

## **AVALIAÇÃO DE EXTRATO ANTIMICROBIANO DE MICROORGANISMO ENDOFÍTICO ISOLADO NA FLORA DA ESCOLA SENAI “DR. CELSO CHARURI” - UNIDADE BOM RETIRO - BIOTECNOLOGIA**

### **EVALUATION OF ANTIMICROBIAL EXTRACT FROM ENDOPHYTIC MICROORGANISM ISOLATED FROM THE FLORA OF SENAI SCHOOL 'DR. CELSO CHARURI' – BOM RETIRO UNIT - BIOTECHNOLOGY**

**Laryssa Celestino<sup>1\*</sup>, Gabriel Velasco<sup>1\*</sup>, Isabella Da Costa Rodrigues Barros<sup>1\*</sup>,  
Nicole Monteiro Rodrigues<sup>1\*</sup>, Nathalia Ramalho Moreira<sup>2</sup>,  
Erica Valadares de Castro Levatti<sup>3</sup>**

\* Os autores contribuíram igualmente para este trabalho.

#### **RESUMO**

A bioprospecção microbiana é uma abordagem que visa buscar, isolar e estudar microrganismos de diferentes ambientes. Esta estratégia permite a descoberta de novas moléculas bioativas, sendo uma das principais metodologias utilizadas para obtenção e descoberta de novas substâncias químicas com potencial biotecnológico. No cenário farmacológico, cerca de 30% dos fármacos aprovados nos últimos anos são derivados de produtos naturais de origem vegetal ou microbiano. Neste contexto, este estudo realizou bioprospecção de microrganismos endofíticos com folhas senescentes coletadas das árvores da flora da área de preservação permanente da Escola SENAI “Dr. Celso Charuri” Bom Retiro – Biotecnologia CFP 1.10. Selecionamos um microrganismo promissor na produção de substâncias antimicrobianas por apresentar durante seu desenvolvimento um halo inibitório característico de produção moléculas bioativas. Este microrganismo foi isolado e denominado como SB110.1 até a sua identificação por técnicas moleculares. Os estudos de características fenotípicas em ágar nutriente e Sabouraud mostrou colônias circulares com bordo inteiro, elevação convexa, superfície brilhante, opacidade fosca, ausência de pigmentação e consistência cremosa. Também foi observado afinidade de crescimento em pH ligeiramente ácido e com alta concentração de sal. Estudos futuros com este microrganismo incluem a observação de suas características microscópicas, cultivo em diferentes condições para obtenção de extrato microbiano e avaliação antimicrobiana dos extratos frente a bactérias de interesse clínico.

**Palavras-chave:** bioprospecção microbiana, endofíticos, descoberta de novos antibióticos, produtos naturais

---

<sup>1</sup> Técnico em Biotecnologia pela Escola SENAI “Dr. Celso Charuri” Bom Retiro - Biotecnologia.

<sup>2</sup> Coordenadora na Escola SENAI “Dr. Celso Charuri” Bom Retiro - Biotecnologia.

<sup>3</sup> Instrutora de Formação Profissional III na Escola SENAI “Dr. Celso Charuri” - Biotecnologia.

## ABSTRACT

Microbial bioprospecting is an approach aimed at searching for, isolating, and studying microorganisms from different environments. This strategy allows the discovery of new bioactive molecules and is one of the main methodologies used for obtaining and identifying new chemical substances with biotechnological potential. In the pharmaceutical context, approximately 30% of drugs approved in recent years are derived from natural products of plant or microbial origin. In this context, the present study conducted bioprospecting of endophytic microorganisms from senescent leaves collected from trees in the permanent preservation area of the SENAI “Dr. Celso Charuri” – Bom Retiro, Biotechnology CFP 1.10. We selected a microorganism that showed promise in antimicrobial substance production, as it exhibited during its development an inhibitory halo characteristic of bioactive molecule production. This microorganism was isolated and designated SB110.1 until its identification using molecular techniques. Phenotypic characterization studies on nutrient and Sabouraud agar showed circular colonies with entire margins, convex elevation, shiny surface, dull opacity, absence of pigmentation, and creamy consistency. Growth affinity was also observed at slightly acidic pH and under high salt concentration. Future studies with this microorganism include observation of its microscopic characteristics, cultivation under different conditions to obtain microbial extracts, and antimicrobial evaluation of the extracts against clinically relevant bacteria.

**Keywords:** microbial bioprospecting, endofphytic, antibiotic discovery, natural products

## 1 INTRODUÇÃO

A bioprospecção é 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).

O Brasil é um país possuidor de uma das maiores biodiversidades do mundo. Tendo em vista que a observância de grande biodiversidade está associada a uma grande quimiodiversidade, o Brasil possui uma fonte praticamente inesgotável de biomoléculas de origem natural para ser explorado, principalmente na seleção de novos protótipos no desenvolvimento de novos fármacos reafirmaram em estudo recente a importância dos produtos naturais como base de muitos fármacos, visto que, nos últimos 34 anos (1981-2014), cerca de 30% das fármacos aprovadas para comercialização são derivados de produtos naturais (ZARINS-TUTT et al., 2016; LIU et al., 2025).

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 antimicrobiana de um microrganismo isolado que foi inicialmente denominado como SB110.1. O trabalho visa a identificação do microrganismo SB110.1 utilizando ferramentas da microbiologia clássica e técnicas moleculares, bem como avaliar o potencial antimicrobiano do extrato microbiano frente a bactérias de importância médica visando futuras aplicações biotecnológicas na área de desenvolvimento de fármacos.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Coleta das folhas e incubação do fragmento vegetal

Foi utilizado folhas senescentes coletadas manualmente do solo no período de novembro de 2024 durante o curso de formação inicial e continuada (FIC) de produção de bioprodutos microbianos. 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. Em seguida, foi realizado um protocolo de desinfecção e inoculação 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).

### 2.2 Isolamento e caracterização fenotípica do microrganismo

Após período de incubação as placas foram avaliadas macroscopicamente identificando microrganismos promissores produtores de substâncias antimicrobianas. O microrganismo selecionado para este estudo foi isolado em ágar nutriente, e posteriormente seu desenvolvimento foi analisado utilizando ágar Sabouraud, Manitol e MacConkey. O microrganismo foi inoculado nos diferentes meios de cultivo e as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 27° por um período de 72 horas. As características do microrganismo frente aos diferentes meios de cultivo permitiram observar as características da colônia quanto a forma, elevação, borda, superfície, transparência, brilho, pigmentação e consistência).

Para identificação microscópica, foi realizado coloração de Gram, utilizando como controle positivo cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (TRIPATHI et al.,2025). As lâminas foram observadas em microscópio óptico, enquanto para a captura de imagens foi utilizado microscópio digital.

### 2.3 Produção do extrato microbiano da SB110.1

Para produção do extrato microbiano a bactéria foi cultivada em meio líquido em 6 condições diferentes: C1 (caldo nutriente), C2 (Caldo nutriente contendo 7% de NaCl), C3 (Caldo nutriente contendo 3,5% de NaCl), C4 (Caldo Sabouraud) e C5

(Caldo Sabouraud contendo 7% de NaCl) e C6 (Caldo Sabouraud contendo 3,5% de NaCl). A SB110.1 foi cultivada em frascos Erlenmeyer de 250 mL em incubadora em agitação (120 rpm) por um período de 48 horas a 27 °C. A obtenção do extrato microbiano seguiu o protocolo descrito por SANTOS FERREIRA et al. (2024). A atividade antimicrobiana dos extratos seguiu o protocolo descrito por FREIRE et al. (2022).

## 2.4 Avaliação antimicrobiana do extrato da SB110.1

As concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos extratos (C1, C2, C3, C4, C5 e C6) foram determinadas utilizando uma versão do método de microdiluição em caldo do Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI). Suspensões bacterianas puras foram ajustadas ao padrão 0,5 de McFarland, contendo aproximadamente  $1-2 \times 10^8$  UFC·mL<sup>-1</sup>, e devidamente diluídas. Os extratos foram testados em diluição seriada em base 2 (de 300 a 0,58 µg/mL). A concentração bacteriana final no ensaio foi de aproximadamente  $5 \times 10^5$  UFC/mL ( $5 \times 10^4$  UFC/poço). A placa foi incubada a 35 °C por 24 horas. A CIM foi considerada como a menor concentração do extrato que inibiu completamente o crescimento bacteriano no poço da microdiluição, visível a olho nu (FREIRE et al., 2022).

## 3 RESULTADOS PARCIAIS

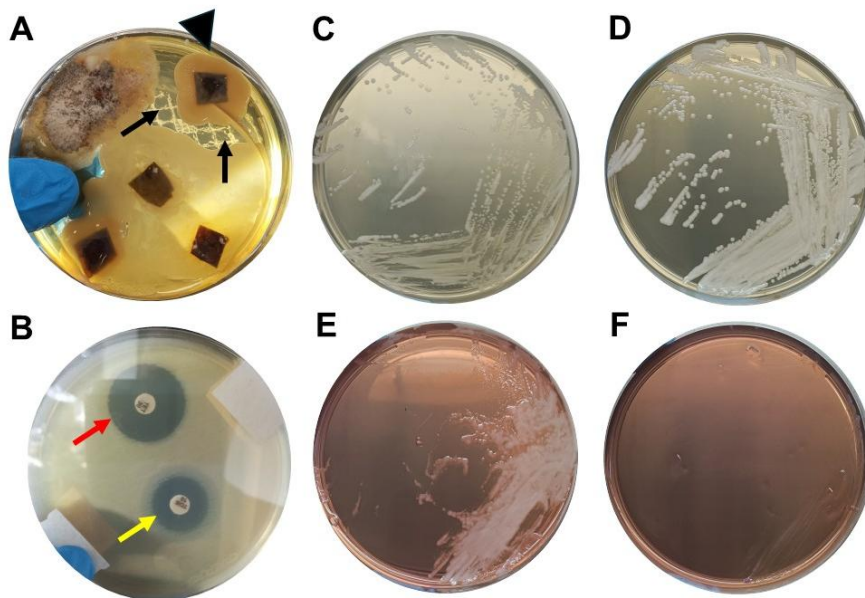
### 3.1 Seleção do SB110.1 e características fenotípicas

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. Através da observação macroscópica das placas um microrganismo promissor foi selecionado por apresentar um halo de inibição antimicrobiano (**Figura 1A**). Tipicamente em um antibiograma um halo de inibição refere-se a uma zona clara onde o microrganismo testado frente a um disco antibiótico não apresenta crescimento indicando sensibilidade do microrganismo frente ao antibiótico testado (**Figura 1B**). Por apresentar estas características de produção de substância antimicrobiana o microrganismo foi selecionado para estudo e avaliar a produção de substâncias antimicrobianas. Este microrganismo foi inicialmente denominado como SB110.1 até a identificação por biologia molecular.

O SB110.1 foi isolado e cultivado em diferentes meios de cultivos com características de não seletividade, seletividade e diferenciação. A primeira análise foi com ágar nutriente, meio de cultivo não seletivo que permite o desenvolvimento de um amplo espectro de microrganismo. O SB110.1 apresentou crescimento satisfatório conforme esperado (**Figura 1C**). Também foi avaliado o crescimento no ágar Saboroud, que é um meio seletivo por apresentar um pH  $5,6 \pm 0,2$  final. Neste meio que é considerado ligeiramente ácido, observamos que o SB 110.1 apresentou crescimento mais proeminente quando comparado com o ágar nutriente (**Figura 1D**). Também foi avaliado o crescimento do SB110.1 no ágar manitol, um meio de cultivo seletivo e diferencial. Este meio contém aproximadamente 7,5 % de NaCl e o manitol como substrato fermentável, características que permitem a seleção para bactérias Gram positivas e a seleção pela visualização da fermentação do manitol. Neste meio observamos que o microrganismo apresentou crescimento contudo de forma menos acentuada quando comparado com o ágar nutriente e Sabouraud (**Figura 1E**). Em relação a fermentação não foi observado fermentação para o açúcar manitol. A última

análise foi realizada no ágar MacConkey, que também é um meio de cultivo seletivo e diferencial, que contém em sua composição sais biliares favorecendo o crescimento de bactérias gram negativas, já a seletividade se dá pela presença de lactose. Foi observado que o SB110.1 não apresentou crescimento no ágar MacConkey (**Figura 1F**). Com base nestas observações fenotípicas verificamos que o SB110.1 apresenta uma preferência no desenvolvimento em meio de cultivo ligeiramente ácido e apresenta característica de microrganismos halofíticos, ou seja, que se desenvolvem bem em ambientes com altas concentrações de sal. Em relação a fermentação, o SB110.1 não apresenta fermentação para manitol, já em relação à lactose, não podemos concluir visto que no ágar MacConkey não houve crescimento.

As características morfológicas foram observadas no ágar nutriente e Sabouraud em relação à forma, elevação, borda, superfície, transparência, brilho, pigmentação e consistência. Observamos que o SB110.1 apresenta colônia forma circular com bordo inteiro, elevação convexa, superfície brilhante, opacidade fosca, ausência de pigmentação e consistência cremosa.



**Figura 1:** Microrganismo SB110.1. Placa de Petri contendo ágar nutriente da etapa de desenvolvimentos dos microrganismos endofíticos a partir do fragmento vegetal. O SB110.1 se desenvolveu a partir do fragmento vegetal (cabeça de seta preta) promovendo um halo de inibição típico de produção de substâncias antimicrobianas (setas pretas) (**A**). Imagem de placa de Petri com teste de sensibilidade antimicrobiano qualitativo (técnica de Kirby-Bauer) em cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 com discos antibióticos de tetraciclina 30 µg (TET 30) (seta vermelha) e tobramicina 10 µg (TOB 10) (seta amarela) (**B**). Cultivo do SB110.1 em ágar nutriente (**C**), ágar Saboroud (**D**), ágar manitol (**E**) e ágar MacConkey (**F**). Observação: O ensaio de antibiograma (técnica de Kirby-Bauer) não foi realizado neste estudo, a figura 1B faz parte do acervo de imagens da Profa. Erica de Castro Levatti capturadas durante as aulas práticas desenvolvidas no curso FIC de produção de bioprodutos microbianos.

#### 4 CONCLUSÕES PARCIAIS

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 demonstrando a presença de microrganismos

promissores para produção de moléculas antimicrobianas.

Como resultados preliminares foi isolado um microrganismo que denominamos de SB110.1 que apresentou características de produção de substâncias antimicrobianas em virtude do halo inibitório produzido. Os estudos de características fenotípicas em ágar nutriente e Sabouraud mostrou colônias circulares com bordo inteiro, elevação convexa, superfície brilhante, opacidade fosca, ausência de pigmentação e consistência cremosa.

Estudos futuros com este microrganismo incluem a observação de suas características microscópicas, cultivo em diferentes condições para obtenção de extrato microbiano e avaliação antimicrobiana dos extratos frente a bactérias de interesse clínico.

## 5 REFERÊNCIAS

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*, v. 29, n. 5, p. 731–738, 28 maio 2019. DOI: 10.4014/jmb.1901.01015.

FREIRE, V. F.; GUBIANI, J. R.; SPENCER, T. M.; HAJDU, E.; FERREIRA, A. G.; FERREIRA, D. A. S.; DE CASTRO LEVATTI, E. V.; BURDETTE, J. E.; CAMARGO, C. H.; TEMPONE, A. G.; BERLINCK, R. G. S. Feature-based molecular networking discovery of bromopyrrole alkaloids from the marine sponge *Agelas dispar*. *Journal of Natural Products*, v. 85, n. 5, p. 1340–1350, 27 maio 2022. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.2c00094.

LIU, R.; PENG, X. P.; NEWMAN, D. J.; PURCHASE, D.; LI, G.; KUSARI, S. Unlocking the metabolic potential of endophytic fungi through epigenetics: a paradigm shift for natural product discovery and plant-microbe interactions. *Natural Product Reports*, 28 jul. 2025. DOI: 10.1039/d5np00028a. Epub ahead of print.

SANTOS FERREIRA, D. A.; DE CASTRO LEVATTI, E. V.; SANTA CRUZ, L. M.; COSTA, A. R.; MIGOTTO, Á. E.; YAMADA, A. Y.; CAMARGO, C. H.; CHRISTODOULIDES, M.; LAGO, J. H. G.; TEMPONE, A. G. Saturated iso-type fatty acids from the marine bacterium *Mesoflavibacter zeaxanthinifaciens* with anti-trypanosomal potential. *Pharmaceuticals*, v. 17, p. 499, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ph17040499>. Acesso em: 23 ago. 2025.

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

TRINDADE, M. et al. Screening strategies for biosurfactant discovery. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v. 181, p. 17–52, 2022. DOI: 10.1007/10\_2021\_174.

TRIPATHI, N.; ZUBAIR, M.; SAPRA, A. Gram staining. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. [Updated 28 Mar 2025]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562156/>. Acesso em: 23 ago. 2025.

ZARINS-TUTT, J. S.; BARBERI, T. T.; GAO, H.; MEARNS-SPRAGG, A.; ZHANG, L.; NEWMAN, D. J.; GOSS, R. J. Prospecting for new bacterial metabolites: a glossary of approaches for inducing, activating and upregulating the biosynthesis of bacterial cryptic or silent natural products. *Natural Product Reports*, v. 33, n. 1, p. 54–72, jan. 2016. DOI: 10.1039/c5np00111k.

## 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 <sup>1</sup>



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 <sup>1</sup>



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 Barros<sup>1</sup>



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 Rodrigues<sup>1</sup>



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 <sup>2</sup>



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 <sup>3</sup>



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.