







DIVERSIDADE SAZONAL E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE FUNGOS ANEMÓFILOS DO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO

SEASONAL DIVERSITY AND BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF AIRBORNE FUNGI FROM THE AGRESTE MERIDIONAL OF PERNAMBUCO, BRAZIL

Emylle Taynara Ferreira Callou¹ ; Glyciane Laryssa de Araujo Lins¹ ; João Calife Fonseca¹ ; Letícia Araújo Campos Alexandre¹ ; Milena Mizue de Almeida Yamashita¹ , Vladimir da Mota Silveira Filho² ; Elisângela Ramos Castanha³ 

¹Graduando em Medicina (UPE), Garanhuns, PE, Brasil; ²Doutor (UFPE), Recife, PE. Professor Adjunto (UPE), Garanhuns, PE, Brasil; ³PhD (USC), Columbia, SC, Estados Unidos. Professor Adjunto (UPE), Garanhuns, PE, Brasil

*Autor correspondente: elisangela.castanha@upe.br

Recebido: / Recebido: 28/08/2025 | Aprovado: 10/10/2025 | Publicado: 05/05/2026

Resumo: O estudo investigou a diversidade de fungos anemófilos e o potencial antibacteriano de seus metabólitos secundários na cidade de Garanhuns-PE, localizada no Agreste Meridional de Pernambuco, região de transição climática entre Zona da Mata e Sertão. A pesquisa buscou avaliar a importância dessa microbiota pouco explorada como fonte de novos compostos bioativos frente ao cenário global de resistência antimicrobiana, especialmente contra o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Foram realizadas coletas sazonais (inverno, primavera e outono) em ambiente interno (biblioteca) e externo no *Campus* Garanhuns da Universidade de Pernambuco. As amostras foram obtidas pelo método de sedimentação passiva e submetidas a isolamento, identificação presumtiva e caracterização molecular por sequenciamento da região ITS do rRNA. Para avaliação da atividade antibacteriana, utilizou-se a técnica de difusão em meio sólido (método do bloco de ágar). Fragmentos de colônias fúngicas foram transferidos para placas de Ágar Mueller-Hinton previamente inoculadas com suspensão de MRSA, e os halos de inibição formados foram medidos em milímetros. Um disco de ágar sem fungo foi utilizado como controle negativo e antibióticos comerciais serviram como controles positivos. Os resultados evidenciaram maior concentração fúngica no ar externo em todas as estações, especialmente no inverno (80 UFC/placa), enquanto o ambiente interno apresentou valores baixos (média <3 UFC/placa), dentro dos padrões da ANVISA. A sazonalidade mostrou forte influência, com correlação positiva entre umidade e abundância fúngica. A análise molecular identificou gêneros de relevância clínica, ecológica e biotecnológica, como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Pestalotiopsis* e *Epicoccum*. Na triagem antibacteriana, todos os 17 isolados testados inibiram o crescimento de MRSA, sendo 76,4% classificados como de alta atividade (>14 mm), com resultados comparáveis ou superiores ao Cloranfenicol. Conclui-se que os fungos anemófilos do Agreste Meridional de Pernambuco são fonte promissora de novos compostos antibacterianos, ressaltando a relevância de explorar microbiotas negligenciadas na busca por alternativas terapêuticas diante da resistência antimicrobiana.

Palavras-chave: Bioaerossóis fúngicos. Bioprospecção. Atividade antibacteriana. MRSA (*Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina). Metabólitos Secundários.

Abstract: This study investigated the diversity of airborne fungi and the antibacterial potential of their secondary metabolites in Garanhuns-PE, located in the Agreste Meridional region of Pernambuco, Brazil, a climatic transition zone between the "Zona da Mata" and "Sertão." The research aimed to evaluate the relevance of this underexplored microbiota as a source of novel bioactive compounds in the face of the global scenario of antimicrobial resistance, particularly against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Seasonal collections (winter, spring, and autumn) were conducted in both indoor (library) and outdoor environments at the Garanhuns Campus of the University of Pernambuco. Samples were obtained using the passive sedimentation method and subjected to isolation, presumptive identification, and molecular characterization by sequencing the ITS region of rRNA. To evaluate antibacterial activity, the solid medium diffusion technique (agar block method) was used. Fungal colony fragments were transferred to

Mueller-Hinton Agar plates previously inoculated with an MRSA suspension, and the resulting inhibition halos were measured in millimeters. A fungus-free agar disk was used as a negative control, and commercial antibiotics served as positive controls. The results showed a higher fungal concentration in the outdoor air across all seasons, particularly in winter (80 CFU/plate), while the indoor environment presented low values (mean <3 CFU/plate), all within ANVISA air quality standards. Seasonality strongly influenced fungal abundance, with a positive correlation between humidity and fungal abundance. Molecular analysis identified genera of clinical, ecological, and biotechnological relevance, such as *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Pestalotiopsis*, and *Epicoccum*. In the antibacterial screening, all 17 tested isolates inhibited the growth of MRSA, with 76.4% classified as having high activity (>14 mm), showing results comparable or superior to Chloramphenicol. It is concluded that the anemophilous fungi from the Agreste Meridional of Pernambuco are a promising source of new antibacterial compounds, highlighting the relevance of exploring neglected microbiotas in the search for therapeutic alternatives to antimicrobial resistance.

Keywords: Fungal Bioaerosols. Bioprospecting. Antibacterial Activity. MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*). Secondary Metabolites.

1 Introdução

Os fungos são organismos eucariotos, cosmopolitas e heterotróficos, presentes em ecossistemas diversos como ar, água, solo, plantas e animais. Eles desempenham papéis ecológicos fundamentais, atuando como decompositores de matéria orgânica (saprófitos) ou como patógenos causadores de infecções (Naranjo-Ortiz & Gabaldón, 2019). Uma de suas características mais notáveis é a capacidade de sintetizar metabólitos secundários, moléculas de baixo peso molecular que garantem sua sobrevivência e adaptação ao ambiente. Essas substâncias possuem propriedades bioativas com vasto potencial farmacológico e biotecnológico (Hautbergue *et al.*, 2018). Atualmente, aproximadamente um quarto dos medicamentos atualmente em uso contém compostos isolados de fungos, como a penicilina, a lovastatina e a ciclosporina A (Raghava Rao *et al.*, 2017).

Dentre a imensa diversidade fúngica, os fungos anemófilos correspondem à microbiota fúngica presente no ar e pertencem a gêneros e espécies diversas. Sua presença, distribuição e quantidade no ambiente dependem de fatores como umidade, temperatura, condições climáticas, corrente de ar, substratos disponíveis, bem como pelo tamanho, forma e densidade das estruturas fúngicas (Lima, Lima & Silva, 2019). Eles são importantes contaminantes de ambientes internos, onde gêneros como *Aspergillus* e *Penicillium* predominam e podem produzir micotoxinas associadas a intoxicações e processos alérgicos (Hawksworth, 2011).

Apesar do comprovado potencial biotecnológico dos fungos, a maioria das pesquisas de bioprospecção foca em microrganismos isolados do solo, deixando a microbiota anemófila como um recurso genético e químico ainda pouco explorado. Paralelamente, a saúde pública global enfrenta uma grave ameaça: o crescente surgimento de cepas bacterianas resistentes a múltiplos antibióticos, o que dificulta o tratamento de infecções e limita as opções terapêuticas (Silva, 2023). Estima-se que, até 2050, infecções por microrganismos multirresistentes poderão causar cerca de 10 milhões de mortes por ano (SBM, 2017). Este cenário impõe uma busca urgente por novos compostos antimicrobianos, e a exploração de fungos anemófilos representa uma fronteira promissora para a descoberta dessas novas moléculas.

O Agreste Meridional de Pernambuco é uma região de transição climática entre a Zona da Mata e o

Sertão, com características do bioma Caatinga. A região é composta por 26 municípios e Garanhuns se destaca como o mais populoso e um dos que possuem maior IDH regional (IBGE, 2022). O município possui um clima distinto, com temperaturas que podem chegar a 12°C no inverno, conta com uma variedade de culturas agrícolas, sendo, com isso, reconhecido como centro produtor de leite da região; além de impulsionar o turismo local (Yamaguchi, Carneiro & Carvalho, 2009). Essa peculiaridade climática cria um ambiente único que pode abrigar uma diversidade particular de fungos anemófilos com comportamentos distintos, influenciados pelas variações sazonais (Souza, Andrade & Lima, 2013). A região semiárida já é reconhecida como uma fonte de microrganismos produtores de metabólitos com atividade antimicrobiana, o que reforça a pertinência de investigar a microbiota aérea local (Sobral, 2016).

Desta forma, o objetivo principal desta pesquisa foi investigar a diversidade de fungos anemófilos em diferentes ambientes e sazonalidades no município de Garanhuns-PE e realizar a bioprospecção de seus metabólitos secundários, avaliando o potencial antibacteriano frente ao *Staphylococcus aureus* resistentes à metilicina (MRSA) como subsídio para a descoberta de novos compostos bioativos.

2 Material e métodos

2.1 Caracterização da pesquisa e área de estudo

Trata-se de um estudo analítico, observacional e experimental. Para sua realização, foram coletadas amostras de fungos presentes no ar de ambiente externo e interno das dependências do *Campus* da Universidade de Pernambuco (UPE), em Garanhuns-PE, com a finalidade de avaliar o potencial antibacteriano dos metabólitos fúngicos. Todos os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia e Parasitologia e no Laboratório de Biologia Molecular da UPE, *Campus* Garanhuns. Amostras do DNA dos fungos foram enviadas ao Laboratório de Genética Molecular Humana/Exames de DNA da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para sequenciamento pelo método de Sanger.

2.2 Coleta, isolamento e conservação dos fungos anemófilos

A amostragem de fungos anemófilos foi conduzida em triplicata pela técnica de sedimentação passiva (Lacaz *et al.*, 1998). Placas de Petri com Ágar Sabouraud Dextrose (ASD), suplementado com Cloranfenicol (50 mg/L), foram expostas ao ar ambiente por 15 minutos a 1 metro do solo, enquanto os parâmetros de temperatura e umidade foram registrados por um termo-higrômetro digital. Após incubação ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ por 5 dias), as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foram quantificadas.

Posteriormente, as colônias foram isoladas para obtenção de culturas puras. A identificação presuntiva dos isolados foi baseada em análises macro e micromorfológicas, com o auxílio de chaves taxonômicas (Zaitz *et al.*, 2012). Para a conservação a longo prazo, as culturas foram mantidas em estoque pelos métodos de Castellani (água destilada estéril) e óleo mineral.

2.3 Extração do DNA e identificação molecular dos fungos anemófilos

O DNA genômico foi extraído a partir de 50 mg de micélio fúngico, previamente macerado em nitrogênio líquido, utilizando o kit comercial de Preparação de DNA (Cellco Biotec). A qualidade (integridade, pureza e concentração) do DNA foi aferida por eletroforese em gel de agarose 1% e por espectrofotometria.

Para a identificação molecular, a região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) do rDNA foi amplificada via PCR com os primers ITS-4 (*reverse*) 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' e ITS-5 (*forward*) 5' -GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3' (White *et al.*, 1990). Os amplicons foram purificados com kit de coluna (Ludwig®) e submetidos ao sequenciamento bidirecional (*forward* e *reverse*) em um Genetic Analyzer 3500, utilizando o kit BigDye® (Applied Biosystems), na Plataforma de Sequenciamento da UFPE. As sequências consenso foram editadas no software BioEdit e a identidade taxonômica foi determinada por similaridade (BLASTn) contra o banco de dados do MycoBank.

2.4 Microrganismo teste e inóculo bacteriano

Foi utilizada a cepa ATCC 33592 de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) pertencente à Coleção Bacteriológica da UPE, *Campus Garanhuns*, preservada em culturas estoque a -80°C em criotubos contendo caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) adicionado de glicerol a 25%. Para a reativação, alíquotas de 50 µL das culturas-estoque foram inoculadas em caldo BHI e incubadas a 37°C por 24 horas. Em seguida, para confirmar a identidade bioquímica e verificar a pureza das culturas, foi realizado o semeio em meios de cultura apropriados, como Ágar Sangue e Ágar Sal Manitol. Após a confirmação da identidade e pureza, colônias isoladas foram utilizadas para o preparo das suspensões. As colônias foram suspensas em solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% até atingir uma turbidez correspondente ao padrão 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL).

2.5. Atividade antibacteriana dos fungos isolados

A triagem da atividade antibacteriana foi realizada pela técnica de difusão em meio sólido (método do bloco de ágar), com adaptações (Pereira *et al.*, 2023). Discos de 6 mm de diâmetro foram cortados de colônias fúngicas puras e transferidos para a superfície de placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton (AMH), previamente semeado de forma homogênea com as suspensões bacterianas padronizadas. Um disco de ágar ASD sem fungo foi usado como controle negativo. O ensaio incluiu também controles com antibióticos comerciais. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, e a atividade foi determinada pela medição do diâmetro dos halos de inibição (DHI), aferidos em milímetros (mm) com um paquímetro. A atividade

antibacteriana foi classificada segundo a escala de Matsuura (2004) como: Inerte (-), Baixa (+, 7-10 mm), Moderada (++, 11-14 mm) ou Alta (+++, >14 mm).

3 Resultados e discussão

A investigação sobre a diversidade e quantificação de fungos anemófilos foi conduzida em ambientes interno (Biblioteca) e externo (térreo do prédio de laboratórios) no *Campus* da UPE em Garanhuns, uma região com características climáticas peculiares que podem abrigar uma microbiota fúngica particular. As coletas foram realizadas em três períodos sazonais distintos: inverno (setembro/2024), primavera (novembro/2024) e outono (junho/2025) permitindo uma análise comparativa da dinâmica populacional desses microrganismos.

3.1 Variação da Carga Fúngica entre os Ambientes Interno e Externo

A análise comparativa da quantificação das UFC revelou uma diferença proeminente e consistente na concentração de fungos entre o ar externo e o interno em todas as três coletas. No ambiente externo, o número de UFC foi significativamente maior que no interno, com médias por placa que variaram de 19,00 a 80,00 UFC, enquanto, no interno, os valores oscilaram entre 0,67 e 2,67. A diferença mais acentuada ocorreu no inverno, quando o ambiente externo apresentou em média 80 UFC/placa *versus* 2,33 UFC/placa no interno. A relação entre o ar interno e externo (I/E) permaneceu bem abaixo do valor máximo recomendável pela ANVISA, que é até 1,5 (Brasil, 2003) em todos os eventos amostrais (Tabela 1).

Tabela 1 - Análise descritiva da contagem de fungos anemófilos (UFC/placa) por ambiente e estação do ano.

Estação	Ambiente	Média (UFC)	Desvio Padrão (DP)	Mediana (UFC)	Mínimo (UFC)	Máximo (UFC)	Relação I/E
Inverno	Interno	2,33	0,58	2	2	3	0,029
	Externo	80,00	18,00	84	60	96	
Primavera	Interno	2,67	2,52	3	0	5	0,099
	Externo	27,00	5,57	24	23	34	
Outono	Interno	0,67	0,58	1	0	1	0,035
	Externo	19,00	8,37	15	13	29	

Fonte: elaborada pelos autores (2025)

Para avaliar se a diferença na carga fúngica entre os ambientes interno e externo foi estatisticamente significativa, foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney U. As análises foram realizadas separadamente para cada estação de coleta, adotando-se um nível de significância de ($p < 0,05$). Os resultados confirmaram uma diferença estatisticamente significativa na contagem de UFC entre os ambientes em todas as três estações ($U = 0$; $p = 0,050$) onde a carga fúngica no ambiente externo foi significativamente maior do

que no ambiente interno. Destaca-se que o uso de sedimentação passiva, utilizada neste estudo, não quantifica diretamente o volume de ar e pode subestimar espécies menos capazes de sedimentar.

Estes dados validam a percepção de que o ambiente externo atua como o principal reservatório e fonte de dispersão de propágulos de fungos anemófilos para o ambiente. Estes são dispersos por aerossóis e estão sujeitos a menos barreiras físicas (Lima, Lima & Silva, 2019). Ambientes internos, como uma biblioteca, tendem a ter menor circulação de ar, sistemas de ventilação e uma menor presença de fontes de contaminação direta, o que justifica a carga fúngica reduzida. Assim, a persistente e significativa diferença observada entre os ambientes interno e externo reflete a barreira física e o controle climático do ambiente interno em questão (Ribeiro & Lubisco, 2016). Em adição, apesar de fatores como movimentação de pessoas e troca de ar permitirem alguma infiltração, a relação I/E muito inferior ao limite de 1,5 reflete a eficácia das medidas de ventilação e manutenção do ambiente interno avaliado neste estudo.

3.2 Influência Sazonal na Concentração de Fungos Anemófilos

Ao comparar a carga fúngica no ambiente externo entre as diferentes estações, observa-se uma importante flutuação. A maior concentração de fungos foi registrada no inverno, seguida pela primavera e por último no outono (Figura 1). A influência da sazonalidade na concentração dos fungos foi investigada através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, e a análise foi conduzida separadamente para os dados do ambiente externo e do ambiente interno.

Para o ambiente externo, o teste revelou uma diferença estatisticamente significativa na contagem de UFC entre as estações ($p < 0,05$) e para identificar quais estações diferiam entre si, foi aplicado o teste *post-hoc* de Dunn o qual indicou que a carga fúngica no inverno foi significativamente maior do que na primavera ($p = 0,005$) e no outono ($p = 0,010$), enquanto não foi encontrada diferença significativa entre a primavera e o outono ($p = 0,45$). Este resultado sugere que as condições climáticas do inverno na região de Garanhuns favorecem a esporulação e a dispersão fúngica.

Figura 1- Médias de UFC/placa de fungos por ambiente e estação do



Callou et al. (2025)

Para o ambiente interno, o teste de Kruskal-Wallis não apontou diferença estatisticamente significativa na contagem de UFC entre as três estações. Os valores de contaminação mantiveram-se consistentemente baixos em todos os períodos, indicando que a sazonalidade teve impacto reduzido na qualidade microbiológica do ar interno.

Para explorar a inter-relação entre as variáveis ambientais (temperatura e umidade) e a carga fúngica (UFC nos ambientes interno e externo), foi realizada uma análise de correlação para cada período sazonal. As matrizes de correlação resumem as tendências observadas (Quadros 1, 2 e 3). O inverno destacou-se por registrar a maior contagem de fungos no ambiente externo (média de 80 UFC), coincidindo com alta umidade (76%) e temperatura amena (18,8°C). Esta observação refletiu-se em uma forte correlação positiva entre a umidade e a carga fúngica externa, e, inversamente, uma correlação negativa com a temperatura. Adicionalmente, a correlação entre a UFC externa e a interna mostrou-se positiva, mas fraca. Tais resultados sugerem que, enquanto a alta umidade e as temperaturas amenas do inverno em Garanhuns favorecem a proliferação fúngica externa, o ambiente interno, embora influenciado, mantém uma carga microbiana inferior e mais controlada (Frankel *et al.*, 2012).

Quadro 1- Matriz de Correlação Inverno

Variável	UFC Externo	UFC Interno	Temperatura	Umidade
UFC Externo	1	Positiva Fraca	Negativa	Positiva Forte
UFC Interno	Positiva Fraca	1	Positiva	Positiva Fraca
Temperatura	Negativa	Positiva	1	Negativa
Umidade	Positiva Forte	Positiva Fraca	Negativa	1

Callou *et al.* (2025)

A coleta de primavera foi caracterizada pelas temperaturas mais elevadas (27,4°C) e pela umidade mais baixa (56%), condições que resultaram em uma contagem de UFC externa intermediária (média de 27). A análise de correlação (Quadro 2) indicou que a carga fúngica externa teve uma relação negativa com a temperatura e positiva com a umidade, reforçando a umidade como o fator climático mais crítico para a proliferação de fungos na região. Em contraste, apesar da contagem externa moderada, o ambiente interno registrou sua maior média de UFC entre as três estações (2,67), sugerindo uma influência pontual de fatores não medidos, como a circulação de pessoas ou o funcionamento de sistemas de ventilação.

Quadro 2 - Matriz de Correlação Primavera

Variável	UFC Externo	UFC Interno	Temperatura	Umidade
UFC Externo	1	Positiva	Negativa	Positiva
UFC Interno	Positiva	1	Negativa Fraca	Negativa Fraca
Temperatura	Negativa	Negativa Fraca	1	Negativa Forte

Umidade	Positiva	Negativa Fraca	Negativa Forte	1
----------------	----------	----------------	----------------	---

Callou *et al.* (2025)

No outono, a carga fúngica externa foi a mais baixa registrada (média de 19 UFC), embora a umidade estivesse alta (76%), similar à do inverno. No entanto, a temperatura (21,6°C) foi intermediária. A aparente correlação positiva forte entre umidade e UFC externa e negativa forte entre temperatura e UFC externa se repete (Quadro 3). O fato de a contagem fúngica ter sido a mais baixa, mesmo com alta umidade, sugere que outros fatores não medidos, como a menor intensidade de ventos, o ciclo de vida de espécies de plantas locais (que servem de substrato para fungos) ou a radiação solar, podem ter influenciado a composição da microbiota aérea, desempenhando um papel limitante. A contagem interna foi a mais baixa de todas (média de 0,67 UFC), mostrando uma forte relação com a baixa contaminação externa e reforçando a qualidade do ar no ambiente da biblioteca.

Quadro 3 - Matriz de Correlação Outono

Variável	UFC Externo	UFC Interno	Temperatura	Umidade
UFC Externo	1	Positiva	Negativa Forte	Positiva Forte
UFC Interno	Positiva	1	Positiva Fraca	Negativa Fraca
Temperatura	Negativa Forte	Positiva Fraca	1	Negativa
Umidade	Positiva Forte	Negativa Fraca	Negativa	1

Callou *et al.* (2025)

As correlações fortes entre UFC externo e umidade/temperatura em todas as estações confirmam o papel das variáveis meteorológicas na dinâmica de fungos anemófilos, sugerindo que a umidade relativa do ar é o fator ambiental com a mais forte influência positiva na concentração de fungos anemófilos no ambiente externo, enquanto temperaturas mais elevadas parecem ter um efeito limitante ou negativo, no contexto das coletas realizadas em Garanhuns. Em estudos futuros, pretende-se realizar coletas sazonais mais frequentes, e empregar amostragem ativa para enriquecer a robustez estatística.

3.3 Avaliação da Qualidade do Ar Interno Conforme Padrões da ANVISA

A qualidade do ar no ambiente interno foi avaliada segundo os parâmetros da ANVISA, que estabelece um Valor Máximo Recomendável (VMR) de 750 UFC/m³ e uma Relação Interno/Externo (I/E) de até 1,5. Os resultados demonstraram que a qualidade microbiológica do ar na biblioteca foi excelente em todas as coletas, com valores de UFC/m³ e de Relação I/E expressivamente inferiores aos limites (Tabela 1). Tais achados indicam que o ambiente não possui fontes internas de amplificação fúngica e está bem isolado da contaminação externa.

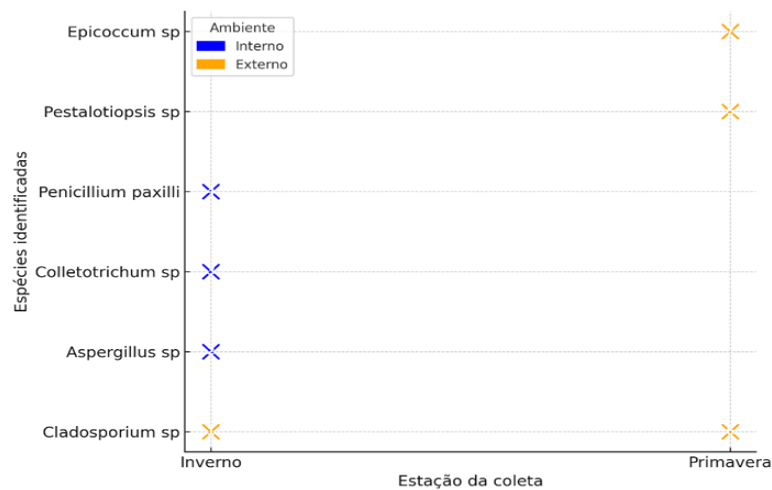
Esses resultados contrastam com investigações realizadas em outros ambientes universitários e bibliotecas públicas no Brasil, onde a contaminação fúngica frequentemente excede os limites recomendados. Em estudo na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) metade dos locais analisados apresentou contagem superior a 750 UFC/m³, uma condição atribuída à inadequada ventilação em um entorno com rica vegetação (Penha *et al.*, 2025). De forma semelhante, uma biblioteca pública em Fortaleza registrou altas concentrações fúngicas (média de 1.924 UFC/m³ no acervo principal), associadas à biodegradação do acervo físico, um problema também documentado na biblioteca da Fundação Oswaldo Cruz (Pantoja, Nascimento & Nunes, 2015; Bortoletto, Ramos & Coutinho, 2002). Por outro lado, os dados do presente estudo corroboram os achados de ambientes com boa qualidade do ar, como o observado no Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR-UFC) e na Biblioteca Pública Municipal de São Carlos-SP, onde os níveis de contaminação se mantiveram dentro dos padrões aceitáveis (Abreu, 2016; Nascimento, 2011).

A baixa carga fúngica encontrada na biblioteca da UPE Garanhuns é, portanto, um indicador positivo das condições de manutenção e ventilação do local. Apesar da conformidade com os padrões, a identificação de gêneros como *Aspergillus* e *Penicillium*, mesmo em baixas concentrações, reforça a importância do monitoramento contínuo, uma vez que são conhecidos por seu potencial alergênico e podem afetar indivíduos sensíveis (Hawksworth, 2011). Assim, a sazonalidade observada no ambiente externo deve ser considerada na programação de limpezas e na calibração de sistemas de filtragem.

3.4 Diversidade e Identificação Molecular de Fungos Anemófilos

A investigação da microbiota fúngica anemófila revelou uma diversidade de gêneros, confirmando o potencial da região do Agreste Meridional de Pernambuco como um reservatório de microrganismos. A identificação molecular não foi realizada na totalidade dos fungos isolados, porém, ainda que parcial, permitiu a caracterização de sete isolados, pertencentes aos gêneros *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Pestalotiopsis* e *Epicoccum*, os quais possuem relevância ecológica e biotecnológica (Figura 2).

A presença de *Aspergillus* e *Penicillium* no ambiente interno durante o inverno é um achado comum em estudos de qualidade do ar de interiores, uma vez que estes gêneros são cosmopolitas e conhecidos por sua capacidade de colonizar diversos substratos (Souza *et al.*, 2024). *Cladosporium* foi identificado em ambas as estações no ambiente externo, o que é esperado, já que é um dos fungos anemófilos mais abundantes na atmosfera global (Menezes, Perez, & Oliveira, 2017). Este fungo, juntamente com o *Aspergillus*, é um conhecido produtor de metabólitos bioativos (Yang, Zhang & Luo, 2012).

Figura 2 - Identificação molecular dos fungos isolados por estação e ambiente de coleta.Callou *et al.* (2025)

Gêneros como *Colletotrichum*, *Pestalotiopsis* e *Epicoccum*, frequentemente associados a plantas como patógenos ou endófitos (Kruschewsky, Luz & Bezerra, 2014; Fatima *et al.*, 2016; Taguiam, Evallo & Balendre, 2021) também foram detectados no ar externo, o que pode refletir a influência da vegetação do entorno do *Campus* universitário na composição da microbiota aérea. É importante ressaltar que a identificação taxonômica é um processo contínuo neste estudo, e a caracterização dos demais isolados poderá revelar uma diversidade ainda maior.

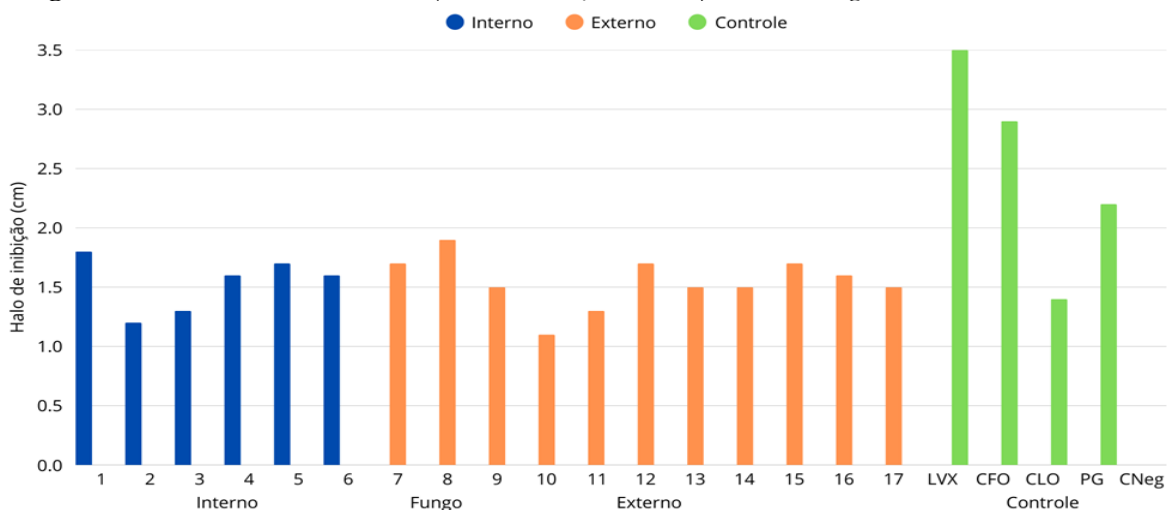
3.5 Triagem da Atividade Antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA)

A bioprospecção dos metabólitos secundários revelou um promissor potencial antibacteriano nos fungos isolados durante o inverno. Notavelmente, todos os 17 isolados testados (100%) inibiram o crescimento da cepa de MRSA, evidenciando uma ampla capacidade biossintética na microbiota local. A potência da atividade foi expressiva, com 76,4% dos isolados apresentando alta atividade (halo >14 mm), segundo a escala de Matsuura (2004). O diâmetro dos halos variou de 1,1 cm a 1,9 cm, com muitos isolados demonstrando uma inibição comparável ou superior ao antibiótico de controle Cloranfenicol (1,4 cm), o que reforça o potencial biotecnológico desses microrganismos (Figura 3).

A identificação molecular posterior de dois isolados com atividade moderada permitiu contextualizar esses achados com a literatura. O isolado 3, identificado como *Aspergillus* sp. (halo de 1,3 cm), pertence a um gênero mundialmente reconhecido como fonte de metabólitos essenciais, como a penicilina e a lovastatina, além de compostos com atividade anticancerígena, como a terreína (Rocha, 2017; Bladt *et al.*, 2013). Da mesma forma, o isolado 10, identificado como *Cladosporium* sp. (halo de 1,1 cm), pertence a um gênero reportado como produtor de compostos com atividade antimicrobiana e antitumoral (Bladt *et al.*, 2013).

A principal relevância deste estudo reside no fato de que, embora os gêneros já conhecidos tenham demonstrado atividade, a maioria dos isolados exibiu uma atividade inibitória ainda maior. Isso sugere fortemente que as linhagens mais promissoras, com halos de até 1,9 cm, podem pertencer a gêneros menos explorados, ressaltando o valor da microbiota anemófila local como um reservatório de novos compostos bioativos com potencial para o combate à resistência antimicrobiana.

Figura 3 - Atividade antibacteriana (halo de inibição em cm) de cada fungo, conforme o ambiente de coleta



Callou *et al.* (2025)

Considerando as limitações do ensaio, onde a triagem contra MRSA avaliou os isolados medindo apenas um halo de inibição por fungo (triagem com $n=1$), uma análise estatística exploratória foi realizada para comparar a potência da atividade antibacteriana entre os fungos isolados do ambiente interno ($n=6$) e do ambiente externo ($n=11$). A Tabela 2 resume as estatísticas descritivas e a classificação de atividade segundo Matsuura (2004), podendo-se observar que a maioria dos isolados de ambos os ambientes exibiram atividade antibacteriana alta, presente em mais de 80% dos isolados externos e dois terços dos internos, confirmando que fungos anemófilos de Garanhuns produzem metabólitos com atividade contra MRSA.

Foi aplicado o teste de Mann-Whitney U para comparar os dois grupos. O resultado ($U = 32$, $p = 0,852$) indicou que não há diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre a magnitude da atividade antibacteriana dos fungos isolados do ambiente interno e externo, o que reforça a conclusão de que, com base nesta amostragem, não há evidências para afirmar que o ambiente de origem influenciou a potência da atividade antibacteriana dos fungos isolados.

Tabela 2- Estatísticas descritivas dos halos de inibição (DHI) de acordo com o local de coleta dos fungos

Ambiente	Fungos (n)	Média DHI (cm)	Mediana (cm)	Desvio-padrão (cm)	Máx.-Mín. (cm)	Atividade Alta (>1,4cm)	Atividade Moderada (1,1-1,4 cm)
Interno	6	1,53	1,60	0,23	1,8-1,2	4 (66,7%)	2 (33,3%)
Externo	11	1,54	1,50	0,22	1,9-1,1	9 (81,8%)	2 (18,2%)

Fonte: elaborada pelos autores

Este achado sugere que, embora a quantidade de fungos seja muito menor no ambiente interno, a capacidade biossintética dos fungos presentes nesse ambiente pode ser comparada a dos fungos do ambiente externo. Por outro lado, o predomínio de atividade alta nos isolados externos (81,8 %) aponta que a transição climática semiárida, com ciclos de umidade e temperatura únicos, bem como radiação UV, parece estimular mecanismos de adaptações ambientais do fungo, os quais levam à síntese de metabólitos defensivos de amplo espectro (Hautbergue *et al.*, 2018; Rocha, 2017). Dessa forma, os resultados estabelecem que os fungos anemófilos do Agreste de Pernambuco, um recurso biológico ainda pouco explorado, constituem uma fonte promissora de novos agentes antibacterianos.

4 Conclusão

Os resultados observados neste estudo validam a metodologia e confirmam a presença de uma população fúngica anemófila diversa e dinâmica no Agreste Meridional de Pernambuco, com variações significativas entre os ambientes e ao longo das estações do ano. Houve maior abundância de fungos no ambiente externo, especialmente durante o inverno, reforçando esse ambiente como principal reservatório de propágulos, em contraste com o ambiente interno estudado, o qual se manteve dentro dos padrões de qualidade do ar estabelecidos pela ANVISA em todas as estações. Além disso, a análise sazonal revelou que a umidade relativa do ar é o fator ambiental com a mais forte influência positiva na concentração de fungos, com um pico notável no inverno, período que se mostrou ideal para a esporulação e dispersão fúngica.

A diversidade dos isolados obtidos, incluindo gêneros de relevância clínica e biotecnológica, constitui um recurso estratégico para a bioprospecção dos metabólitos fúngicos secundários. Nesse contexto, os achados deste estudo não apenas ampliam o conhecimento sobre a ecologia de fungos anemófilos na região semiárida, como também indicam perspectivas promissoras para futuras investigações químicas e farmacológicas.

Por fim, por se tratar de um estudo preliminar, torna-se fundamental a continuidade deste trabalho, que deverá focar em refinamentos metodológicos, na identificação molecular dos isolados mais potentes, na realização de ensaios para caracterizar as moléculas responsáveis pela atividade antibacteriana e, finalmente, na avaliação de seu potencial terapêutico. Tais etapas são essenciais para preencher lacunas importantes na busca por alternativas para a crescente crise da resistência antimicrobiana.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Pró-reitora de Pós-Graduação, Pesquisa e Inovação da Universidade de Pernambuco e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio institucional, por meio da concessão de bolsas aos docentes Letícia Araújo e João Calife, no âmbito do Edital de Iniciação Científica, Tecnológica e Inovação – 2024 (Edital ICTI 2024).

Agradecemos também ao Laboratório de Biologia Molecular da UPE – *Campus Garanhuns* e ao Laboratório de Genética Molecular Humana/Exames de DNA da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pela colaboração técnica e científica no desenvolvimento deste estudo.

Conflitos de interesses

Os autores declaram não possuir conflitos de interesse relacionados à realização desta pesquisa ou à elaboração do presente manuscrito, estando todos cientes da submissão do mesmo.

Contribuições dos autores

Dra. Elisângela Ramos Castanha (Professora Orientadora): Conceitualização e planejamento do projeto de pesquisa, captação de recursos e financiamento, supervisão e mentoria, validação da metodologia geral dos ensaios microbiológicos e de atividade biológica, análise e interpretação dos dados, redação (revisão e edição) da versão final do manuscrito.

Dr. Vladimir da Mota Silveira Filho (Professor Colaborador): Apoio técnico nas análises moleculares e provimento da metodologia específica, fornecimento de reagentes específicos, protocolos e acesso a equipamentos do laboratório de Biologia Molecular, contribuição na análise e interpretação dos resultados do sequenciamento de DNA e da identificação molecular dos fungos, redação e revisão crítica da seção de metodologia relacionada à biologia molecular e dos resultados correspondentes no manuscrito.

Docentes: Levantamento de literatura científica para embasar a introdução, a metodologia e a discussão dos resultados, execução experimental do projeto, coleta e análise de dados, redação da primeira versão do manuscrito, organização das referências bibliográficas.

REFERÊNCIAS

Abreu, J. O. (2016). *Avaliação da qualidade microbiológica do ar interno em diferentes ambientes em um instituto de ensino e pesquisa* (Trabalho de conclusão de curso, 64 f.). Curso de Ciências Ambientais, Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará. Repositório Institucional da UFC. <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/25368>

Bladt, T. T., Frisvad, J. C., Knudsen, P. B., & Larsen, T. O. (2013). Anticancer and antifungal compounds from *Aspergillus*, *Penicillium* and other filamentous fungi. *Molecules*, 18(9), 11338–11376. <https://doi.org/10.3390/molecules180911338>

Bortoletto, M. É., Machado, R. R., & Coutinho, E. (2002). Contaminação fúngica do acervo da biblioteca de Mangueiras da Fundação Oswaldo Cruz: ações desenvolvidas para sua solução. *Encontros Bibli: Revista Eletrônica de Biblioteconomia e Ciência da Informação*, 7(14), 9–18. <https://doi.org/10.5007/1518-2924.2002v7n14p9>

- Fatima, N., Ismail, T., Muhammad, S. A., Jadoon, M., Ahmed, S., Azhar, S., & Mumtaz, A. (2016). *Epicoecum* sp., an emerging source of unique bioactive metabolites. *Acta poloniae pharmaceutica*, 73(1), 13–21.
- Frankel, M., Bekö, G., Timm, M., Gustavsen, S., Hansen, E. W., & Madsen, A. M. (2012). Seasonal variations of indoor microbial exposures and their relation to temperature, relative humidity, and air exchange rate. *Applied and environmental microbiology*, 78(23), 8289–8297. <https://doi.org/10.1128/AEM.02069-12>
- Hautbergue, T., Jamin, E. L., Debrauwer, L., Puel, O., & Oswald, I. P. (2018). From genomics to metabolomics, moving toward an integrated strategy for the discovery of fungal secondary metabolites. *Natural product reports*, 35(2), 147–173. <https://doi.org/10.1039/c7np00032d>
- Hawksworth, D. L. (2011). Naming *Aspergillus* species: Progress towards one name for each species. *Medical Mycology*, 49(Suppl 1), S70–S76. <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.504753>
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2022). *Garanhuns (PE)*. IBGE. Recuperado em 20 de agosto de 2025, de <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pe/garanhuns.html>
- Kruschewsky, M. C., Luz, E. D. M. N., & Bezerra, J. L. (2014). O gênero *Pestalotiopsis* (Ascomycota, 'Coelomycetes') no Brasil. *Agrotropica*, 26(2), 89–98. <https://repositorio-dspace.agricultura.gov.br/bitstream/1/1533/1/BR2019000379%20%282%29.pdf>
- Lacaz, C. da S., Porto, E., Vaccari, E. M. H., & Melo, N. T. (1998). *Guia para identificação: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico* (8. ed., 445 p.). São Paulo: Sarvier.
- Lima, M. L. F., Lima, J. S., & Silva, M. T. (2019). Fungos anemófilos: avaliação da microbiota do ar em ambientes interno e externo. *Essentia*, 20(1), 88–95. Recuperado de <https://essentia.uvanet.br/index.php/ESSENTIA/article/view/220>
- Matsuura, T. (2004). *Caracterização taxonômica de actinomicetos endofíticos produtores de antibióticos isolados de cupuaçuzeiro (Theobroma grandiflorum Schum.)* (Tese de doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2004.324478>
- Menezes, C. P., Perez, A. L. A. de L., & Oliveira, E. L. (2017). *Cladosporium* spp: Morfologia, infecções e espécies patogênicas. *Acta Brasiliensis*, 1(1), 23. <https://doi.org/10.22571/actabra1120176>
- Naranjo-Ortiz, M. A. & Gabaldón, T. (2019). Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 94(6), 2101-2137. <https://doi.org/10.1111/brv.12550>
- Nascimento, G. C. (2011). *Avaliação da qualidade do ar em ambientes internos: biblioteca pública* (Dissertação de Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. <https://doi.org/10.11606/D.18.2011.tde-11052011-135603>
- Pantoja, L. D. M., Nascimento, R. F. D., & Nunes, A. B. D. A. (2015). *Investigação de compostos orgânicos voláteis fúngicos na qualidade do ar de espaços internos de uma biblioteca pública*. *Revista Brasileira de Ciências Ambientais*, (37), 16–25. <https://doi.org/10.5327/Z2176-94782015001>
- Penha, M. G., Chagas, M. G., Furieri, B., Espírito Santo, G., & Ribeiro Cavalcante, F. (2025). *Monitoramento da qualidade do ar em ambiente interno: estudo de caso em uma instituição de ensino superior*. In *Anais do 25.º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental.
- Pereira, É. J. M. C., Amorim, É. A. d. F., Aragão, F. M. M., Câmara, W. d. S., Araújo, M. C., Pereira, C. D. d. S., Dias, L. R. L., Gomes, W. C., Aliança, A. S. d. S., Souza, J. C. d. S., da Silva, L. C. N., & Miranda, R. d. C.

- M. d. (2023). Biocontrol potential of *Serratia marcescens* (B8) and *Bacillus* sp. (B13) isolated from urban mangroves in Raposa, Brazil. *Life*, 13(10), 2036. <https://doi.org/10.3390/life13102036>
- Raghava Rao, K. V., Mani, P., Satyanarayana, B., & Raghava Rao, T. (2017). Purification and structural elucidation of three bioactive compounds isolated from *Streptomyces coelicoflavus* BC 01 and their biological activity. *3 Biotech*, 7(1), 24. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0581-9>
- Ribeiro, A. L. P. de C., & Lubisco, N. M. L. (2016). Redução de fungos em ambiente de biblioteca: viabilidade de aplicação de neblina ativada. *Perspectivas em Gestão & Conhecimento*, 6(2), 250–260. <https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/24086/1/Redu%0c3%a7%0c3%a3o%20de%20fungos%20em%20biblioteca.pdf>
- Rocha, R. T. (2017). *Genômica comparativa de cepas de Aspergillus terreus visando a produção de lovastatina* (Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília). Repositório Institucional da Universidade de Brasília. <http://dx.doi.org/10.26512/2016.12.D.23117>
- Silva, D. P. D. (2023). *Isolamento de microrganismos endofíticos obtidos de plantas da Caatinga, caracterização dos seus metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antibiofilme* (Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul). Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da UFRGS. <http://hdl.handle.net/10183/258343>
- Sobral, L. V. (2016, 12 de julho). *Fungos anemófilos em ambientes climatizados: prevalência, produção de enzimas e atividade antibacteriana* [Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco]. Repositório Institucional da UFPE.
- Sociedade Brasileira de Microbiologia. (2017). A ameaça das superbactérias. *Revista Microbiologia In Foco* (Edição Especial, n.º 31), 11–16.
- Souza, M. A. A., Silva, L. L. F. P., Santos, I. D. L., Araújo, T. D. B., Oliveira, J. S., & Ferreira, R. L. N. (2024). Prevalência de fungos anemófilos no Brasil e a correlação com doenças respiratórias e infecções fúngicas. *Ciência & Saúde Coletiva*, 29(6), 2489–2498. <https://doi.org/10.1590/1413-81232024296.22382023>
- Souza, P. M. S., Andrade, S. L. de, & Lima, A. F. de. (2013). Pesquisa, isolamento e identificação de fungos anemófilos em restaurantes self-service do centro de Maceió/AL. *Caderno de Graduação – Ciências Biológicas e da Saúde – UNIT – Alagoas*, 1(3), 147–154.
- Taguiam, J. D., Evallo, E., & Balendres, M. A. (2021). Epicoccum species: ubiquitous plant pathogens and effective biological control agents. *European Journal of Plant Pathology*, 159(4), 713–725. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02207-w>
- White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. B., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315–322). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Yamaguchi, L. C. T., Carneiro, A. V., & Carvalho, G. R. (2009). Caracterização e identificação de sistemas referências de produção de leite na região Agreste do estado de Pernambuco. *Boletim CBLite*, 2(8), 18–22.
- Yang, X.-L., Zhang, J.-Z., & Luo, D.-Q. (2012). The taxonomy, biology and chemistry of the fungal *Pestalotiopsis* genus. *Natural Product Reports*, 29(6), 622–641. <https://doi.org/10.1039/c2np00073c>
- Zaitz, C., Campbell, I., Marques, S. A., Ruiz, L. R. B., & Framil, V. M. S. (2012). *Compêndio de micologia médica* (2. ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.