**Dr. Lucas Lopes e Silva**

# Aerobiologia de *Aspergillus fumigatus* e detecção fenotípica de crescimento em meios suplementados com triazóis em agroecossistema de cana-de-açúcar no Noroeste de São Paulo

Relatório de Pós-doutorado realizado na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Câmpus de Ilha Solteira, Área de Pesquisa em Ciências Agrárias.

Supervisor: Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini

Ilha Solteira

2026

**Resumo**

Este estudo investigou a presença e a dinâmica aerobiológica de *Aspergillus fumigatus* em agroecossistema de cana-de-açúcar no noroeste do estado de São Paulo, bem como o crescimento de colônias em meios suplementados com tebuconazol e voriconazol. A amostragem aerobiológica foi realizada mensalmente, entre janeiro e novembro de 2025, em cinco pontos fixos, utilizando armadilhas Delta-trap com adesivos. Os esporos capturados foram cultivados em meio DRBC e as colônias compatíveis com *A. fumigatus* foram avaliadas quanto ao crescimento em meios contendo tebuconazol (8 mg $L^{-1}$) e voriconazol (4 mg $L^{-1}$). Observou-se presença recorrente de *A. fumigatus* ao longo do período de monitoramento, com variação temporal significativa no número total de colônias recuperadas e no número de colônias com crescimento em meios suplementados. De modo geral, as variáveis meteorológicas mensais analisadas não explicaram isoladamente a dinâmica observada para a abundância total de *A. fumigatus* e para os números absolutos de colônias com crescimento em meios suplementados, embora tenha sido verificada correlação positiva entre a umidade relativa do ar e a fração mensal de crescimento em meio contendo tebuconazol. Os resultados fornecem dados relevantes sobre a aerobiologia de *A. fumigatus* em ambiente agrícola tropical e subsídios iniciais para o monitoramento ambiental de perfis de sensibilidade a azólicos.

**Palavras-chave:** Fungicidas. Monitoramento ambiental. Variabilidade temporal. Patógeno

**Abstract**

This study investigated the presence and aerobiological dynamics of *Aspergillus fumigatus* in a sugarcane agroecosystem in the northwestern region of São Paulo State, Brazil, as well as the growth of colonies on media supplemented with tebuconazole and voriconazole. Aerobiological sampling was carried out monthly from January to November 2025 at five fixed sampling points using adhesive Delta traps. The captured spores were cultured on DRBC medium, and colonies compatible with *A. fumigatus* were subsequently assessed for growth on media containing tebuconazole (8 mg $L^{-1}$) and voriconazole (4 mg $L^{-1}$). Recurrent presence of *A. fumigatus* was observed throughout the monitoring period, with significant temporal variation in both the total number of recovered colonies and the number of colonies growing on supplemented media. In general, the monthly meteorological variables analyzed did not independently explain the observed dynamics of total *A. fumigatus* abundance or the absolute number of colonies growing on supplemented media, although a positive correlation was found between relative humidity and the monthly fraction of growth on tebuconazole-containing medium. These results provide relevant data on the aerobiology of *A. fumigatus* in a tropical agricultural environment and offer initial support for the environmental monitoring of azole sensitivity profiles.

**Keywords:** Fungicides. Environmental monitoring. Temporal variability. Pathogen.

## 1. Introdução

Estima-se que as perdas causadas por fungos na produção de alimentos sejam suficientes para alimentar 50% da população mundial e espera-se que isso aumente em um mundo em aquecimento (Stuckenbrock e Gurr, 2023). Esse impacto devastador é sentido mais intensamente em países de baixa e média renda cujas economias dependem da agricultura (Celia-Sanchez *et al.*, 2024). As perdas de safra são mitigadas por uma série de intervenções que incluem o uso de milhões de toneladas de fungicidas que persistem no ambiente por muitos anos.

Uma das classes mais importantes de fungicidas usadas para proteção de safras são os triazóis. Recentemente, tornou-se evidente que o uso ambiental generalizado de triazóis levou a uma pandemia de resistência em um patógeno humano *Aspergillus fumigatus* às terapias de primeira linha usadas para tratá-lo (Rhodes *et al.*, 2022; Kang *et al.*, 2022). Acredita-se que a compostagem de resíduos vegetais seja um fator- chave para isso (Shelton *et al.*, 2022), no entanto, algumas práticas agrícolas, como o plantio direto ou a aplicação em sulcos de fungicidas triazóis em solos cultivados, também podem contribuir.

Os fungicidas triazóis usados na proteção de culturas estão impulsionando o surgimento de isolados clínicos de *A. fumigatus* resistentes a azóis clínicos (Khateb *et al.*, 2023). Foi demonstrado que a resistência aumenta as taxas de mortalidade de 100 dias de 37% para 62% (Lestrade *et al.*, 2019). Há um consenso de que a resistência a fungicidas triazóis agrícolas e azóis clínicos em *A. fumigatus* é um problema ecológico e de saúde pública global significativo que requer ação imediata (World Health Organization, 2022). A crescente proeminência de *A. fumigatus* resistente a azóis clínicos levou a um investimento significativo em uma nova geração de antifúngicos (Wang *et al.*, 2024). Um desses agentes, o olorofim, se destaca por ter um mecanismo de ação totalmente novo, interrompendo a biossíntese de pirimidina ao inibir uma enzima chamada diidroorotato desidrogenase (DHODH), uma enzima essencial na via de biossíntese de pirimidinas, que são blocos fundamentais para a síntese de DNA e RNA (Oliver *et al.*, 2016). O ipflufenoquin, um inibidor análogo da DHODH, foi recentemente aprovado para uso nos Estados Unidos e está em processo de revisão para aprovação na União Europeia e no Brasil (HIGASHIMURA *et al.*, 2022). No entanto, há preocupações crescentes de que seu uso disseminado possa acelerar o desenvolvimento de resistência, tanto no ambiente quanto em contextos clínicos. Estudos indicam que o ipflufenoquin pode induzir resistência cruzada ao olorofim em *A. fumigatus*, sem comprometer sua viabilidade em condições laboratoriais (van Rhijn *et al.*, 2019).

É fundamental a compreensão dos fatores de risco associados ao uso de fungicidas triazóis

agrícolas existentes e novos e como eles contribuem para a expansão de populações de *A. fumigatus* resistentes a azóis clínicos (Jenks *et al.*, 2023). Sabe-se que a compostagem de resíduos vegetais contaminados por fungicidas triazóis contribui para a amplificação da resistência antimicrobiana de *A. fumigatus* (AMR) (Shelton *et al.*, 2022). Entretanto, pouco se sabe sobre como o uso intensivo de fungicidas em agroecossistemas tropicais e subtropicais onde os níveis de temperatura e umidade são mais propícios para o crescimento e multiplicação de *A. fumigatus*, contribui para a expansão de populações resistentes deste fungo ambiental (Bromley *et al.*, 2014).

Para compreender se o uso de triazóis é relevante para a emergência e a expansão de populações resistentes de *A. fumigatus* no agroecossistema (Dought *et al.*, 2021), monitoramos a dispersão aérea de esporos de *A. fumigatus* (aerobiologia) em canaviais do Noroeste de São Paulo onde os fungicidas triazóis são comumente aplicados por pulverização para manejo de doenças da parte aérea da cana-de-açúcar. Também foram quantificadas as frações sensíveis e resistentes de *A. fumigatus* ao fungicida agrícola tebuconazol e ao antifúngico clínico voriconazol. Especificamente, nosso estudo buscou avaliar se a pulverização de triazóis em áreas agrícolas intensamente cultivadas está associada à resistência de *A. fumigatus* a antifúngicos clínicos.

## 2. Objetivo Geral

Investigar a presença, distribuição e resistência antifúngica do *A. fumigatus* em amostras de ar do agroecossistema da cana-de-açúcar no noroeste de São Paulo, visando compreender os fatores ambientais associados à emergência e disseminação da resistência.

### Objetivos Específicos

1.1. Caracterizar a aerobiologia do *A. fumigatus* no agroecossistema da cana-de-açúcar, por meio da coleta sistemática de amostras de ar em armadilhas delta.

1.2. Quantificar as frações resistentes de *A. fumigatus* nas amostras de ar, aos triazóis voriconazol e tebuconazol.

1.3. Realizar a caracterização fenotípica da sensibilidade e resistência a fungicidas triazóis, com base na EC50 (a concentração eficaz do fungicida capaz de inibir 50% do crescimento micelial fúngico).

1.4. Avaliar os riscos potenciais da resistência antifúngica, fornecendo dados que possam orientar políticas de monitoramento e mitigação, caso sejam detectadas taxas significativas de resistência no ambiente.

## 3. Material e Métodos

### Amostragem aerobiológica e obtenção dos isolados

O experimento foi realizado no Noroeste paulista, em área cultivada com cana-de-açúcar, com o apoio da indústria de moagem de cana-de-açúcar e álcool da região, que forneceu acesso às suas instalações. A amostragem aerobiológica foi conduzida ao longo de 11 meses consecutivos (janeiro a novembro de 2025), em cinco pontos fixos de coleta. As amostras foram obtidas mensalmente para o isolamento do *A. fumigatus*, com o objetivo de avaliar a dinâmica temporal da dispersão de esporos deste fungo. Os procedimentos de amostragem de esporos aéreos seguiram o método das armadilhas Delta-trap com um adesivo na base, conforme proposto por Kortenbosch *et al.* (2022). As armadilhas foram instaladas e mantidas por quatro semanas nos locais de amostragem, como apresentado na Figura 1.

**Figura 1** - Amostragem de ar usando armadilhas Delta-trap para estudo da aerobiologia de *A. fumigatus* em canaviais do Noroeste de São Paulo. Cada armadilha contém um selo adesivo para coleta de esporos de *A. fumigatus*. Devido ao formato semiaberto, as paredes triangulares das armadilhas ajudam a proteger os esporos contra incidência direta de luz UV sobre os selos adesivos, além de reduzir a lavagem e remoção dos esporos pela chuva.



### Avaliação fenotípica do crescimento em meio suplementado com azólicos

O isolamento de *A. fumigatus* resistente a triazóis foi realizado a partir dos esporos coletados em armadilhas delta-trap com adesivos (Kortenbosch *et al.*, 2022). O cultivo seguiu um protocolo

de três etapas: a) Cultivo inicial: os esporos capturados no adesivo foram transferidos para a placa de Petri contendo meio seletivo ágar diclorano rosa de bengala (DRBC) sem triazóis, permitindo o crescimento inicial das colônias. As placas foram seladas com Parafilm® e incubadas a 48°C por 35 horas (Figura 2). b) Seleção de colônias resistentes: após a contagem e identificação das colônias das placas da incubação inicial, todas as colônias das placas iniciais foram transferidas para placas com o meio DRBC suplementado com voriconazol (4 mg $L^{-1}$) e tebuconazol (8 mg $L^{-1}$), possibilitando a identificação de colônias resistentes. As placas com tebuconazol (8 mg $L^{-1}$) foram seladas com Parafilm® e incubadas por mais 7 dias e as placas com voriconazol (4 mg $L^{-1}$) foram seladas com Parafilm® e incubadas por mais 14 dias, todas a 37°C (Fraczek *et al.*, 2013). c) Contagem e identificação final: as unidades formadoras de colônia (UFCs) foram quantificadas, diferenciando colônias resistentes das sensíveis. A partir dessa etapa, foram obtidos, para cada ponto e mês de amostragem, o número total de colônias de *A. fumigatus*, o número de colônias com crescimento em meio contendo tebuconazol e o número de colônias com crescimento em meio contendo voriconazol. Com base nesses dados, também foram calculadas as frações mensais de resistência, considerando a razão entre o número de colônias com crescimento em cada meio suplementado e o número total mensal de colônias recuperadas.

**Figura 2 -** Cultivo inicial de *A. fumigatus* isolado a partir de esporos capturados em selo adesivo adicionado as armadilhas delta, após um mês em canavial do Noroeste Paulista. Os selos com esporos fúngicos foram transferidos para placas de Petri contendo meio DRBC sem triazóis, permitindo o crescimento inicial das colônias. As placas foram incubadas a 48°C por 35 horas, resultando no desenvolvimento das colônias típicas de *A. fumigatus*.



### Variáveis meteorológicas

Foram utilizados dados meteorológicos mensais referentes ao período de amostragem, a fim de investigar a possível influência das condições ambientais sobre a dinâmica temporal de *A. fumigatus*. As variáveis analisadas foram temperatura média do ar (°C), umidade relativa média do ar (%) e precipitação pluvial acumulada mensal (mm). Os dados foram obtidos no Portal Clima da UNESP Ilha Solteira, vinculado à Área de Hidráulica e Irrigação da FEIS/UNESP, utilizando-se os registros da estação adjacente ao experimento. Posteriormente, esses dados foram integrados às variáveis microbiológicas mensais.

### Análise estatística

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro–Wilk. A variação temporal do número total de colônias de *A. fumigatus* e do número de colônias com crescimento em meio contendo voriconazol e tebuconazol, ao longo de 11 meses de amostragem em cinco pontos fixos, foi analisada pelo teste de Friedman, seguido de comparações múltiplas pareadas com ajuste de Bonferroni, quando aplicável. A magnitude do efeito temporal foi estimada pelo coeficiente de concordância de Kendall (W). Para as análises temporais, os cinco pontos fixos de coleta foram considerados como blocos amostrais relacionados, avaliados ao longo dos 11 meses de amostragem. Para a caracterização descritiva dos dados, foram obtidas médias e amplitudes (mínimo–máximo). As associações entre variáveis microbiológicas mensais e meteorológicas foram avaliadas por correlação de Spearman. As análises foram realizadas no IBM SPSS Statistics, v. 27.

### Identificação molecular dos isolados de *A. fumigatus*

A identificação molecular dos isolados selecionados em nível de espécie foi realizada por PCR. O micélio fúngico foi obtido de colônias cultivadas em meio PDA por 72h a 37°C. O DNA genômico foi extraído do micélio liofilizado usando o kit de purificação de DNA Wizard® (Promega, EUA), conforme as instruções do fabricante. A quantificação do DNA foi realizada em um espectrofotômetro Nanodrop® 2000c (Thermo Fisher Scientific, EUA) e visualizada em gel de agarose a 1%.

A identificação de *A. fumigatus* foi realizada por PCR utilizando os primers específicos de β-tubulina e rodletA, específicos para *A. fumigatus* e para a seção *A. fumigatus* (Tabela 1). As amplificações foram conduzidas em um termociclador ProFlex PCR (Applied Biosystems, EUA), com as seguintes condições de ciclagem: após uma pré-incubação a 95°C por 15 min, a amplificação foi realizada em um total de 35 ciclos: desnaturação a 94°C por 30 s, anelamento a

69°C por 90 s, extensão a 72°C por 1 min e uma extensão final a 72°C por 10 min. A amplificação específica gerou fragmentos de aproximadamente 153 pb para o gene β-tubulina e 105 pb para o gene rodletA, respectivamente. Em contraste, para *A. fumigatus*, os fragmentos obtidos tinham 198 e 313 pb para os genes β-tubulina e rodletA, respectivamente (Serrano *et al.*, 2011).

**Tabela 1 -** Primers utilizados para identificação molecular de *A. fumigatus* e a seção *Aspergillus.*

| Gênero/Espécie | Alvo | Primers (5'-3') | Tamanho do amplicon |
|---|---|---|---|
| Seção *Fumigati* do gênero *Aspergillus* | *β-tubulina* | F AGGCAGACCATCTCTGGTGAG<br>R TCGGAGGAGGCCATTGTAGC | 153 pb |
| | *rodlet A* | F CCAGGCTCAGCTCTCTTGCT<br>R CCACCACCGATGAGGTTCTT | 105 pb |
| *A. fumigatus* | *β-tubulina* | F TGACGGGTGATTGGGATTCTC<br>R CGTCCGCTTCCTTGTTT | 198 pb |
| | *rodlet A* | F ACATTGACGAGGGCATCCTT<br>R ATGAGGGAACCGCTCTGATG | 313 pb |

**Avaliação da sensibilidade e resistência azólica de isolados de *A. fumigatus* em andamento**

Isolados de *A. fumigatus* estão sendo fenotipados para sensibilidade a fungicida triazol e a antifúngico clínico azólico determinando-se a EC50 para o fungicida tebuconazol, comumente utilizado na agricultura, e voriconazol, utilizado no tratamento clínico. Culturas fúngicas preservadas a -20°C estão sendo reativadas em PDA e incubadas a 37°C por 72h.

O inóculo fúngico foi preparado usando discos de papel de filtro estéreis de 0,5 cm de diâmetro impregnados com uma suspensão de esporos conhecida, que estão sendo transferidos para novas placas de PDA suplementadas com concentrações crescentes dos fungicidas (0; 0,03; 0,1; 0,5; 2,0; 4,0; 8,0; 16 μg $mL^{-1}$). As placas estão sendo seladas com Parafilm® e incubadas a 37°C por 48 a 72h, após o que o crescimento micelial será medido e a inibição relativa em cada dose será determinada para calcular a EC50, em μg $mL^{-1}$, para cada fungicida.

Com base nos dados de crescimento micelial, a EC50 está sendo determinada, em μg $mL^{-1}$, utilizando o pacote R ec50estimator, em conjunto com a biblioteca drc, para análise de curvas dose-resposta (Knezevic *et al*., 2007). Esse método proporciona uma maneira rápida, simples e

automatizada de estimar a EC50 a partir de múltiplos conjuntos de dados de isolados. O pacote também é otimizado para lidar com dados estratificados, considerando diferentes fungicidas, campos, populações geográficas e origem das amostras. Esse pacote permite testar hipóteses sobre a função matemática mais adequada (fct) para estimar a EC50 a partir da curva dose-resposta. Também estão sendo estimados os intervalos de confiança. A análise de variância (ANOVA) será realizada pelo teste F, e a comparação de médias será conduzida no ambiente R, utilizando as bibliotecas estatísticas agricolae e ScottKnott (R Development Core Team, 2022). O teste de Scott-Knott (com $\alpha \leq 0,05$) será aplicado para comparar as médias dos tratamentos.

## 4. Resultados

### Dinâmica temporal de *A. fumigatus* nas amostras aerobiológicas

A quantificação mensal das colônias de A. fumigatus revelou variação temporal significativa ao longo dos 11 meses de amostragem. O número total de colônias diferiu entre os meses (Figura 3), de acordo com o teste de Friedman ($\chi^2(10)=33,920$; $p<0,001$), com magnitude de efeito elevada, conforme indicado pelo coeficiente de concordância de Kendall ($W=0,678$). As comparações múltiplas pareadas com ajuste de Bonferroni indicaram diferenças significativas entre os meses 1 e 7 ($p=0,023$), 1 e 11 ($p=0,033$), e 4 e 7 ($p=0,047$), indicando oscilações marcantes na abundância do fungo ao longo do período avaliado.

De modo semelhante, o número de colônias com crescimento em meio suplementado com tebuconazol (8 mg $L^{-1}$) também apresentou variação temporal significativa ($\chi^2(10)=24,567$; $p=0,006$), com efeito de magnitude moderada ($W=0,491$) (Figura 4). As comparações múltiplas pareadas não evidenciaram diferenças significativas entre pares específicos de meses após o ajuste de Bonferroni.

Para o meio com voriconazol (4 mg $L^{-1}$), também foi observada variação temporal significativa no número de colônias com crescimento nesse meio ($\chi^2(10)=20,588$; $p=0,024$), também com magnitude moderada ($W=0,412$) (Figura 5). Assim como verificado para o tebuconazol, as comparações pareadas entre os meses não indicaram diferenças significativas após o ajuste para múltiplas comparações.

**Figura 3** - Variação temporal do número total de colônias de *A. fumigatus* em amostras aerobiológicas coletadas mensalmente em cinco pontos fixos em cultivo de cana-de-açúcar. Os pontos representam as médias mensais e as barras de erro indicam os valores mínimo e máximo observados em cada mês.

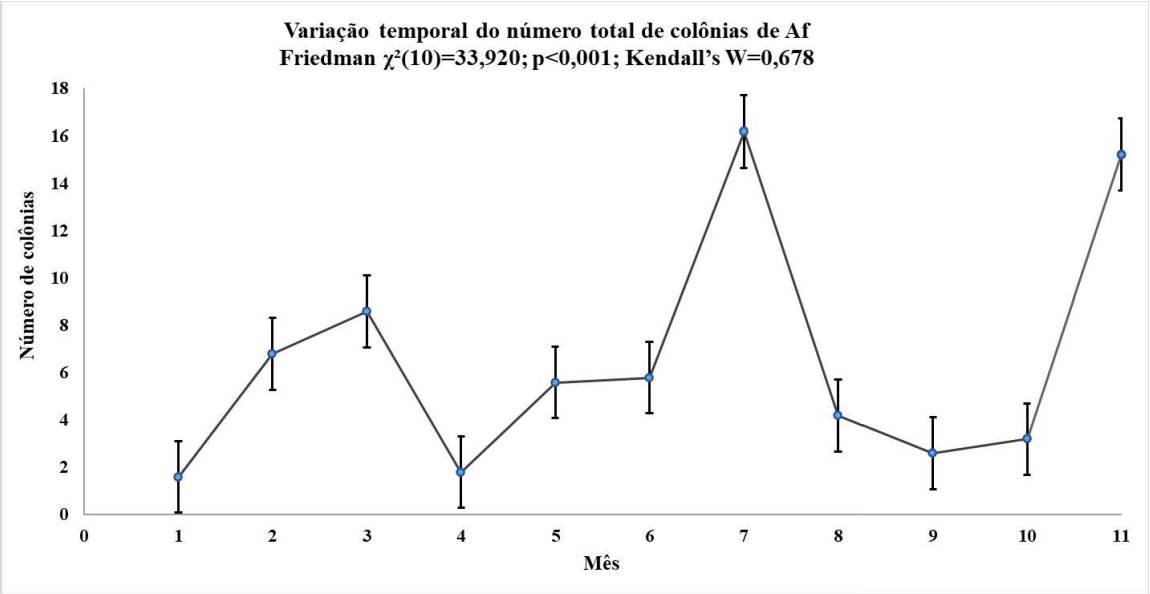



**Figura 4** - Variação temporal do número de colônias de A. fumigatus com crescimento em meio suplementado com tebuconazol (8 mg $L^{-1}$) em amostras aerobiológicas coletadas mensalmente em cinco pontos fixos em cultivo de cana-de-açúcar. Os pontos representam as médias mensais e as barras de erro indicam os valores mínimo e máximo observados em cada mês.

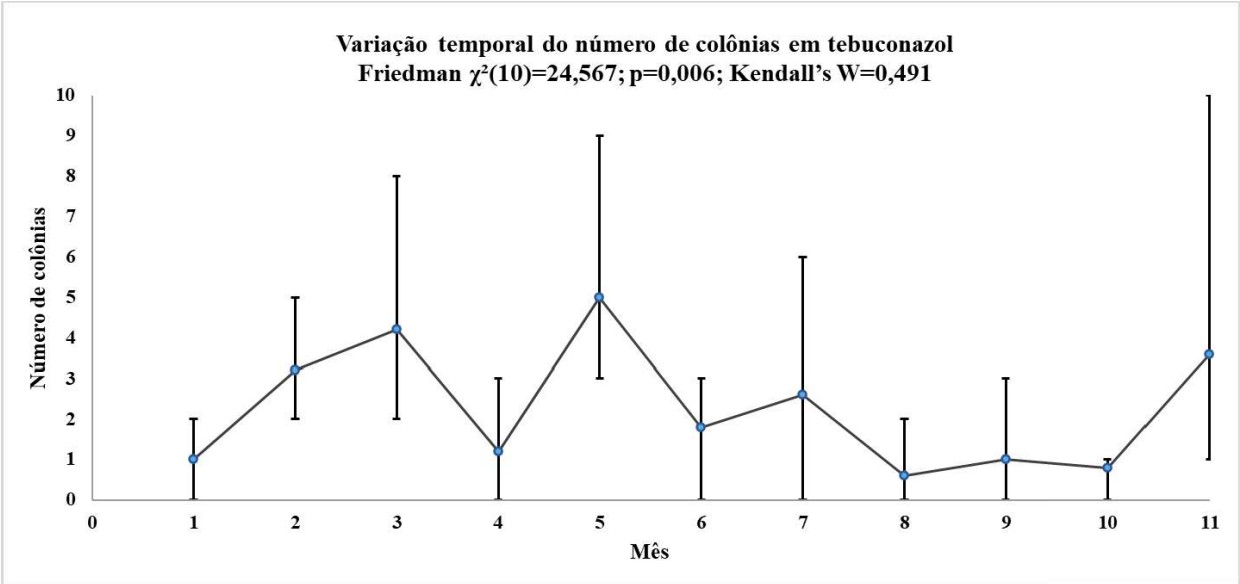
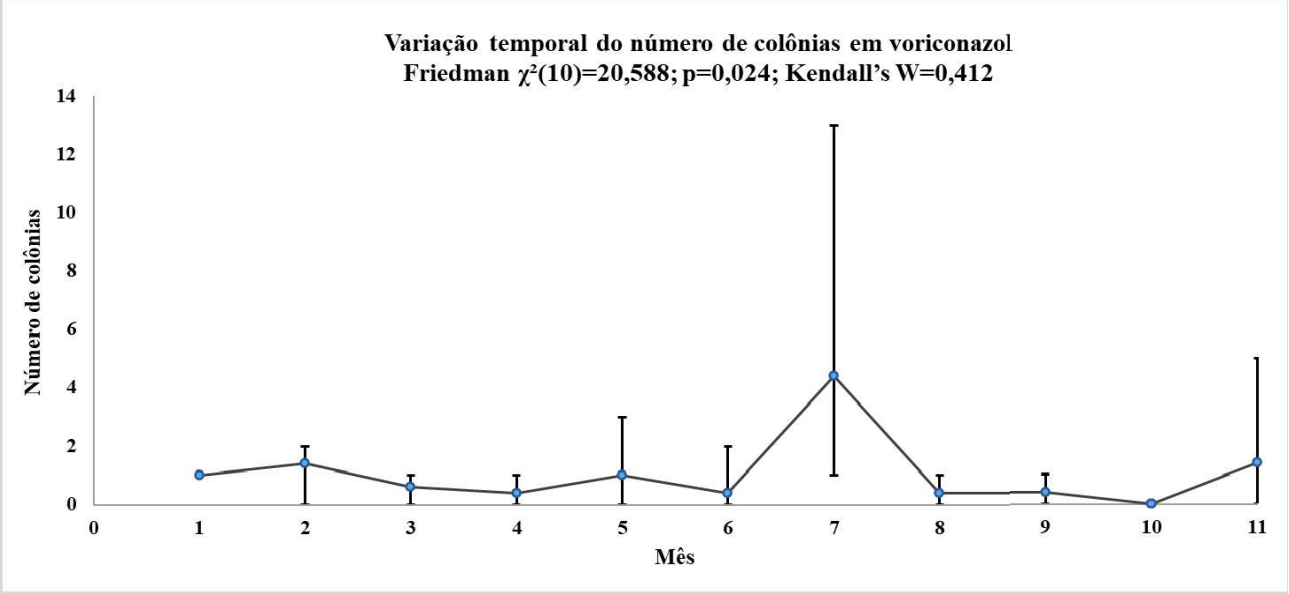



**Figura 5** - Variação temporal do número de colônias de *A. fumigatus* com crescimento em meio suplementado com voriconazol (4 mg $L^{-1}$) em amostras aerobiológicas coletadas mensalmente em cinco pontos fixos em cultivo de cana-de-açúcar. Os pontos representam as médias mensais e as barras de erro indicam os valores mínimo e máximo observados em cada mês.



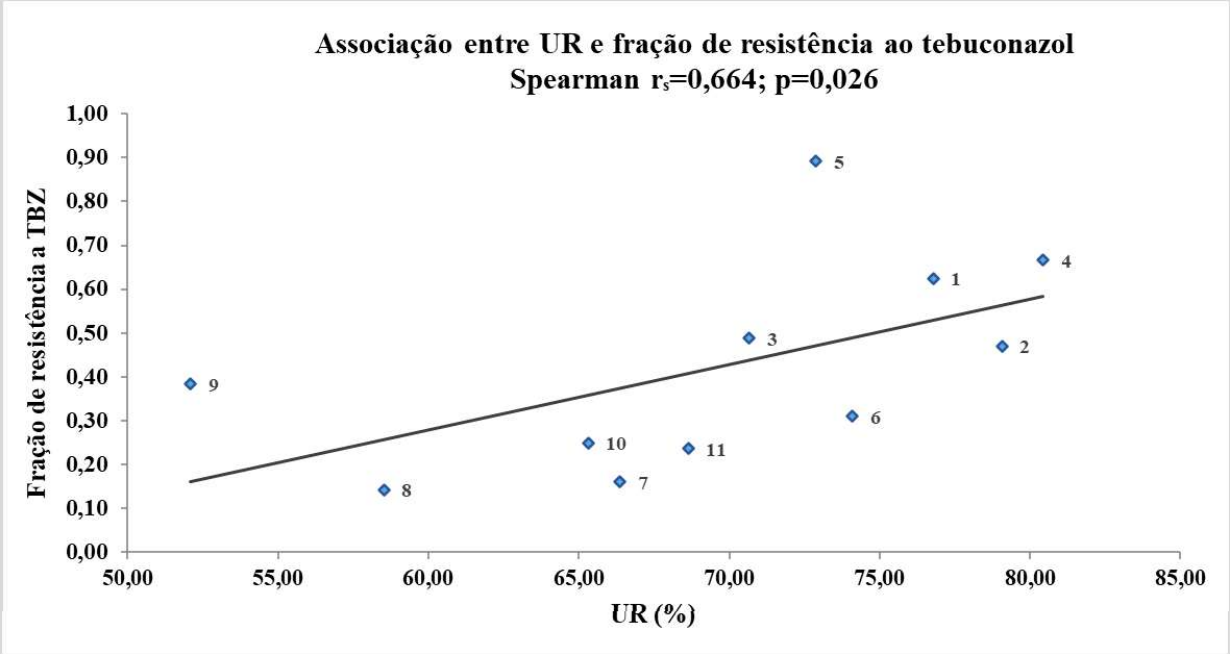

Em conjunto, esses resultados evidenciam que tanto a abundância total de *A. fumigatus* quanto o número de colônias com crescimento em meios suplementados com tebuconazol e voriconazol oscilaram ao longo do período de monitoramento, embora as diferenças entre meses específicos tenham sido mais claramente detectadas para o número total de colônias.

**Associação entre variáveis microbiológicas e condições meteorológicas**

A análise de correlação de Spearman não evidenciou associação significativa entre temperatura média do ar, umidade relativa média do ar (UR) ou precipitação pluvial acumulada e o número total mensal de colônias de *A. fumigatus*, nem com o número de colônias com crescimento em meio contendo tebuconazol ou voriconazol, considerando-se tanto as médias mensais quanto os totais mensais.

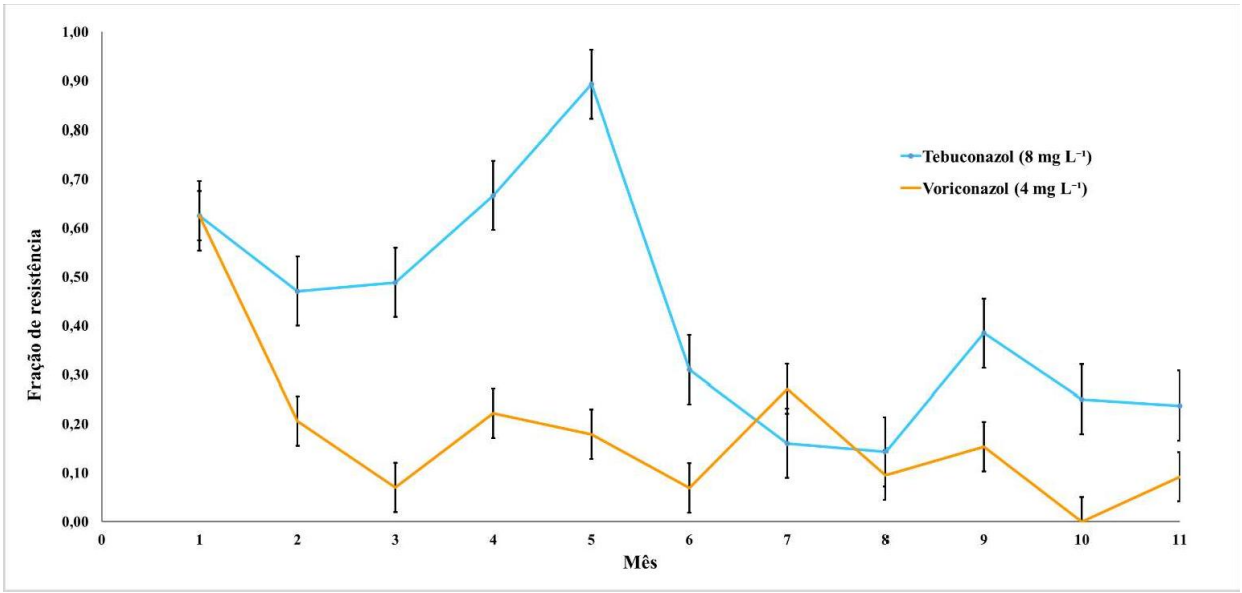
Quando analisadas as frações mensais de resistência, observou-se correlação positiva significativa entre a fração de resistência ao tebuconazol e a UR ($r_s$=0,664; p=0,026), sugerindo aumento proporcional dessa fração em meses com maior umidade relativa do ar (Figura 6). Para as demais combinações entre variáveis meteorológicas e frações de resistência, não foram observadas associações significativas.

**Figura 6** - Associação entre a UR e a fração mensal de resistência ao tebuconazol em isolados de *A. fumigatus* obtidos de amostras aerobiológicas coletadas em cultivo de cana-de-açúcar. Os pontos representam os valores mensais observados, e a linha ilustra a correlação positiva significativa entre as variáveis ($r_s$=0,664; p=0,026).




Embora a maioria das associações testadas não tenha sido significativa, as frações mensais de resistência ao tebuconazol e ao voriconazol são apresentadas de forma descritiva na Figura 7, a fim de evidenciar sua variação temporal ao longo do período amostral.

**Figura 7** - Variação temporal das frações de resistência de *A. fumigatus* com crescimento em meios suplementados com tebuconazol (8 mg $L^{-1}$) e voriconazol (4 mg $L^{-1}$), em amostras aerobiológicas coletadas mensalmente em cinco pontos fixos em cultivo de cana-de-açúcar. Os pontos representam as médias mensais das frações de resistência e as barras de erro indicam o erro-padrão.



### Etapas experimentais em continuidade

Os ensaios de fenotipagem da sensibilidade e da resistência azólica de isolados de *A. fumigatus*, com determinação da EC50 para fungicida triazol e a antifúngico clínico azólico, foram iniciados conforme previsto no plano de trabalho. Entretanto, em razão da necessidade de repetição e validação dos dados obtidos, essa etapa ainda se encontra em andamento e, por esse motivo, os resultados não foram incluídos no presente relatório, permanecendo essa etapa em continuidade no âmbito da equipe de pesquisa.

## 5. Discussão

De modo geral, os resultados obtidos demonstram que *A. fumigatus* esteve presente de forma recorrente no agroecossistema avaliado ao longo do período de amostragem, com variação temporal significativa tanto no número total de colônias recuperadas quanto no número de colônias com crescimento em meios suplementados com tebuconazol e voriconazol. Esse padrão indica que a presença de conídios viáveis do fungo no ar não se manteve homogênea entre os meses, mas apresentou oscilação temporal no ambiente agrícola monitorado. Considerando que *A. fumigatus* é um fungo ambiental amplamente distribuído, associado a solo, detritos vegetais e matéria orgânica em decomposição, e que seus conídios são pequenos e facilmente dispersos pelo ar, a recorrência de sua detecção em amostras aerobiológicas é compatível com a ecologia conhecida da espécie (Abdel-Azeem *et al*., 2016). Por outro lado, as variáveis meteorológicas mensais avaliadas, de modo geral, não explicaram isoladamente as oscilações observadas para a abundância total nem para os números absolutos de colônias com crescimento em meios suplementados, embora a UR tenha apresentado associação positiva com a fração de crescimento em meio contendo tebuconazol. Em conjunto, esses achados sugerem que a dinâmica temporal de *A. fumigatus* no ambiente estudado resulta da interação entre múltiplos fatores ecológicos e físicos, e não apenas das variáveis climáticas mensais consideradas.

A variação temporal significativa no número total de colônias recuperadas sugere que a carga de propágulos viáveis de *A. fumigatus* no ar não permaneceu estável ao longo do período avaliado. Esse comportamento é coerente com a ecologia da espécie, cuja presença aerobiológica depende não apenas da produção de conídios em substratos favoráveis, mas também da sua dispersão (Abdel-Azeem *et al*., 2016). Em sistemas agrícolas, a presença de resíduos vegetais, poeira, solo exposto e matéria orgânica em decomposição pode favorecer tanto a permanência do fungo em substratos quanto a liberação de conídios para a atmosfera (Abdel-Azeem *et al*., 2016; Castro-Ríos *et al*., 2025). Além disso, a ampla plasticidade ecológica de *A. fumigatus*, associada à

sua termotolerância e à capacidade de persistir em diferentes nichos ambientais, contribui para explicar sua recorrência em ambientes agrícolas tropicais e subtropicais (Castro-Ríos *et al*., 2025). Assim, a oscilação observada entre os meses reforça que a dinâmica temporal da espécie no agroecossistema estudado é resultado de uma interação complexa entre condições locais do sistema de cultivo e processos físicos de dispersão aérea.

A detecção recorrente de colônias com crescimento em meios suplementados com tebuconazol e voriconazol constitui um achado relevante, pois indica a presença, no conjunto das amostras aerobiológicas, de UFCs capazes de se desenvolver sob pressão seletiva desses compostos nas concentrações empregadas no protocolo de triagem. Esse resultado não permite, isoladamente, estabelecer perfis quantitativos de sensibilidade, mas representa um forte indicativo da ocorrência de isolados com resistência ou menor sensibilidade aos azólicos testados. Tal interpretação é particularmente importante no caso de *A. fumigatus*, uma vez que a literatura tem destacado a interface entre ambientes agrícolas expostos a fungicidas azólicos e a emergência de fenótipos com resistência a azóis de interesse clínico (Berger *et al*., 2017; Hollomon, 2017; Burks *et al*., 2021; Fraaije *et al*., 2020; Kang *et al*., 2022). Nesse contexto, a recuperação repetida de colônias com crescimento em meio suplementado, ao longo de diferentes meses, sugere que esses perfis não correspondem a eventos isolados, mas podem integrar a estrutura populacional do fungo no agroecossistema avaliado.

A ausência de associações significativas entre as variáveis meteorológicas mensais e o número total de colônias, bem como com os números absolutos de colônias com crescimento em meios suplementados, indica que, na escala temporal adotada, temperatura média do ar, UR e precipitação pluvial acumulada não explicaram isoladamente a dinâmica observada. Esse resultado não implica que o clima seja irrelevante para a ecologia aerobiológica de *A. fumigatus*, mas sugere que sua influência pode ser indireta, não linear ou mediada por fatores não capturados por médias mensais agregadas. Em fungos ambientais dispersos pelo ar, a presença de propágulos viáveis na atmosfera pode refletir, além das condições meteorológicas, a disponibilidade de substratos colonizados, o estágio de decomposição da matéria orgânica, o revolvimento do solo e outros processos locais que modulam a emissão e a ressuspensão de conídios (Abdel-Azeem *et al*., 2016). Desse modo, a ausência de correlação estatística robusta para os dados absolutos reforça a necessidade de compreender a dinâmica temporal de *A. fumigatus* de forma multifatorial.

Em contraste com os resultados obtidos para os números absolutos, a correlação positiva entre a UR e a fração mensal de colônias com crescimento em meio contendo tebuconazol sugere que a composição relativa da população recuperada pode responder de maneira distinta daquela observada para a abundância total do fungo. Esse achado é particularmente relevante porque

medidas proporcionais ou fracionárias permitem avaliar não apenas quantas colônias foram recuperadas, mas qual a participação relativa das UFCs com crescimento sob pressão seletiva dentro do total de colônias recuperadas. Assim, mesmo na ausência de associação climática com os números absolutos, a relação observada com a fração de crescimento em tebuconazol pode indicar que determinadas condições ambientais favorecem, ainda que indiretamente, a maior representatividade relativa de colônias resistentes ao fungicida. A análise de proporções pode ser particularmente útil para detectar mudanças sutis na estrutura da população ambiental, que não seriam necessariamente evidenciadas apenas por contagens absolutas. Ainda assim, essa interpretação deve ser vista com cautela e como indicativa, demandando confirmação por ensaios fenotípicos quantitativos e, idealmente, caracterização molecular dos mecanismos envolvidos.

A interpretação desses achados também deve ser considerada com base na literatura que relaciona o uso ambiental de azóis, especialmente em sistemas agrícolas, à seleção de isolados de *A. fumigatus* com menor sensibilidade ou resistência aos compostos desse grupo (Cui *et al*., 2019; Fraaije *et al*., 2020; Verweij *et al*., 2020). A chamada rota ambiental de resistência tem sido proposta justamente para explicar a emergência de linhagens selecionadas fora do hospedeiro humano, em nichos expostos à pressão exercida por fungicidas azólicos (Snelders *et al*., 2008; Berger *et al*., 2017; Hollomon, 2017; Verweij *et al*., 2020). Esse ponto é particularmente relevante porque vários triazóis usados na agricultura apresentam elevada semelhança estrutural com azóis empregados na medicina, como o voriconazol, de modo que mecanismos selecionados no ambiente podem ter implicações para a terapêutica clínica (Kano *et al*., 2015; Meis *et al*., 2016; Kang *et al*., 2022). Embora o presente estudo não permita estabelecer vínculo causal direto entre o uso de fungicidas no canavial e os perfis observados nas colônias recuperadas, a detecção recorrente de crescimento em meios suplementados com tebuconazol e voriconazol é consistente com a hipótese de que agroecossistemas intensivamente manejados merecem atenção como cenários potenciais de manutenção e seleção de fenótipos resistentes a azólicos.

Esses achados reforçam a relevância do monitoramento ambiental de *A. fumigatus* em agroecossistemas intensivamente manejados, especialmente diante da detecção recorrente de isolados com indícios de resistência ou menor sensibilidade ao tebuconazol e ao voriconazol, este último um antifúngico de importância clínica no tratamento da aspergilose (Lestrade *et al*., 2019; Verweij *et al*., 2020; Bastos *et al*., 2021). Além disso, o crescimento em meio suplementado constitui uma etapa inicial de triagem fenotípica e não substitui a confirmação quantitativa da sensibilidade por determinação de EC50, atualmente em andamento. Ainda assim, mesmo com essas limitações, o estudo contribui para ampliar a compreensão da ecologia temporal de *A. fumigatus* em ambiente agrícola tropical e oferece subsídios relevantes para a vigilância ambiental

de perfis de sensibilidade a azólicos com potencial repercussão em saúde humana. Esses achados reforçam a relevância do monitoramento ambiental de *A. fumigatus* em agroecossistemas, em consonância com a necessidade de estratégias integradas de vigilância antifúngica sob a perspectiva One Health (Ceresini *et al*., 2026).

## 6. Conclusão

Conclui-se que *A. fumigatus* esteve presente de forma recorrente no agroecossistema da cana-de-açúcar, com variação temporal significativa no número total de colônias recuperadas e nas colônias com crescimento em meios suplementados com tebuconazol e voriconazol, o que permitiu caracterizar sua aerobiologia no ambiente estudado e quantificar frações com crescimento sob pressão desses triazóis. De modo geral, as variáveis meteorológicas mensais analisadas não explicaram isoladamente a dinâmica observada para a abundância total de *A. fumigatus* e para os números absolutos de colônias com crescimento em meios suplementados, embora a associação positiva entre a UR e a fração mensal de crescimento em meio contendo tebuconazol indique que a composição relativa da população ambiental pode variar em associação às condições do ambiente. Assim, o estudo fornece dados relevantes para a compreensão da presença, distribuição e ocorrência recorrente de colônias de *A. fumigatus* com crescimento em meios suplementados com tebuconazol e voriconazol, contribuindo com subsídios iniciais para o monitoramento ambiental e para a avaliação de riscos potenciais associados à resistência antifúngica. Desse modo, os achados ampliam a compreensão da dinâmica aerobiológica de *A. fumigatus* em cultivo de cana-de-açúcar e oferecem subsídios relevantes para o monitoramento ambiental de fenótipos com menor sensibilidade a azólicos de interesse agrícola e clínico.

## 7. Informações complementares

Não houve, no período do pós-doutorado, atividades de orientação, disciplinas ministradas com carga horária atribuída ou atividades de extensão vinculadas ao projeto.

### Orientações

Nada a declarar.

### Disciplinas ministradas

Nada a declarar.

**Atividades de extensão**

Nada a declarar.

Adicionalmente, até a data de finalização deste relatório, não houve produção científica derivada do projeto sob a forma de artigos publicados, aceitos ou submetidos, tampouco depósito ou concessão de patentes, nem produção artística a ele vinculada. Em razão disso, para cada um desses itens, foram apresentados separadamente, em arquivo PDF, os respectivos documentos com a indicação “Nada a declarar”, em conformidade com as orientações do SISPROPe-PD.

## 8. Referências


Abdel-Azeem AM, Salem FM, Abdel-Azeem MA, Nafady NA, Mohesien MT, Soliman EA. Biodiversity of the genus *Aspergillus* in different habitats. In: Gupta VK, ed. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. Amsterdam: Elsevier; 2016. p. 3–28. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63505-1.00001-4

Bastos RW, Rossato L, Goldman GH, Santos DA. Fungicide effects on human fungal pathogens: cross-resistance to medical drugs and beyond. PLoS Pathog. 2021;17:e1010073. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010073

Berger S, El Chazli Y, Babu AF, Coste AT. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a consequence of antifungal use in agriculture? Front. Microbiol. 2017;8:1024. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01024

Bromley MJ, van Muijlwijk G, Fraczek MG, Robson G, Verweij PE, Denning DW, Bowyer P. Occurrence of azole-resistant species of *Aspergillus* in the UK environment. J. Glob. Antimicrob. Resist. 2014;2(4):276–279. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.05.004

Burks C, Darby A, Gómez Londoño L, Momany M, Brewer MT. Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in the environment: identifying key reservoirs and hotspots of antifungal resistance. PLoS Pathog. 2021;17:e1009711. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009711

Castro-Ríos K, Buri MCS, Ramalho da Cruz AD, Ceresini PC. *Aspergillus fumigatus* in the food production chain and azole resistance: A growing concern for consumers. J. Fungi. 2025;11:252. https://doi.org/10.3390/jof11040252

Celia-Sanchez BN, Mangum B, Gómez Londoño LF, Wang C, Shuman B, Brewer MT, Momany M. Pan-azole- and multi-fungicide-resistant *Aspergillus fumigatus* is widespread in the United States. Appl. Environ. Microbiol. 2024;90(4):e0178223. https://doi.org/10.1128/aem.01782-23

Ceresini PC, Jesus Junior WC de, Firmino AC, *et al*. The Botucatu Document: One Health antifungal resistance policies — A call for action. One Health. 2026;22:101319. https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2026.101319

Cui N, He Y, Yao S, Zhang H, Ren J, Fang H, Yu Y. Tebuconazole induces triazole-resistance in *Aspergillus fumigatus* in liquid medium and soil. Sci. Total Environ. 2019;648:1237–1243. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.247

Doughty KJ, Sierotzki H, Semar M, Goertz A. Selection and amplification of fungicide resistance in Aspergillus fumigatus in relation to DMI fungicide use in agronomic settings: hotspots versus coldspots. Microorganisms. 2021;9(12):2439. https://doi.org/10.3390/microorganisms9122439

Fraaije B, Atkins S, Hanley S, Macdonald A, Lucas J. The multi-fungicide resistance status of Aspergillus fumigatus populations in arable soils and the wider European environment. Front. Microbiol. 2020;11:599233. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.599233

Fraczek MG, Bromley M, Buied A, Moore CB, Rajendran R, Rautemaa R, Ramage G, Denning DW, Bowyer P. The cdr1B efflux transporter is associated with non- cyp51a-mediated itraconazole resistance in Aspergillus fumigatus. J. Antimicrob. Chemother. 2013;68(7):1486–96. https://doi.org/10.1093/jac/dkt075

Higashimura N, Hamada A, Ohara T, Sakurai S, Ito H, Banba S. The target site of the novel fungicide quinofumelin, Pyricularia oryzae class II dihydroorotate dehydrogenase.J. Pestic. Sci. 2022;47(4):190–196. https://doi.org/10.1584/jpestics.D22-027 Hollomon D. Does agricultural use of azole fungicides contribute to resistance in the human pathogen Aspergillus fumigatus? Pest Manag. Sci. 2017;73:1987–1993. https://doi.org/10.1002/ps.4607

Jenks JD, Prattes J, Wurster S, Sprute R, Seidel D, Oliverio M, Egger M, Del Rio C, Sati H, Cornely OA, Thompson GR, Kontoyiannis DP, Hoenigl M. Social determinants of health as drivers of fungal disease. EClinicalMedicine. 2023;66:102325. https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.102325

Kang SE, Sumabat LG, Melie T, Mangum B, Momany M, Brewer MT. Evidence for the agricultural origin of resistance to multiple antimicrobials in Aspergillus fumigatus, a fungal pathogen of humans. G3 Genes Genomes Genet. 2022;12(2):jkab427. https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab427

Kano R, Kohata E, Tateishi A, Murayama SY, Hirose D, Shibata Y, Kosuge Y, Inoue H, Kamata H, Hasegawa A. Does farm fungicide use induce azole resistance in Aspergillus fumigatus? Med. Mycol. 2015;53:174–177. https://doi.org/10.1093/mmy/myu076

Khateb A, Gago S, Bromley M, Richardson M, Bowyer P. Aneuploidy is associated with azole resistance in Aspergillus fumigatus. Antimicrob. Agents Chemother. 2023;67(4):e0125322. https://doi.org/10.1128/aac.01253-22

Knezevic SZ, Streibig JC, Ritz C. Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. Weed Technol. 2007;21:840–848.

Kortenbosch HH, van Leuven F, van den Heuvel C, Schoustra SE, Zwaan BJ, Snelders E. Catching some air: a method to spatially quantify aerial triazole resistance in Aspergillus fumigatus. Appl. Environ. Microbiol. 2024;90(7):e0027124. https://doi.org/10.1128/aem.00271-24

Lestrade PP, Bentvelsen RG, Schauwvlieghe AFAD, Schalekamp S, van der Velden WJFM, Kuiper EJ, van Paassen J, van der Hoven B, van der Lee HA, Melchers WJG, de Haan AF, van der Hoeven HL, Rijnders BJA, van der Beek MT, Verweij PE. Voriconazole resistance and mortality in invasive aspergillosis: a multicenter retrospective cohort study. Clin. Infect. Dis. 2019;68(9):1463–1471. https://doi.org/10.1093/cid/ciy859

Lestrade P, Meis J, Melchers W, Verweij P. Triazole resistance in Aspergillus fumigatus: recent insights and challenges for patient management. Clin. Microbiol. Infect. 2019;25(7):799–806. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.11.027

Meis JF, Chowdhary A, Rhodes JL, Fisher MC, Verweij PE. Clinical implications of globally emerging azole resistance in Aspergillus fumigatus. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 2016;371:20150460. https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0460

Oliver JD, Sibley GEM, Beckmann N, Dobb KS, Slater MJ, McEntee L, Birch M. F901318 represents a novel class of antifungal drug that inhibits dihydroorotate dehydrogenase. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2016;113(45):12809–12814. https://doi.org/10.1073/pnas.1608304113

Rhodes J, Abdolrasouli A, Dunne K, Sewell TR, Zhang Y, Ballard E, Brackin AP, van Rhijn N, Chown H, Tsitsopoulou A, et al. Population genomics confirms acquisition of drug-resistant Aspergillus fumigatus infection by humans from the environment. Nat. Microbiol. 2022;7(5):663–674. https://doi.org/10.1038/s41564-022-01091-2

Serrano R, Gusmão L, Amorim A, Araujo R. Rapid identification of Aspergillus fumigatus within the section Fumigati. BMC Microbiol. 2011;11:82. https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-82

Shelton JMG, Collins R, Uzzell CB, Alghamdi A, Dyer PS, Singer AC, Fisher MC. Citizen science surveillance of triazole-resistant Aspergillus fumigatus in United Kingdom residential garden soils. Appl. Environ. Microbiol. 2022;88(4):e0206121. https://doi.org/10.1128/AEM.02061-21

Snelders E, van der Lee HA, Kuijpers J, Rijs AJ, Varga J, Samson RA, Mellado E, Donders AR, Melchers WJ, Verweij PE. Emergence of azole resistance in Aspergillus fumigatus and spread of a single resistance mechanism. PLoS Med. 2008;5(11):e219. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050219

Stukenbrock E, Gurr S. Address the growing urgency of fungal disease in crops. Nature. 2023;617(7959):31–34. https://doi.org/10.1038/d41586-023-01465-4

van Rhijn N, Storer ISR, Birch M, Oliver JD, Bottery MJ, Bromley MJ. Aspergillus fumigatus strains that evolve resistance to the agrochemical fungicide ipflufenoquin in vitro are also

resistant to olorofim. Nat. Microbiol. 2024;9(1):29–34. https://doi.org/10.1038/s41564-023-01542-4

Verweij PE, Lucas JA, Arendrup MC, Bowyer P, Brinkmann AJF, Denning DW, Dyer PS, Fisher MC, Geenen PL, Gisi U, et al. The One Health problem of azole resistance in Aspergillus fumigatus: current insights and future research agenda. Fungal Biol. Rev. 2020;34:202–214. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2020.10.003

Wang C, Miller N, Vines D, Severns PM, Momany M, Brewer MT. Azole resistance mechanisms and population structure of the human pathogen Aspergillus fumigatus on retail plant products. Appl. Environ. Microbiol. 2024;90(5):e0205623. https://doi.org/10.1128/aem.02056-23

World Health Organization. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. 2022. Disponível em: https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241

## Avaliação do Supervisor

O relatório final apresentado pelo pós-doutorando Dr. Lucas Lopes e Silva demonstra execução adequada e consistente do plano de trabalho proposto no âmbito do Projeto ID 5925, contemplando satisfatoriamente os objetivos estabelecidos para o período. As atividades foram conduzidas com rigor metodológico, incluindo a implementação de sistema de amostragem aerobiológica contínua em agroecossistema de cana-de-açúcar no Noroeste do Estado de São Paulo, o isolamento e quantificação de *Aspergillus fumigatus* e a triagem fenotípica de crescimento em meios suplementados com tebuconazol e voriconazol, compostos de relevância agrícola e clínica.

Os resultados obtidos evidenciam a presença recorrente de *A. fumigatus* no ambiente estudado, com variação temporal significativa na abundância de colônias e na ocorrência de crescimento em meios contendo azólicos, contribuindo para a compreensão da dinâmica ecológica e da possível estrutura populacional do fungo sob pressão seletiva ambiental. Destaca-se ainda a identificação de associação entre a umidade relativa do ar e a fração de colônias com crescimento em meio contendo tebuconazol, resultado relevante para a interpretação da dinâmica aerobiológica em agroecossistemas tropicais. A discussão foi conduzida de forma criteriosa, com adequada contextualização na literatura científica e alinhamento com a abordagem One Health, especialmente no que se refere à interface entre o uso de fungicidas agrícolas e a resistência antifúngica de relevância clínica.

Em atendimento ao disposto no §1º do Artigo 17 da Resolução de 12 de março de 2025, esclareço que o projeto foi finalizado recentemente, estando os resultados obtidos em fase de consolidação, reforçando o potencial de publicação dos resultado em artigo científico de periódico internacional

Adicionalmente, durante o período do pós-doutorado, o pesquisador participou da organização do *Brazilian Network Meeting on Aspergillus fumigatus AMR: Protecting Health in the Face of Agricultural Presssures*, realizado na UNESP, Campus de Botucatu, em dezembro de 2025, atuando nas atividades de suporte científico, organização e monitoria técnica do evento, conforme certificado apresentado (primeiro anexo, na página seguinte).

No contexto desse evento científico internacional, houve também publicação de trabalho em coautoria na forma de resumo expandido no suplemento especial da revista *Summa Phytopathologica* (2025), intitulado *Environmental dynamics of Aspergillus fumigatus in Brazilian agroecosystems: climatic drivers of airborne and soilborne populations* (segundo anexo, na página seguinte), integrando resultados derivados das atividades do projeto e que constituem base para futura publicação científica de maior impacto.

Destaco, portanto, que embora ainda não haja artigo completo publicado até a data de encerramento formal do projeto, houve produção científica diretamente associada às atividades desenvolvidas, além de contribuição relevante para articulação científica internacional na área de resistência antifúngica ambiental sob a perspectiva One Health.

Dessa forma, considero que o projeto foi executado de maneira plenamente satisfatória, com geração de resultados originais relevantes, aderência ao plano de trabalho proposto e perspectivas concretas de publicação científica decorrente das atividades realizadas, recomendando a aprovação do relatório final.

gov.br
Documento assinado digitalmente
PAULO CEZAR CERESINI
Data: 13/04/2026 11:23:24-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

# CERTIFICATE

This is to certify that

## Lucas Lopes e Silva

UNESP Ilha Solteira, Brazil

served on the Organizing Committee of the **Brazilian Network Meeting: *Aspergillus fumigatus* AMR – Protecting Health in the Face of Agricultural Pressures**, held December 3–5, 2025 at the UNESP Botucatu Campus, São Paulo, Brazil, with a total workload of 40 hours.

**Role(s) and contributions:**

- Student & Volunteer Support
- Monitors: recruitment, coordination, and on-site event support

The full meeting program and abstracts are published in Summa Phytopathologica (v. 51, Special Supplement, 2025) and are also available at https://www.feis.unesp.br/#!/aspergillus.

Prof. Dr. Enes Furlani Junior
UNESP Ilha Solteira, Dean

Prof. Dr. Paulo Ceresini
Organizing Committee President

MRC Centre for Medical Mycology · University of Exeter · GAMRIF · FAILSAFE · UK International Development · Fundunesp · proec

to the fungicide ipflufenoquin causes mutations that also lead to resistance to the drug olorofim (5), but the effect of ipflufenoquin exposure in an agricultural setting has not been reported. In the current work we isolated *A. fumigatus* from agricultural field sites in Georgia (in the Southern USA) where ipflufenoquin was applied to apple trees approximately every 1-2 weeks, April - July of 2024 and 2025. We collected soil from the sites before the first ipflufenoquin application and soil and air samples multiple times during application. We isolated 198 *A. fumigatus* strains from soil samples before and during application and from air samples during application. We tested *A. fumigatus* isolates for minimal inhibitory concentrations (MICs) of ipflufenoquin and olorofim. We found that pre-application levels of sensitivity to both fungicide and drug were low. We also found that *A. fumigatus* isolates' sensitivity to ipflufenoquin fungicide and/or olorofim antifungal drug decreased in successive samples as the number of ipflufenoquin treatments increased. Our results suggest that agricultural use of DHODH inhibitor fungicides in agricultural settings can drive decreased efficacy of DHODH inhibitor antifungal drugs in clinical settings and underscore the need for thoughtful deployment of dual use agents.

**Keywords**: DHODH inhibitors; Ipflufenoquin; Olorofim; agricultural selection; dual use agents.

**Palavras-chave**: inibidores de DHODH; Ipflufenoquin; Olorofim; seleção agrícola; agentes de duplo uso.

**REFERENCES**

1. DENNING, D.W. Global incidence and mortality of severe fungal disease. **The Lancet Infectious Diseases**, New York, v.24, n.7, p.e428-e438, 2024.
2. CELIA-SANCHEZ, B.N. et al. Pan-azole-and multi-fungicide-resistant *Aspergillus fumigatus* is widespread in the United States. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.90, n.e01782-23, 2024.
3. OLIVER, J.D. et al. F901318 represents a novel class of antifungal drug that inhibits dihydroorotate dehydrogenase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v.113, n.45, p.12809-12814, 2016.
4. UMETSU, N.; SHIRAI, Y. Development of novel pesticides in the 21st century. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v.45, n.2, p.54-74, 2020.
5. VAN RHIJN, N. et al. *Aspergillus fumigatus* strains that evolve resistance to the agrochemical fungicide ipflufenoquin *in vitro* are also resistant to olorofim. **Nature Microbiology**, London, v.9, n.1, p.29-34, 2024.

## ENVIRONMENTAL DYNAMICS OF *Aspergillus fumigatus* IN BRAZILIAN AGROECOSYSTEMS: CLIMATIC DRIVERS OF AIRBORNE AND SOILBORNE POPULATIONS / Dinâmica ambiental de *Aspergillus fumigatus* em agroecossistemas Brasileiros: Fatores climáticos que influenciam populações fúngicas aéreas e do solo.

P.C. CERESINI[1] , T.C. SILVA[1], L.L. SILVA[1], L.R. SALES[2], A.D.R. CRUZ[1], C.C. MARTINES[3], M.C.S. BURI[1], L.V. CODULO[1], L.R. OLIVEIRA[1], A.C. FIRMINO[4], B.P.C. SILVA[1], D.T. STIPP[5], E.A.F.F. PALLAROLAS[5], F.L.C. MINGOTTE[2], K.A. COSTA[1], P.R.M. LOPES[4], R.L. PERUQUETTI[1], E.C. RIGOBELO[2], W.C. de JESUS Jr[5].

[1]Universidade Estadual Paulista (UNESP), [1]Ilha Solteira, [2]Jaboticabal, [3]Botucatu, or [4]Dracena Campus, SP, Brasil; [5]Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Buri Campus, SP, Brasil. paulo.ceresini@unesp.br

**ABSTRACT:** The filamentous fungus *Aspergillus fumigatus* is a globally distributed saprobe and opportunistic pathogen increasingly recognized as a One Health sentinel for environmental antifungal resistance. However, its ecological dynamics in tropical agroecosystems remain poorly understood. This study—conducted within the FAILSAFE program (Fungal AMR Innovations for Low- and Middle-Income Countries; https://cmm-failsafe.com)—integrated aerobiological and soil monitoring with climatological analyses across four experimental sites in São Paulo State, Brazil (Dracena, Jaboticabal, Pereira Barreto, and Três Fronteiras) from December 2024 to October 2025. At each site, *A. fumigatus* was sampled monthly from air and soil. Airborne spores were collected using passive delta traps equipped with adhesive seals exposed for 30 days, overlaid with DRBC agar (Dichloran–Rose Bengal–Chloramphenicol + streptomycin), and incubated at 48 °C for 36–48 h. Soil (0–10 cm) samples were homogenized (0.2 g in 15 mL 0.1 M sodium pyrophosphate, vortexed intermittently for 30 min), plated (300 µL per dish), and incubated under identical conditions. Colonies morphologically consistent with *A. fumigatus* were enumerated and subcultured for azole sensitivity testing [reported in Ceresini et al. (1)].

Meteorological variables (temperature, relative humidity, solar radiation, rainfall, and irrigation) were retrieved from automatic weather stations, aggregated into monthly means, and normalized as z-scores. Two composite climatic indices were defined: Fungal Favorability Index (FFI = zTemp + zRH + zWater − zRad) and Climatic Stress Index (CSI = zRad + zTemp − zRH − zWater), where "Water" comprised rainfall plus 50 mm month$^{-1}$ of supplemental irrigation at Três Fronteiras during the dry season. Airborne conidia loads (colonies per seal) and soil CFU g$^{-1}$ (five replicates per site × month) were log-transformed [$\log_{10}(x + 1)$] and correlated (Pearson's r) with climatic variables and indices for each site and compartment. Resistant fractions to tebuconazole and voriconazole were summarized with site-wise boxplots.

Airborne *A. fumigatus* loads correlated negatively with temperature and solar radiation in Dracena ($r \approx -0.9$, $p < 0.01$) and Pereira Barreto (−0.4 to −0.6), reflecting suppression under hot, high-radiation, and dry conditions. Jaboticabal showed a moderate positive association with rainfall ($r \approx 0.6$), whereas irrigated Três Fronteiras exhibited a humidity-driven response ($r \approx 0.5$) with reduced dependence on rainfall, consistent with moisture stabilization by irrigation. Soil populations displayed strong positive correlations with rainfall and temperature ($r = 0.6–0.8$, $p < 0.05$) and peaked in warm, wet months. Across all sites, FFI correlated positively with both airborne and soil abundances (mean $r = 0.63 \pm 0.18$), whereas CSI showed inverse trends (mean $r = -0.52 \pm 0.20$), validating these indices as integrative predictors of fungal favorability versus climatic stress.

This multi-site dataset reveals that *A. fumigatus* thrives under mild, humid, and well-watered conditions but declines sharply under heat-radiative stress. Irrigation partially mitigates atmospheric desiccation, decoupling humidity from rainfall dependence. The standardized FFI and CSI metrics provide quantitative, scalable indicators for real-time modeling of fungal favorability in agricultural environments, contributing to One Health early-warning systems for antifungal resistance surveillance under the FAILSAFE initiative.

**Keywords:** Aerobiology, climatic indices, irrigation, fungal ecology, antifungal resistance, One Health.

**Palavras-chave:** Aerobiologia, índices climáticos, irrigação, ecologia fúngica, resistência antifúngica, Saúde Única.

**REFERENCE**:

1. CERESINI, P. C. et al. Widespread azole resistance and co-resistance to a clinical DHODH inhibitor in *Aspergillus fumigatus* from fungicide-intensive Brazilian agroecosystems. In: **BRAZILIAN NETWORK MEETING: *Aspergillus fumigatus* ANTIMICROBIAL RESISTANCE**, 1., 2025. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 51, p. 29, 2025. Extended abstract.

## CLIMATE CHANGE IMPACTS ON FUNGAL PATHOGENS / Impactos das mudanças climáticas em patógenos fúngicos.

N. VAN RHIJN[1].

[1]University of Manchester, United Kingdom, norman.vanrhijn@manchester.ac.uk

**ABSTRACT:** Climate change is reshaping fungal ecology, with temperature shifts of up to 6 °C projected in many regions. These changes accelerate fungal adaptation, directly affecting agriculture, food security, and human health. In addition, changing environments cause expansion and contraction of habitable areas for many fungal pathogens. Moreover, intensified fungicide use are