



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS - UEA
ESCOLA NORMAL SUPERIOR - ENS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

YASMIM LARANJEIRA SANTOS

**PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTES POR FUNGOS ENDOFÍTICOS
ISOLADOS DE *Eichhornia crassipes* DA BACIA DO TARUMÃ-AÇU, MANAUS,
AM**

Manaus – AM
2025

YASMIM LARANJEIRA SANTOS

**PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTES POR FUNGOS ENDOFÍTICOS
ISOLADOS DE *Eichhornia crassipes* DA BACIA DO TARUMÃ-AÇU, MANAUS,
AM**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, da Escola Normal Superior - ENS, da Universidade do Estado do Amazonas - UEA, como requisito final para obtenção do título de graduada em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof^a Dr^a. Francisca da Silva Ferreira
Co-orientadora: Prof^a Dr^a. Ieda Hortêncio Batista

Manaus – AM
2025

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

S237p

Santos, Yasmim Laranjeira

Produção de biossurfactantes por fungos endofíticos isolados de *Eichhornia crassipes* da bacia do Tarumã-Açu, Manaus, AM / Yasmim Laranjeira Santos . Manaus : [s.n], 2025.

43 f.: color.; 21,0 cm.

TCC - Graduação em Ciências Biológicas- Licenciatura-
Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2025.

Inclui Bibliografia.

Orientador: Ferreira, Francisca da Silva.

Coorientador: Batista, Ieda Hortêncio.

1. Emulsificação. 2. Endofíticos. 3. Fungos. 4. Macrófita. 5. Tensão superficial. I. Ferreira, Francisca da Silva (Orient.) II . Batista, Ieda Hortêncio (Coorient.) III. Universidade do Estado do Amazonas. IV.

Título

CDU(1997)57

YASMIM LARANJEIRA SANTOS

I

**PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTES POR FUNGOS ENDOFÍTICOS
ISOLADOS DE *Eichhornia crassipes* DA BACIA DO TARUMÃ-AÇU, MANAUS,
AM**

Trabalho Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Amazonas como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Licenciada em Ciências Biológicas.

Aprovado em 27 de Maio de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Francisca da Silva Ferreira
Orientadora



Documento assinado digitalmente

JOAO MARCELO SILVA LIMA

Data: 17/06/2025 21:39:50-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. João Marcelo Silva Lima
Banca Examinadora



Documento assinado digitalmente

SERGIO DANTAS DE OLIVEIRA JUNIOR

Data: 17/06/2025 23:05:52-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Sérgio Dantas de Oliveira Júnior
Banca Examinadora

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho com todo o meu amor e gratidão:

À minha mãe, minha irmã e ao meu irmão, que estiveram diariamente ao meu lado, me lembrando do porquê continuar meu trabalho. Vocês são a minha base e tudo que faço é por vocês.

Ao meu pai e à minha madrasta, que mesmo à distância, sempre se fazem presentes em meu coração e me oferecem seu amor.

AGRADECIMENTO

À Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

Agradeço à minha mãe, Luciney Laranjeira, pelo suporte financeiro e por sempre acreditar em mim, oferecendo o apoio necessário para que eu pudesse seguir meus estudos.

À minha orientadora e coorientadora, a Prof. Dr^a. Francisca da Silva Ferreira e Prof. Dr^a. Ieda Hortêncio Batista, cuja orientação valiosa e expertise foram fundamentais para o desenvolvimento deste projeto.

Ao Marlon Willyam e Adriano Ferrari, meus colegas de Paic, agradeço pelo incentivo constante para que eu fosse ao laboratório e por me auxiliarem em várias etapas do desenvolvimento deste trabalho.

Sou grata à Universidade do Estado do Amazonas e a Escola Normal Superior pelo suporte oferecido durante minha jornada acadêmica.

Ao Prof^a Água pelo auxílio financeiro que possibilitou a aquisição dos equipamentos e materiais necessários para o laboratório. Sem esse suporte, muitas das etapas do projeto não teriam sido viáveis.

Agradeço à Prof. Dr^a. Patrícia Melchionna Albuquerque, que me autorizou a utilizar equipamentos no laboratório da Escola Superior de Tecnologia. Sua generosidade foi crucial para a realização das experimentações.

Aos meus amigos da faculdade, por todas as risadas compartilhadas e os surtos que vivemos juntos. Cada momento foi fundamental para tornar essa experiência mais leve e divertida.

Às minhas amigas do ensino médio, que continuam ao meu lado. Nossa amizade continua forte e isso significa muito para mim.

Sou grata aos membros da família Laranjeira, pelo incentivo constante, pelos elogios e por sempre verem o melhor em mim.

Agradeço ao meu pai e minha madrasta, Mácio e Noemi Santos, pelo incentivo e por vibrarem comigo e por mim em cada passo que dei.

Por fim, quero reconhecer meu próprio esforço e dedicação. Não desisti quando as dificuldades surgiram, e isso me tornou mais forte e determinada a concluir este trabalho.

A todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho. Obrigada.

*“É preciso que eu suporte duas ou três larvas se
quiser conhecer as borboletas.”*

(Saint-Exupéry, 2016, p.28)

RESUMO

Os biossurfactantes são moléculas anfipáticas com baixa toxicidade e alta biodegradabilidade, despertando interesse comercial por serem ecologicamente seguras. Estudos recentes confirmam sua produção por fungos endofíticos. Neste contexto, o presente trabalho, investigou a produção de biossurfactantes por fungos filamentosos isolados da macrófita aquática *Eichhornia crassipes* (Mart.) Soms, coletadas na bacia do rio Tarumã-Açu, em Manaus. Após isolamento e purificação do material botânico, 27 fungos foram obtidos (23 filamentosos e 4 leveduriformes), com taxas de colonização variando de 13% (raiz) a 80% (bulbo). Os fungos filamentosos foram submetidos a testes de produção de biossurfactantes, incluindo colapso da gota, índice de emulsificação (com óleo de soja, diesel e querosene) e medição da tensão superficial (TS) pelo método de Du Noüy. Cinco amostras testaram positivo nos testes iniciais, sendo que três apresentaram redução moderada da TS (34,9%, 34,1% e 32,2%). Estas linhagens foram caracterizadas morfológicamente, mas não foi possível identificar o gênero, sendo, por isso, considerados *Mycelia sterilia*. Os resultados evidenciam o potencial biotecnológico de endofíticos associados *E. crassipes* na produção de biossurfactantes.

Palavras-chave: Emulsificação; Endofíticos; Fungos; Macrófita; Tensão superficial.

ABSTRACT

Biosurfactants are amphipathic molecules with low toxicity and high biodegradability, attracting commercial interest due to their environmental safety. Recent studies confirm their production by endophytic fungi. In this context, the present study investigated the production of biosurfactants by filamentous fungi isolated from the aquatic macrophyte *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, collected from the Tarumã-Açu river basin in Manaus, Brazil. After isolation and purification of the plant material, 27 fungal strains were obtained (23 filamentous and 4 yeast-like), with colonization rates ranging from 13% (root) to 80% (bulb). The filamentous fungi were subjected to biosurfactant production tests, including drop-collapse assay, emulsification index (using soybean oil, diesel, and kerosene), and surface tension (ST) measurement using the Du Noüy ring method. Five strains tested positive in the initial screenings, with three showing moderate ST reduction (34.9%, 34.1%, and 32.2%). These strains were morphologically characterized, but genus-level identification was not possible; they were classified as *Mycelia sterilia*. The results highlight the biotechnological potential of endophytic fungi associated with *E. crassipes* for biosurfactant production.

Keywords: Emulsification; Endophytes; Fungi; Macrophyte; Surface tension.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1. GERAL:	13
2.2. ESPECÍFICOS:	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1. SURFACTANTES	14
3.2. BIOSSURFACTANTES E SUAS APLICAÇÕES	14
3.3. PRODUTORES DE BIOSSURFACTANTES.....	16
3.3.1. Fungos.....	17
3.3.2. Fungos endofíticos.....	18
3.4. PLANTA HOSPEDEIRA - MACRÓFITAS AQUÁTICAS.....	19
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1. COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO	21
4.2. DESINFECÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO E ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	22
4.3. PURIFICAÇÃO E PRESERVAÇÃO	23
4.4. CÁLCULO DA TAXA DE COLONIZAÇÃO	24
4.5. SELEÇÃO DOS FUNGOS PRODUTORES DE BIOSSURFACTANTES	25
4.5.1. Cultivo dos endófitos em meio líquido.....	25
4.5.2. Teste de colapso da gota.....	26
4.5.3. Determinação de índice de emulsificação	26
4.6. TENSÃO SUPERFICIAL - TS	27
4.7. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS MAIS PROMISSORES.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30

5.1.	IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO.....	30
5.2.	ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS E TAXA DE COLONIZAÇÃO.....	30
5.3.	TESTE DE COLAPSO DA GOTA E DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EMULSIFICAÇÃO	32
5.4.	TENSÃO SUPERFICIAL (TS)	35
5.5.	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	36
6.	CONCLUSÃO.....	38
7.	REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

Os fungos endofíticos são encontrados nos tecidos internos dos vegetais sem causar prejuízos às plantas (Lima; Souza; Cortez, 2013; Azevedo, 2014; Ferreira, 2020). Além de não prejudicarem as plantas, ainda lhes conferem vantagens com a produção de metabólitos com capacidade de aumentar sua resistência a mudanças no ambiente ou lhes conferem defesa química contra insetos, por exemplo (Freire; Vasconcelos; Coutinhos, 2014; Ferreira, 2020; Fan, Shi, 2024).

Todavia, ainda há muitas lacunas acerca dos metabólitos produzidos e pelo mecanismo de produção dos fungos endofíticos, uma vez que algumas plantas também produzem esse mesmo metabólito. No entanto, é comprovado na literatura sua importância como produtores de compostos biologicamente ativos e, por isso eles foram incluídos em diversas pesquisas, incluindo as buscas por biossurfactantes (Freire; Vasconcelos; Coutinhos, 2014).

Os surfactantes são moléculas anfipáticas, capazes de se distribuir nas interfaces, formando um filme molecular reduzindo a tensão superficial e interfacial. Apresentam múltiplas aplicações em diversos setores industriais. No entanto, são alvos de preocupação, em razão dos impactos ambientais negativos advindos de sua origem petroquímica (Barros *et al.*, 2007; Silva, *et al.*, 2016; Shaikhah et al, 2024).

Nesse contexto, os biossurfactantes são alternativas promissoras, uma vez que são moléculas anfifílicas, oriundas de fontes naturais, que apresentam baixa toxicidade e alta biodegradabilidade. Além disso, possuem propriedades aplicáveis em diversos setores industriais, na indústria alimentícia, onde podem ser usados na solubilização de aromas; na indústria farmacêutica; na indústria de higiene e cosméticos; bem como no processo de biorremediação (Nitschke; Pastore, 2002; Barros *et al.*, 2007; Silva, *et al.*, 2016; Dhakal et al, 2024; Shaikhah et al, 2024).

Diante disso, ao considerar a busca por surfactantes naturais e o potencial dos fungos endofíticos, este trabalho avaliou a produção de biossurfactantes por fungos endofíticos isolados de macrófitas aquáticas coletadas na Bacia do Tarumã-Açu, em Manaus. Dessa forma, a presente pesquisa buscou contribuir para as pesquisas de produtos naturais que possam mitigar os impactos ambientais e promover a preservação do meio ambiente, além de possibilitar perspectivas para futuras pesquisas sobre as potencialidades biotecnológicas dos isolados.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL:

- Analisar a produção de biossurfactantes por fungos endofíticos isolados de macrófitas aquáticas da Bacia do Tarumã-Açu, Manaus, AM.

2.2. ESPECÍFICOS:

- Isolar fungos endofíticos de fragmentos de macrófitas aquáticas coletadas da bacia do Tarumã-Açu;
- Selecionar fungos filamentosos isolados de macrófitas aquáticas com potencial para produção de biossurfactantes;
- Determinar o índice de emulsificação e tensão superficial dos biossurfactantes presentes nos caldos de cultivo dos fungos selecionados;
- Realizar a caracterização morfológica dos endofíticos mais promissores para a produção de biossurfactante.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. SURFACTANTES

Surfactantes são compostos químicos anfífilos, constituídos de uma região hidrofóbica, composta de cadeias de hidrocarbonetos, e outra hidrofílica que é iônica, não-iônica ou anfotérica. Com essas características, esses compostos possuem a capacidade de se distribuir nas interfaces, formando um filme molecular reduzindo a tensão superficial (face gasosa e outra líquida) e interfacial (duas faces imiscíveis) (Nitschke; Pastore, 2002; Al-Bahry *et al.*, 2013; Silva, *et al.*, 2016; Marinho, Silva, Luna, 2022; Shaikhah *et al.*, 2024).

Essas características conferem aos surfactantes uma gama de aplicações, tanto de uso doméstico quanto industrial, como solubilização, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, mas sua maior utilização se encontra na indústria de produtos de limpeza, na de higiene e cosméticos (Nitschke; Pastore, 2002; Silva, Duvoisin Junior e Albuquerque, 2018; Shaikhah *et al.*, 2024).

Apesar de sua importância comercial, há uma crescente preocupação com o meio ambiente, em razão da origem dos surfactantes, que são em sua maioria de origem petroquímica. Portanto, a demanda por surfactantes naturais tem aumentado (Nitschke; Pastore, 2002; Barros *et al.*, 2007; Almeida *et al.*, 2020; Sarubbo *et al.*, 2022).

Os surfactantes naturais, chamados de biossurfactantes, vem como alternativa para os surfactantes químicos. Eles são oriundos de organismos vivos e tem se destacado por apresentarem vantagens em relação aos surfactantes químicos (Nitschke; Pastore, 2002; Barros *et al.*, 2007; Dhakal *et al.*, 2024; Shaikhah *et al.*, 2024).

3.2. BIOSSURFACTANTES E SUAS APLICAÇÕES

Biossurfactantes são compostos anfipáticos que lhes permitem mudanças nas propriedades interfaciais e superficiais de um líquido, são surfactantes advindos de qualquer fonte natural (Nitschke; Pastore, 2002; Al-Bahry *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2016; Dhakal *et al.*, 2024).

Os biossurfactantes vêm se tornando um substituto aos surfactantes sintéticos devido a sua baixa toxicidade, alta biodegradabilidade, estabilidade em

situações de temperatura, pH e salinidade extremas, como são ecologicamente seguros, podem ser utilizados em processos de biorremediação. Além disso, apresentam aplicações de um surfactante químico, como o uso na indústria de cosméticos para a produção de produtos usados em hidratantes corporais, cabelos e batons (Nitschke; Pastore, 2002; Al-Bahry *et al.*, 2013; Decesaro *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2016; Ferreira, 2020; Dhakal *et al.*, 2024).

No setor alimentício, podem ser usados para prolongar a vida de produtos nas prateleiras, promovem melhoria na textura e consistência de alimentos à base de gordura, e também como molho de saladas. Na agricultura são comumente usados na produção de pesticidas e herbicidas (Nitschke; Pastore, 2002; Silva, *et al.*, 2016; Dhakal *et al.*, 2024).

Na indústria petrolífera, eles são utilizados no preparo de óleo-álcool, dispersão de óleos derramados em ambientes aquáticos e na limpeza de resíduos pesados que solidificam nos tanques, eles promovem a formação de emulsões e diminuem a viscosidade, favorecendo o bombeamento dos resíduos e a recuperação do óleo. Além de ser utilizado para a melhoria do petróleo (Nitschke; Pastore, 2002; Al-Bahry *et al.*, 2013; Silva, *et al.*, 2016; Dhakal *et al.*, 2024).

Também tem sido usado na indústria farmacêutica, temos como exemplo o biossurfactante surfactina que é utilizado como agente antifúngico, antimicrobiano e antitumoral. Além de ser utilizado na produção de espumantes, detergentes, adesivos, floculantes, entre outros produtos. A surfactina ainda não é amplamente explorada devido, principalmente, ao custo de produção que é elevado (Nitschke; Pastore, 2002; Barros *et al.*, 2007; Silva, *et al.*, 2016; Yuvarani *et al.*, 2024).

Há estudos que utilizam os termos biossurfactantes e bioemulsificantes como sinônimos. No entanto, há diferenças entre eles relacionadas a suas propriedades físico-químicas e funções fisiológicas, o que faz com que cada um tenha uma função (Uzoigwe *et al.*, 2015; Ferreira, 2020).

Enquanto bioemulsificantes são compostos de alta massa molecular, composta por arranjos complexos de proteínas, lipopolissacarídeos, heteropolissacarídeos e lipoproteínas, sendo especialmente eficazes na estabilização de emulsões. Por outro lado, os biossurfactantes possuem baixa massa molecular e são eficientes na redução das tensões superficial e interfacial. Embora os biossurfactantes apresentem, geralmente, capacidade emulsificante, os

bioemulsificantes nem sempre conseguem reduzir a tensão superficial (Perfumo et al., 2009; Lima, 2012; Ferreira, 2020).

Quanto a sua produção se dá principalmente por microrganismos, neste caso a produção é influenciada por diversos fatores, como a fonte de carbono, as concentrações de nitrogênio, ferro, entre outros nutrientes, além da disponibilidade de oxigênio, temperatura e pH, o que pode encarecer sua produção quando comparado a produção de surfactantes químicos (Sena, 2014; Dhakal et al, 2024; Shaikhah et al, 2024).

3.3. PRODUTORES DE BIOSURFACTANTES

Os biosurfactantes são produzidos principalmente por bactérias, leveduras e fungos, no entanto, de acordo com Silva et al. (2018), as pesquisas sobre produção de biosurfactantes são voltadas majoritariamente para produção por bactérias. Enquanto pesquisas com foco em fungos filamentosos como produtores de biosurfactantes são mais recentes, segundo Silva et al. (2018), isso se deve ao fato de que os fungos crescem mais lentamente e por isso leveduras e bactérias são mais utilizadas.

Contudo, segundo pesquisas como as de Lima (2016), Silva, Duvoisin e Albuquerque (2018) e Souza et al. (2015), percebe-se que os fungos filamentosos apresentam grande potencial para a produção de biosurfactantes.

Tabela 1. Relação das principais classes de biosurfactantes e microrganismos envolvidos.

Tipos de biosurfactantes	Microrganismo
Glicolipídios	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Torulopsis bombicola</i>
	<i>Mycobacterium</i>
Lipopeptídios e lipoproteínas	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	<i>Serratia marcescens</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>
Ácidos graxos, lipídeos neutros e fosfolipídios	<i>Corynebacterium lepus</i>
	<i>Nocardia erythropolis</i>
	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>

	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Surfactantes poliméricos	<i>Candida lipolytica</i>
	<i>Candida tropicalis</i>
Surfactantes particulados	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
	Várias outras bactérias

Fonte: Adaptado de Nitschke; Pastore, 2002.

3.3.1. Fungos

Os fungos, são organismos heterotróficos, eucarióticos, importantes para os ecossistemas em razão de seu papel em relações simbióticas e como sapróbios ao realizar a decomposição de matéria morta (Molinaro, 2014; Drechsler, 2015; Liu, 2024; Villarreal-Ruiz et al., 2025).

Possuem grande importância econômica, uma vez que são utilizados na alimentação, como alguns cogumelos, na produção de antibióticos e antifúngicos, na produção de corantes, além de serem fontes de biosurfactante e de diversos outros bioativos (Molinaro, 2014; Ferreira, 2020; Niego, Ramos, Silva, 2023; Liu, 2024).

Os fungos podem ser encontrados em diversos ambientes e dependem de água e matéria orgânica para sobreviver. Grande parte do grupo é dependente de oxigênio para a respiração, porém, existem organismos anaeróbios facultativos. O crescimento dos fungos varia de acordo com a temperatura e o pH, pois há condições ambientais adequadas conforme as especificidades de cada espécie. No entanto, a maioria cresce em temperaturas entre 20° C a 30° C, com um pH em torno de 6 (Drechsler, 2015; Niego, Ramos, Silva., 2023; Kang, et al., 2024; Liu, 2024).

No grupo dos fungos há representantes leveduriformes e filamentosos. Os filamentosos são caracterizados por hifas, que são filamentos microscópicos que juntos formam o micélio, e estes podem formar estruturas macroscópicas, comumente chamado de cogumelos (Drechsler, 2015; Kang, et al., 2024).

Além dos fungos sapróbios, há os fungos simbiotes que são aqueles que estabelecem relação com outro organismo, como por exemplo as micorrizas encontradas em mais de 90% das plantas, há os líquens e aqueles conhecidos como endófitos (Molinaro, 2014; Drechsler, 2015; Ferreira, 2020; Fan, Shi, 2024; Villarreal-Ruiz et al., 2025).

Na literatura, há diferentes definições de endófitos, termo descrito originalmente por De Bary em 1866, referindo-se a qualquer microrganismo que habita nos tecidos internos de plantas, mas a definição mais recente, descrita por Azevedo (2014), considera os endofíticos como são microrganismos, cultiváveis ou não, que vivem nos tecidos internos dos vegetais, sem causar danos a planta-hospedeira (Azevedo, 2014; Ferreira, 2020; Fan, Shi, 2024).

3.3.2. Fungos endofíticos

Os fungos endofíticos definidos por sua ocorrência nos tecidos vegetais internos sem causar malefícios a planta-hospedeira, apresentam grande importância econômica, uma vez que são fontes de metabólitos secundários que apresentam diversas aplicações, como antitumorais, antibióticos, hormonais (Azevedo, 2014; Ferreira, 2020; Fan, Shi, 2024).

Chapla, Biasetto e Araújo (2013) relatam que a presença de endofíticos é ampla, sendo registrada em praticamente todas as plantas vasculares, além de samambaias, musgos e algas marinhas, estudadas até o momento. Os autores ainda destacam que é possível isolar centenas de espécies fúngicas de uma única planta, sendo pelo menos uma delas específica ao hospedeiro.

A depender da relação endofítico-hospedeiro, os fungos endofíticos podem conferir vantagens à planta por meio da produção ou indução da produção de metabólitos secundários (griseofulvina, trichoteceno, entre outros) (Xu, et al., 2021; Fan, Shi, 2024). Esses compostos podem atuar como mecanismo de defesa química contra fitopatógenos, aumentar a tolerância a variações ambientais, conferir resistência a insetos, entre outros benefícios (Chapla, Biasetto e Araújo, 2013; Lima; Souza; Cortez, 2013; Drechsler, 2015; Ferreira, 2020; Fan, Shi, 2024).

Alguns estudos indicam que fungos endofíticos produzem metabólitos antes conhecidos apenas em plantas. Um exemplo é a podofilotoxina, substância com atividade anticancerígena, isolada de espécies vegetais do gênero *Podophylum*, mas identificada em endofíticos como *Phialocephala fortinii* e *Trametes hirsuta* (Chapla, Biasetto e Araújo, 2013).

Devido à aparente riqueza de metabólitos secundários bioativos produzidos por fungos endofíticos, esses microrganismos têm sido incluídos eles em pesquisas voltadas à prospecção de biossurfactantes (Freire; Vasconcelos; Coutinhos, 2014; Ferreira, 2020; Melo, 2021; Fan, Shi, 2024).

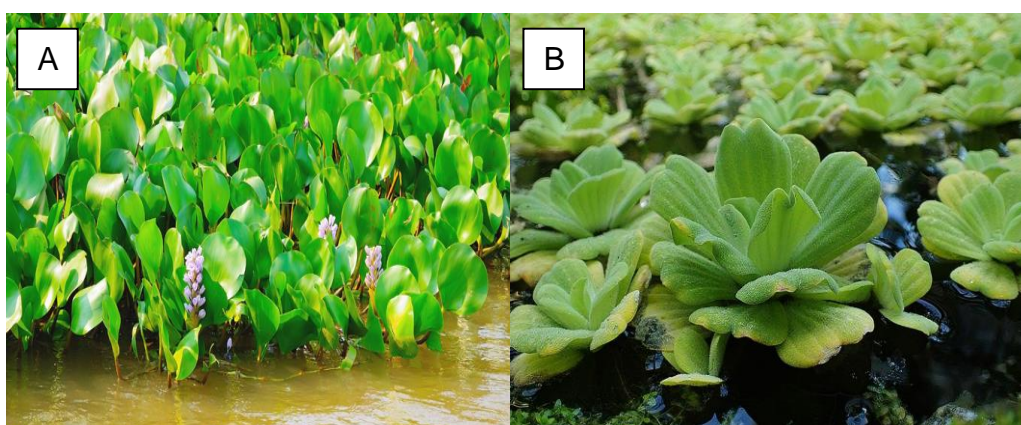
Como mencionado anteriormente, o modo de cultivo dos microrganismos influencia diretamente a produção do biossurfactante, visto que algumas espécies são capazes de utilizar fontes alternativas de carbono, como óleo de soja, que já demonstrou ser uma fonte eficaz para essa finalidade (Lima, 2012).

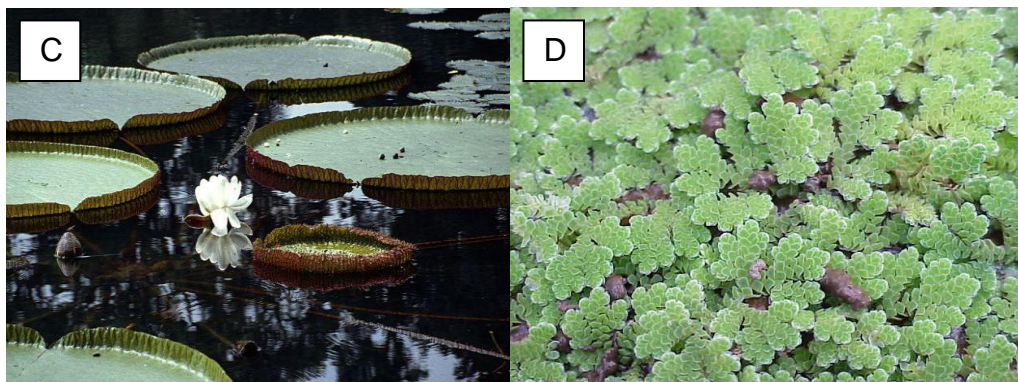
3.4. PLANTA HOSPEDEIRA - MACRÓFITAS AQUÁTICAS

As macrófitas aquáticas, são plantas vasculares presentes em lagos, igarapés e rios, visíveis a olho nu, seus tecidos fotossintetizantes podem ser submersos ou flutuantes (Lopez; Piedade, 2015). São vegetais que colonizam rapidamente os ambientes aquáticos em razão de alguns fatores, como o aumento da poluição, acarretando prejuízos como a diminuição do oxigênio dissolvido, perda da biodiversidade e piora a qualidade da água (Cemig, 2021).

No entanto, também apresentam aspectos positivos, uma vez que são utilizadas na confecção de artesanatos, na culinária, na produção de tijolos e utensílios de cozinha, como adubo e há aquelas que possuem uso medicinal, além de serem importantes bioindicadores da qualidade da água e podem atuar como agentes despoluidores, devido a sua característica de remover nutrientes de ambientes eutrofizados (Lima; Souza; Cortez, 2013; Cemig, 2021).

Figura 1. Macrófitas aquáticas. **A.** aguapé. **B.** Alface d'água. **C.** Vitória régia. **D.** Samambaia d'água.





Fonte: Bayer jovens, 2019.

Nos corpos d'água, elas também contribuem para a dinâmica da maioria dos ecossistemas aquáticos, realizando ciclagem de nutrientes, protegem as margens do corpo d'água contra a erosão e proporcionam um ambiente favorável para a fauna e para a comunidade microbiana, incluindo fungos endofíticos (Cemig, 2021).

Estudos realizados no Amazonas têm isolado uma variedade significativa de endofíticos de fragmentos de macrófitas aquáticas, como observado nas pesquisas de Lima et al. (2015) e Souza et al. (2015). Dentre as macrófitas estudadas estão representantes das famílias Cyperaceae e Pontederiaceae – também conhecidas como aguapé (Cemig, 2021).

Diante da importância das macrófitas e da diversidade fúngica encontrada nessas espécies vegetais, elas vêm sendo exploradas em pesquisas para obtenção de metabólitos ativos, uma vez que os fungos isolados dessas plantas mostraram-se promissores na produção de enzimas e biossurfactantes (Souza, *et. al.*, 2015).

4. MATERIAL E MÉTODOS

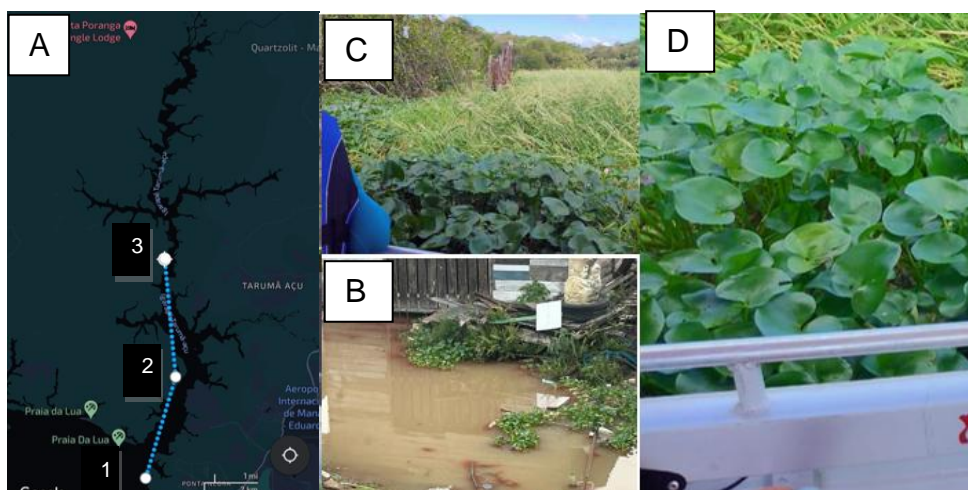
4.1. COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO

Os materiais botânicos foram coletados na bacia do Tarumã-Açu, Manaus, em dois períodos distintos do ano. Como critério de coleta, as amostras não apresentavam manifestações de doenças.

A primeira coleta foi realizada no mês de novembro/2023, período pelo qual a região norte passava por uma seca histórica e, por esta razão, o material botânico foi coletado em apenas um ponto. A segunda coleta, realizada em fevereiro/2024, época de cheia, foram coletadas três amostras de macrófitas em três pontos distintos (Figura 2). As coordenadas geográficas dos pontos de coletas foram registradas utilizando GPS portátil (**Tabela 2**).

Nos locais de coleta, as amostras de macrófitas foram acondicionadas em sacolas plásticas limpas, etiquetadas e transportadas em caixas térmicas até o Laboratório de Biotecnologia ILUM, onde posteriormente foram realizadas as demais etapas da pesquisa. Imediatamente após a chegada, o material foi e processada visando o isolamento dos endofíticos.

Figura 2. Pontos de coleta na Bacia do Tarumã-Açu. **A.** Pontos de coleta segundo as coordenadas geográficas. **B.** Ponto de coleta 1. **C.** Ponto de coleta 2. **D.** Ponto de coleta 3.



Fonte: Foto por google maps.

Arquivo Pessoal, 2024.

Tabela 2. Coordenadas geográficas dos pontos de coleta do material botânico.

Pontos de coleta	Latitude	Longitude
P1	-3.04868	-60.11095
P2	-3.01899	-60.11134
P3	-2.97677	-60.11251

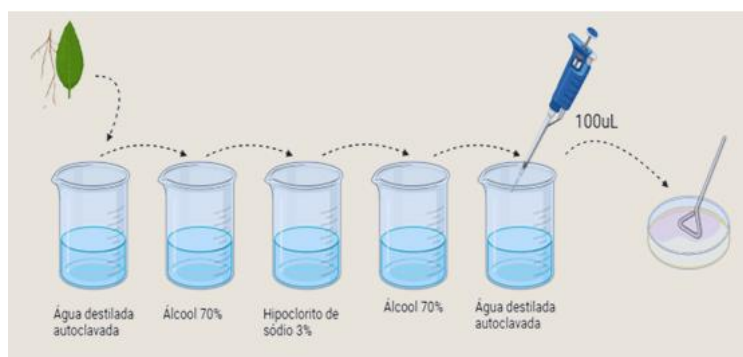
Nota: Coordenadas obtidas por GPS portátil.

Fonte: Arquivo pessoal, 2025.

4.2. DESINFECÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO E ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Os substratos utilizados para o isolamento dos endofíticos foram folhas, bulbos e raízes, conforme a metodologia descrita por Ferreira (2020). Foram inicialmente lavados com água corrente e sabão neutro, utilizando uma esponja nova para retirar possíveis microrganismos presentes na superfície dos fragmentos. Em seguida, passaram por um processo de antissepsia, em câmara de fluxo laminar. Os fragmentos foram imersos em água destilada por 1 minuto, álcool 70% por 1 minuto, em seguida imersos em solução de hipoclorito de sódio 3 % por 40 segundos e novamente em álcool 70% por 30 segundos, retirando o excesso de hipoclorito. Em seguida, os fragmentos botânicos foram lavados individualmente em um recipiente com água destilada e, para o controle, 100 uL da água da última lavagem foram inoculados em placas de Petri contendo BDA (Batata, dextrose e ágar) + L (extrato de levedura).

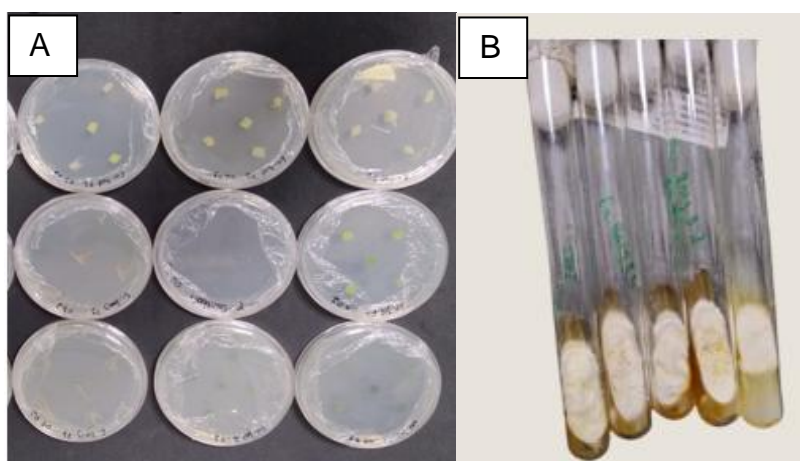
Figura 3. Representação da antissepsia dos fragmentos do material botânico.



Fonte: Arquivo pessoal, 2024.

Após o processo de descontaminação, os materiais botânicos foram cortados em fragmentos de 0,5 mm de diâmetro. Para isso, as folhas foram perfuradas com um furador de papel esterilizado, enquanto os bulbos foram seccionados com uma lâmina de bisturi estéril (0,5 mm x 0,5 mm) e as raízes reduzidas a segmentos de 0,5 mm de comprimento. Em seguida, cinco fragmentos de cada substrato vegetal foram distribuídos em placas de Petri contendo meio de cultura BDA + L, suplementado com ampicilina e tetraciclina (50 mg/mL). O experimento foi conduzido em triplicata (**Figura 4A**). As placas foram devidamente identificadas, seladas com parafilm e armazenadas em uma incubadora BOD a 18° C (para desacelerar o crescimento dos fungos com metabolismo rápido, permitindo que os de crescimento lento se desenvolvam) por 15 dias, sendo monitoradas diariamente para acompanhar o crescimento dos fungos. Durante esse período, os isolados foram transferidos para tubos de ensaio com ágar inclinado (**Figura 4B**). Os tubos foram datados, identificados e mantidos na incubadora a 18°C (Ferreira, 2020).

Figura 4. Isolamento de fungos endofíticos. **A.** Fragmentos de macrofita dispostos em placa com meio de cultura. **B.** Tubos com fungos isolados de macrofitas.



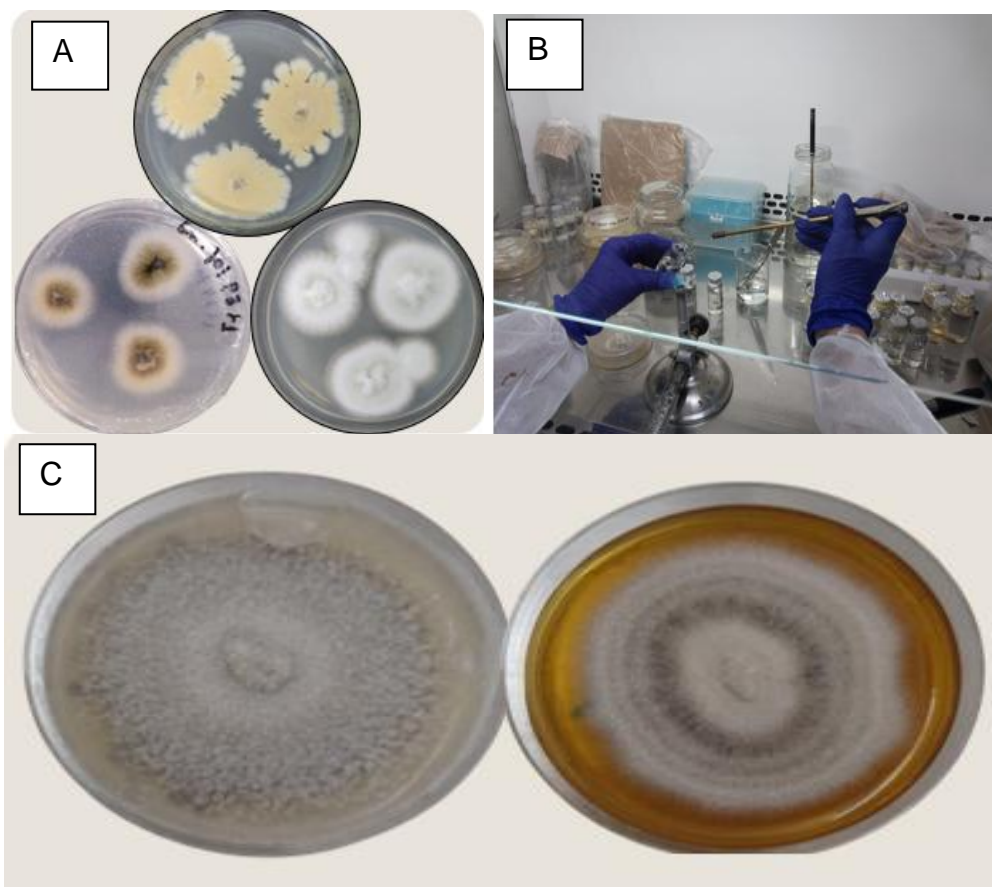
Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

4.3. PURIFICAÇÃO E PRESERVAÇÃO

Conforme descrito por Ferreira (2020), após o isolamento dos fungos, iniciou-se o repique dos tubos de ensaio para placas de Petri contendo BDA + L. Os repiques foram realizados em três pontos equidistantes para obtenção de cultura pura, e, logo após, realizou-se o cultivo em ponto central.

As colônias puras foram utilizadas para conservação em triplicata pelo método de Catellani (1939) que consiste em armazenar os fragmentos de meio de cultivo com o isolado em frasco de vidro contendo água destilada autoclavada (**Figura 5. B**).

Figura 5. Purificação e preservação dos isolados. **A.** Inóculo em três pontos equidistantes. **B.** Preservação pelo método de Castellani. **C.** Inóculo unipontual.



Fonte: Arquivo pessoal, 2024.

4.4. CÁLCULO DA TAXA DE COLONIZAÇÃO

Os resultados dos isolados foram analisados para a avaliação da taxa de colonização a partir dos fragmentos inoculados. A taxa de colonização foi calculada conforme descrito por Ferreira (2020), representada a seguir:

Taxa de Colonização:

$$TC (\%) = \frac{\text{Número de fragmentos com crescimento}}{\text{Número total de Fragmentos}} \times 100$$

4.5. SELEÇÃO DOS FUNGOS PRODUTORES DE BIOSURFACTANTES

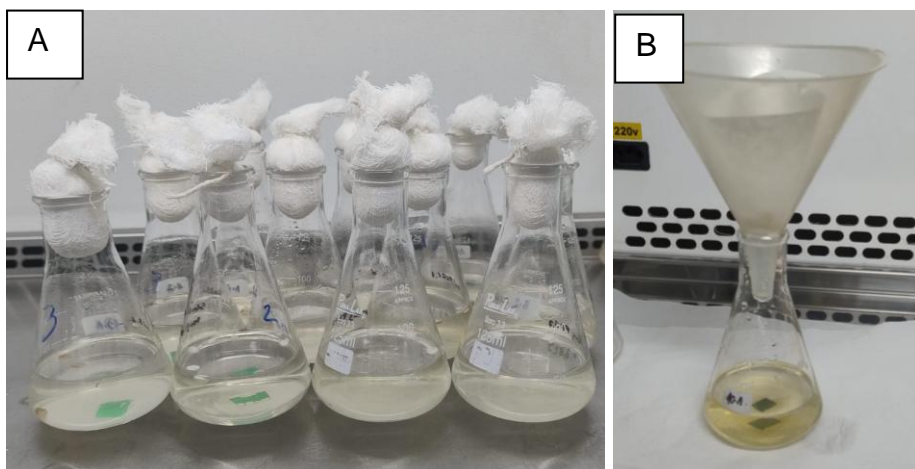
Para os testes de produção de biossurfactantes foram reativadas 23 cepas entre os preservados. Na seleção foi considerado apenas os fungos filamentosos. A reativação foi realizada em placas de Petri contendo meio BDA + L, mantidos em temperatura de 28°C, por 7 dias.

4.5.1. Cultivo dos endófitos em meio líquido

Para o cultivo em meio líquido foi utilizado o meio mineral descrito por Jacobucci (2000), composto por: 0,5 g/L de sulfato de magnésio ($MgSO_4$), 3,0 g/L de fosfato dissódico (Na_2HPO_4), 1,0 g/L de fosfato de monopotássio (KH_2PO_4) e 1,3 g/L de extrato de levedura solubilizados em água destilada. Após a autoclavagem, foi acrescentado ao meio 0,5 g/L de óleo soja filtrado em membrana millipore 0,45 μm para remover impurezas e contaminantes (Silva, 2015; Ferreira, 2020).

Nos frascos de Erlenmeyers contendo o meio mineral, foram adicionados 3 fragmentos de micélio fúngico com dimensões de 1 cm X 1cm. Os frascos foram incubados em Shaker por 10 dias, a 28° C e 170 rpm. Para controle, foi utilizado frascos contendo apenas o meio com a fonte de carbono. Com o crescimento fúngico, os meios de cultivo foram filtrados em papel filtro autoclavado e depois com membrana millipore 0,45 μm para a obtenção do caldo livre de células fúngicas. O caldo livre de células foi utilizado nos testes posteriores (Silva, 2015; Ferreira, 2020).

Figura 6. A. Cultivo em meio líquido. **B.** Filtração do meio de cultivo em papel filtro autoclavado.



Fonte: Arquivo pessoal, 2025.

4.5.2. Teste de colapso da gota

O teste de colapso da gota foi realizado conforme descrito por Bodour e Miller-Maier (1998). Foram utilizadas três placas de 96 micropoços: na primeira, cada poço foi revestido com 1,8 μ L de óleo de soja; na segunda, com óleo diesel; e na terceira, com querosene. As placas foram mantidas em temperatura ambiente por 24 horas. Após o período de repouso, foram adicionados 5 μ L do caldo livre de células ao centro de cada poço, em triplicata. Como controle positivo, utilizou-se dodecilsulfato de sódio (SDS), enquanto, para o controle negativo, foi empregado o meio de cultivo, tanto com óleo quanto sem óleo.

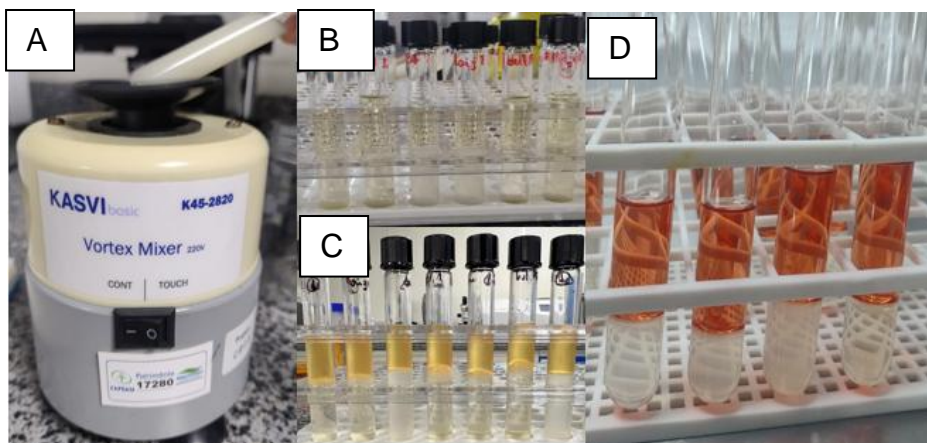
O resultado foi observado após 1 minuto. Se a gota colapsasse ou se espalhasse, considerava-se a presença de biossurfactante no caldo de cultivo, indicando um resultado positivo. Caso não houvesse espalhamento ou colapso, o resultado era classificado como negativo.

Os isolados que apresentaram resultado positivo foram submetidos à determinação do índice de emulsificação e à medição da tensão superficial. Já aqueles que apresentaram resultado negativo foram avaliados apenas pelo teste de determinação do índice de emulsificação.

4.5.3. Determinação de índice de emulsificação

Foi realizada a análise da atividade de emulsificação água em óleo (A/O) para a avaliação da produção de biossurfactantes, quanto maior o índice de emulsificação, maior é a atividade emulsificante do biossurfactante. Para a análise foram utilizados três óleos distintos: óleo de soja, óleo diesel e querosene. Foram adicionados 2 mL de óleo para cada 3,5 mL de caldo em tubos de ensaio, e então foi realizada a medição da altura total do conteúdo adicionado ao tubo de ensaio. As amostras foram agitadas por 2 minutos a 2000 rpm, medindo a altura da emulsão formada após 5 min e após 24h em repouso. Após esses períodos, a altura foi comparada à altura total adicionada. E então, o índice de emulsificação (E24%) foi determinado pela divisão da altura da emulsão pela altura total da mistura, multiplicado por 100 (Moussa, Mohamed, Samak, 2014; Silva, 2015; Ferreira 2020).

Figura 7. Determinação do índice de emulsificação. **A.** Vórtex Mixer. **B.** Teste com óleo de soja. **C.** Teste com óleo diesel. **D.** Teste com querosene.



Fonte: Arquivo pessoal, 2025.

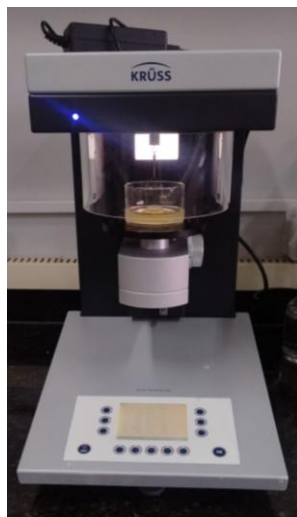
4.6. TENSÃO SUPERFICIAL - TS

Os cultivos que se mostraram promissores, ou seja, com resultados positivos no teste de colapso da gota ou no teste de emulsificação, passaram pelo teste de tensão superficial, onde quanto menor for a tensão superficial do caldo sem micélio fúngico, maior é sua eficiência. A medição da tensão superficial dos caldos foi realizada no tensiômetro (KRÜSS - K20) pelo o método Du Noüy, o equipamento foi calibrado e programado para realizar dez medições para cada sobrenadantes, será considerado a média aritmética dos resultados obtidos (Ferreira, 2020). Foram utilizados 20 mL dos caldos livre do micélio fúngico. Antes da medição dos caldos, foi medido a tensão superficial da água destilada e do meio de cultivo.

Após as medições foi realizado o cálculo da redução da TS descrita por Monteiro *et. al.* (2021), seguindo a equação a seguir:

$$\text{Redução da TS} = \frac{\text{TS}_{\text{água}} - \text{TS}_{\text{caldo}}}{\text{TS}_{\text{água}}} \times 100$$

Figura 8. Medida da Tensão Superficial no tensiômetro que utiliza o método do Anel – Du Noüy.

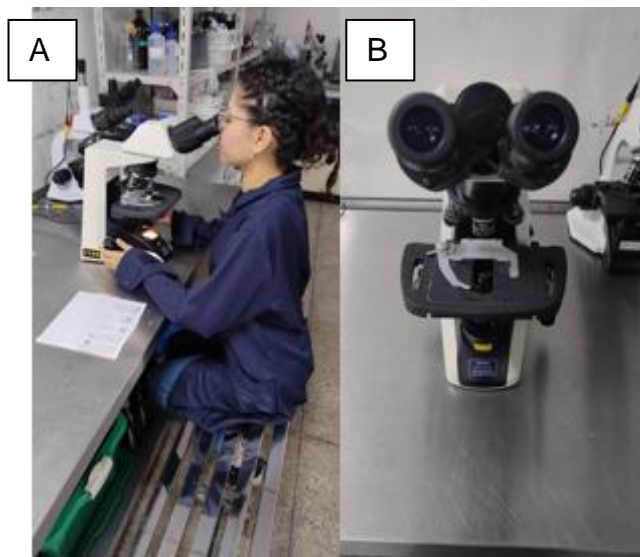


Fonte: Arquivo pessoal, 2025.

4.7. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS MAIS PROMISSORES

Para a identificação dos fungos endofíticos que se mostraram promissores nos testes descritos, foram realizadas análises das características macromorfológica de cada colônia, observando-se os seguintes aspectos: cor, borda, textura, relevo, presença ou ausência de pigmento e exsudato. Para as análises das características microscópicas, foram feitas lâminas a fresco semipermanentes através da técnica de microcultivo no meio BDA + L e Sabouraud ágar, utilizando o corante azul de lactofenol. As lâminas foram observadas através do uso de microscópio óptico Nikon Eclipse E200 nas objetivas de aumento 10X, 30X e 40X, as estruturas foram fotografadas e comparadas com imagens da literatura especializada em taxonomia (Ferreira, 2020).

Figura 9. Observação das características micromorfológicas. **A.** Análise das características microscópicas. **B.** Microscópio óptico Nikon Eclipse E200.



Fonte: Arquivo pessoal, 2024.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

A planta coletada foi identificada como *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, pertencente à família Pontederiaceae, conforme análises realizadas pela Prof^a. Dra. Marta Pereira, vinculada a Universidade do Estado do Amazonas (UEA). Popularmente conhecida como jacinto-d'água ou aguapé, essa espécie é nativa da Amazônia e é comumente encontrada em ambientes eutrofizados, nos quais desempenha um papel relevante na dinâmica ecológica (Cemig, 2021).

Estudos anteriores, como os de Das, Debnath e Saha (2013) e de Souza et al. (2015), demonstram que *E. crassipes* serve como hospedeira para diversos fungos endofíticos, alguns dos quais com potencial para produção de biossurfactantes. Os resultados desta pesquisa corroboram a presença dos endófitos na macrófita e reforçam sua importância como fonte para bioprospecção.

Figura 10. A. Macrófita coletada para identificação. **B.** Macrófita em preparo para ser adicionada a herbário do INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.



Fonte: Arquivo pessoal, 2024.

5.2. ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS E TAXA DE COLONIZAÇÃO

Foram isolados 23 fungos endofíticos filamentosos e 4 leveduras. Todos foram purificados e conversados pelo método Castellani e encontram-se prontos

para serem inseridos na Coleção Microbiológica da Universidade do Estado do Amazonas. Para o isolamento dos endófitos do espécime I, utilizou 45 fragmentos, sendo 15 folha, 15 de bulbo e 15 de raiz. Para os espécimes II, III e IV, foram 15, sendo 5 fragmentos de folha, 5 de bulbo e 5 de raiz. Em relação ao total de fungos isolados, a taxa de colonização evidenciou uma maior porcentagem nos fragmentos de bulbo, sendo a maior taxa encontra no espécime III com taxa de colonização de 80%, seguido do bulbo do espécime I com taxa de 60%. Enquanto as menores taxas foram encontradas nos fragmentos de raízes, como descritos na **tabela 3**.

Esses resultados mostram-se diferentes aos encontrados por Souza et al. (2015) e Batista (2009), que obtiveram as maiores taxas nos fragmentos de folhas, mesmo utilizando meios seletivos. Considerando que o meio empregado no isolamento neste trabalho não foi seletivo, esperava-se uma porcentagem de colonização maior. Esse contraste sugere que outros fatores podem ter influenciado nos resultados obtidos, como a disponibilidade de nutrientes nos pontos de coleta ou a mudança de temperatura no ambiente natural para a temperatura de isolamento.

Tabela 3. Quantidade de isolados por espécime de *E. crassipes* e taxa de colonização dos tecidos vegetais.

Espécime	Número de isolados			Taxa de colonização %		
	Folhas	Bulbo	Raiz	Folhas	Bulbo	Raiz
I	4	9	2	26	60	13
II	1	1	3	20	20	60
III	0	4	0	0	80	0
IV	2	0	1	40	0	20

Espécime I foi coletada em novembro/2023.

Espécimes II, III e IV foram coletadas em fevereiro/2024.

Espécime I e II foram coletadas no ponto 1, espécime III no ponto 2 e espécime IV no ponto 3.

A maior quantidade de isolado foi obtida do espécime I, coletada em novembro/2023, divergindo da pesquisa de Das, Debnath, Saha (2013) que encontrou uma quantidade maior de isolados entre os meses de janeiro a março. Além disso, no local de coleta do espécime I havia maior interferência humana, com moradias próximas e descartes de resíduos no rio, podendo haver maior aporte de

matéria orgânica, favorecendo o desenvolvimento de fungos endofíticos quando comparados a quantidade de isolados dos outros espécimes.

5.3. TESTE DE COLAPSO DA GOTA E DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EMULSIFICAÇÃO

Os caldos de cultivo das 23 linhagens testadas foram submetidos ao teste de colapso da água, no qual pode se observar que 18 linhagens (78%) das amostras não apresentaram colapso ou espalhamento, independentemente do óleo utilizado como revestimento do poço. Entretanto, cinco amostras (21%) colapsaram, evidenciando uma variação no comportamento da gota de acordo com óleo que foi utilizado nos poços das placas.

No teste com óleo de soja, duas amostras colapsaram, com óleo diesel, quatro amostras colapsaram, e no teste como querosene, cinco amostras apresentaram colapso ou espalhamento. O resultado obtido indica a presença de biossurfactantes nas amostras e sugerem que o biossurfactante presente nos caldos de cultivo possuem afinidade com hidrocarbonetos derivados de petróleo e uma menor eficácia com triglicerídeos presentes no óleo de soja, como sugerido por Barros, Quadros e Pastore (2008).

Tabela 4. Teste de colapso da gota.

Colapso da gota após 1 min									
Isolado		Óleo de soja			Óleo de soja				
		Diesel	Querosene	Isolado	Diesel	Querosene			
En. Fol		-	-	En. Bul					
1.1		-	-	2.3	+	+	+		
En. Fol		-	-	En. Bul					
2.1		-	-	3.1	-	-	-		
En. Fol		-	-	En. Bul					
3.1		-	-	3.2	-	-	+		
En. Fol		-	-	En. Bul					
3.2		-	-	P2F1	-	+	+		
En. Fol		-	-	En. Bul					
P1F1		-	-	P2F2	-	-	-		
En. Fol		-	-	En. Raiz					
P3F2		-	-	3.1	-	-	-		
En. Bul		-	-	En. Raiz					
1.1		-	-	3.2	-	+	+		

En.	Bul	-	-	-	En. Raiz	-	-	-
1.2					P1F1			
En.	Bul	-	-	-	En. Raiz	-	-	-
1.4					P3F1			
En.	Bul	-	-	-	En. Raiz	+	+	+
1.5					P3F2			
En.	Bul	-	-	-	En. Raiz	-	-	-
2.1					P3F3			
En.	Bul	-	-	-				
2.2								

En = endofítico; Fol = folha; Bul = bulbo; P1, P2 e P3 = pontos de coleta; F = fragmento. Aqueles que não apresentam P são da 1ª coleta, o 1º número é o número da placa e o 2º é o número do fragmento. - = não colapsou; + = colapsou ou espalhou.

Nos testes de emulsificação, 21,73% das amostras testadas apresentaram emulsões nos três tipos de óleo. No entanto, a altura das emulsões reduziu significativamente ao longo das 24 horas, evidenciando que as amostras não conseguem manter a estabilidade ao longo do tempo.

Os resultados observados na presente pesquisa diferem dos obtidos por Santos (2013), que relatou índices de emulsificação de 40% para querosene e 47% para o óleo de soja, enquanto o óleo diesel não apresentou estabilidade. No presente estudo, apesar das emulsões terem reduzido, as amostras testadas com óleo diesel foram as únicas que mantiveram a emulsão após 24 horas, resultando em emulsões que variam entre 1,78% a 11,6%,

De acordo com Silva, Duvoisin Junior e Albuquerque (2018), a instabilidade das emulsões pode estar relacionada a baixa concentração ou ausência de biossurfactantes, mas também pode ser associada à massa molecular desses compostos, uma vez que os biossurfactantes de baixa massa molecular tendem a ser menos eficientes em formar emulsões estáveis. Este fator pode explicar a redução significativa das emulsões observadas no presente estudo.

Além disso, conforme descrito por Barros, Quadros e Pastore (2008), os hidrocarbonetos encontrados no diesel e querosene facilita a interação com biossurfactantes, auxiliando na formação de emulsões, enquanto que os triglicerídeos, presentes no óleo de soja, são menos propensos a formar as emulsões quando comparados aos derivados de petróleo utilizados no presente estudo.

Tabela 5. Determinação dos índices de emulsificação

		Média dos Índices de Emulsificação					
N°	Isolados	Óleo de soja		Óleo diesel		Querosene	
		E ₅ (%)	E ₂₄ (%)	E ₅ (%)	E ₂₄ (%)	E ₅ (%)	E ₂₄ (%)
1	En. Fol 1.1	-	-	-	-	-	-
2	En. Fol 2.1	-	-	-	-	-	-
3	En. Fol 3.1	-	-	-	-	-	-
4	En. Fol 3.2	-	-	-	-	-	-
5	En. Fol P1F1	-	-	-	-	-	-
6	En. Fol P3F2	-	-	-	-	-	-
7	En. Bul 1.1	-	-	-	-	-	-
8	En. Bul 1.2	-	-	-	-	-	-
9	En. Bul 1.4	-	-	-	-	-	-
10	En. Bul 1.5	-	-	-	-	-	-
11	En. Bul 2.1	-	-	-	-	-	-
12	En. Bul 2.2	-	-	-	-	-	-
13	En. Bul 2.3	37,04	-	21,89	1,78	41,05	-
14	En. Bul 3.1	-	-	-	-	-	-
15	En. Bul 3.2	39,43	-	61,9	11,15	55,12	-
16	En. Bul P2F1	32,37	-	61,8	7,2	19,5	-
17	En. Bul P2F2	-	-	-	-	-	-
18	En. Raiz 3.1	-	-	-	-	-	-
19	En. Raiz 3.2	48	-	49,08	11,6	40	-
20	En. Raiz P1F1	-	-	-	-	-	-
21	En. Raiz P3F1	-	-	-	-	-	-
22	En. Raiz P3F2	32,41	-	41,07	8,9	76,3	-
23	En. Raiz P3F3	-	-	-	-	-	-

E₅= índice após 5 min; E₂₄= índice após 24h. En = endofítico; Fol = folha; Bul = bulbo; P1, P2 e P3 = pontos de coleta; F = fragmento. Aqueles que não apresentam P são da 1ª coleta, o 1º número é o número da placa e o 2º é o número do fragmento. - = sem emulsão.

5.4. TENSÃO SUPERFICIAL (TS)

As amostras que apresentaram resultados positivos no teste do colapso da gota e índice de emulsificação foram submetidas à medição da tensão superficial. Após os testes realizados foi observado a redução da TS em relação a água que variou entre 20,1% e 34,9%, os melhores resultados foram dos isolados: **En. Bul 2.3**, **En. Raiz P3F2** e **En. Bul P2F1**, com redução de 34,9%, 34,1% e 32,2%, respectivamente. Em estudos semelhantes, Santos (2013), obtiveram endofíticos com capacidade de reduzir a TS da água em valores superiores a 35%. Enquanto, os resultados de Lima et al. (2015) para a redução de TS não foi tão promissor.

As menores reduções da tensão superficial podem estar relacionadas a baixa concentração de biossurfactantes. Estudos como o de Silva, Duvoisin e Albuquerque (2018) e Souza et al. (2015), evidenciam que a eficiência na redução da TS está relacionada não apenas à presença do composto, mas também a sua massa molecular, estrutura química e concentração, podendo variar entre diferentes isolados fúngicos.

De acordo com Perfumo, Banat e Marchant (2010), biossurfactantes com elevada atividade superficial são capazes de reduzir a tensão superficial da água em mais de 40%. Diante disso, os resultados obtidos neste estudo, cuja as amostras apresentaram reduções inferiores a esse valor, com destaque para aquelas próximas a 30%, sugerem um potencial moderado na produção de biossurfactantes.

Tabela 6. Tensão Superficial (TS) de caldos do metabolismo de fungos endofíticos.

N°	Isolado	Média Tensão Superficial (mN.m ⁻¹)	Redução da TS %		Desvio padrão
			água	Meio de cultivo	
1	En. Bul 2.3	40,4	34,9	-	0,09
2	En. Bul 3.2	49,6	20,1	-	0,71
3	En. Bul P2F1	42,1	32,2	-	0,18
4	En. Raiz 3.2	43,9	29,3	-	0,28

5	En. Raiz P3F2	40,9	34,1	-	0,17
6	Meio de cultivo	45	-	-	0,04
7	Água destilada	62,1	-	-	0,58

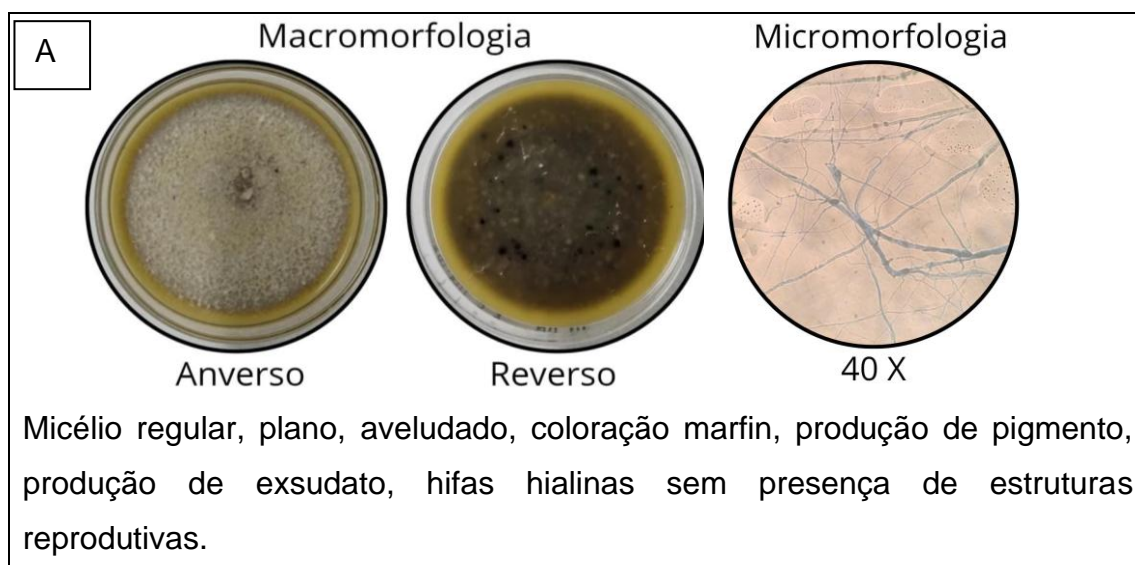
En = endofítico; Fol = folha; Bul = bulbo; P1, P2 e P3 = pontos de coleta; F = fragmento. Aqueles que não apresentam P são da 1ª coleta, o 1º número é o número da placa e o 2º é o número do fragmento. - = sem redução de 10% da TS.

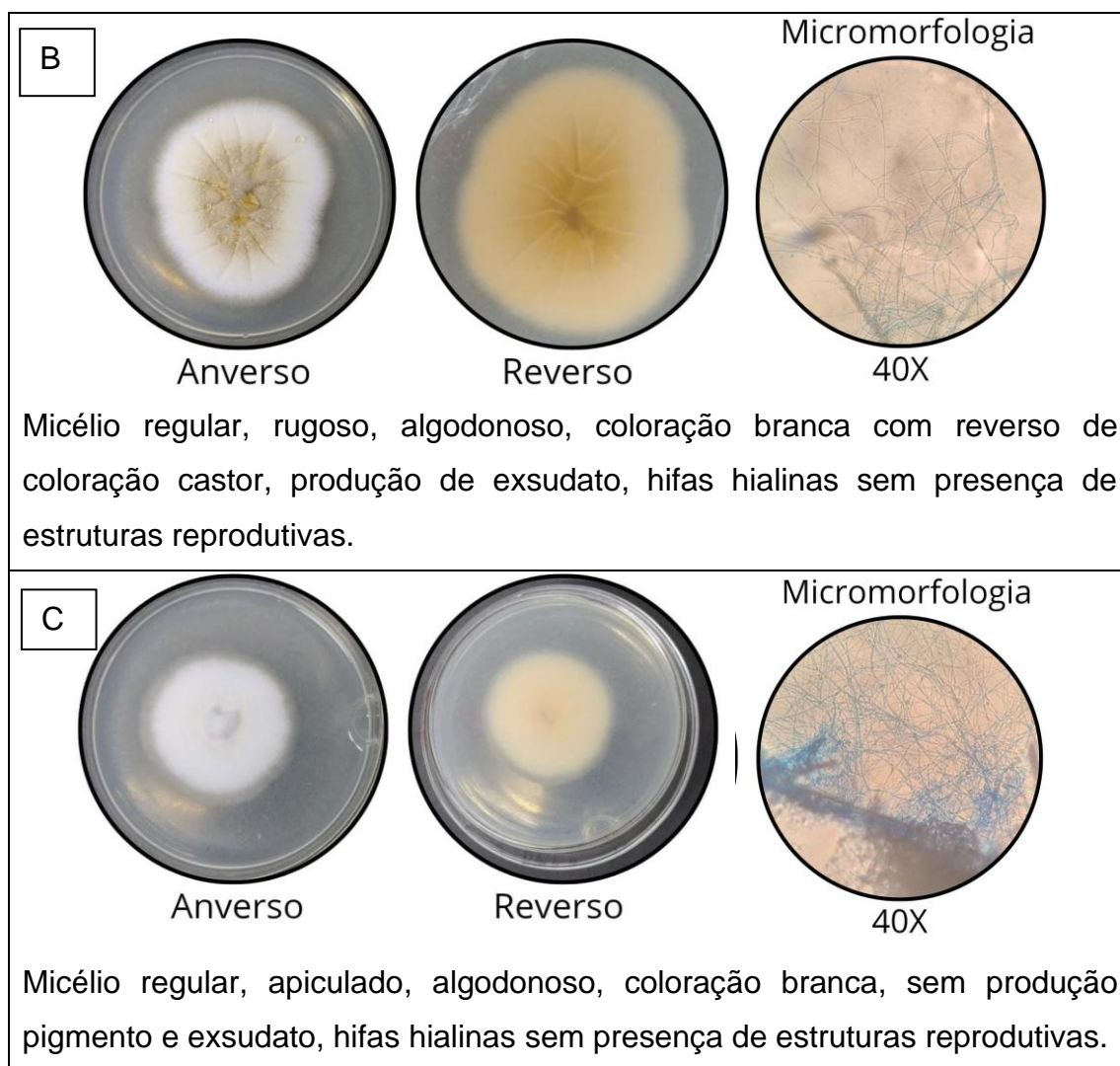
5.5. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

A caracterização morfológica foi realizada para os isolados fúngicos que apresentaram redução da tensão superficial acima de 30%. As características macromorfológicas se encontram na **Figura 11**. Não foi possível identificar os isolados a nível de gênero, uma vez que não apresentaram estruturas reprodutivas nos meios BDA e Sabouraud, sendo, portanto, classificados como *Mycelia sterilia*.

Os resultados obtidos nos testes de produção de biossurfactante, sugerem que fungos *Mycelia sterilia* possuem metabólitos com propriedades tensoativas evidenciando-se a importância de inclui-los em pesquisas de prospecção de biossurfactantes. Além disso, segundo os estudos de Devanadera (2011), os fungos classificados como *Mycelia sterilia* apresentaram altos índices de atividade proteolítica.

Figura 11. Aspecto macro e micromorfológico de isolados mais promissores nos testes de produção de biossurfactantes. **A.** En. Bul 2.3 – *Mycelia sterilia*. **B.** En. Bul P2F1 – *Mycelia sterilia*. **C.** En. Raiz P3F2 – *Mycelia sterilia*.





Fonte: Arquivo pessoal, 2025.

6. CONCLUSÃO

O estudo com a macrófita aquática permitiu investigar a diversidade endofítica, possibilitando estudos sobre seu potencial biotecnológico.

Foram isolados 27 endofíticos, sendo 4 leveduras e 23 fungos filamentosos que foram utilizados nos testes de produção de biossurfactantes.

Foram obtidos resultados positivos nos testes de colapso em gota.

Na determinação do índice de emulsificação, foi possível observar as emulsões, após o período de 24 horas utilizando o óleo diesel, apesar de sua significativa redução.

A medição da tensão superficial foi realizada, obtendo resultados considerados moderados em amostras de três isolados.

Foi realizada a caracterização morfológica, mas não foi possível identificar os gêneros dos fungos promissores em razão da falta de estrutura reprodutiva, fazendo-se necessário a aplicação de técnicas moleculares para a identificação taxonômica.

Os resultados deste trabalho confirmam o potencial de fungos endofíticos como produtores de biossurfactantes.

7. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, G. A. M. DE *et al.* **Produção de biossurfactante por *Lysinibacillus* sp. e *Bacillus* sp. a partir de diferentes óleos como fonte de carbono.** *Matéria* (Rio de Janeiro), v. 25, n. 4, 2020.
- AL-BAHRY, S. N. *et al.* **Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* B20 using date molasses and its possible application in enhanced oil recovery.** *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 81, p. 141–146, jul. 2013.
- AZEVEDO, J. L. **Endophytic Fungi from Brazilian 2 Tropical Hosts and Their Biotechnological Applications**. R. N. Kharwar *et al.* (eds.), *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security*. DOI 10.1007/978-81-322-1801-2_2, © Springer India, 2014.
- BARROS, F. F. C. *et al.* **Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos.** *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 409–414, abr. 2007.
- BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; PASTORE, G. M. **Propriedades emulsificantes e estabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* em maniveira.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 4, p. 979-985, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000400034>.
- BODOUR, A. A., & MILLER-MAIER, R. M. (1998). **Application of a modified drop-collapse technique for surfactant quantitation and screening of biosurfactant-producing microorganisms.** *Journal of Microbiological Methods*, 32(3), 273–280. doi:10.1016/s0167-7012(98)00031-1
- CEMIG. **Macrófitas Aquáticas -1.** [s.l.: s.n.]. Belo Horizonte. Cemig, 2021. Disponível em: <<https://www.cemig.com.br/wp-content/uploads/2021/03/livro-macrofitas-cemig-2021.pdf>>.
- CHAPLA, V. M.; BIASETTO, C.R.; ARAÚJO, A.R. **Fungos endofíticos: uma fonte inexplorada e sustentável de novos bioativos produtos naturais.** *Ver. Virtual Quim.*, 2013
- COSTA, J. S. da. **Relatório de situação bacia hidrográfica do Tarumã-açu [livro eletrônico] : transformações antrópicas e qualidade da água / Jamerson Souza da Costa. – 1. Ed. – Manaus, Am : Ed. do Autor, 2020.**
- DAS, P.; DEBNATH, G.; SAHA, A. K. **Endophytic fungal assemblages in an aquatic weed: *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.** *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, v. 3, n. 3, p. 76-80, jul./set. 2013. Disponível em: <http://www.cibtech.org/jls.htm>. Acesso em: 11 de maio de 2025.
- DHAKAL, D. *et al.* **The physicochemical and functional properties of biosurfactants: a review.** *Molecules*, 2024. <https://doi.org/10.3390/molecules29112544>

DECESARO, A. *et al.* **Produção de biossurfactantes por microrganismos isolados de solo contaminado com óleo diesel.** Química Nova, v. 36, n. 7, p. 947–954, 2013.

DEVANADERA, B.E.A. **Molecular identification of *Mycelia sterilia* by analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region DNA sequences and screening for protease and xylanase activities.** University of the Philippines at Los Baños, 2011.

DRECHSLER, R. *et al.* **Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos.** [s.l.: s.n.]. Florianópolis, 2015. Disponível em: <<https://antigo.uab.ufsc.br/biologia/files/2020/08/Fungos.pdf>>.

FAN, Y. SHI, B. **Endophytic fungi from the four staple crops and their secondary metabolites.** International Journal of Molecular Sciences, 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms25116057>

FERREIRA, F. S. **Biossurfactantes de fungos endofíticos isolados de *Gustavia cf. hexapetala* (Alb.) Sm. (Lecythidaceae) na Amazônia, contra patógenos da cavidade oral.** 2020. 140 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - BIONORTE) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus (AM), 2020.

FREIRE, F. C. O.; VASCONCELOS, F. R.; COUTINHO, I. B. L. **Fungos endófitos: uma fonte de produtos bioativos de importância para a humanidade.** Essentia, Sobral, vol. 16, nº 1, p. 61-102, jun./nov. 2014.

KANG, C. *et al.* **Biological characteristics of the mycelium and optimization of the culture medium for *phallus dongsun*.** Plish Journal of Microbiology, 2024. DOI: 10.33073/pjm-2024-022.

LIMA, B. M. **Produção de biossurfactantes pelos fungos *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium expansum* em fermentação semi-sólida utilizando resíduos agroindustriais como substrato /** Bruna Montalvão Lima - São José do Rio Preto: [s.n.], 2012.

LIMA, J.M.S. *et al.* **Avaliação de fungos endofíticos e epifíticos com potencial para a produção de biossurfactantes, isolados de macrófitas aquáticas do rio Negro em Manaus, Amazonas.** *Diversidade Microbiana da Amazônia.* 2015. Editora INPA.

LIMA, J. M. S. **Avaliação do potencial de produção de biossurfactantes por micro organismos endofíticos e epifíticos de macrófitas aquáticas coletadas em afluentes do Rio Negro contaminados por petróleo.** 2016. 119 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - BIONORTE) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

LIMA, L. F. de; SOUZA, J. V. B. de; CORTEZ, A. C. A. **Diversidade biológica de fungos isolados de águas antropicamente impactadas e pouco impactadas do rio Negro, nas proximidades de Manaus-Amazonas-Brasil./** Luciane Fontão de Lima, João Vicente Braga de Souza, Ana Claudia Alvez Cortez. Manaus, 2013.

LIU, X. **Economic importance and conservation challengers of fungal biodiversity.** Fungal Genomics & Biology, 2024. <https://doi.org/10.35248/2165-8056.24.14.261>

LOPEZ, A.; PIEDADE, M. T. F. **Conhecendo as Áreas Úmidas Amazônicas: uma viagem pelas várzeas e igapós** (p.53-62). Ed. 1 Chapter: 5 Publisher: Editora INPA, 2015.

MAIA, L. C.; CARVALHO JUNIOR, A. A. **Introdução: os fungos do Brasil.** In: FORZZA, R. C., org., et al. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio De Janeiro. Catálogo de plantas e fungos do Brasil [online]. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 43-48. Vol. 1. ISBN 978-85-8874-242-0.

MARINHO, P. S. da S.; SILVA, R. R. da; LUNA, J. M. DE. **Biossurfactantes microbianos e aplicações ambientais: uma revisão narrativa.** Research, Society and Development, v. 11, n. 12, p. e103111234123, 8 set. 2022.

MELO, I. S. de. **Endófitos.** Brasília, DF: Embrapa, 2021. Disponível em: [Endófitos - Portal Embrapa](#). Acesso em: 06 fev. 2024.

MOLINARO, E. M. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 4** / Organização de Etelcia Moraes Molinaro, Luzia Fátima Gonçalves Caputo e Maria Regina Reis Amendoeira. - Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2014]

MOUSSA, T. A. A., MOHAMED, M. S., & SAMAK, N. (2014). **Production and characterization of di-rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* TMN.** *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 31(4), 937–947. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20140314s00002473>

NIEGO, C. D.; RAMOS, F. P.; SILVA, M.N. **The contribution of fungi to the global economy.** Fungal Diversity, 2023. <https://doi.org/10.1007/s13225-023-00520-9>

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. **Biossurfactantes: propriedades e aplicações.** Química Nova, v. 25, p. 772–776, 1 set. 2002.

PERFUMO, A., BANAT, I. M., & MARCHANT, R. (2010). **Sophorolipids, microbial glycolipids with potential industrial applications.** *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85(6), 763-774

SANTOS, A. P. P. **Produção de biossurfactante por *Streptomyces* sp. isolado de líquens da região amazônica para aplicação como agente antifúngico.** 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SARUBBO, L. A., et al. **Biosurfactants: Production, properties, applications, trends, and general perspectives.** *Biochemical Engineering Journal*, 108377. 2022.

SENA, H. H. **Produção de biossurfactantes por fungos isolados do solo amazônico** / Hellen Holanda Sena. 2014.

SHAIKHAH, D. et al. **New trends in biosurfactants: from renewable origin to green enhanced oil recovery applications**. *Molecules*, 2024. <https://doi.org/10.3390/molecules29020301>

SILVA, A. et al. **Aplicação De Biossurfactantes: Avaliação De Meios De Cultivo A Base De Amido**. Anais do VIII Simpósio de Engenharia de Produção de Sergipe, 2016. Disponível em: <https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/7729/2/AplicacaoBiossurfactantesAmido.pdf>.

SILVA, A. C. S.; et al. **Biosurfactant production by fungi as a sustainable alternative**. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 85, p. 1-12, 2018.

SILVA, M. E. T.; DUVOISIN JUNIOR, S. ALBUQUERQUE, P. M. **Prospecção de fungos endofíticos produtores de biossurfactantes isolados de Piper hispidum**. Trabalho apresentado no 58º Congresso Brasileiro de Química (CBQ), 2018. Disponível em: www.abq.org.br/cbq/2018/trabalhos/11/2038-24763.html

SOUZA, R. D. et al. **Atividade enzimática em fungos endofíticos isolados seletivamente de Eichhornia crassipes coletada em área portuária de Manaus - AM**. *Diversidade microbiana da Amazônia*. Ed. INPA, 2015. Disponível em: https://acta.inpa.gov.br/Livro-Diversidade-Microbiana-da-Amazonia/Ambiental_SouzaRDN.pdf. Acesso em: 15 fev. 2024.

UZOIGWE, C. et al. **Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screenin gapproaches**. *Front. Microbiol.*6:245. doi: 10.3389/fmicb. 00245, 2015.

VILLARREAL-RUIZ, L. A., et al. **Toward harnessing biodiversity-ecosystem function relationship in fungi**. *Trends in Ecology & Evolution*, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2024.10.004>

XU, K. et al. **Antifungal secondary metabolites produced by the fungal endophytes: chemical diversity and potencial use in the development of biopesticides**. *Frontiers in Microbiology*, 2021. Dpo:10.3389/fmicb.2021.689527

Yuvarani, M. et al. **Recent innovations in biosurfactnt production: exploring biomedical and environmental applications> a review**. *Asian Journal of Chemistry*, 2024. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2024.32425>