

AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA TOLERÂNCIA MICELIAL DE *Sporothrix* spp. A VARIAÇÕES DE PH E SALINIDADE

LIANDRA SCHERER SCHMEGEL¹; JULIANA MONTIEL NUNEZ²; ANGELITA REIS GOMES³; MARCELA BRANDÃO COSTA⁴; MAYSA SEIBERT DE LEÃO⁵; PATRICIA SILVA NASCENTE⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – liandrascherer@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – julianamontielnunez@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – angelitagomes@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – marcelabc@hotmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – mdeleao@gmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas – pattsn@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O complexo *Sporothrix* é formado por espécies dimórficas que habitam solo, restos vegetais e madeira em decomposição, sendo transmitidas ao homem e a animais por inoculação traumática (Rodrigues et al., 2020). Embora *Sporothrix brasiliensis* seja o principal agente zoonótico da atual epidemia brasileira, transmitida sobretudo por felinos infectados, há evidências de sua persistência ambiental, atuando como reservatório natural e fonte de reinfecção (Madrid et al., 2012; Rodrigues et al., 2020). Assim, compreender os limites fisiológicos que permitem a sobrevivência de *Sporothrix* fora do hospedeiro é essencial para entender sua ecologia.

Entre os fatores ambientais que influenciam o crescimento e a persistência fúngica destacam-se pH, disponibilidade de água e salinidade, que modulam tanto o metabolismo quanto a expressão de fatores de adaptação e virulência (Lozoya-Pérez et al., 2020). Estudos clássicos indicam crescimento ótimo do gênero em pH próximo a 5,5 (Tsuboi et al., 1988), mas a plasticidade frente a variações extremas de acidez e alcalinidade ainda é pouco explorada. Quanto à tolerância osmótica, *S. schenckii* e *S. brasiliensis* suportam salinidade moderada, mas não condições hipersalinas (Madrid et al., 2012; Lozoya-Pérez et al., 2020).

As mudanças climáticas globais, com aumento da temperatura, alteração dos regimes de precipitação e salinização de solos e corpos d'água, configuram novos cenários de estresse para fungos patogênicos e sapronóticos (García-Solache & Casadevall, 2010; Casadevall et al., 2019). Pressões ambientais intensas podem selecionar linhagens mais tolerantes e, em alguns casos, mais patogênicas (Casadevall et al., 2019). Assim, investigar como *Sporothrix* responde a variações de pH, salinidade e temperatura é ecologicamente relevante e essencial para prever sua resiliência em cenários climáticos futuros. Este estudo piloto avaliou os limites de crescimento micelial de três isolados de *Sporothrix* spp. frente a variações de pH e salinidade em condições controladas, fornecendo dados iniciais para experimentos mais amplos que parametrizem respostas fúngicas a condições extremas e subsidiem análises sobre a adaptação do gênero diante das mudanças climáticas.

2. METODOLOGIA

Três isolados de *Sporothrix spp.* da micoteca do MICVET/UFPEl foram cultivados em Ágar Batata Dextrose (PDA, Difco™) a 25 °C por cinco dias na fase micelial, com confirmação morfológica em Lactofenol Algodão Azul. O inóculo foi obtido por raspagem das colônias em solução salina estéril com Tween 20 (0,05% v/v), homogeneizado e padronizado por espectrofotometria a 530 nm. Para o ensaio de pH, meios de Ágar Sabouraud Dextrose (SDA) suplementados com cloranfenicol (0,05 g/L) foram ajustados para pH 4, 7 e 10 com HCl ou NaOH 1 mol/L, medidos antes e após autoclavagem, sendo o pH natural (~5,5) utilizado como controle. Em bloco experimental subsequente, avaliou-se a salinidade em SDA acrescido de NaCl a 2%, 4% e 6% (p/v), tendo como controle o meio sem NaCl. As placas foram inoculadas com 10 µL do inóculo no centro por spot-on e incubadas a 25 °C por 12 dias, com medições do diâmetro das colônias em dois eixos perpendiculares nos dias 3, 6, 9 e 12. Cada condição foi testada em triplicata. O percentual de inibição foi calculado em relação ao respectivo controle do mesmo isolado e tempo de leitura pela fórmula:

$$\% \text{ inibição} = \frac{(D_{\text{controle}} - D_{\text{condição}})}{D_{\text{controle}}} \times 100$$

Onde: *Dcontrole* corresponde ao diâmetro médio da colônia no grupo controle (pH 5,5 para o ensaio de pH; 0% NaCl para o ensaio de salinidade), no mesmo isolado e no mesmo tempo de leitura; *Dcondição* corresponde ao diâmetro médio da colônia na condição testada (pH 4, 7 ou 10; NaCl 2%, 4% ou 6%), no mesmo isolado e tempo de leitura.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os três isolados de *Sporothrix spp.* cresceram regularmente nos controles (pH ≈ 5,5 e 0% NaCl), confirmando essa faixa como mais favorável ao desenvolvimento micelial, em consonância com estudos clássicos (Tsuboi et al., 1988). Em pH 4, observou-se inibição variável (10–41%), enquanto em pH 7 a redução foi mais discreta (1–34%). Já em pH 10 não houve crescimento, demonstrando que a alcalinidade representa um limite fisiológico. O pH é amplamente reconhecido como modulador da microbiota, influenciado por fatores naturais e antrópicos, como chuva ácida, lixiviação e fertilizantes (Silva, 2008).

A plasticidade observada frente a diferentes valores de pH pode estar associada à virulência, uma vez que ambientes ácidos favorecem a forma micelial, enquanto pHs neutros a alcalinos, combinados a altas temperaturas, estimulam a forma leveduriforme (Gómez-Gaviria et al., 2023). Alterações de pH e nutrientes também impactam a parede celular e a expressão de fatores de virulência, como demonstrado por Lozoya-Pérez et al. (2020).

No ensaio de salinidade, os isolados cresceram em 2% de NaCl, mas com redução em relação ao controle. Em 4%, todos apresentaram cerca de 40% de inibição, ainda com crescimento residual, enquanto em 6% não houve desenvolvimento, evidenciando ausência de tolerância a condições hipersalinas. Esses resultados indicam tolerância micelial limitada (~7% de NaCl), menor do que a descrita para a fase leveduriforme (até 11%), sugerindo que a forma ambiental é menos resistente ao estresse osmótico. Estudos prévios descrevem tolerância ao estresse osmótico apenas em níveis moderados, mas não extremos

(Mora-Montes et al., 2015; Lozoya-Pérez et al., 2020). Os valores médios finais de inibição de crescimento estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1: Percentual final de inibição médio de *Sporothrix* spp. sob diferentes condições de pH e salinidade (NaCl).

	pH	Média Inibição %		Média Inibição %	
			[NaCl]		
ISO 1	5,5	0	0%	0	
	4	14,874	2%	26,201	
	7	29,78	4%	41,819	
	10	100	6%	100	
ISO 2	5,5	0	0%	0	
	4	16,857	2%	22,55	
	7	11,562	4%	33,958	
	10	100	6%	100	
ISO 3	5,5	0	0%	0	
	4	-35,724	2%	18,981	
	7	-1,243	4%	43,955	
	10	100	6%	100	

Fonte: Elaborado pelo autor.

Mecanismos adaptativos, como remodelação da parede celular, alterações de membrana e ajustes metabólicos, já foram associados a essas respostas (Mora-Montes et al., 2015), relacionando-se tanto à sobrevivência ambiental quanto à resistência antifúngica. Quando analisados em conjunto, os dados indicam que solos ácidos ou moderadamente salinizados não apenas permitem a persistência do fungo, mas podem favorecer a ativação de fatores de virulência, aumentando seu potencial patogênico.

4. CONCLUSÕES

Demonstrou-se que isolados de *Sporothrix* spp. apresentam tolerância parcial a condições ácidas e neutras, sendo completamente inibidos em pH alcalino. Quanto à salinidade, a inibição do crescimento foi progressiva de acordo com a concentração de NaCl. Esses achados definem os limites fisiológicos básicos da fase micelial e evidenciam a plasticidade do gênero frente a variações ambientais, associada à sobrevivência e potencial virulência.

Além disso, os resultados reforçam a importância de compreender como *Sporothrix* persiste em diferentes ambientes como solos ácidos ou levemente salinizados, onde podem atuar como fonte potencial de infecção. O presente estudo fornece subsídios sólidos para experimentos futuros que ampliem o escopo de amostras, incluam a fase leveduriforme e incorporem análises moleculares, permitindo compreender melhor como *Sporothrix* responde a pressões ambientais e como isso se conecta à sua resiliência ecológica, permitindo uma compreensão mais abrangente da adaptação do gênero diante de estresses ambientais e mudanças climáticas globais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Casadevall, A., Kontoyiannis, D. P., & Robert, V. (2019). On the emergence of *Candida auris*: climate change, azoles, swamps, and birds. **mBio**, 10(4), e01397-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.01397-19>
- García-Solache, M. A., & Casadevall, A. (2010). Global warming will bring new fungal diseases for mammals. **mBio**, 1(1), e00061-10. <https://doi.org/10.1128/mBio.00061-10>
- Gómez-Gaviria, M.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J.A.; MORA-MONTES, H.M. Current progress in *Sporothrix brasiliensis* basic aspects. **Journal of Fungi**, Basel, v.9, n.5, p.533, 2023.
- Eberhard, R. (Ed.). *Pattern and process: towards a regional approach to national estate assessment of geodiversity*. Canberra: **Australian Heritage Commission**; Environment Forest Taskforce, Environment Australia, 1997.
- Lazzarotto, Letícia. **Avaliação do estresse oxidativo em *Sporothrix* spp.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Porto Alegre, 2017.
- Lozoya-Pérez, N. E., Mayorga-Martínez, C. C., López-Ramírez, L. A., González-Hernández, R. J., & Mora-Montes, H. M. (2020). Current outcomes of *Sporothrix schenckii* and *Sporothrix brasiliensis* research. **Infection and Drug Resistance**, 13, 4809–4820.
- Madrid, H., Cano, J., Gené, J., Bonifaz, A., Toriello, C., Guarro, J. (2012). *Sporothrix globosa*, a pathogenic fungus with widespread geographical distribution. **Revista Iberoamericana de Micología**, 29(1), 67–70.
- Mora-Montes, H. M., et al. (2015). Functional aspects of the cell wall of *Sporothrix schenckii*. **Medical Mycology**, 53(1), 3–14.
- Rodrigues, A. M., Della Terra, P. P., Gremião, I. D. F., Pereira, S. A., Orofino-Costa, R., & de Hoog, G. S. (2020). The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, 185(5), 813–842.
- Silva, Cassio Roberto da (Ed.). **Geodiversidade do Brasil: conhecer o passado, para entender o presente e prever o futuro**. Rio de Janeiro: CPRM – Serviço Geológico do Brasil, 2008. Capítulo: *Solos Tropicais*.
- Tsuboi, R., Kamo, T., & Ogawa, H. (1988). Effect of pH on the growth of *Sporothrix schenckii*. **Mycopathologia**, 101(3), 159–162.
- Waller S.B.; et al. Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.52, n.1, p.73-80, 2021.