

BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS ENDOFÍTICOS PRODUTORES DE COMPOSTOS BIOSURFACTANTES PRESENTES NA FLORA DA ESCOLA SENAI “DR. CELSO CHARURI” - UNIDADE BOM RETIRO - BIOTECNOLOGIA

BIOPROSPECTING OF ENDOPHYTIC MICROORGANISMS PRODUCING BIOSURFACTANT COMPOUNDS IN THE FLORA OF SENAI SCHOOL 'DR. CELSO CHARURI' – BOM RETIRO UNIT - BIOTECHNOLOGY

**Laryssa Celestino¹, Gabriel Velasco¹, Isabella Da Costa Rodrigues Barros¹,
Nicole Monteiro Rodrigues¹, Nathalia Ramalho Moreira²,
Erica Valadares de Castro Levatti³**

RESUMO

Surfactantes são moléculas amplamente utilizadas em diversos segmentos da indústria em virtude de suas propriedades químicas. Nos últimos anos, existe uma tendência de substituição de moléculas surfactantes de origem petroquímica por moléculas biosurfactantes de origem microbiana impulsionada inovação em soluções sustentáveis. Neste contexto, o presente estudo realizou bioprospecção de microrganismos endofíticos, com o objetivo de identificar microrganismos promissores na produção de biosurfactantes. A partir dos fragmentos das folhas observamos o crescimento de uma rica diversidade microbiológica, resultando em um total de 32% de fungos filamentosos e 68% bactérias e/ou leveduras. A triagem qualitativa para produção de biosurfactantes aniônicos foi realizada em meio de ágar CTAB. Do total de microrganismos que se desenvolveram, 30% deles foram testados para observar a produção de biosurfactantes aniônicos. Apenas 15% dos microrganismos cresceram e apresentaram halos azul-escuros, indicando produção de biosurfactantes. A triagem de microrganismos para identificar a produção de biosurfactantes aniônico fornece uma abordagem rápida e eficiente para triagem inicial visando selecionar os microrganismos promissores. Os resultados evidenciam a diversidade microbiana em áreas preservadas e o potencial biotecnológico desses microrganismos, reforçando a importância da bioprospecção para o desenvolvimento de soluções sustentáveis e inovadoras.

Palavras-chave: bioprospecção microbiana, endofíticos, biosurfactantes

ABSTRACT

Surfactants are molecules widely used across various industrial sectors due to their chemical properties. In recent years, there has been a trend toward replacing surfactant molecules of petrochemical origin with biosurfactant molecules of microbial origin, driven by innovation in sustainable solutions. In this context, the present study conducted bioprospecting of endophytic microorganisms with the aim of identifying promising microorganisms for biosurfactant production. From the leaf fragments, we observed the growth of a rich microbiological diversity, resulting in a total of 32% filamentous fungi and 68% bacteria and/or yeasts. The qualitative screening for the production of anionic biosurfactants was carried out in CTAB agar medium. Of the total microorganisms that developed, 30% were tested to observe the production of anionic biosurfactants. Only 15% of the microorganisms grew and exhibited dark blue halos, indicating biosurfactant production. The screening of microorganisms to identify

anionic biosurfactant production provides a fast and efficient approach for preliminary screening aimed at selecting promising microorganisms. The results highlight the microbial diversity in preserved areas and the biotechnological potential of these microorganisms, reinforcing the importance of bioprospecting for the development of sustainable and innovative solutions.

Keywords: microbial bioprospecting, endofphytic. biosurfactant

1 INTRODUÇÃO

Os surfactantes são moléculas tensoativas com propriedades químicas que apresentam uma porção hidrofílica e outra hidrofóbica, sendo assim capazes de se organizar entre dois líquidos ou um líquido e um sólido. Por apresentar estas características são amplamente utilizados em diferentes segmentos da indústria como em produtos de higiene pessoal e cosméticos, produtos de limpeza, produtos farmacêuticos (cremes, xaropes, colírios e cápsulas moles), indústria química (síntese de nanopartículas, formulação de emulsões etc.), indústria têxtil, indústria agrícola e em processos de pesquisa biotecnológico (BEJERK et al, 2021).

Nos últimos anos, existe uma tendência de substituição de moléculas surfactantes de origem petroquímica (recurso não renovável) por moléculas biosurfactantes de origem microbiana (recurso renovável) impulsionada por preocupações ambientais, toxicológicas e inovação em soluções sustentáveis biodegradáveis (POTT; VON JOHANNIDES, 2022).

Uma das estratégias para se obter moléculas biosurfactantes consiste na bioprospecção. Um processo de busca sistemática por organismos, microrganismos, genes, compostos e outros recursos biológicos para o desenvolvimento de produtos explorando a biodiversidade em busca de inovação o que reflete em benefícios econômicos, ambientais e sociais (TRINDADE, 2022).

Neste contexto, a bioprospecção microbiana, utilizando tanto tecnologias tradicionais quanto avançadas, têm sido desenvolvidas e empregadas com o objetivo de aumentar o conhecimento da diversidade microbiológica e os processos funcionais em ecossistemas microbianos. Além disso, esta abordagem permite a identificação de novas substâncias químicas com potencial para aplicações de novos produtos biotecnológicos ou como alternativa mais sustentável aos compostos já existentes (TRINDADE, 2022; SRIVASTAVA et al., 2022). Com base nesta perspectiva, este trabalho realizou bioprospecção de microrganismos endofíticos presentes nas folhas da fauna da área de preservação permanente da Escola SENAI “Dr. Celso Charuri” Bom Retiro – Biotecnologia CFP 1.10, em São Paulo. O trabalho também avaliou de forma qualitativa o potencial de produção de substâncias biosurfactantes aniônicas destes microrganismos isolados visando futuras aplicações biotecnológicas.

2 METODOLOGIA

Foi utilizado folhas senescentes coletadas manualmente no solo no período de novembro de 2024. A coleta foi realizada na área de preservação permanente da Escola SENAI “Dr. Celso Charuri” Bom Retiro – Biotecnologia CFP 1.10 (-23.518747,-46.648665), respeitando as normas de proteção ambiental estabelecidas pela Lei Federal nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998, que dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas lesivas ao meio ambiente. Não havendo danos à vegetação viva nem intervenção em áreas de preservação permanente.

As folhas coletadas foram lavadas cuidadosamente com água corrente e detergente neutro, com o objetivo de remover sujidades e impurezas da superfície. Após a limpeza, os tecidos vegetais foram seccionados em fragmentos de aproximadamente 6 x 6 mm e submetidos a um protocolo de desinfecção com imersão sequencial em solução de hipoclorito de sódio à 1%, etanol 70% e posterior lavagem com água destilada para remoção dos resíduos dos agentes químicos. Em seguida, quatro fragmentos foram inoculados em placas de Petri contendo ágar nutriente. As placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica a 27 °C por um período de 7 dias para proporcionar crescimento dos microrganismos endofíticos (DING et al., 2019).

Após período de incubação as placas foram avaliadas macroscopicamente e foi quantificado o número de microrganismo que se desenvolveram a partir dos tecidos vegetais. Os microrganismos foram classificados em bactérias e/ou levedura e fungos filamentosos. A produção de substâncias biossurfactantes aniônicas foi realizada de acordo com DA SILVA et. al (2021) pelo método do ágar de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), também conhecido como ágar azul. Consiste em uma avaliação qualitativa onde é possível observar a presença de biossurfactantes aniônicos por meio do aparecimento de halos azul-escuros ao redor dos microrganismos ou o microrganismo se torna azulado durante seu crescimento.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Diversidade dos microrganismos endofíticos a partir do fragmento vegetal

Foi identificado um total de 100 microrganismos que se desenvolveram nas condições de cultivo a partir das folhas submetidas ao processo de limpeza e desinfecção. Considerando as características macroscópicas dos microrganismos como fungos filamentosos (textura, relevo, cor e borda) e bactérias e/ou leveduras (forma, elevação, borda, superfície, transparência, brilho, pigmentação e consistência). Após observação macroscópica os microrganismos foram classificados totalizando 32 fungos filamentosos e 68 bactérias e/ou leveduras (**Figura 1**).

3.2 Triagem dos microrganismos produtores de biossurfactantes aniônicos

Os microrganismos endofíticos desenvolvidos a partir do fragmento vegetal foram isolados e inoculados em placas de Petri bipartidas contendo ágar nutriente e ágar de CTAB. A produção dos biossurfactantes aniônicos foi realizado de modo qualitativo através da observação do aparecimento de halos azul-escuros ao redor dos microrganismos ou quando o microrganismo se tornou azulado durante seu crescimento de acordo com DA SILVA et. al. (2021).

Foi isolado 100 microrganismos, 30% foram testados para determinar a produção de biossurfactantes aniônicos, apenas 15% se desenvolveram enquanto os restantes não apresentaram crescimento no ágar de CTAB, provavelmente em virtude da falta de recurso nutricional, uma vez que ágar de CTAB apresenta apenas glicose como fonte de carbono no aporte nutricional. Desta forma, podemos considerar a falta de crescimento como uma limitação da metodologia, contudo o dado qualitativo de crescimento no ágar de CTAB bem como a produção de biossurfactantes aniônico fornece uma abordagem rápida e eficiente para triagem inicial visando selecionar os microrganismos promissores.

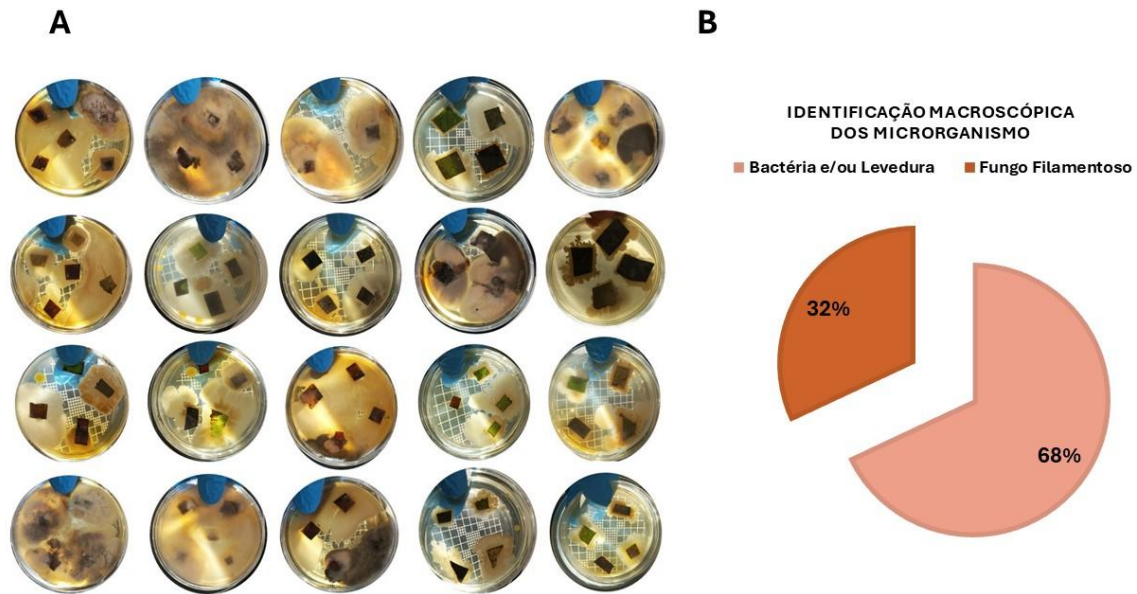


Figura 1: Diversidade microbiana endofítica presente nas folhas da fauna área de preservação ambiental da Escola Senai Bom Retiro – Biotecnologia CFP 1.10. **(A)** Representação amostral da diversidade de microrganismos que se desenvolveram na condição de cultivo a partir do inóculo das folhas senescentes da fauna local em ágar nutriente. **(B)** Número de isolados de bactérias e/ou leveduras e fungos filamentosos obtidos na condição de cultivo.

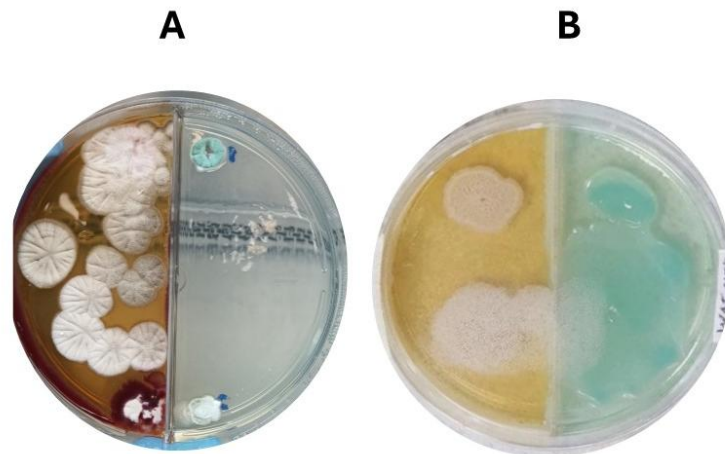


Figura 2: Produção de biossurfactante aniônico dos microrganismos endofíticos utilizando o método do ágar de CTAB. Os microrganismos foram isolados e inoculados em placas de Petri bipartida contendo ágar nutriente (amarelado) e ágar de CTAB (azulado). A detecção qualitativa é facilmente observada pela observação de halos azul-escuros ao redor dos microrganismos ou o microrganismo se torna azulado durante seu crescimento. **(A)** Representação amostral da produção de biossurfactante aniônico em fungo filamentoso. **(B)** Representação amostral da produção de biossurfactante aniônico em bactéria e/ou levedura.

4 CONCLUSÃO

A bioprospecção de microrganismos endofíticos realizada a partir de folhas senescentes coletadas das árvores da fauna da área de preservação permanente da Escola SENAI “Dr. Celso Charuri” Bom Retiro – Biotecnologia CFP 1.10 revelou uma diversidade microbiana composta por fungos filamentosos e bactérias e/ou leveduras. A triagem qualitativa para produção de biossurfactantes aniônicos utilizando ágar de CTAB permitiu identificar microrganismos com potencial biotecnológico.

Os resultados obtidos reforçam a importância da biodiversidade microbiana como fonte de compostos de interesse industrial e ambiental, além de evidenciar o potencial de áreas preservadas como reservatórios de microrganismos com aplicações sustentáveis em biotecnologia.

5 REFERÊNCIAS

BJERK, T. R. *et al.* Biosurfactants: Properties and Applications in Drug Delivery, Biotechnology and Ecotoxicology. *Bioengineering (Basel)*, [S.l.], v. 8, n. 8, p. 115, 13 ago. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/bioengineering8080115>.

DA SILVA, A. F. *et al.* Fungal biosurfactants, from nature to biotechnological product: bioprospection, production and potential applications. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, [S.l.], v. 44, n. 10, p. 2003–2034, out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02597-5>.

DING, Z. *et al.* Bioprospecting of Novel and Bioactive Metabolites from Endophytic Fungi Isolated from Rubber Tree *Ficus elastica* Leaves. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, [S.l.], v. 29, n. 5, p. 731–738, 28 maio 2019. DOI: <https://doi.org/10.4014/jmb.1901.01015>.

POTT, R. W. M.; VON JOHANNIDES, J. Process Development in Biosurfactant Production. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, [S.l.], v. 181, p. 195–233, 2022. DOI: https://doi.org/10.1007/10_2021_195.

SRIVASTAVA, R. K. *et al.* Microbial originated surfactants with multiple applications: a comprehensive review. *Archives of Microbiology*, [S.l.], v. 204, n. 8, p. 452, 4 jul. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03086-3>.

TRINDADE, M. *et al.* Screening Strategies for Biosurfactant Discovery. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, [S.l.], v. 181, p. 17–52, 2022. DOI: https://doi.org/10.1007/10_2021_174.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Escola SENAI “Dr. Celso Charuri”, unidade Bom Retiro – Biotecnologia CFP 1.10 pela infraestrutura e materiais disponibilizados para a desenvolvimento deste trabalho.

SOBRE OS AUTORES

Laryssa Celestino ¹



Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Cidade de São Paulo (2020) e Técnico em Biotecnologia pela Escola SENAI “Dr. Celso Charuri”, unidade Bom Retiro – Biotecnologia (2025). Possui treinamento e experiência em microbiologia, estudos de bioprospecção microbiana e obtenção de bioprodutos.

Gabriel Velasco ¹



Técnico em Biotecnologia pela Escola SENAI “Dr. Celso Charuri”, unidade Bom Retiro – Biotecnologia (2025), graduando em Ciências Biológicas pela Universidade São Judas Tadeu (previsão de conclusão em 2028). Possui treinamento e experiência em microbiologia, estudos de bioprospecção microbiana, obtenção de bioprodutos e produção de biomateriais.

Isabella Da Costa Rodrigues Barros¹



Técnico em Biotecnologia pela Escola SENAI “Dr. Celso Charuri”, unidade Bom Retiro – Biotecnologia (2025). Possui treinamento e experiência em microbiologia, estudos de bioprospecção microbiana, obtenção de bioprodutos e produção de biomateriais.

Nicole Monteiro Rodrigues¹



Técnico em Biotecnologia pela Escola SENAI “Dr. Celso Charuri”, unidade Bom Retiro – Biotecnologia (2025). Possui treinamento e experiência em microbiologia, estudos de bioprospecção microbiana, obtenção de bioprodutos e produção de biomateriais.

Nathalia Ramalho Moreira ²



Coordenadora Técnica na Escola SENAI “Dr. Celso Charuri”, unidade Bom Retiro – Biotecnologia. Possui Bacharel em Bioquímica (2006), mestrado (2013) e doutorado (2016) em Bioquímica voltado a estudos de purificação de proteínas e cinética enzimática.

Erica Valadares de Castro Levatti ³



Instrutora de Formação Profissional III na Escola SENAI “Dr. Celso Charuri”, unidade Bom Retiro – Biotecnologia. Possui Bacharel em Ciências Biológicas (2007), mestrado (2010) e doutorado (2016) em Ciências voltado ao metabolismo de microrganismos; e pós-doutoramento (2016-2023) em desenvolvimento de fármacos em estudos de eficácia *in vitro* e *in vivo* de novos protótipos farmacêuticos selecionando compostos líderes para otimização.