

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

DÉBORA MAYURI TOKUNAGA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE
Commelina communis

ALFENAS/MG

2026

DÉBORA MAYURI TOKUNAGA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE
*Commelina communis***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Licenciado em Ciências Biológicas
pela Universidade Federal de Alfenas.

Orientador: Prof. Dr. Masaharu Ikegaki
Coorientadora: MSc Hillary A. G. Aniceto

ALFENAS/MG

2026

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Tokunaga, Débora Mayuri.

Avaliação da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos de
Commelina communis / Débora Mayuri Tokunaga. - Alfenas, MG, 2026.
36 f. : il. -

Orientador(a): Masaharu Ikegaki.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) -
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2026.
Bibliografia.

1. Produtos naturais. 2. Endófitos. 3. *Commelina communis*. 4.
Resistência microbiana.. I. Ikegaki, Masaharu, orient. II. Título.

DÉBORA MAYURI TOKUNAGA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE
*Commelina communis***

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação do Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovada em: 03 de julho de 2026

Prof. Dr. Masaharu Ikegaki
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Prof^a. Ma. Rafaela Franco Dias Bruzadelli
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Prof. Ma. Johan Mateo Rios Marin
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria José Ribeiro Tokunaga e Mario Tokunaga, dos quais quero que todos que venham a ler este trabalho saibam do imenso esforço e cuidado dedicado a mim durante esses anos. Agradeço às orações e cuidados de minha mãe que me alcançaram e me deram forças para continuar e a todas as demonstrações de carinho de meu pai. Dos menores aos maiores feitos, eu os vi e os agradeço.

Ao meu namorado, Guilherme, do qual o amor se faz tão enraizado e crescente que faltam palavras para expor tamanha gratidão. Sem seu apoio, amor e presença, mesmo que na ausência do contato físico, não conseguiria estar onde estou e almejar tudo o que almejo, obrigada meu amor.

Ao meu orientador, Dr. Masaharu Ikegaki, por toda paciência, conselhos e confiança. Obrigada por acreditar no meu potencial e por cada palavra de direcionamento e incentivo. Ao meu orientador, minha admiração e gratidão.

À minha coorientadora Prof.^a Hillary Ananda, agradeço por compartilhar seus conhecimentos, pelos finais de semana de trabalho, pelas risadas e palavras de carinho e apoio e sem dúvidas, agradeço a amizade que construímos em meio a tanto trabalho.

Ao técnico Gustavo, do laboratório de Bioprocessos, que sempre agiu de forma extremamente solícita e me auxiliou frente a inúmeras dúvidas.

Aos meus amigos, Lara Pavarini, Andressa, Rafaela, Ana Beatriz, Yago, Hillary e muitos outros dos quais dispenderia certo tempo para nomear um a um, que de diferentes maneiras se fizeram presentes, me dando, mesmo sem ter o conhecimento exato, o apoio que eu precisava para continuar seguindo.

Agradeço a minha família por comemorar minhas vitórias, ouvir minhas dúvidas, me acalmar por ligações, por estarem presentes, mesmo que de longe. Em especial para minha irmã, que mesmo a 17.000 km de distância, segue sendo fonte de inspiração e amor.

A toda espiritualidade que me deu forças e proteção para chegar onde estou.

Por fim, agradeço a Universidade Federal de Alfenas e a todos os professores que me acompanharam nessa trajetória. O olhar apaixonado que carregou hoje pela biologia e pela educação só foi possível graças ao amor e dedicação de cada um dos professores.

A todos que me acompanharam durante esse trajetória, que é apenas o início

de um longo caminho, meu sincero agradecimento.

RESUMO

A resistência aos antibióticos tem se tornado uma pauta de grande relevância em relação à saúde pública mundial, visto que há um aumento da dificuldade do tratamento das infecções e consequente encarecimento dos custos médicos. Diante disso, o presente estudo propõe explorar a biodiversidade brasileira, em especial os endófitos de *Commelina communis*, uma espécie vegetal de ampla distribuição e conhecido uso tradicional, para descoberta de novos compostos com potencial antimicrobiano. Para isso, 90 fragmentos foliares previamente desinfetados foram inoculados em meio Ágar Batata Dextrose, obtendo-se 45 fragmentos colonizados e destes, 20 isolados fúngicos purificados, o que corresponde a uma frequência de isolamento de 50%. A atividade antimicrobiana foi triada pelo método de ágar em bloco frente aos patógenos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*. Os resultados revelaram que 90% (n=18) dos isolados inibiram o crescimento de *S. aureus*, e 95% (n=19) inibiram *E. coli*, com halos de até 30,5 mm. Em contraste, nenhum isolado apresentou atividade fungicida frente às leveduras do gênero *Candida*. Este perfil de atividade sugere uma ação direcionada a alvos exclusivamente bacterianos. A ausência de atividade fungicida contra as leveduras testadas reforça a especificidade antibacteriana dos compostos, embora testes de citotoxicidade sejam necessários para avaliar sua segurança farmacológica. Este trabalho contribui para o conhecimento da microbiota endofítica de *C. communis* e reforça o valor da biodiversidade brasileira na prospecção de novos antimicrobianos sustentáveis.

Palavras-chave: Produtos naturais; endófitos; *Commelina communis*; resistência microbiana.

ABSTRACT

Antibiotic resistance has become an issue of great relevance to global public health, given the increasing difficulty in treating infections and the consequent rise in medical costs. In light of this, the present study aims to explore Brazilian biodiversity, particularly the endophytes of *Commelina communis*, a widely distributed plant species with known traditional use for the discovery of new compounds with antimicrobial potential. For this purpose, 90 previously surface-disinfected leaf fragments were inoculated on Potato Dextrose Agar, yielding 45 colonized fragments, from which 20 purified fungal isolates were obtained, corresponding to an isolation frequency of 50%. Antimicrobial activity was screened by the agar plug diffusion method against the pathogens *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, and *Candida tropicalis*. The results revealed that 90% (n = 18) of the isolates inhibited the growth of *S. aureus*, and 95% (n = 19) inhibited *E. coli*, with inhibition zones reaching up to 30.5 mm. In contrast, no isolate exhibited antifungal activity against any of the *Candida* yeasts tested. This activity profile suggests an action directed at exclusively bacterial targets. The absence of antifungal activity against the tested yeasts reinforces the antibacterial specificity of the compounds, although cytotoxicity tests are necessary to assess their pharmacological safety. This work contributes to the knowledge of the endophytic microbiota of *C. communis* and reinforces the value of Brazilian biodiversity in the prospection of new sustainable antimicrobials.

Keywords: Natural products; endophytes; *Commelina communis*; microbial resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem de <i>C. communis</i>	18
Figura 2 - Desinfestação das amostras vegetais	23
Figura 3 - Inoculação dos fragmentos das amostras vegetais em placas de Petri contendo meio BDA + Cloranfenicol (100 ml/L-1)	24
Figura 4 - Purificação das linhagens fúngicas	25
Figura 5 – Teste de difusão ágar em bloco	26
Figura 6 – Placa contendo endófitos de diferentes morfologias	28
Figura 7 – Teste de difusão em ágar – <i>E. coli</i>	31
Figura 8 – Teste de difusão em ágar – <i>S. aureus</i>	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Índice de atividade antifúngica e antimicrobiana dos endofíticos isolados.

27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UNIFAL-MG - Universidade Federal de Alfenas

BOD – Demanda Bioquímica de Oxigênio

BDA – Ágar – Batata – Dextrose

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	RERENCIAL TEÓRICO.....	16
1.1.1	<i>Commelina communis</i>	17
1.1.2	Fungos endofíticos.....	17
1.1.3	Metabólitos secundários.....	19
1.1.4	Atividade antimicrobiana.....	20
2	OBJETIVOS.....	21
2.1	Objetivo geral.....	21
2.1.1	Objetivos específicos.....	21
3	METODOLOGIA.....	21
3.1	MATERIAL.....	21
3.2	MÉTODOS.....	21
3.2.1	DESINFESTAÇÃO SUPERFICIAL DAS AMOSTRAS.....	22
3.2.2	PURIFICAÇÃO REATIVAÇÃO E CONSERVAÇÃO.....	24
3.2.3	TRIAGEM ANTIMICROBIANA: MÉTODO DE ÁGAR EM BLOCO....	24
3.2.3.1	Padronização dos inóculos.....	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	26
4.1	ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DOS ENDÓFITOS.....	26
4.2	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	27
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
	REFERÊNCIAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

A flora brasileira apresenta uma vasta biodiversidade com diferentes propriedades químicas e diversos potenciais a serem explorados pelo homem (Machado *et al.*, 2014). As pesquisas para comprovação da eficácia das potencialidades presentes nas plantas estão se intensificando através da busca por compostos que possam ser utilizados pela indústria farmacêutica (Borges *et al.*, 2008).

A *Commelina communis* é um exemplo de planta não endêmica amplamente distribuída pelo território nacional, que apresenta propriedades antimicrobianas (Liu *et al.*, 2023). Para além dos efeitos contra microrganismos, a planta em questão tem potencial antiinflamatório, antiviral e antioxidante (Kim *et al.*, 2022). O que a torna uma excelente fonte de compostos bioativos com potencial farmacológico.

Neste contexto, os fungos endofíticos, microrganismos encontrados no interior das plantas, podem estar presentes por toda a vida do vegetal ou em parte do ciclo da vida do organismo, vivendo de forma simbiótica, sem causar prejuízos ou danos aparentes (Dutta *et al.*, 2014), se tornam uma alternativa para esta problemática (Bibi *et al.*, 2020), uma vez que, os microrganismos podem produzir diferentes compostos bioativos, metabólitos primários e secundários, que são capazes de apresentar funções relacionadas às propriedades medicinais da planta (Hardoim *et al.*, 2015) sem que exista a necessidade do constante extrativismo da planta para tal fim. Dessa forma, o estudo da microbiota endofítica viabiliza a obtenção de bioativos sem a necessidade do extrativismo vegetal contínuo e predatório.

1.1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1. *Commelina communis*

Existem aproximadamente 200 espécies da família *Commelinaceae*, que apresentam uma ampla distribuição por todo o globo, sendo encontradas em regiões temperadas e quentes da África e Ásia, e pelo continente Norte e Sul americano. Sendo que nas Américas, as plantas do gênero *Commelina* são consideradas naturalizadas (Tadege *et al.*, 2023). A plasticidade fenotípica de *C. communis* permite com que haja dominância da planta, mesmo em ambientes com características hostis, garantindo uma ampla distribuição da mesma. Além disso, características como a protandria e reprodução cruzada garantem uma maior variabilidade genética, o que possibilita perfis químicos distintos entre indivíduos da mesma espécie, fato este que influencia diretamente na produção de moléculas de interesse médico e na população de endófitos presentes nos espécimes (Yang *et al.*, 2018).

Há relatos na literatura a respeito do uso destas para fins terapêuticos, sendo amplamente utilizadas na medicina tradicional chinesa. Dentre as aplicações observa-se a utilização para tratamento de infecções de garganta, tonsilites, disenteria, infecções urinárias, enterite aguda, obesidade e diabetes mellitus (Youn *et al.*, 2004). Além disso, estudos recentes da avaliação da aplicação médica do extrato de *Commelina*, têm apresentado potenciais efeitos imunomoduladores, anti-inflamatórios, antivirais e antibacterianos (Wang *et al.*, 2025). Fato este que a torna uma potente fonte de estudo para a pesquisa de fungos endofíticos, que possam vir a contribuir na produção de metabólitos secundários, que apresentam os efeitos de interesse médico previamente mencionados.

Figura 1 – Imagem de *C. communis*



Fonte: Movaliya (2023).

1.1.2. Fungos endofíticos

A exploração de produtos naturais para produção de medicamentos tem surtido efeitos positivos, como exemplo podem ser citados os medicamentos originados da planta *Catharrantus roseus*, da qual é possível obter as moléculas utilizadas para tratamento quimioterápico, vimblastina (Velban®) e vincristina (Oncovin®) e o anticancerígeno, Taxol® proveniente da árvore *Taxus brevifolia* (Wan, 2022). É incontestável que as plantas são utilizadas pela humanidade a milênios para fins medicinais, e com o avanço da ciência tem se observado um grande potencial para o tratamento de diversas enfermidades por parte dos compostos bioativos naturais (Jamshidi-Kia *et al.*, 2018). Entretanto, são muitos os fatores que impactam no crescimento e desenvolvimento das plantas, que podem inviabilizar a extração dos compostos requeridos para a produção de fármacos (Domingos *et al.*, 2019). Além da inviabilidade econômica e sustentável da extração contínua de plantas para obtenção de extratos com potenciais farmacológicos, como o ocorrido em relação ao Taxol®, no qual a obtenção de apenas 1 kg do fármaco requereria o sacrifício de 10 toneladas de cascas de *T. brevifolia*. Neste contexto a busca por fontes alternativas e naturais de compostos que apresentem as mesmas características farmacológicas das ervas se fortaleceu, portanto, a obtenção, isolamento e replicação de microrganismos endofíticos presentes na planta se torna uma opção de extrema relevância (Bibi *et al.*, 2020; Vasundhara; Sudhakara Reddy; Kumar, 2019).

Os fungos endofíticos são microrganismos presentes no interior dos tecidos das plantas, habitando-as de forma assintomática. Como não causam danos às plantas, se diferenciam dos fitopatógenos que se encontram na superfície dos órgãos e tecidos (Azevedo, 2014). Os microrganismos endófitos colonizam o interior dos tecidos vegetais, geralmente, por meio de fendas naturais e rachaduras, ou feridas, nas raízes das plantas (Yan *et al.*, 2019). Os fungos também possuem a capacidade de infectar verticalmente as plantas, através de sementes hospedeiras, que nesse caso colonizam o vegetal ao longo de toda sua vida (Deshmukh *et al.*, 2020).

No campo da pesquisa de produtos derivados de fontes naturais, os fungos são tidos como uma promissora e de grande importância fonte de metabólitos bioativos que podem ser utilizados para produção de fármacos, visto que, estes microrganismos têm a capacidade de produzir moléculas que são capazes de surtir efeitos benéficos para seus hospedeiros, exercendo função de fungicida, herbicida e até mesmo combatendo bactérias que poderiam causar algum malefício para a planta e que podem ser utilizados no tratamento de enfermidades humanas (Martinez-Klimova *et al.*, 2017; Gupta *et al.*, 2020). Grande parte dos fungos endofíticos são capazes de potencializar os diversos produtos químicos presentes no corpo do hospedeiro ao qual estão habitando, criando assim uma relação de mutualismo, na qual a planta garante proteção e nutrientes para os fungos, e em contrapartida os endófitos propiciam proteção extra contra agentes patogênicos, como bactérias, ou fungos que podem gerar algum tipo de enfermidade para a planta (Kumari *et al.*, 2021). Pode-se afirmar que os fungos endofíticos são tidos como nichos ecológicos de grande importância para extração de estruturas químicas diversificadas em produtos de origem natural (Segaran; Sathiavelu, 2019).

Os endofíticos isolados de plantas que apresentam alguma usabilidade medicinal possuem a capacidade de gerar metabólitos secundários bioativos. Geralmente os fungos endofíticos pertencem aos filos Ascomycota, Basidiomycota e Mucoromycota (Nisa *et al.*, 2015).

Os microrganismos endófitos estão constantemente interagindo com diversos outros organismos, o que propicia um cenário no qual o aparecimento de novas compostos metabólicos é possibilitado, ocasionando assim uma gama maior de substâncias que apresentam potencialidades em relação às atividades biológicas (Segaran; Sathiavelu, 2019).

1.1.3. Metabólitos secundários

Os metabólitos secundários são compostos biológicos que não estão associados aos processos de desenvolvimento da planta, sejam eles, o crescimento ou a reprodução dos organismos em questão. Além disso, a produção dos metabólitos secundários está constantemente associada às condições ambientais das quais a planta, e consequentemente, os fungos endofíticos, estão inseridos. Estes compostos, que na literatura eram considerados como fitocompostos, podem na verdade serem produtos biossintetizados por microrganismos endofíticos (Card *et al.*, 2015; Kusari *et al.*, 2012). Por mais que os metabólitos secundários não estejam relacionados diretamente a sobrevivência da planta, estes desempenham uma função importante quanto a capacidade de adaptação do vegetal em relação ao meio em que estão inseridos, garantindo mecanismos de defesa ao organismo em questão (Ramakrishna e Ravishankar, 2011). Estes mecanismos podem estar associados a atividades biológicas como antivirais, antioxidantes, anticancerígenas, antimicrobianas e dentre outros (Kusari *et al.*, 2012). Os metabólitos, que muitas vezes, são produzidos por fungos endofíticos são fontes de compostos de interesse para diversos segmentos industriais, dentre eles a farmacêutica (Chen *et al.*, 2016). Pesquisas com endófitos têm descoberto compostos como esteroides, xantonas, fenóis, isocumarinas, policetídeos, terpenóides, alcalóides e entre outros que apresentam inúmeras aplicações em setores industriais, o que fortalece o potencial destes microrganismos (Rajamanikyam *et al.*, 2017).

1.1.4. Atividade antimicrobiana

A resistência dos microrganismos aos antimicrobianos é uma ameaça mundial à saúde pública, conforme evidenciado pelo aumento no número da mortalidade e internações mais demoradas, uma vez que o tratamento precisa se prolongar para que o patógeno seja retirado do organismo infectado, o que culmina no aumento dos custos com tratamentos médicos. Este cenário obrigou muitas organizações internacionais de saúde de diferentes localidades ao redor do globo, a investirem em pautas de combate ao aumento da resistência aos antimicrobianos (OPAS, 2017). O Fórum Econômico Mundial (2019) afirmou que a resistência microbiana apresenta riscos ao ponto de ser tida como uma das mais graves problemáticas de saúde global (WEF, 2019). A resistência dos microrganismos aos fármacos antimicrobianos ocorre pela soma de dois grandes fatores, um deles sendo o uso constante, desregulado e

por vezes, sem necessidade que os seres humanos fazem de antibióticos (Scott et al., 2019) e a elevada atividade metabólica e reprodutiva dos patógenos, que associada aos mecanismos de troca de material genético favorece o aparecimento de estruturas celulares físicas que garantem maior resistência dos microrganismos aos antimicrobianos presentes no mercado (Lócio, 2019). O aumento da aquisição de resistência aos fármacos antimicrobianos ocasionou uma baixa significativa na disponibilidade de antibióticos que trariam um tratamento adequado aos pacientes infectados, podendo ocasionar cenários de disseminação bacteriana em ambientes hospitalares, levando até mesmo os enfermos ao óbito (CDC, 2025).

Neste cenário a utilização de moléculas antimicrobianas que são secretadas pelos fungos se fazem de grande importância para a indústria farmacêutica, uma vez que os produtos naturais têm conquistado grande espaço em relação a busca por antibióticos e até mesmo por fármacos que visam tratar o câncer (Chen et al., 2014; Yan et al., 2019). Muitos metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos apresentam atividade antimicrobiana, dentre eles estão presentes os alcalóides, peptídeos não ribossomais, esteróides, fenóis, terpenóides, quinonas e flavonóides (Yu et al., 2010).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a potencial atividade antimicrobiana dos fungos endofíticos de *Commelina communis*.

2.1.1 Objetivos específicos

- a) Isolar sob condições assépticas, fungos endofíticos presentes nas folhas de *Commelina communis*;
- b) Purificar os isolados por transferência sucessiva de blocos de ágar até obtenção de culturas puras;
- c) Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos obtidos por meio de testes de perfusão em ágar;

3 METODOLOGIA

3.1 MATERIAL

O isolamento dos fungos endofíticos foi realizado no mês de março de 2026, com o auxílio da doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas Hillary Ananda. Todos os fungos foram isolados de folhas saudáveis da espécie *Commelina communis* coletados no município de Alfenas – MG, das quais receberam a nomeação de “Canteiro”, e “Calçada”, ambos referentes a Latitude - 21.434630558142985; e Longitude -45.93774567477651.

3.2 MÉTODOS

Os critérios utilizados durante a coleta consistiram em selecionar folhas saudáveis, livres de manchas e possíveis infecções externas de origem fúngica e/ou bacteriana. As amostras das plantas foram separadas de acordo com o local de retirada, utilizando os nomes “Canteiro” e “Calçada”. Os fungos isolados foram purificados e

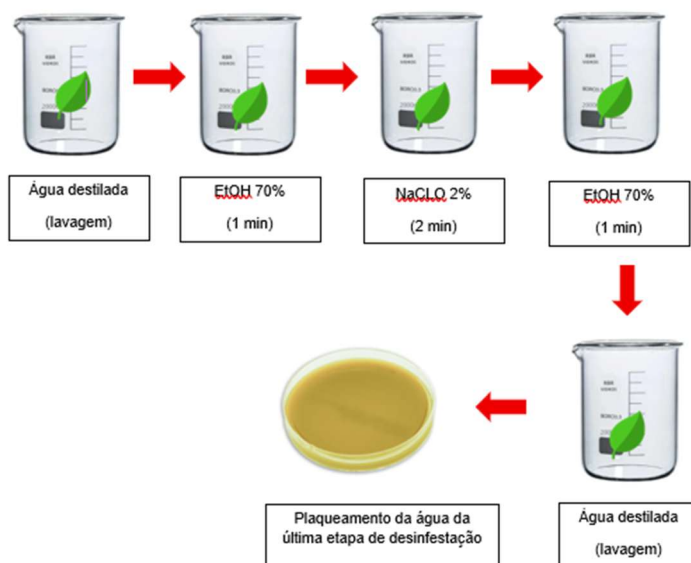
preservados, segundo o método de armazenamento Castellani (De Capriles, Mata e Middelveen; 1989) no Laboratório de Bioprocessos da Universidade Federal de Alfenas.

A fim de garantir a organização dos isolados fúngicos obtidos a partir da *C. communis*, foram utilizados números e a identificação do local de retirada (“calçada” e “canteiro”).

3.2.1 DESINFESTAÇÃO SUPERFICIAL DAS AMOSTRAS

A desinfestação das amostras foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Marcellano, Collanto e Fuentes (2017), com alterações. As folhas previamente selecionadas, foram submetidas à desinfestação em um ambiente estéril, no qual passaram por cinco lavagens sequenciais, cada qual utilizando um solvente específico. Primeiramente, as amostras foram lavadas em água destilada estéril seguida de uma imersão em álcool 70% (v/v) por 1 minuto; seguido de imersão em hipoclorito de sódio (v/v) por 2 minutos, posteriormente foram novamente imersas em álcool 70% (v/v) por 1 minuto e para finalizar o processo de desinfestação, as amostras foram lavadas em água destilada estéril (Figura 2). A água destilada estéril utilizada na última etapa de desinfestação foi aproveitada como controle de esterilidade, com o intuito de evidenciar a eficiência do processo, para isso a mesma foi inoculada em uma placa de Petri contendo meio ágar-batata-dextrose (BDA) suplementado com 100 mg/L de cloranfenicol (Menezes, 2022).

Figura 2 – Desinfestação das amostras vegetais.



Fonte: Do autor (2026).

Após o processo de desinfestação, cinco fragmentos retirados de forma estéril das folhas, foram inoculados em placas de Petri contendo meio ágar-batata-dextrose suplementado com 100 mg/L de cloranfenicol, com o intuito de inibir o crescimento de bactérias (Menezes, 2022) (Figura 3). As placas foram mantidas a 26° C em uma estufa de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD) e o crescimento fúngico foi acompanhado rotineiramente por um período de 7 dias, posteriormente foi realizado o processo de isolamento e purificação das linhagens.

Figura 3 – Inoculação dos fragmentos das amostras vegetais em placas de Petri contendo meio BDA + Clorafenicol (100 mg/L)

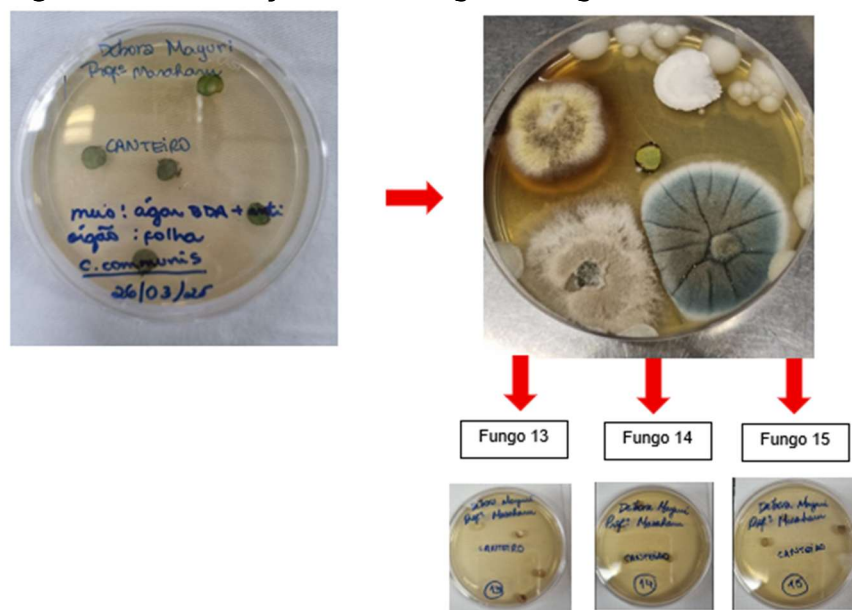


Fonte: Do Autor (2026).

3.2.2 PURIFICAÇÃO, CONSERVAÇÃO E REATIVAÇÃO

Os fungos endofíticos passaram por um processo de purificação por meio de repiques sucessivos a fim de que se obtivessem linhagens puras (Figura 4), que foram subsequentemente armazenados em tubos falcon contendo água destilada estéril, de acordo com o método Castellani (De Capriles, Mata e Middelveen, 1989). Posteriormente, foi feita a reativação dos fungos, por meio da inoculação de cinco fragmentos em placa de Petri contendo meio Ágar-Batata-Dextrose, previamente esterilizado, suplementado com 100 mg/L de cloranfenicol. As placas contendo as linhagens puras foram incubadas na estufa BOD a 26°C sob monitoramento diário por 7 dias.

Figura 4 – Purificação das linhagens fúngicas

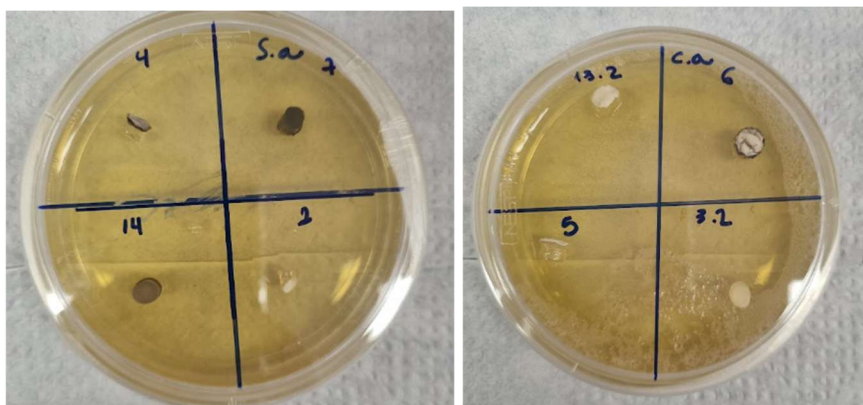


Fonte: Do autor (2026).

3.2.3 TRIAGEM ANTIMICROBIANA: MÉTODO DE ÁGAR EM BLOCO

A avaliação da atividade antimicrobiana dos fungos endofíticos da *C. communis* foi feita a partir do método de ágar em bloco (Figura 5), como uma triagem prévia para verificação da capacidade dos fungos endofíticos de produzir metabólitos antimicrobianos. Fragmentos de 5,0 mm de diâmetro das colônias fúngicas foram inoculados em meio sólido Ágar Mueller Hinton contendo o patógeno a ser confrontado. Os patógenos de avaliação foram: *Candida albicans* (ATCC 6538), *Candida tropicalis* (ATCC 750), *Candida glabrata* (ATCC 90030), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Figura 5 – Teste de difusão ágar em bloco



Fonte: Do autor (2026).

3.2.3.1 Padronização dos inóculos

Bactérias e leveduras foram previamente inoculadas em meio caldo BHI (Brain Heart Infusion), respeitando os padrões preconizados pela Clinical and Laboratory Standards Institute de 1,28 mg para cada 1 ml de meio, a 35°C por 24 horas com o intuito de se obter um crescimento adequado, após este período foi feita a padronização dos patógenos com auxílio de um espectrofotômetro no qual a transmitância ocorreu em 660 nm. Para as bactérias *S. aureus* e *E. coli* 1×10^8 UFC/mL e para as espécies de *Candida* este valor equivale a 1×10^6 UFC/mL.

3.2.4 ANÁLISE DE DADOS

As amostras foram consideradas como isolados fúngicos independentes devido às diferenças morfológicas evidentes, observadas durante o crescimento dos fungos em meio de cultura, e devido à ausência de identificação taxonômica precisa. Essa heterogeneidade inviabiliza a aplicação de testes estatísticos inferenciais comparativos, que demandam grupos homogêneos. Diante deste cenário optou-se por uma abordagem descritiva, com análise exploratória dos dados obtidos nos ensaios.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

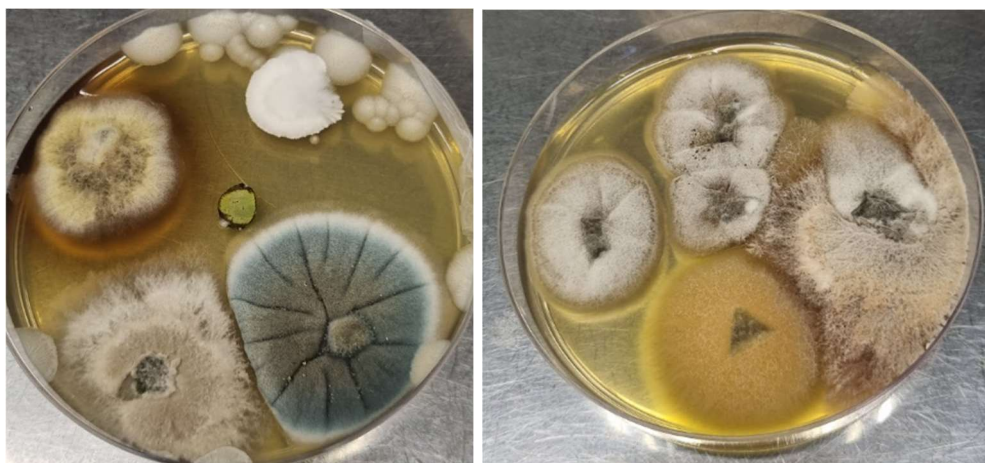
4.1 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DOS ENDÓFITOS

Um quantitativo de 90 fragmentos foliares de *Commelina communis*, previamente desinfetados resultaram, após 7 dias de crescimento, em 45 fragmentos colonizados, correspondendo a uma frequência de isolamento de 50%. O controle de esterilidade da lavagem não apresentou crescimento microbiano, validando a eficácia do processo de desinfestação superficial.

Durante a etapa de triagem, observou-se também que fragmentos foliares presentes em uma mesma placa originaram isolados distintos, resultando em placas contendo dois a três morfotipos crescendo simultaneamente (Figura 6). Com o intuito de propiciar o crescimento separadamente de um fungo por placa, foram realizados repiques sucessivos, que consiste na retirada de um pequeno bloco de ágar contendo o micélio de cada isolado e a transferência deste de forma asséptica, para novas placas contendo meio BDA com cloranfenicol. Este processo foi repetido até que a placa exibisse um único morfotipo com crescimento homogêneo, livre de contaminantes visíveis. Além disso, alguns fragmentos distintos deram origem ao mesmo morfotipo fúngico, de modo que o número final obtido foi igual a 20 isolados de culturas axênicas viáveis, das quais foram utilizados em ensaios subsequentes.

A diversidade de endófitos observada no estudo pode estar relacionada a biologia reprodutiva da *C. communis*, visto que trata-se de uma espécie exogâmica, da qual a reprodução cruzada tende a gerar indivíduos com maior variabilidade genética, e consequentemente com diferentes perfis fitoquímicos (Yang *et al.*, 2018) dos quais atuam como diferentes pressões seletivas sobre as populações de endófitos, contribuindo potencialmente na diversidade de morfotipos observada no presente estudo, e na produção de metabólitos secundários pelos isolados obtidos (Segaran; Sathiavelu, 2019). Portanto a variedade de endófitos observada no trabalho ocorre em respaldo da heterogeneidade genética, que por sua vez resulta em diferentes microambientes químicos, fato este que apresenta relevância biotecnológica, visto que comunidades endofíticas diversas são fontes promissoras de metabólitos secundários com atividade antibacteriana (Nisa *et al.*, 2015).

Figura 6 – Placa contendo endófitos de diferentes morfologias



Fonte: Do autor (2026).

4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana dos fungos endofíticos foi avaliada frente às leveduras patogênicas *Candida albicans* (ATCC 6538), *Candida tropicalis* (ATCC 750), *Candida glabrata* (ATCC 90030), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) e da *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) bactéria gram-positiva, *Escherichia coli* (ATCC 25922) bactéria gram-negativa, expressa como halo de inibição em milímetros conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 – Índice de atividade antifúngica e antibacteriana dos fungos endofíticos isolados.

Endófito	Patógeno – halo de inibição antimicrobiano	
	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)
1	16 mm	23 mm
2.1	21 mm	25,5 mm
2.2	25 mm	23 mm
3.1	20 mm	27,5 mm
3.2	22 mm	22,5 mm
4	21 mm	30,5 mm
5	22 mm	25 mm
6	-	-
7	-	24 mm
8	26 mm	28 mm
9.1	24 mm	23,5 mm
9.2	16 mm	24 mm

10.1	26 mm	23,5 mm
10.2	19 mm	27 mm
11.1	20 mm	24 mm
11.2	23 mm	20,5 mm
12.1	10 mm	25,5 mm
12.2	20 mm	28 mm
13.1	21 mm	26 mm
13.2	17 mm	23 mm
14	9 mm	20,5 mm
15.2	19 mm	28 mm
16	23 mm	21,5 mm
17	21 mm	23 mm
18	25 mm	27 mm
19.1	15 mm	26,5 mm
20	28 mm	24,5 mm

Fonte: Autor (2026).

Legenda: (-) Não houve inibição do crescimento microbiano

Os endófitos não apresentaram atividade antifúngica contra as espécies de levedura testadas, fato este que evidencia uma provável toxicidade seletiva de importância farmacológica, visto que as estruturas celulares de origem eucarionte são de grande semelhança entre os fungos patogênicos e os seres humanos, evidenciado, por exemplo, pela alta toxicidade de antifúngicos potentes como a Anfotericina B (Falci, 2015). Embora uma triagem inicial possa classificar este resultado como negativo, uma análise sob a ótica de desenvolvimento de fármacos, o revela como um dado promissor. Tal afirmação se consolida quando somada ao resultado obtido nos testes de avaliação da resposta dos endófitos frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*, dos quais em ambos foram observados resultados de inibição por grande parte dos isolados.

Em relação a resposta obtida frente à bactéria gram-negativa *E. coli*, dos 20 fungos endofíticos testados, 19 apresentaram resultados positivos pelo método de difusão em ágar, com halos de inibição variando entre 20,5 mm a 30,5 mm (Figura 7). Apenas o isolado nomeado “6 – Canteiro” não apresentou halo de inibição. O percentual de ação contra a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* foi igual a 90%, sendo que apenas os isolados nomeados “6 – Canteiro” e “7 – Calçada” não exibiram halo de inibição, os demais 18 isolados apresentaram halos com variação entre 9 mm a 28 mm (Figura 8), como descrito na Tabela 1.

A ação antimicrobiana dos endófitos observada frente às bactérias Gram–

positiva e Gram-negativa e ausente contra as leveduras do gênero *Candida*, podem estar relacionadas à presença de metabólitos antimicrobianos catiônicos. Moléculas dessa natureza como peptídeos e lipopeptídeos, atuam por meio da ação eletrostática às superfícies bacterianas, seguido da inserção na membrana e lise celular, que resultam na morte do patógeno (Yeaman; Yount, 2003). Em relação às bactérias Gram-negativas, a membrana externa, rica em lipopolissacarídeos (LPS), garante as mesmas, forte resistência a antibióticos disponíveis no mercado (Breijyeh, Jubeh; Karaman, 2020), entretanto a ação dos metabólitos produzidos pelos isolados, quando considerado a ideia de presença de compostos catiônicos, sugerem um ataque direto a esta estrutura, por meio do deslocamento competitivo dos cátions divalentes (Mg^{2+} e Ca^{2+}), que em situações de normalidade atuam como pontes iônicas estabilizadoras da estrutura dos lipopolissacarídeos (Huszczynski; Lam; Khursigara, 2019). A perda dessas estruturas e a inserção de moléculas orgânicas volumosas, causam a desorganização e o rompimento da membrana externa e consequente aumento da permeabilidade, que por sua vez, ocasiona a formação de poros e a lise celular (Epand *et al.*, 2016).

Embora a hipótese de metabólitos catiônicos capazes de desestabilizar a membrana seja coerente com o perfil de atividade antimicrobiana apresentado pelos endófitos, outras possibilidades de mecanismos de ação não podem ser descartadas apenas com base nos dados da primeira triagem. A inibição da síntese da parede celular dos microrganismos pode ser considerada como um alvo da ação dos metabólitos, visto que a constituição de peptidoglicanos é exclusiva de organismos procariotos (Garde; Chodisetti; Reddy, 2021), estando totalmente ausente em organismos eucariontes, como fungos e células humanas. Trata-se de uma estrutura essencial em células procariontes, que exercem função de manutenção da rigidez e proteção osmótica, por essa razão muitos antibióticos disponíveis no mercado como os β -lactâmicos e glicopeptídeos, têm como alvo a maquinaria enzimática responsável pela síntese e ligação cruzada dessa macromolécula, como por exemplo as *Penicillin-Binding Proteins* (PBPs) (Jubeh; Breijyeh; Karaman, 2020). Portanto, um possível mecanismo de ação dos metabólitos pode vir a ser a atuação como falsos substratos ou a inibição direta dessas enzimas, em ambos os casos a formação da parede celular não ocorreria de forma compatível com a manutenção da vida do patógeno, resultando em lise celular e posterior morte dos microrganismos (Sibinelli-Sousa; Hespanhol; Bayer-Santos, 2021). Além disso, outros componentes celulares exclusivos de

organismos procariontes, como os ribossomos bacterianos, podem ter sido alvo dos metabólitos produzidos pelos isolados de *C. communis*. Os ribossomos procarióticos (70S) apresentam diferenças estruturais quando comparados aos ribossomos eucarióticos (80S), que os tornam alvos clássicos de antibióticos. Metabólitos fúngicos como alcalóides e macrolídeos são capazes de se ligar às subunidades 30S, o que impede a leitura do RNA mensageiro ou 50S, que causa o bloqueio da formação da ligação peptídica, em ambos, a síntese proteica é inibida e consequentemente a atividade celular se torna defasada, o que por sua vez culmina na morte do microrganismo patogênico (Lin et al., 2018). Diferentes atuações dos endófitos sob diversos alvos moleculares dos organismos procariotos podem ser associados ao efeito microbicida dos isolados, por essa razão a elucidação do mecanismo de ação predominante dependerá de novos ensaios.

Figura 7 – Teste de difusão em ágar – *E. coli*

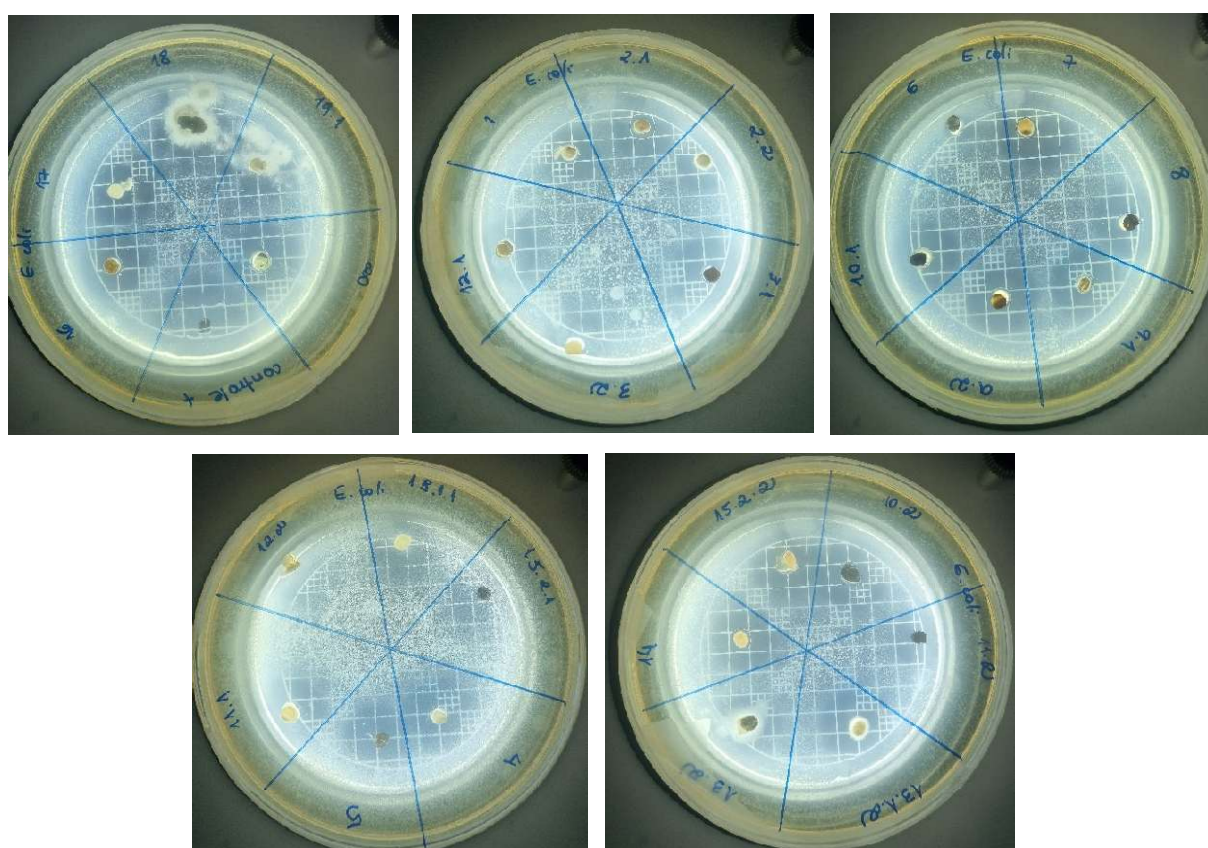
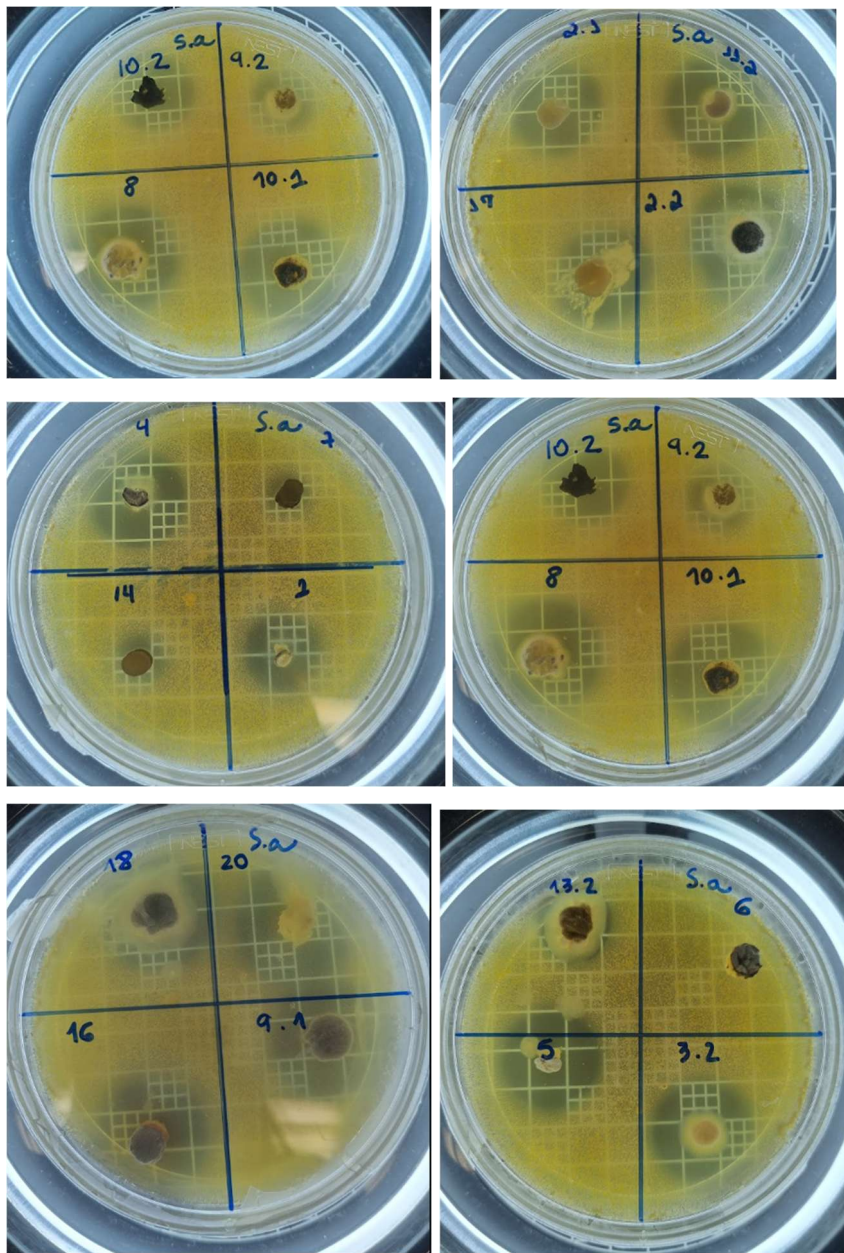


Figura 8 – Teste de difusão em ágar – *S. aureus*



Fonte: Do autor (2026).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que as folhas de *Commelina communis* apresentam uma vasta biodiversidade de endófitos com notável potencial de inibição antibacteriana. A elevada frequência de isolados com ação bactericida contra as bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* e Gram-negativa *Escherichia coli*, com taxa de respostas dos endófitos de 90% e 95% respectivamente, e total ausência de atividade fungicida contra as leveduras do gênero *Candida*, constitui o achado central deste projeto e argumenta a favor da hipótese de seletividade tóxica, de importância farmacológica, apresentada pelos isolados. Tal perfil de atividade sugere que os metabólitos bioativos produzidos pelos fungos possuem como alvo estruturas exclusivamente procariontes, como a membrana externa rica em lipopolissacarídeos, ribossomos procariontes 70S, a parede celular de peptidoglicano e dentre outros. O que permite a preservação da estrutura e função das células eucariontes, fato este de grande relevância para a busca de compostos de interesse biotecnológico.

A diversidade de morfotipos observada, com variações nos halos de inibição apresentados pelos isolados, reflete uma riqueza metabólica que pode estar diretamente relacionada a biologia reprodutiva da planta, uma vez que a exogamia da *C. communis* garante espécies com maior variabilidade genética, o que se traduz em diferentes perfis fitoquímicos que exercem pressões seletivas distintas sobre a seleção de linhagens fúngicas. Nesse sentido, o presente trabalho fornece evidências que relacionam a ecologia reprodutiva vegetal e à prospecção de bioativos de origem microbiana.

Cabe salientar que este estudo representa uma triagem inicial, e suas limitações apontam para os próximos passos da investigação. Processos de fermentação, obtenção de extratos orgânicos, determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Microbicida Mínima (CMM) e elucidação dos mecanismos de ação são etapas essenciais para a caracterização química e farmacológica dos compostos. Além da avaliação de citotoxicidade em células humanas, a fim de validar a segurança sugerida pela ausência de ação contra as leveduras.

Em suma, os endófitos de *C. communis* revelaram-se uma fonte promissora de metabólitos com atividade antibacteriana e seletividade tóxica, especialmente frente ao atual desafio clínico representado pelas bactérias Gram-negativas. Este trabalho

reforça a importância da biodiversidade vegetal brasileira como ponto de partida para a busca por novos compostos que apresentem características de interesse farmacológico, e contribui para o entendimento sobre a ecologia química de microrganismos endofíticos.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, J. L. (2014). Endophytic Fungi from Brazilian Tropical Hosts and Their Biotechnological Applications. In *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security* (pp. 17–22). **Springer India**. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1801-2_2
- BIBI, S. N., Gokhan, Z., Rajesh, J., & Mahomoodally, M. F. (2020). Fungal endophytes associated with mangroves – Chemistry and biopharmaceutical potential. **South African Journal of Botany**, 134, 187–212. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.12.016>
- BORGES, Warley de Souza. **Estudo de fungos endofíticos associados a plantas da família Asteraceae como fontes de metabólitos secundários e em processos de biotransformações**. 2008. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60138/tde-27082008-092456/publico/Tese.pdf>. Acesso em: 21 jun. 2026.
- BREIJYEH, Zeinab; JUBEH, Buthaina; KARAMAN, Rafik. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. **Molecules**, [S. l.], v. 25, n. 6, art. 1340, mar. 2020. DOI: 10.3390/molecules25061340. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25061340>. Acesso em: 18 jun. 2026.
- CARD, S. D., Hume, D. E., Roodi, D., McGill, C. R., Millner, J. P., & Johnson, R. D. (2015). Beneficial endophytic microorganisms of Brassica – A review. **Biological Control**, 90, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.06.001>
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. About Antimicrobial Resistance. **Antimicrobial Resistance**, 2024. Disponível em: <https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/about/index.html>. Acesso em: 3 abr. 2026.
- CHEN, L., Zhang, Q.-Y., Jia, M., Ming, Q.-L., Yue, W., Rahman, K., Qin, L.-P., & Han, T. (2014). Endophytic fungi with antitumor activities: Their occurrence and anticancer compounds. **Critical Reviews in Microbiology**, 1–20. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.959892>
- CHEN, Y.-F., Zheng, J.-J., Qu, C., Xiao, Y., Li, F.-F., Jin, Q.-X., Li, H.-H., Meng, F.-P., Jin, G.-H., & Jin, D. (2019). Inonotus obliquus polysaccharide ameliorates dextran sulphate sodium induced colitis involving modulation of Th1/Th2 and Th17/Treg balance. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, 47(1), 757–766. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1577877>
- DE CAPRILES, C; MATA, S; MIDDELVEEN, M. Preservation of fungi in water (Castellani): 20 years. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 106, n. 2, p. 73-79, 1989. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00437084>. Acesso em: 06 abr. 2026.

DESHMUKH, S. K., Agrawal, S., Prakash, V., Gupta, M. K., & Reddy, M. S. (2020). Anti-infectives from mangrove endophytic fungi. **South African Journal of Botany**, 134, 237–263. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.01.006>

DUTTA, D; PUZARI, K. C; GOGOI, R; DUTTA, P. Endophytes: exploitation as a tool in plant protection. *Braz. arch. biol. Technol*, v. 57, n. 5, p. 621-629, 2014.

EPAND, Richard M.; WALKER, Chelsea; EPAND, Raquel F.; MAGARVEY, Nathan A. Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, Amsterdam, v. 1858, n. 5, p. 980-987, maio 2016.

FALCI, Diego Rodrigues. **Toxicidade de anfotericina B em diferentes formulações**. 2015. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, 2015.

GARDE, Shambhavi; CHODISETTI, Pavan Kumar; REDDY, Manjula. Peptidoglycan: structure, synthesis, and regulation. **EcoSal Plus**, [S. l.], v. 9, n. 2, art. eESP-0010-2020, jan. 2021. DOI: 10.1128/ecosalplus.ESP-0010-2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0010-2020>. Acesso em: 18 jun. 2026.

HARDOIM, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 79(3), 293–320. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14> Acesso em: 14 jun. 2026

HUSZCZYNSKI, Steven M.; LAM, Joseph S.; KHURSIGARA, Cezar M. The role of *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide in pathogenesis and physiology. **Pathogens**, Basel, v. 9, n. 1, art. 6, dez. 2019. DOI: 10.3390/pathogens9010006. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens9010006>. Acesso em: 18 jun. 2026

JAMSHIDI-KIA, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of Herbmmed Pharmacology**, 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.15171/jhp.2018.01>

JUBEH, Buthaina; BREIJYEH, Zeinab; KARAMAN, Rafik. Resistance of Gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 12, art. 2888, 2020. DOI: 10.3390/molecules25122888. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25122888>. Acesso em: 18 jun. 2026.

KIM, Ji-Hee; PARK, Bog-Im; YOU, Yong-Ouk. Treatment with *Commelina communis* Extract Exerts Anti-inflammatory Effects in Murine Macrophages via Modulation of the Nuclear Factor- κ B Pathway. *Journal of Immunology Research*, **London**, v. 2022, p. 2028514, 2022. DOI: 10.1155/2022/2028514.

KUMARI, P., Singh, A., Singh, D. K., Sharma, V. K., Kumar, J., Gupta, V. K., Bhattacharya, S., & Kharwar, R. N. (2021). Isolation and purification of bioactive metabolites from an endophytic fungus *Penicillium citrinum* of *Azadirachta indica*.