pólen/cm², mostrando que a intensidade de dispersão de polens de gramíneas aumentou na cidade de Curitiba (DUTRA; ROSARIO FILHO; ZAVADNIAK, 2001; ROSARIO FILHO, 1997).

Em 1997, foi feito um levantamento entre pacientes com rinite sazonal e constatou-se que 74% desses pacientes tinham sensibilidade exclusiva ao pólen. Além do mais, testes cutâneos com variedades de espécies de gramíneas mostraram que, dentre aqueles pacientes sensibilizados, 97% reagiram à espécie *Lolium multiflorum*, seguida pelas espécies *Poa annua* (83%), *Paspalum notatum* (78%), *Phleum pratensis* (70%) e ao *Cynodon dactylon* (43%), demonstrando a relevância clínica da espécie *Lolium* na manifestação da polinose, porém também acompanhada de outras espécies alergênicas da família Poaceae (ROSARIO FILHO, 1997; SOUZA, 2010).

Dois anos depois, foi realizado um estudo em escolas de Curitiba em 1999 com o objetivo de avaliar a sensibilização ao pólen de *Lolium multiflorum* e do ácaro da espécie *Dermatophagoides pteronyssinus*. As crianças e adultos com sensibilidade exclusiva ao *Lolium* correspondiam a 1,5% e 3,3%, respectivamente. Por meio da aplicação do questionário ISAAC², 28% das crianças e 47% dos adultos disseram apresentar rinite associada com sintomas oculares, e dentre os sensibilizados, 1,8% das crianças e 10,4% dos adultos tinham rinite alérgica sazonal por gramíneas (ESTEVES, 1998; ESTEVES et al., 1999a; ROSARIO FILHO, 2007). Portanto, os grãos de pólen Poaceae são responsáveis pela quase totalidade dos casos de polinose no país e a espécie *Lolium multiflorum* é a mais importante, porém não é a única que provoca os sintomas da polinose (ROSARIO-FILHO, 2012).

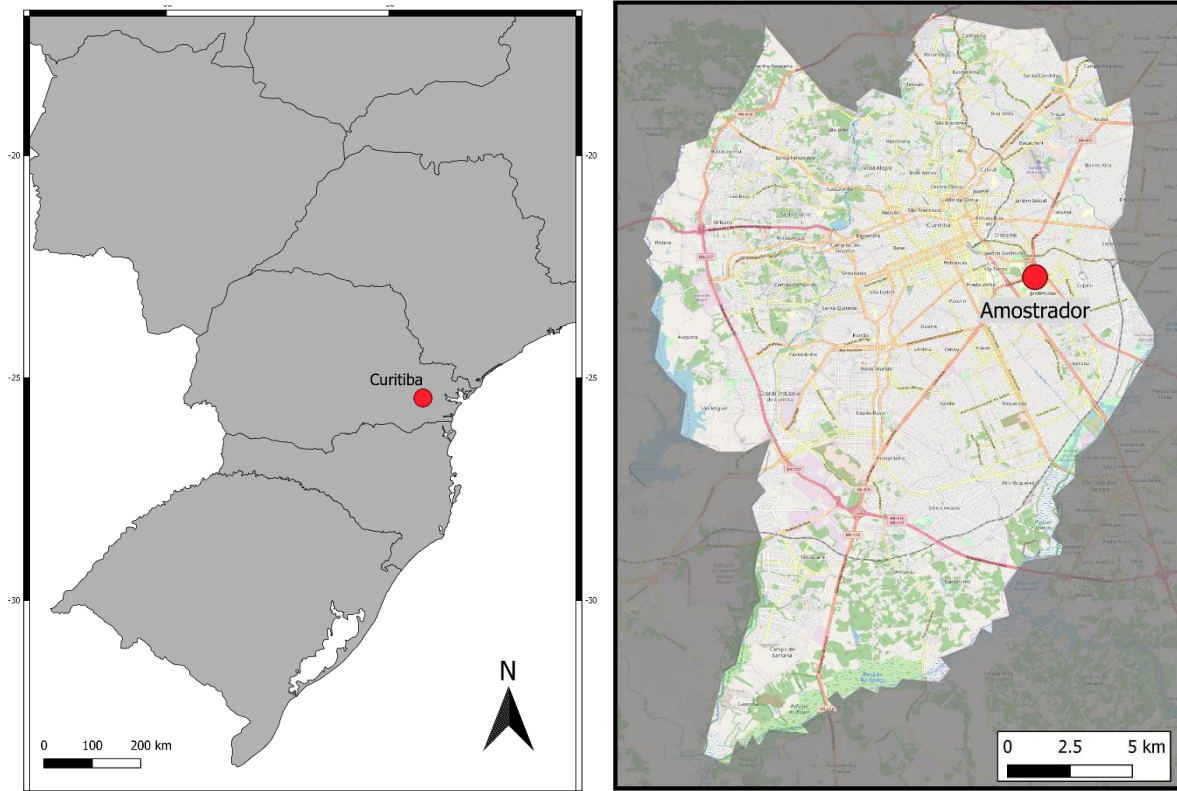
² O *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* (ISAAC) desenvolveu um questionário para rinite alérgica validado em diferentes países, o qual contém perguntas sobre sintomas nasais e oculares, mês da piora dos sintomas, a interferência em atividades do dia-a-dia. O questionário visa criar um padrão nas pesquisas epidemiológicas no mundo (ESTEVES et al., 1999b).

3 METODOLOGIA

3.1 LOCAL DE AMOSTRAGEM

A cidade de Curitiba está situada na região do sul do Brasil, no estado do Paraná (FIGURA 9), sendo a oitava cidade mais populosa do país. O clima é subtropical com estações do ano bem definidas, sendo a média anual de temperatura de 17,1 °C, variando de 7,6 °C ao longo do ano. A pluviosidade é de aproximadamente 1400 mm na média anual, sendo o mês mais seco geralmente agosto, e o de maior pluviosidade o mês de janeiro. No entanto, não há estação seca definida para esta região (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), 2018; CLIMATE-DATA [2010]).

FIGURA 9 - LOCALIZAÇÃO DO AMOSTRADOR E DA CIDADE DE CURITIBA



FONTE: Adaptada de GISMAP (2013).

O local de amostragem escolhido foi o terraço do prédio de Administração do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (UFPR), sede em Curitiba, uma vez que é o prédio mais alto do local, com facilidade de acesso e fornecimento de

energia elétrica. O amostrador encontra-se em uma altura de aproximadamente 25 metros do solo (FIGURA 10).

FIGURA 10 - AMOSTRADOR BURKARD TIPO HIRST, *SPOREWATCH SPORE SAMPLER*

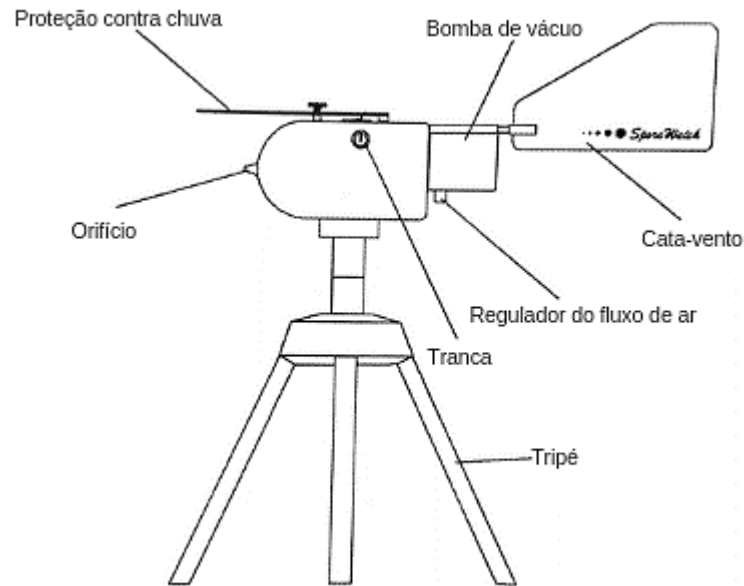


FONTE: A autora (2019).

3.2 EQUIPAMENTO DE AMOSTRAGEM

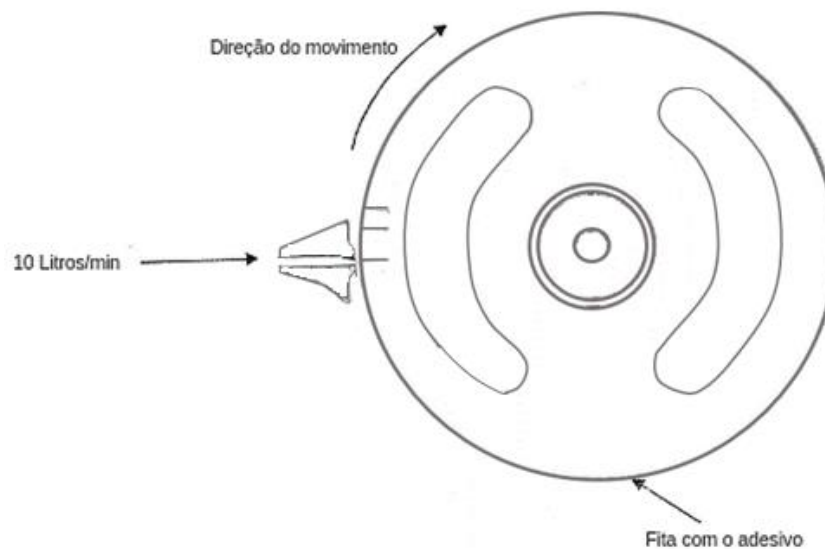
O equipamento de amostragem é o captador volumétrico Burkard do tipo Hirst, *Sporewatch Spore Sampler*. Este é o amostrador mais utilizado para o monitoramento e contagem de pólen ao redor do mundo (LACEY; WEST, 2006). Externamente, o amostrador é composto por um cata-vento que orienta o orifício na direção do vento dominante, uma proteção na parte superior contra a precipitação e uma base para a fixação na superfície do terraço. Internamente, o amostrador possui um tambor, o qual é revestido por uma fita de poliéster e fixado de forma a permitir o seu giro (FIGURA 11). O tambor é colocado de frente a um orifício de 14x2 mm e gira a uma velocidade de 2 mm/h por 7 dias seguidos (FIGURA 12). Há, também, uma bomba de vácuo situada na parte inferior do amostrador que bombeia o ar a uma vazão de 10 L/min, mantendo, assim, a eficiência de impactação em condições de campo, onde a velocidade do vento é variável (HIRST, 1945; RODRIGUES; LISBOA, 2016).

FIGURA 11 - ESQUEMA DO AMOSTRADOR



FONTE: Adaptada de BURKARD [ca 2003].

FIGURA 12 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA AMOSTRAGEM



Fonte: Adaptada de BURKARD [ca 2003].

3.3 PERÍODO DE AMOSTRAGEM

O período de amostragem contemplou o ano de 2018, entre os meses de janeiro e dezembro, e teve como objetivo avaliar a variação anual da concentração dos polens de gramínea e não-gramínea. Foram amostradas aproximadamente 40 semanas.

3.4 MONTAGEM DAS AMOSTRAS

A substância utilizada para a amostragem na fixação das partículas deve permitir: alta eficiência na impactação e aderência das partículas; não possuir propriedades higroscópicas; não secar durante a amostragem no campo; possuir boas propriedades óticas que permitam a identificação das partículas de forma precisa; ser de fácil aplicação; e que não permita o movimento das partículas ali impactadas (HIRST, 1945). A substância utilizada é composta por glicerol, gelatina ágar-ágar, fenol e água ultrapura e o procedimento de preparação está descrito no apêndice A.

Utiliza-se uma fita de poliéster tipo Melinex com 19 mm de largura para a amostragem. Corta-se a fita no tamanho de 48 mm x 7 dias de amostragem. Aplica-se uniformemente a gelatina sobre a fita com o auxílio de uma pipeta. Após a secagem da gelatina sobre a fita, fixa-se a fita sobre o tambor com uma fita dupla face. Após a amostragem de 7 dias, a fita é cortada em 7 pedaços uniformes, cada qual correspondendo a um dia de amostragem. Cada pedaço é fixado em uma lâmina de vidro com a cola descrita no procedimento de preparação no apêndice A. Espera-se um dia para a secagem completa da cola antes da análise microscópica.

3.5 ANÁLISE MICROSCÓPICA

O tamanho das partículas define os métodos de identificação mais apropriados. As grandes partículas de bioaerossóis possibilitam a utilização da microscopia ótica como meio de identificação e contagem, sendo assim, esporos de fungos e polens podem ser identificados através da morfologia (GEORGAKOPOULOS et al., 2009).

As análises das amostras dispostas nas respectivas lâminas foram realizadas em um microscópio ótico Nikon Eclipse E200, com aumento de 400x, sendo que a lente objetiva tinha aumento de 40x e a ocular de 10x. De acordo com Moore, Webb e Collinson (1991), essa amplificação é suficiente para a identificação dos grãos de pólen. As imagens foram feitas para a linha longitudinal central de cada lâmina com uma câmera digital ToupCam, acoplada ao microscópio por um fototubo, sendo que cada linha gerou aproximadamente 180 imagens por lâmina.

Para facilitar a identificação dos polens, foi utilizado um corante com base de fucsina, cujo resultado é a coloração rosa em todos os polens contidos na fita.

Segundo Ogden (1974), a fucsina reage com o polímero esporopolenina que está presente na parede do pólen, portanto, não reage aos esporos de fungos ou outras partículas que podem ter sido amostradas. O procedimento de preparação do corante está descrito no apêndice A.

As imagens foram analisadas com o software *ImageJ*. Através delas, foi possível identificar e contabilizar os polens da família Poaceae pela comparação da morfologia com a literatura e atlas palinológicos. Os critérios utilizados para identificar os polens da família Poaceae foram: 1) os polens serem arredondados; 2) um único poro; 3) parede de proteção visível e com a mesma espessura ao longo de todo o pólen (BARTH; BARBOSA; MACIEIRA, 1976; MOORE; WEBB; COLLINSON, 1991; GRANT SMITH, 1986; DÓREA, 2011; RADAESKI et al., 2014).

3.6 CONTAGEM DAS PARTÍCULAS

A contagem das partículas foi feita pelo método de contagem horizontal, segundo o qual, parte-se do pressuposto que as partículas estão distribuídas uniformemente sobre a fita. Selecionou-se a linha central horizontal da fita e percorreu-se essa linha com a câmera do microscópio ótico fotografando. Quando as partículas polínicas foram encontradas, tirou-se foto com diferentes focos para auxiliar na identificação (RODRIGUES; LISBOA, 2016).

Para cada lâmina de vidro, contou-se o número total de grãos de pólen, o número de grãos de pólen identificados como Poaceae e o número de polens rompidos. Segundo Lacey e West (2006), para obter a concentração de polens em grãos/m³, é necessário multiplicar o número de grãos de pólen contabilizado (N) pelo fator de correção (FC), sendo que esse último varia quanto ao microscópio e a lente utilizada. A equação (1) para calcular o fator de correção leva em conta a área total amostrada pela área da linha horizontal e o volume de ar bombeado em um dia.

$$FC = \frac{A_t}{A_l \times V} \quad (1)$$

Onde:

A_t = Área total amostrada

A_l = Área da linha horizontal

V = volume diário de ar amostrado

A fita de poliéster tipo Melinex possui 19 mm de largura. Porém, o orifício do amostrador possui 14 mm de largura, diminuindo a área útil da fita. Considerando que o comprimento de fita amostrado por dia é de 48 mm, a área total amostrada em um dia é igual a 672 mm² (14 mm x 48 mm). Além disso, as imagens foram feitas ao longo da linha central longitudinal de 48 mm. Como a lente utilizada foi a objetiva de 40x, a largura da imagem corresponde a 0,216 mm, resultando em 10,368 mm² (0,216 mm x 48 mm) de área visualizada da linha horizontal. Por fim, o volume de ar amostrado por dia é de 14,4 m³ (RODRIGUES; LISBOA, 2016).

$$FC = \frac{672 \text{ mm}^2}{10,368 \text{ mm}^2 \times 14,4 \text{ m}^3} \quad (2)$$

Portanto, o fator de correção é $FC = 4,501 \text{ m}^{-3}$. A concentração de pólen pode ser finalmente obtida pela equação (3) em unidade de grãos de pólen por metro cúbico de ar atmosférico.

$$N \times 4,501 \text{ m}^{-3} \quad (3)$$

3.7 RINITE ALÉRGICA

O atendimento ambulatorial faz o primeiro acolhimento à maioria das ocorrências médicas, resolvendo os casos de menor gravidade e encaminhando os casos mais específicos para o serviço de urgência ou emergência do hospital. Segundo a Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID-10), o código internacional para rinite alérgica devido ao pólen é o J301. Porém, os dados ambulatoriais de casos de alergia atendidos pelo Sistema Único de Saúde (SUS), nos quais estão disponíveis no departamento de informática do Sistema Único de Saúde do Brasil (DATASUS), não seguem esse sistema de classificação. Sendo assim, optou-se por utilizar a única opção disponível que abrange os CIDs de rinite, asma e dermatite de diferentes origens, no qual é chamado de “hiposensibilização inespecífica”.

3.8 CLASSIFICAÇÃO DE INTENSIDADE POLÍNICA

Para estimar se as concentrações diárias de pólen estavam em níveis baixos, moderados ou altos, foi seguido os limites sugeridos pela *National Allergy Bureau* (NAB), que faz parte da *American Academy of Allergy Asthma & Immunology* (AAAAI, 2016). Todavia, os intervalos são para medições ecológicas, e não para os efeitos na saúde humana. Além disso, para a aplicação no presente estudo, foi considerado somente os limites para pólen de gramínea.

TABELA 1 - PARÂMETROS PARA CLASSIFICAR A CONCENTRAÇÃO DIÁRIA DE PÓLEN DE GRAMÍNEAS SEGUNDO A *NATIONAL ALLERGY BUREAU* (NAB)

Concentração diária (grão/m³)	Classificação
0	Ausente
1 – 4	Baixo
5 – 19	Moderado
20 – 199	Alto
> 200	Muito alto

3.9 DADOS METEOROLÓGICOS

Os dados meteorológicos foram cedidos pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), na estação de Curitiba que se localiza também no Centro Politécnico da UFPR. Foram fornecidos dados diários de temperatura média, umidade relativa, precipitação, radiação solar e velocidade e direção do vento.

3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O grau de correlação entre duas variáveis de escala métrica é calculado através do coeficiente de correlação de Spearman, no qual avalia correlações lineares e não lineares. Optou-se por esse método, uma vez que ele é considerado mais robusto e menos sensível a valores periféricos, ou seja, valores distantes da relação linear (MAJEED et al., 2018; WILKS, 2011).

O coeficiente de correlação de Spearman é representado pela letra r . Esse coeficiente varia entre -1 (correlação negativa entre as variáveis) e $+1$ (correlação perfeita positiva entre as variáveis). Caso o valor seja igual a 0 , não há associação entre as variáveis. Portanto, caso $r > 0$, a variável no eixo y cresce à medida que a variável no eixo x cresce. Por outro lado, se $r < 0$, o acréscimo da componente na abcissa leva ao decréscimo da componente no eixo das ordenadas.

TABELA 2 - CLASSIFICAÇÃO DA CORRELAÇÃO EM FUNÇÃO DO VALOR DO R DE SPEARMAN

r de Spearman (- ou +)	Classificação da correlação
0 a 0,19	Muito Fraca
0,2 a 0,39	Fraca
0,4 a 0,69	Moderada
0,7 a 0,89	Forte
0,9 a 1	Muito Forte

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 IMAGENS NO MICROSCÓPIO

Foram amostrados no ano de 2018 o total de 222 dias, correspondendo a 60% do ano. Todos os meses estão representados, sendo que os dias sem amostrar estão relacionados a problemas técnicos com o amostrador. Considerou-se como pólen as partículas impregnadas pelo corante fucsina. Também foram contabilizados os polens com a parede de proteção rompida que puderam ser identificados como tal. Os polens da família Poaceae foram identificados pela morfologia, comparando-as com atlas polínicos e com os outros grãos de pólen amostrados. Sendo assim, classificou-se os bioaerossóis de duas maneiras: 1) pólen total (PT), no qual inclui Poaceae; 2) pólen da família Poaceae. A figura 13 mostra uma imagem com o pólen Poaceae na cor rosa.

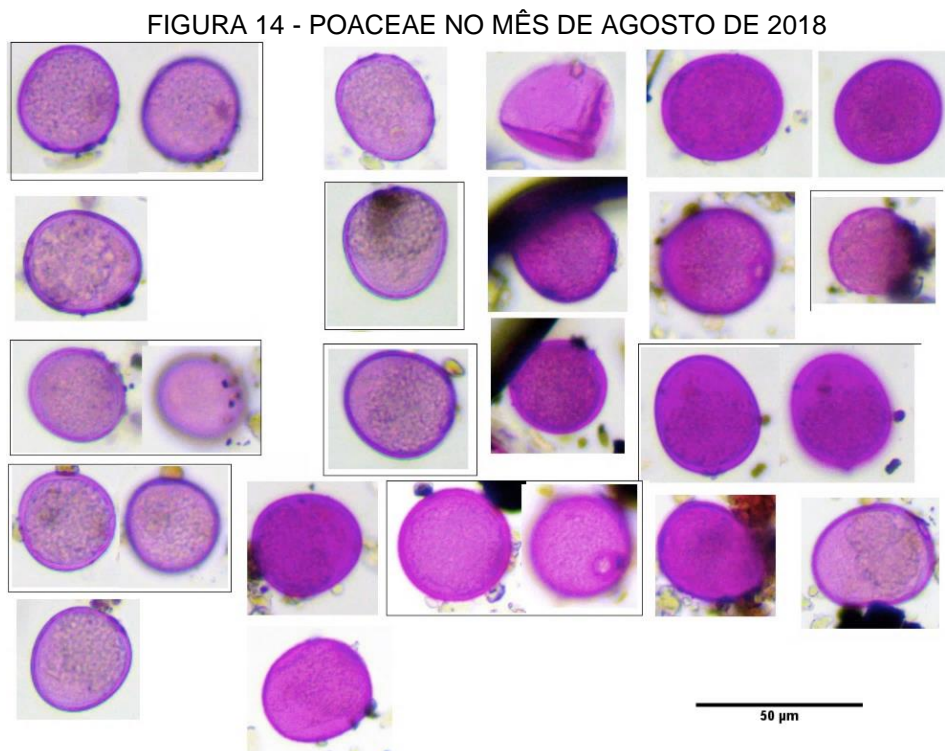
FIGURA 13 - PÓLEN POACEAE VISTO POR MEIO DO MICROSCÓPIO ÓTICO



FONTE: A autora (2018).

NOTA: Pólen Poaceae corado na cor rosa à direita. Há também outra partícula de pólen corada à esquerda, além de detritos diversos, esporos de fungos e poluição.

As imagens dos polens Poaceae foram selecionadas e postas lado a lado para fins de comparação e certificação dos resultados. A figura 14 mostra todos os polens Poaceae encontrados no mês de agosto.



FONTE: A autora (2019).

4.2 CONCENTRAÇÕES

A figura 15 mostra a distribuição de pólen total e pólen Poaceae ao longo do ano de 2018. O pico de concentração diária de pólen total ocorreu no começo do mês de agosto, correspondendo a 302 grãos/m³. Agosto concentrou 8 dos maiores picos diários de concentração de pólen total, sendo 7 delas superiores a 200 grãos/m³. Dentre todos os dias amostrados em 2018, somente 12 deles não continham nenhuma partícula polínica, nos quais 5 dias eram do mês de maio e 4 dias no mês de junho.

Foi encontrado pólen Poaceae ao longo de todo o ano de 2018. O maior pico de concentração diária de Poaceae foi de 27 grãos/m³ em agosto e setembro. O segundo maior pico foi de 23 grãos/m³ e ocorreu em um dia nos meses de fevereiro, março, abril e outubro. Entre os dias amostrados, 21 dias tiveram concentração de Poaceae superior a 10 grãos/m³ e 6 dias com concentração maior do que 20 grãos/m³,

sendo que 120 dias dos amostrados não apresentaram nenhum pólen Poaceae, o que corresponde a 54% das amostras (FIGURA 16).

FIGURA 15 - CONCENTRAÇÕES DIÁRIAS DE PÓLEN TOTAL E PÓLEN POACEAE AO LONGO DO ANO DE 2018

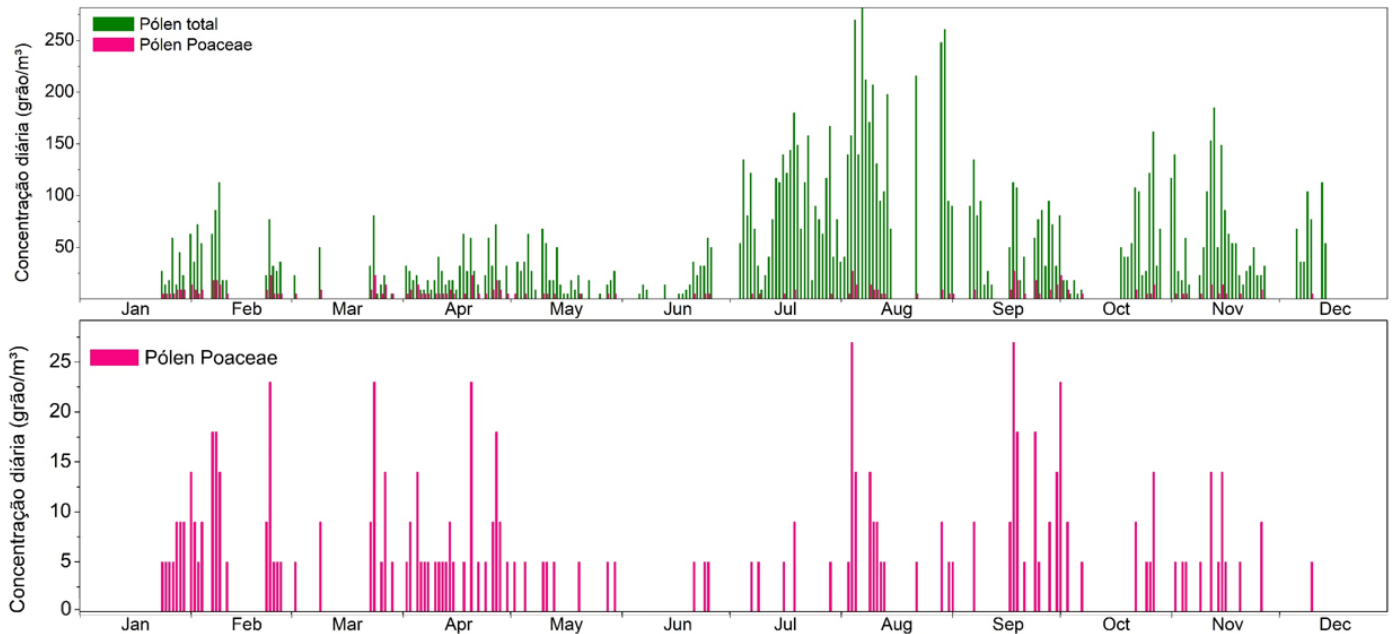
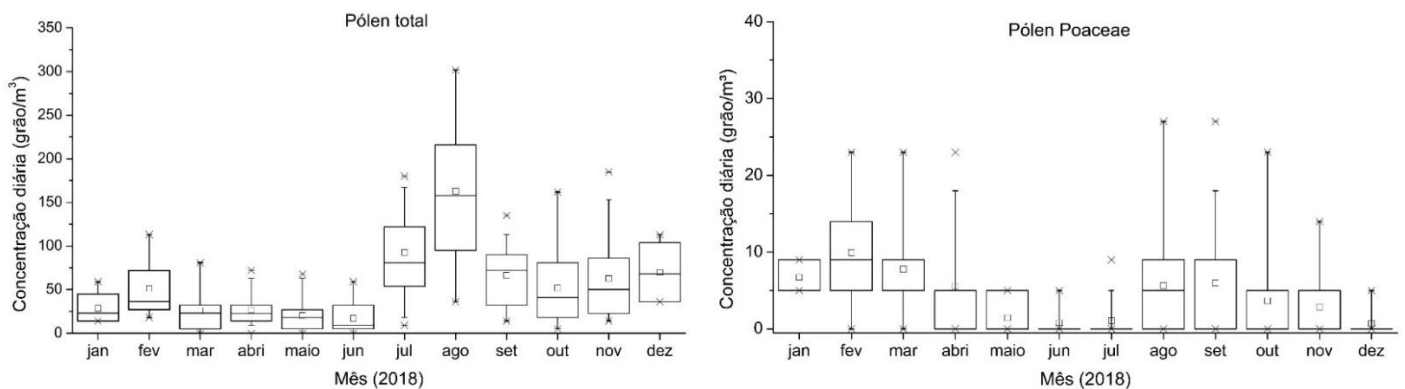


FIGURA 16 – MÉDIAS MENSAIS DAS CONCENTRAÇÕES DE PÓLEN TOTAL E PÓLEN POACEAE

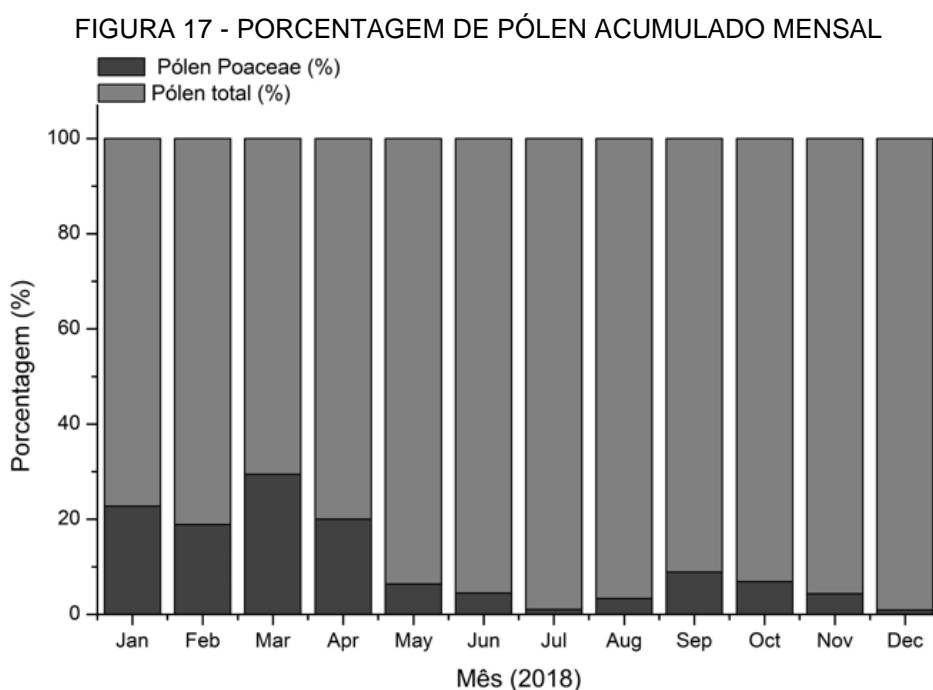


NOTA: Diagrama de caixa para a concentração de PT e Poaceae.

Quando se analisa a participação da Poaceae na concentração total de polens em Curitiba, observa-se que na média anual, as gramíneas foram responsáveis por 10% dos polens amostrados. A maior porcentagem de gramíneas ocorreu em março, chegando a 29% em relação ao PT, e dezembro com a menor, somente 0,9% em relação ao PT (FIGURA 17). Vê-se que, apesar da extensa população de gramíneas ao longo da cidade de Curitiba, outras espécies anemófilas têm grande participação

na concentração polínica no ar da cidade ao longo do ano, fato também observado em Caxias do Sul, onde Poaceae correspondeu a 12% do pólen total (VERGAMINI, 2012).

Em estudos mundiais, a porcentagem de pólen de gramínea mostra uma grande amplitude. Em Montevideo, Uruguai, a Poaceae contribuiu com 47% em 2013-14 do PT (TEJERA; BERI; BLANCO, 2018), em San Carlos de Bariloche, na Argentina, as gramíneas contribuíram em média 6% do PT (BIANCHI; OLABUENAGA, 2006), em Portugal, na cidade de Porto, chegou a 8% do PT (RIBEIRO; ABREU, 2014).



Segundo a classificação de concentração estabelecido para as gramíneas pela NAB (TABELA 1), Curitiba apresentou concentrações altas em 6 dias dispersos nos meses entre fevereiro-abril e agosto-setembro. Os meses de maio e junho tiveram apenas concentrações baixas e julho teve somente um dia com concentração moderada (TABELA 3). Esses resultados em Curitiba são modestos se comparados com dados de gramíneas na Europa (RODRÍGUEZ et al., 2014) e Uruguai (TEJERA; BERI; BLANCO, 2018).

TABELA 3 - CONCENTRAÇÃO DE PÓLEN POACEAE E CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A NAB

Concentração diária (grão/m³)	Classificação	Dias amostrados em 2018
0	Ausente	120
1 – 4	Baixo	59
5 – 19	Moderado	37
20 – 199	Alto	6
> 200	Muito alto	0

O padrão de polinização de pólen total na cidade de Curitiba foi relativamente diferente do observado em cidades de clima temperado no Brasil e na América do Sul (BIANCHI; OLABUENAGA, 2006; LATORRE; CACCAVARI, 2009; TEJERA; BERI; BLANCO, 2018; VERGAMINI, 2012; VILLEGAS; NOLLA, 2001). Essas cidades na Argentina, Uruguai, Chile e Sul do Brasil registraram o aumento na concentração polínica em setembro, com os picos variando entre setembro, outubro e novembro. Já em Curitiba, observou-se que o aumento da concentração polínica na atmosfera foi no mês de julho, com picos em agosto e setembro e baixas concentrações entre os meses de maio e junho. Como a porcentagem de pólen Poaceae não chega a 10% nos meses de alta concentração de PT, outras espécies anemófilas particulares da região do Paraná podem estar contribuindo para os picos em agosto e setembro.

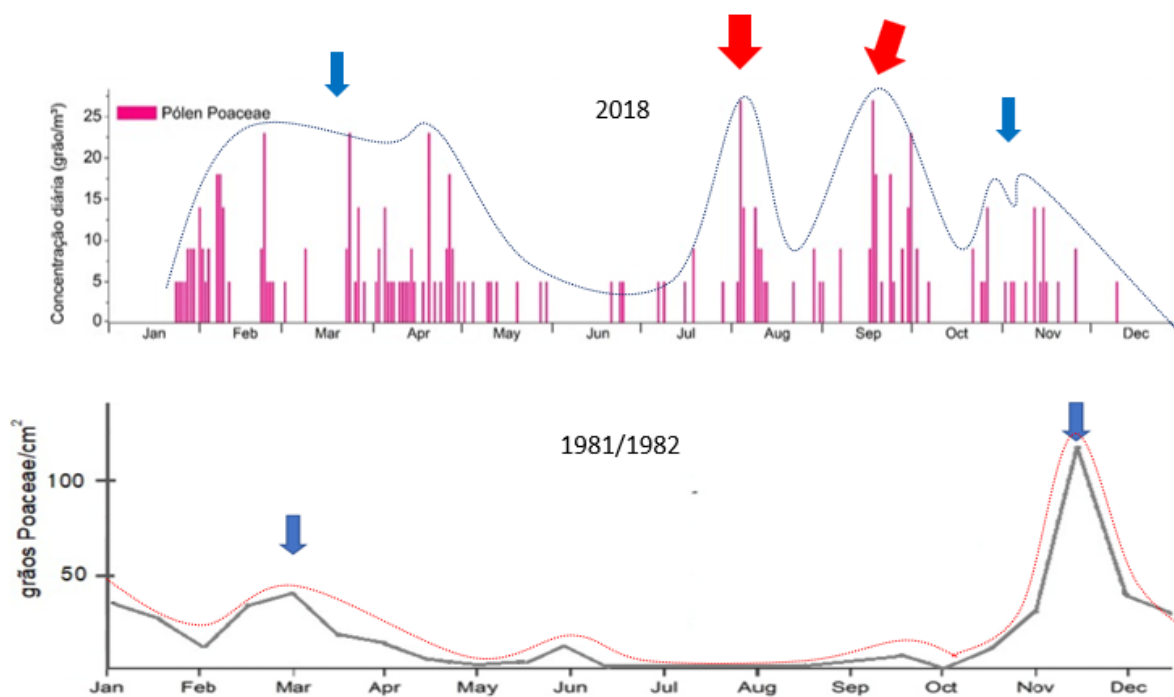
Em relação a Poaceae, foi possível estabelecer um padrão de polinização para a Poaceae ao longo do ano em Curitiba. Os meses entre agosto e abril apresentaram as concentrações mais altas e o total de pólen desse período correspondeu a aproximadamente 91% do total de pólen de gramínea amostrado. Sendo assim, os meses de maio até julho foram aqueles com as menores concentrações e que representaram somente 9% do total de pólen de Poaceae.

De acordo com o trabalho de Rosário Filho (1983) realizado na cidade de Curitiba em 1982, o maior pico de concentração de Poaceae aconteceu no mês de novembro, seguido por picos menores em março e janeiro, além de concentrações quase nulas entre os meses de julho, agosto e setembro. O período de polinização da gramínea em 1982 foi registrado entre os meses de outubro e abril. O segundo estudo de Rosário Filho (1997) amostrado em 1991, observou que o pico de concentração das gramíneas ocorreu 2 semanas mais cedo, ainda em novembro.

No presente estudo, todavia, vê-se que a época de polinização das gramíneas teve o seu início adiantado para o mês de agosto, mas o término da polinização das

gramíneas manteve-se no mês de abril (FIGURA 18). Portanto, para o mês de 2018, 36 anos após a primeira coleta de Rosário Filho, a época de polinização das gramíneas se estendeu por mais 2 meses, com o pico de concentração também sendo transferido para o mês de agosto e setembro. Esse fenômeno também foi notado na Itália, no qual mediu-se a polinização das gramíneas ao longo de 33 anos e notou-se que o início da polinização diminuiu $-0,4$ dias/ano, sem alteração estatisticamente significativa na data do fim da polinização (SOFIA et al., 2017).

FIGURA 18 - COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DE PÓLEN DE GRAMÍNEA AO LONGO DOS ANOS DE 2018 E 1981/1982



FONTE: Adaptada de Rosário-Filho (1983).

NOTA: As flechas em vermelho mostram os picos de concentração em 2018 que não foram observados em 1981/1982. As fechas em azul mostram os picos observados em 1981/1982 e 2018.

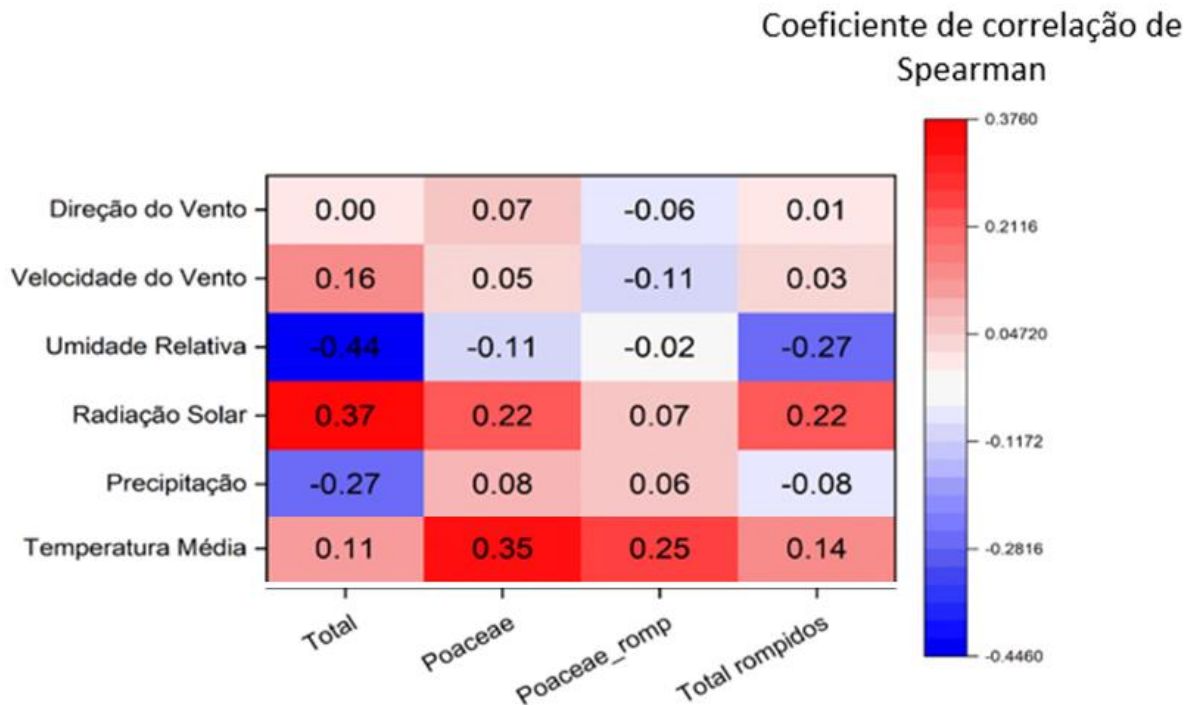
4.3 DADOS METEREOLÓGICOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O ano de 2018 em Curitiba teve o inverno mais seco desde 1997. O mês de julho quase não choveu com precipitação acumulada de apenas 2,8 mm. A menor temperatura registrada em 2018 foi no dia 09 de junho, onde os termômetros chegaram a $0,7$ °C. No outro extremo, as temperaturas mais altas foram de $33,7$ °C em março e dezembro. Sendo assim, calculou-se o coeficiente de correlação de Spearman entre as concentrações de pólen total e rompidos, pólen Poaceae e rompidos e os dados meteorológicos diários mostrados na figura 19.

Em relação ao pólen total, a umidade relativa teve o maior valor de Spearman (-0,44), com correlação moderada entre PT e umidade relativa. Portanto, quanto menor a umidade relativa na cidade de Curitiba, maior a concentração de PT na atmosfera. A radiação solar apresentou correlação fraca positiva (0,37) e a precipitação correlação fraca negativa (0,27). Os PT rompidos tiveram correlação fraca com a precipitação (-0,27) e radiação solar (-0,22).

Em relação ao pólen Poaceae, as condições meteorológicas mais importantes foram a temperatura média e a radiação solar, todas indicando uma correlação fraca. O pólen Poaceae rompido teve correlações semelhantes a gramínea não rompido. A velocidade do vento e direção mostraram correlação muito fraca entre todos as concentrações polínicas consideradas.

FIGURA 19 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DIÁRIAS DE PÓLEN E DADOS METEOROLÓGICOS



Para pólen total, as correlações foram condizentes com as que foram encontradas em Caxias do Sul (VERGAMINI, 2012). Já no Uruguai, a temperatura média diária foi o parâmetro com a correlação mais forte, seguida pela umidade relativa com correlação moderada negativa (TEJERA; BERI; BLANCO, 2018).

No presente estudo, a precipitação no mesmo dia teve correlação insignificante na concentração de pólen de gramínea, o que não está de acordo com

a correlação negativa encontrada em Majeed et al., (2018) na Espanha. Além disso, apesar da correlação moderada entre a temperatura e gramíneas em Curitiba, um estudo semelhante no Uruguai indicou uma correlação positiva forte para estes mesmos parâmetros (TEJERA; BERI; BLANCO, 2018).

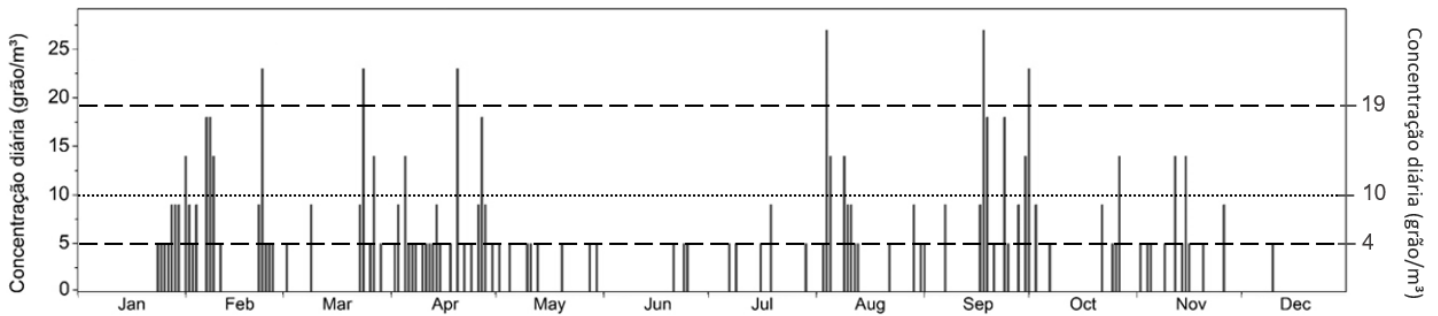
4.4 DADOS DE RINITE ALÉRGICA REGISTRADOS NO SUS

Os limites estabelecidos pela NAB para classificar a concentração polínica das gramíneas diz respeito aos aspectos ecológicos, não sendo os valores de concentração que de fato induzem sintomas alérgicos em pessoas sensibilizadas. Até o momento, não há limites padronizados de concentração de Poaceae que certamente induz sintomas nas pessoas, uma vez que a sensibilização depende da condição genética, exposição ao alérgeno durante a vida e espécies de gramíneas presente no local (D'AMATO et al., 2007; AAAAI, 2016).

As concentrações que induziram sintomas de polinose variaram de 10-50 grãos/m³ em Londres, sendo que concentrações superiores a 50 grãos/m³ induziram sintomas em todos os pacientes sensibilizados (DAVIES; SMITH, 1973; HYDE, 1972). Na Espanha, todos os pacientes sensibilizados manifestaram sintomas com concentrações superiores de pólen de gramínea a 37 grãos/m³ (ANTEPARA et al., 1995). Na Finlândia, concentrações menores que 30 grãos/m³ foram correlacionados com sintomas de problemas nasais e com o início da estação de polinização das gramíneas (D'AMATO et al., 2007; RANTIO-LEHTIMÄKI et al., 1991) e 30 grãos/m³ na Austrália aumentaram 26% os casos de asma no país (ERBAS et al., 2007).

No Sul do Brasil quase a totalidade dos pacientes de polinose são sensíveis a pólen de gramínea, e não de árvores ou ervas (MOREIRA et al., 2015). Além disso, segundo Hyde (1972) a concentração suficiente para provocar sintomas nos pacientes mais sensibilizados é de 10 grãos/m³ de pólen de gramínea. Por esses motivos, utilizou-se esse valor no presente estudo como possível gatilho de manifestação de sintomas de polinose na cidade de Curitiba. No ano de 2018, 21 dias amostrados superaram esse limite de concentração, portanto, espera-se que pessoas apresentem sintomas alérgicos entre os meses de janeiro-abril e agosto-novembro (FIGURA 20).

FIGURA 20 – LIMIARES BIOLÓGICOS E ALÉRGICOS PARA A CONCENTRAÇÃO DIÁRIA DE POACEAE



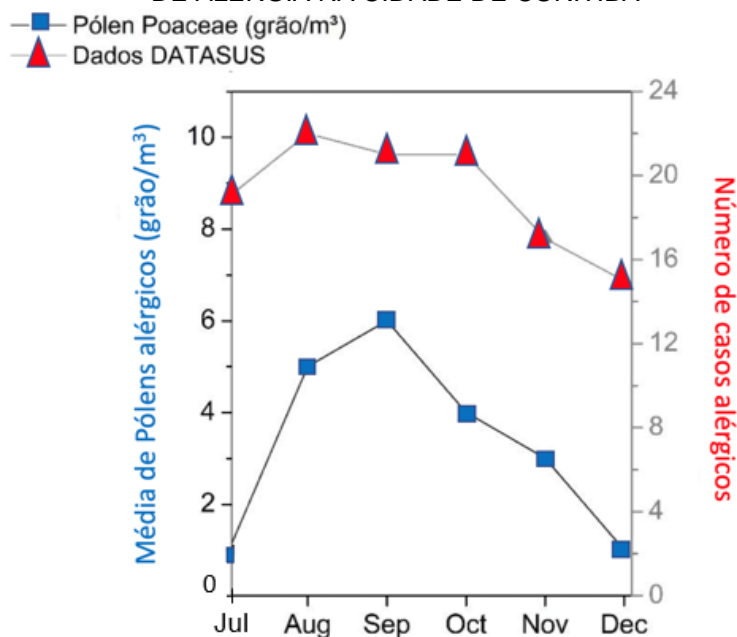
NOTA: As duas linhas tracejadas correspondem aos limites ecológicos estabelecidos pela NAB, sendo 4 grãos/m³ concentração baixa e 19 grãos/m³ concentração alta. A linha pontilhada corresponde a 10 grãos/m³ e é a concentração mínima para a manifestação de sintomas severos em pessoas com polinose mais sensíveis (HYDE, 1972).

Na figura 21 é possível observar que os casos de alergia na cidade de Curitiba seguiram as mesmas tendências de aumento e diminuição das concentrações médias de pólen Poaceae entre os meses de julho-dezembro. O mês com o maior número de casos de alergia foi o mês de agosto, o mesmo em que foram encontrados os picos de pólen total e pólen Poaceae. Após esse mês, os casos de alergia e as concentrações mensais de pólen decresceram, o que demonstra uma possível correlação entre os casos de alergia em Curitiba e as concentrações de pólen de gramínea na atmosfera.

De acordo com Rosario Filho (1997), os sintomas de polinose em Curitiba eram relatados pelos pacientes entre agosto e março, sendo que 52% dos pacientes percebiam o início dos sintomas em outubro e 62% relataram que o fim dos sintomas era sentido em dezembro. Como foi observado um adiantamento da polinização das gramíneas em 2018, é possível que sintomas estejam se manifestando mais cedo do que em relação ao estudo de 1997.

Por outro lado, os meses com os menores números de casos de alergia foram entre os meses de janeiro e abril, porém as concentrações de pólen de gramíneas ainda estavam relativamente altas. Sabe-se que na cidade de Curitiba existem diferentes espécies da família Poaceae e é possível que as concentrações mais altas no início do ano sejam associados a pólen de plantas menos alérgicas para os seres humanos (BIONDI; PEDROSA-MACEDO, 2008; KOZERA; DITTRICH; SILVA, 2006). Dessa forma, não houve resposta nos casos ambulatoriais para o mesmo período, como ocorreu entre julho-dezembro.

FIGURA 21 – CONCENTRAÇÕES MENSAIS DE PÓLEN POACEAE E CASOS AMBULATORIAIS DE ALERGIA NA CIDADE DE CURITIBA



NOTA: Médias mensais das concentrações diárias de Poaceae e casos ambulatoriais mensais de alergia registrados no DATASUS.

Salienta-se que os casos de alergia registrados no SUS podem ser muito menores do que a realidade da população local. Devido a burocracia que envolve os hospitais públicos, é provável que poucos casos de alergia devido ao pólen cheguem até aos especialistas que são capazes de diagnosticar a polinose apropriadamente. Por esse motivo, é provável que essa doença seja subdiagnosticada.

4.5 FATORES EXTERNOS QUE PODEM IMPLICAR EM ALTERAÇÕES NOS MECANISMOS DE POLINIZAÇÃO

4.5.1 Mudanças climáticas

Os aspectos fenológicos das plantas dependem dos fatores meteorológicos, inclusive daquelas altamente alérgicas para os seres humanos. Sendo assim, os efeitos esperados das mudanças climáticas são: o aumento da produção de pólen por planta; crescimento vegetal mais acelerado; aumento das proteínas alérgicas que estão contidas dentro do pólen; adiantamento do início de crescimento da planta e o conseqüente adiantamento da produção de pólen; polinizações mais longas e com

inícios adiantados em relação ao atualmente (D'AMATO et al., 2014, 2017; DEMAIN, 2018).

Diversas pesquisas de longo prazo ao redor do mundo vêm estudando as correlações entre as mudanças climáticas, como o aumento da temperatura, e as alterações nas concentrações polínicas na atmosfera obtidas ao longo dos anos. Um estudo recente sobre o tema encontrou evidências entre 17 cidades de diferentes países no hemisfério Norte, 12 tiveram aumento da carga anual de pólen e 11 localizações estenderam a duração da polinização ao longo do tempo, resultados que demonstram serem globais e independentes da latitude (ZISKA et al., 2019).

Segundo Sofia et al. (2017), em 33 anos de estudos no centro da Itália, observou-se uma clara tendência de adiantamento do início da polinização das gramíneas (-0,4 dias/ano) e diminuição da concentração no pico e na quantidade de pólen amostrado por ano. Já os estudos no norte da Itália (SOFIA et al., 2017) e sul da Espanha (RUIZ-VALENZUELA; AGUILERA, 2018) não observaram uma tendência clara de alteração da polinização de gramínea e nem alterações nas concentrações anuais devido a mudanças climáticas.

Em síntese, não existe consenso nos efeitos das mudanças climáticas na família Poaceae, uma vez que a variedade de espécies e respostas fenológicas diferentes dificultam na obtenção de tendências de mudanças nas últimas décadas. Além do mais, são necessários estudos de longo prazo específicos para o Brasil e a região subtropical do hemisfério Sul para se compreender os impactos das mudanças climáticas nas espécies de plantas com potencial alergênico.

4.5.2 Uso de gramíneas na pecuária

Segundo Vieira (2003), há uma preocupação quanto ao uso do azevém (*Lolium multiflorum*) como forrageira para o gado nos estados do sul do Brasil e as consequências na alergia da população no entorno. As gramíneas são utilizadas como alternativa de baixo custo para pastagem de produção de leite nos meses mais frios e de forragem em sistemas de rotação com culturas de verão, como o milho e a soja. Essa espécie é largamente utilizada pela facilidade de ressemeadura natural, potencial de produção de sementes, resistência a doenças e possibilidade de plantio associado com outras espécies (DA ROCHA et al., 2007).

Estima-se que um hectare de *Lolium multiflorum* produza 100 kg de pólen, sendo que cada grama de pólen corresponda a 100 milhões de grãos (VIEIRA, 2003). Além disso, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) vem desenvolvendo sementes com características mais atraentes para os produtores, a primeira delas foi a Azevém BRS Ponteio, lançada em 2007. Essa semente possui ciclo de vida mais extenso e rende pastagens mais longas para alimentação dos animais do que em relação as outras sementes da época. Essa semente correspondia a 60% do mercado de azevém do Brasil em 2017. A semente mais atual é o azevém BRS integração, lançada em 2017. Ela produz 5% mais (tonelada/hectare) e o ciclo de vida é 20 dias mais curto do que em relação a semente antiga (EMBRAPA, 2017).

Não há conhecimento sobre as consequências das modificações antropogênicas nas sementes do azevém na alergia da população no entorno. Como essas espécies são anemófilas, é possível que haja transporte de pólen das pastagens para as áreas mais densamente povoadas dos estados no qual se utiliza largamente o azevém, como é o caso do Paraná e Rio Grande do Sul. Esses estados foram protagonistas de estudos de prevalência de polinose, os quais 30% da população em Planalto Médio-RS é fortemente sensibilizada ao pólen de gramínea, 10% em Curitiba-PR, 14% em Caxias do Sul-RS e 22% em Santo Ângelo-RS (ESTEVEES et al., 1999a; VIEIRA, 2003; VIEIRA; FERREIRA; MATTER, 2005).

5 CONCLUSÕES

Nesse estudo foi possível quantificar a concentração de polens da família Poaceae na cidade de Curitiba, comparar a curva de distribuição de polens com os dados da década de 80 e 90, classificar a concentração diária de gramínea segundo a *National Allergy Bureau* (NAB) e estimar a relação entre os picos de pólen e os casos de alergia respiratória registrados pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

Identificou-se os polens da família Poaceae através das imagens por microscopia ótica e comparação com atlas palinológicos. Os polens de gramíneas foram encontrados ao longo de todo o ano de 2018, sendo que o período de polinização foi identificado entre os meses de agosto e abril, com picos de concentração nos meses de agosto e setembro. Em relação aos dias amostrados, 6 deles tiveram concentrações de gramíneas considerada alta segundo a *National Allergy Bureau* (NAB). No geral, o pólen de gramínea correspondeu a 10% dos polens amostrados na cidade de Curitiba em 2018.

Quando se comparou os dados de 2018 com os disponíveis das décadas de 80 e 90, observou-se que a época de polinização das gramíneas teve o seu início adiantado para o mês de agosto, mas com o fim da polinização mantendo-se em abril. Além disso, o pico de concentração observado 36 anos atrás foi em novembro, mas em 2018 foi observado em agosto.

Ademais, apesar da possibilidade dos dados de alergia registrados do SUS estarem subestimados, observou-se que os casos de alergia na cidade de Curitiba seguiram as mesmas tendências de aumento e diminuição das concentrações médias de pólen Poaceae entre os meses de julho-dezembro, sendo que esse é o mesmo período de influência polínica do azevém (*Lolium multiflorum*) e do relato de sintomas de polinose por pacientes sensibilizados em Curitiba.

Os resultados deste estudo mostram estimativas atuais das concentrações polínicas na capital do estado do Paraná. Em suma, o intuito do nosso trabalho é viabilizar medidas de planejamento, previsão e prevenção para que menos pessoas sofram de doenças alérgicas devido às gramíneas, a principal responsável pela polinose ao redor do mundo.

Sendo assim, os resultados desse trabalho devem ser complementados com outras amostragens ao longo do ano em Curitiba para observar se o adiantamento da polinização e picos de concentração estão se prevalecendo. Além disso, a

identificação dos outros polens amostrados pode ser importante para conhecer quais são os principais protagonistas de pólen na região. Por fim, dados específicos de rinite alérgica devido ao pólen faz-se necessário para uma melhor análise da correlação entre concentração de pólen de gramínea e as consequências na saúde da população de Curitiba.

REFERÊNCIAS

- AAAAI. 2016. **NAB pollen and mold spore levels**. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. Disponível em: <<https://www.aaaai.org/global/nab-pollen-counts/reading-the-charts>> Acesso em: 13/11/2019.
- ANDERSSON, K.; LIDHOLM, J. Characteristics and immunobiology of grass pollen allergens. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 130, n. 2, p. 87–107, 2003.
- ANTEPARA, I. et al. Pollen allergy in the Bilbao area (European Atlantic seaboard climate): Pollination forecasting methods. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 25, n. 2, p. 133–140, 1995.
- BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. **A Cultura do Milho**. Évora, 2014.
- BARTH, O. M.; BARBOSA, H. S.; MACIEIRA, E. G. Morfologia do Pólen Anemófilo e Alergizante no Brasil, VI. Gramineae, Palmae, Typhaceae, Cyperaceae, Cupressaceae e Combretaceae. **Instituto Oswaldo Cruz**, v. 74, p. 347–359, 1976.
- BERNARDES, C. **Alérgenos de pólen de *Lolium multiflorum* (Lam. 1779): determinação da reatividade cruzada de anticorpos IgE aos componentes alergênicos de extratos comerciais de gramíneas**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2007.
- BIANCHI, M. M.; OLABUENAGA, S. E. A 3-year airborne pollen and fungal spores record in San Carlos de Bariloche, Patagonia, Argentina. **Aerobiologia**, v. 22, p. 247–257, 2006.
- BIONDI, D.; PEDROSA-MACEDO, J. H. Plantas Invasoras Encontradas Na Área Urbana De Curitiba (PR). **Floresta**, v. 38, n. 1, p. 129–144, 2008.
- BONO, R. et al. Air pollution, aeroallergens and admissions to pediatric emergency room for respiratory reasons in Turin, northwestern Italy. **BMC Public Health**, v. 16, n. 722, p. 1–11, 2016.
- BURKARD. **SPOREWATCH SPORE & POLLEN SAMPLER**: Operating Instructions. Uxbridge, UK, [ca 2003].
- CALDERON-EZQUERRO, M. C. et al. Pollen in the atmosphere of Mexico City and its impact on the health of the pediatric population. **Atmospheric Environment**, v. 186, p. 198–208, 2018.
- CLIMATE-DATA. **Clima Curitiba**, 2010. Disponível em: < <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/parana/curitiba-2010/>> Acesso em 16 jun. 2019.
- CEBRINO, J. et al. Spatio-temporal flowering patterns in Mediterranean Poaceae. A community study in SW Spain. **International Journal of Biometeorology**, v. 62, p. 513–523, 2018.

COCA, A. F.; WALZER, M.; THOMMEN, A. Asthma and Hay-fever in Theory and Practice. Part I: Hypersensitiveness, Anaphylaxis, Allergy. Part II: Asthma. Part III: Hay Fever. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 17, n. 3, p. 290 – 291, 1931.

CONDREY, David. **Grass flower with vestigial perianth or lodicules**, 2014. Disponível em: <<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/78/Grassflower.gif>> Acesso em: 03 jun. 2018.

CONNELL, J. T. Quantitative intranasal pollen challenge. II. Effect of daily pollen challenge, environmental pollen exposure, and placebo challenge on the nasal membrane. **J Allergy**. v. 41, n. 3, 123-139, 1968.

CRIPTOGAMAS. **Esporopolenina**. Disponível em: <<http://www.criptogamas.ib.ufu.br/node/452>> Acesso em: 04 jun. 2019.

D'AMATO, G. et al. Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. **Allergy**, v. 62, n. 9, p. 976–990, 2007.

D'AMATO, G. et al. Climate change and respiratory diseases. **European Respiratory Review**, v. 23, p. 161–169, 2014.

D'AMATO, G. et al. Climate change, allergy and asthma, and the role of tropical forests. **World Allergy Organization Journal**, v. 10, n. 11, p. 1–8, 2017.

DA ROCHA, M. G. et al. Produção e qualidade de forragem da mistura de aveia e azevém sob dois métodos de estabelecimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 7–15, 2007.

DAHL, A. et al. The Onset, Course and Intensity of the Pollen Season. In: **Allergenic Pollen: A Review of the Production, Release, Distribution and Health Impacts**. Springer Netherlands, 2013. p. 29–70.

DAVIES, R. R.; SMITH, L. P. Forecasting the start and severity of the hay fever season. **Clinical Allergy**, v. 3, p. 263–267, 1973.

DEMAIN, J. G. Climate Change and the Impact on Respiratory and Allergic Disease: 2018. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 18, n. 22, p. 1–5, 2018.

Departamento de Informática do SUS – **DATASUS**. Secretaria Executiva do Ministério da Saúde. Disponível em: <<http://www.datasus.gov.br>>. Acesso em: 16 abril 2019.

DELVES, Peter J. **Visão geral dos distúrbios alérgicos e atópicos**. Disponível em: <<https://www.msmanuals.com/pt-br/profissional/imunologia-dist%C3%BArbios-al%C3%A9rgicos/dist%C3%BArbios-al%C3%A9rgicos,-autoimunes-e-outras-rea%C3%A7%C3%B5es-de-hipersensibilidade/vis%C3%A3o-geral-dos-dist%C3%BArbios-al%C3%A9rgicos-e-at%C3%B3picos>> Acesso em: 07 jun. 2019.

DESPRÉS, V. R. et al. Primary biological particles in the atmosphere : A review. **Tellus B**, v. 64, 2012.

DESPRÉS, V. R. et al. Primary biological particles in the atmosphere : A review. **Tellus B**, v. 64, 2012.

DIEHL, K.; QUICK, C.; MATTHIAS-MASER, S.; MITRA, S. K.; JAENICKE, R. The ice nucleating ability of pollen - Part I: laboratory studies in deposition and condensation freezing modes. **Atmos. Res.** v. 58, p.75-87, 2001.

DIGIOVANNI, F., KEVAN, P. G.; NASR, M. E. The variability in settling velocities of some pollen and spores. **Grana.** v. 34, p. 39-44, 1995.

DÓREA, M. DA C. **Morfologia Polínica, fenologia, reprodutiva e biologia floral de espécies florestais de Poaceae.** Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 2011.

DUTRA, B. M. R. S.; ROSARIO FILHO, N. A.; ZAVADNIAK, A. F. Alérgenos inaláveis em Curitiba: uma revisão de sua relevância clínica. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 24, n. 5, p. 189–195, 2001.

EMBRAPA. **Pesquisa desenvolve capim-azevém que produz 5% mais e 20 dias mais cedo.** 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/26184547/pesquisa-desenvolve-capim-azevem-que-produz-5-mais-e-20-dias-mais-cedo>>. Acesso em: 01/11/2019.

ERBAS, B. et al. Do levels of airborne grass pollen influence asthma hospital admissions? **Clinical and Experimental Allergy**, v. 37, p. 1641–1647, 2007.

ESTEVEVES, P. C. **Prevalência de Rinite Alérgica Perene e Sazonal em Escolares de 13 e 14 anos e adultos na Cidade de Curitiba.** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998.

ESTEVEVES, P. C. et al. Sensibilização atópica em escolares e adultos de Curitiba, Paraná. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 22, n. 5, p. 156–160, 1999a.

ESTEVEVES, P. C. et al. Validação do questionário do ISAAC para rinite alérgica perene e sazonal (polinose) em Curitiba. **Rev bras alerg imunopatol**, v. 22, n. 4, p. 106–113, 1999b.

FERREIRA, L. H. **Contribuição ao conhecimento da frequência de precipitação palinológica, na atmosfera de Curitiba.** 1963. 34 p. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1963.

FERREIRA, T; RASBAND, W. **Image J User Guide**, 2012. Disponível em: <<https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf>> Acesso em: 01 de abril 2019.

FREIDHOFF, L. R. et al. A study of the human immune response to *Lolium perenne* (Rye) pollen and its components, Lol p I and Lol p II (Rye I and Rye II). **Allergy Clin**

Immunol, v. 78, p. 1190–1201, 1986.

GASPARINO, E. C.; CRUZ-BARROS, M. A. V. **Palinologia**. São Paulo, 2006.

GEORGAKOPOULOS, D. G. et al. Microbiology and atmospheric processes: biological, physical and chemical characterization of aerosol particles. **Biogeosciences**, v. 6, n. 4, p. 721–737, 2009.

GISMAP. **Brazil Shapefile download free – Country Boundary, Polygon, states map**. 2013. Disponível em: <<https://www.igismap.com/brazil-shapefile-download-free/>> Acesso em 16 jun. 2019.

GRANT SMITH, E. **Sampling and identifying allergenic pollens and molds**. 2 ed. Texas: Blewstone Press, 1986.

GUIMARÃES, J. T. F. et al. Pollen morphology of the Poaceae: implications of the palynological and paleoecological records of the southeastern Amazon in Brazil. **Palynology**, v. 42, n. 3, p. 311–323, 2018.

HIRST, J. M. An Automatic Volumetric Spore Trap. **Annals of Applied Biology**, v. 39, n. 2, p. 257–265, 1945.

HOWARD L.; DAGHLIAN C. **12/12: 12PollenMix**. Disponível em: <<http://remf.dartmouth.edu/images/botanicalPollenSEM/source/12.html>>. Acesso em: 03 jun. 2018.

HYDE, H. A. Atmospheric pollen grains and spores in relation to allergy. I. **Clinical Allergy**, v. 2, p. 153–179, 1972.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Curitiba**, 2018. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pr/curitiba.html?>> Acesso em 16 jun. 2019.

IWANAMI, Y.; SASAKUMA, T.; YAMADA, Y. **Pollen: Illustrations and Scanning Electronmicrographs**. Tokyo: Kodansha, 1988.

JAENICKE, R. Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere. **Science**, v. 308, n. 5718, p. 73, 2005.

JONES, A. M.; HARRISON, R. M. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations - A review. **Science of the Total Environment**, v. 326, p. 151–180, 2004.

JUDD, W. S. et al. **Sistemática Vegetal: Um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KELLOGG, E. A. Evolutionary History of the Grasses. **Plant physiology**, v. 125, p. 1198–1205, 2001.

- KLIENE-TEBBE, J.; DAVIES, J.M. Grass pollen allergens. In Akdis, C.A. & Agache, I. (Eds.) **Global Atlas of Allergy**. European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI), Zurich, Switzerland, pp. 22-26, 2014.
- KNOX, B.; SUPHIOGLU, C. Environmental and Molecular biology of pollen allergens. **Elsevier Science**, v. 1, n. 5, p. 156–164, 1996.
- KOZERA, C.; DITTRICH, V. A. DE O.; SILVA, S. M. Composição Florística Da Floresta Ombrófila Mista Montana Do Parque Municipal Do Barigui, Curitiba, PR. **Floresta**, v. 36, n. 1, p. 45–58, 2006.
- KUPARINEN, A.; KATUL, G.; NATHAN, R.; SCHURR, F. M. Increases in air temperature can promote wind-driven dispersal and spread of plants. **Proc Biol Sci**. v. 7, n. 276, p. 3081 – 3087, 2009.
- LACEY, M. E.; WEST, J. S. **The Air Spora: A manual for catching and identifying airborne biological particles**. 1. ed. Netherlands: Springer, 2006.
- LATORRE, F.; CACCAVARI, M. A. Airborne pollen patterns in Mar del Plata atmosphere (Argentina) and its relationship with meteorological conditions. **Aerobiologia**, v. 25, p. 297–312, 2009.
- MAJEED, H. T. et al. Airborne pollen parameters and their relationship with meteorological variables in NE Iberian Peninsula. **Aerobiologia**, v. 34, n. 3, p. 375–388, 2018.
- MARTINS, Ricardo. **Imunologia Clínica**. Portal Educação e Sites Associados, 2008. Disponível em: <http://www.portalfarmacia.com.br/farmacia/cursos/cursos_detalhes.asp?id=75>. Acesso em: 07 jun. 2019.
- MENDES, E.; MELLO, J. F. & LUCHETTI, L. Ch. O problema da polinose em São Paulo. 1) Contagem dos polens atmosféricos. **Rev. Hosp. Clin.**, v. 13, n. 3, p. 175-186, 1958.
- MOREIRA, P. F. DE S. et al. Allergen microarray indicates Pooideae sensitization in Brazilian grass pollen allergic patients. **PLOS ONE**, v. 10, n. 6, p. 1–12, 2015.
- MORIZ, Priscilla. **Angiospermas**. Disponível em: <<http://educacao.globo.com/biologia/assunto/microbiologia/angiospermas.html>> Acesso em: 03 jun. 2019.
- MSDLATINAMERICA. **Imunologia; Distúrbios Alérgicos: Distúrbios de Hipersensibilidade**. Disponível em: <http://www.msdlatinamerica.com/profissionais_da_saude/manual_merck/secao_12/secao_12_148.html> Acesso em: 07 jun. 2019.
- LIMA, A. O. et al. IV – Contagem de polens aéreos na cidade de Curitiba (Paraná) durante 7 meses consecutivos. **Brasil Med**. v. 59, p. 267-268, 1945.
- OGDEN, E. C. **Manual for Sampling Airborne Pollen**. New York: Hafner Press, 1974.

O'HERIR, R. E.; HOLGATE, S. T.; SHEIKH, A. **Fundamentos em alergia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

PEDEN, D.; REED, C. E. Environmental and occupational allergies. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 125, n. 2, p. S150–S160, 2010.

PERUQUETTI, R.C.; TEIXEIRA, L. V.; COELHO, F. M. **Introdução ao estudo sobre polinização**, 2017. Disponível em: <<http://www.ufac.br/ppgespa/polen>> Acesso em: 03 jun. 2019.

PORTO, Miguel. **Gramíneas**, 2009. Disponível em: <<http://naturaLink.pt/article.aspx?menuid=2&cid=89643&bl=1&viewall=true>> Acesso em: 09 jun. 2019.

RADAESKI, J. N. et al. Diversidade de grãos de pólen e esporos dos Campos do sul do Brasil: descrições morfológicas e implicações paleoecológicas. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 69, n. 1, p. 107–132, 2014.

RADAESKI, J. N.; BAUERMANN, S. G.; PEREIRA, A. B. Poaceae Pollen from Southern Brazil: Distinguishing Grasslands (Campos) from Forests by Analyzing a Diverse Range of Poaceae Species. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1833, 2016.

RANTIO-LEHTIMÄKI, A. et al. Significance of sampling height of airborne particles for aerobiological information. **Allergy**, v. 46, n. 1, p. 68–76, 1991.

RIBEIRO, H.; ABREU, I. A 10-year survey of allergenic airborne pollen in the city of Porto (Portugal). **Aerobiologia**, v. 30, n. 3, p. 333–344, 2014.

RING, J. Davos Declaration: Allergy as a global problem. **Allergy**, v. 67, p. 141–143, 2012.

RODRIGUES, P.; LISBOA, I. Metodologias Para Análise Qualitativa E Quantitativa De Pólenes No Ar Atmosférico. **Equitania ciencia**, p. 33–46, 2016.

RODRÍGUEZ, S. F. et al. Comparison of Poaceae pollen counts recorded at sites in Portugal, Spain and the UK. **Aerobiologia**, v. 31, n. 1, p. 1–10, 2014.

ROSARIO-FILHO, N. A. Alergia ao pólen de gramíneas: “back to the future”. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 35, n. 2, p. 82–84, 2012.

ROSARIO FILHO, N. A. Contagem de Polens Aéreos na Cidade de Curitiba. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 6, p. 12-15, 1983.

ROSARIO FILHO, N. A. Reflexões sobre Polinose : 20 anos de Experiência. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 20, p. 210–213, 1997.

ROSARIO FILHO, N. A. É possível uma nova causa de polinose? **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 30, n. 5, p. 181–182, 2007.

ROSARIO FILHO, N. A. Sensibilização atópica a aeroalérgenos em crianças asmáticas em Curitiba. **Jornal Paranaense de Pediatria**. v. 3, n. 4, 2002.

RUDAL, P. **Anatomy of flowering plants**. 2 ed. New York: Cambridge University Press, 1992.

RUIZ-VALENZUELA, L.; AGUILERA, F. Trends in airborne pollen and pollen-season-related features of anemophilous species in Jaen (south Spain): A 23-year perspective. **Atmospheric Environment**, v. 180, n. November 2017, p. 234–243, 2018.

RUIZ, Mariana. **Main parts of a mature flower**, 2017. Disponível em: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mature_flower_diagram.svg> Acesso em: 08 jun. 2018.

SEABRA, O.; FRANÇA, AT. T.; ANDRADE, F. L. Contagens de polens aéreos na cidade de Curitiba durante 5 meses consecutivos. **Arq. Brasil. Med.**, v. 51, p. 197-200, 1961.

SÓ BIOLOGIA. **Flor**. Disponível em: <https://www.sobiologia.com.br/conteudos/Morfofisiologia_vegetal/morfovegetal8.php> Acesso em: 03 jun. 2019.

SOFIA, G. et al. Climate change: consequences on the pollination of grasses in Perugia (Central Italy). A 33-year-long study. **International Journal of Biometeorology**, v. 61, n. 1, p. 149–158, 2017.

SOUZA, C. C. T. DE. **Mudanças no perfil de aeroalérgenos em Curitiba**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2010.

SOUZA, V.C. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.

TAKETOMI, E. A. et al. Doença alérgica polínica: polens alergógenos e seus principais alérgenos. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 72, n. 4, p. 562–567, 2006.

TEJERA, L.; BERI, Á.; BLANCO, X. M. General Characteristics of Airborne Pollen in Montevideo city, Uruguay. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 53, n. 2, p. 239–253, 2018.

VERGAMINI, S. M. et al. Dinâmica aeropalínológica de Gramineae na cidade de Caxias do Sul, RS. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 29, n. 1, p. 14–17, 2006.

VERGAMINI, S. M. Estudo aerobiológico da atmosfera de Caxias do Sul em 2007. Aerobiology study of the atmosphere of Caxias do Sul in 2007. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 35, n. 3, p. 103–108, 2012.

VIEIRA, F. M. Existe polinose no Brasil tropical? **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 252, n. 2, p. 71–72, 2002.

VIEIRA, F. M. Novas práticas agropastoris estão influenciando a relação meio ambiente/polinose no sul do Brasil? **Revista Brasileira de Alergia e Immunopatologia**, v. 26, n. 1, p. 37–38, 2003.

VIEIRA, F. M.; FERREIRA, E. N.; MATTER, L. B. A prevalência de polinose está associada com a cultura de *Lolium multiflorum*? **Revista Brasileira de Alergia e Immunopatologia**, v. 28, n. 1, p. 47–52, 2005.

VILLEGAS, G. R.; NOLLA, J. R. Atmospheric pollen in Santiago, Chile. **Grana**, v. 40, p. 126–133, 2001.

WALTER, J. Size Distribution Characteristics of Aerosols. **Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications**, p. 41–54, 2011.

WARNER, J. O. et al. Allergy practice worldwide: A report by the World Allergy Organization Specialty and Training Council. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 139, p. 166–174, 2006.

WILKS, D. S. **Statistical methods in the atmospheric sciences, second edition**. 2 ed ed. [s.l.] International geophysics series, 2011.

ZISKA, L. H. et al. Temperature-related changes in airborne allergenic pollen abundance and seasonality across the northern hemisphere: a retrospective data analysis. **The Lancet Planetary Health**, v. 3, p. e124–e131, 2019.

APÊNDICE A - RECEITAS E PROCEDIMENTOS DE PREPARAÇÃO

A substância utilizada para a fixação das partículas deve permitir alta eficiência na impactação e aderência das partículas, não possuir propriedades higroscópicas, não secar durante a amostragem no campo, possuir boas propriedades óticas que permitam a identificação das partículas de forma clara, ser de fácil aplicação e que não permita o movimento das partículas ali fixadas (HIRST, 1945). A receita escolhida para esse projeto é composta por glicerol, gelatina ágar-ágar, fenol e água ultrapura. A proporção que vem sendo utilizada nas latitudes médias (20° a 40°) é de 20% de glicerol, 5% de gelatina, 0,5% de fenol e água ultrapura para completar 100%. Todavia, para esse projeto a concentração de fenol foi adaptada para 0,125%.

O procedimento de preparação para uma receita de 100 ml de substância adesiva inicia-se com a adição de 77,5 ml de água ultrapura no béquer. Em seguida, adicionar 5 g de gelatina e aquecer até a temperatura de 60°C em agitação lenta, e então manter até que a gelatina dissolva por completo (pode levar até 1 hora). Para evitar a formação de microbolhas, não aquecer acima de 60 °C. Retirar o béquer da chapa de aquecimento e imediatamente acrescentar 20 ml de glicerol, misturar cuidadosamente até homogeneizar, em seguida acrescentar 0,125 g de fenol (sólido), misturar para homogeneizar e acrescentar água ultrapura no béquer para que a solução final atinja o volume de 100 ml. Por fim, a solução se solidifica em temperatura ambiente.

Após a amostragem, as fitas são cortadas em 7 pedaços de tamanhos iguais, sendo que cada pedaço corresponde a um dia de amostragem. Cada pedaço é fixado em lâminas de vidro por uma substância com propriedades de colagem preparada com gelvatol, glicerol, fenol e água ultrapura. Essa solução precisa ser transparente e homogênea, permitindo a passagem de luz e identificação das partículas fixadas na fita. As proporções utilizadas foram de 17,5% de gelvatol, 25% de glicerol, 0,5% de fenol e água ultrapura para completar 100%. Para uma receita 100 ml, adicionar 50 ml de água ultrapura no béquer, adicionar 17,5 g de gelvatol e aquecer até a temperatura de 95°C em agitação lenta, manter até que o gelvatol dissolva por completo. Retirar o béquer da chapa de aquecimento, deixar esfriar um pouco e acrescentar 25 ml de glicerol e depois 0,5 g de fenol, misturar cuidadosamente até

homogeneizar, em seguida acrescentar água ultrapura no béquer para que a solução final atinja o volume de 100 ml.

Após a secagem completa da cola, foi possível fazer a análise microscópica das lâminas. Para a melhor visualização e identificação dos polens, foi usado o corante fucsina, cujo efeito é a coloração rosa. Preparou-se uma solução com 20% de álcool etílico absoluto 99,5%, 30% de glicerina, 50% de álcool etílico 70% e alguns grãos de fucsina sólida básica. Sobre cada lâmina, foram depositadas gotas dessa solução e então cobertas por uma lamínula de vidro para a visualização no microscópio.