

BIOPROSPECÇÃO DE ACTINOBACTÉRIAS ISOLADAS DO SOLO DO CERRADO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Professora orientadora: Anabele Azevedo Lima
Barbastefano

Aluna: Rebeca Cavalcante Lacerda de Andrade

PROGRAMA DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
PIC/CEUB

RELATÓRIOS DE PESQUISA
VOLUME 9 Nº 1- JAN/DEZ
•2023•

ISSN: 2595-4563





**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

REBECA CAVALCANTE LACERDA DE ANDRADE

**BIOPROSPECÇÃO DE ACTINOBACTÉRIAS ISOLADAS DO SOLO DO
CERRADO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa.

Orientação: Anabele Azevedo Lima
Barbastefano

BRASÍLIA

2024



AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu esposo que amo, por seu apoio incondicional à realização das ações de minhas escolhas.

Agradeço à minha orientadora, minha professora querida, Dra. Anabele Azevedo Lima Barbastefano, pela imensa paciência e orientação no trilhar dos caminhos do andamento deste trabalho.

Agradeço ao CEUB pela oportunidade dada a mim à realização de um projeto de iniciação científica e por todas as experiências enriquecedoras que pude vivenciar e usufruir nesse momento da minha vida acadêmica.

Sou grata à Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP- DF) pelo apoio da concessão de uma bolsa durante todo o andamento do projeto de pesquisa e parabênizo a iniciativa da Fundação de incentivar o desenvolvimento de ciência pelos acadêmicos graduandos.

RESUMO

O uso inadequado dos antibióticos vigentes fez com que houvesse uma pressão seletiva que impulsiona o aumento na incidência de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos. Algumas dessas bactérias formam um grupo denominado ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *enterobacter spp.*) Além dessas bactérias multirresistentes, há outros microrganismos patogênicos, que podem se comportar como oportunistas, causando infecções, a exemplo do fungo *Candida albicans* e da bactéria *Escherichia coli*. Atualmente, infecções causadas por bactérias multirresistentes matam cerca de 700.000 pessoas em todo o mundo. Nesse cenário, as Actinobactérias derivadas de diversos solos, já se mostraram eficientes em produzir metabólitos antimicrobianos competentes. Diante do exposto, já em 2014, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu um relatório sobre vigilância da resistência antimicrobiana e declarou como alarmante a situação de resistência antimicrobiana em vários locais do mundo. Ainda, a OMS declarou um Plano de Ação Global para a resistência antimicrobiana, o qual tem como meta até 2050 diminuir o mínimo possível do uso de antibióticos usuais em detrimento de outros tratamentos antimicrobianos vigentes. Por consequência, há uma célere corrida por novas fontes de metabólitos bioativos, com o objetivo de se obter novos tratamentos antimicrobianos, principalmente, aos agentes bacterianos resistentes. Nesse cenário, as Actinobactérias derivadas de diversos solos, já se mostraram eficientes em produzir metabólitos antimicrobianos competentes. Portanto, levando em conta que o solo do Cerrado é rico em biodiversidade de microrganismos, o presente estudo teve como trabalho isolar Actinobactérias do solo deste bioma e avaliar a atividade antimicrobiana. Assim, 20 % dos testados de Actinobactérias neste estudo tiveram atividade antimicrobiana contra a bactéria *Escherichia coli*.

Palavras-chave: bactérias multirresistentes; antimicrobianos; actinobactérias.

1. INTRODUÇÃO	9
OBJETIVOS	9
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
3. MÉTODO	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS (OU CONCLUSÕES)	12
REFERÊNCIAS	13
APÊNDICES	14
ANEXOS	15

1. INTRODUÇÃO

O sintagma bioprospecção é definido como coleta, juntamente, com a avaliação de material biológico selvagem, ou seja, encontrado na natureza de uma forma ainda não tratada. Para a bioprospecção, essa avaliação do material biológico encontrado deve ter um propósito de pesquisa, para se encontrar um produto de importante interesse e utilidade para a humanidade. (ARTUSO, [s.d.]).

Num contexto mais moderno, a bioprospecção envolve ferramentas tecnológicas, para que sejam desenvolvidos novos fármacos, cosméticos, aromatizantes, novas fragrâncias, enzimas de interesse industriais e outros produtos encontrados na biodiversidade da natureza (Artuso, [s.d.]).

Em continuidade, será explanado, resumidamente, sobre o filo das Actinobactérias, um filo muito importante de bactérias, o qual é uma fonte comum para a produção de antibióticos já conhecidos pela comunidade científica e possuem um papel fundamental para tratamento de infecções bacterianas. (Suela Silva et al., 2013). Nessa senda, as Actinobactérias possuem uma alta capacidade de adaptação ecológica a vários ambientes, ao longo do processo evolutivo elas tiveram muitas diversificações morfológicas e genéticas e por isso são importantes integrantes dos sistemas vitais. (Pongen et al., 2023) Na natureza, é possível encontrar as Actinobactérias em interações simbióticas e endossimbióticas (Pongen et al., 2023) com plantas (Golinska et al., 2015), animais (Mahmoud; Kalendar, 2016), insetos (Do Nascimento et al., 2022) e outros microrganismos (Barka, Essaid Ait et al, 2015).

Sobre a morfologia das Actinobactérias, ela se apresenta nos organismos desse filo de maneira diversa. As Actinobactérias são formadoras de esporos e eles têm forma filamentosa. Ainda, algumas espécies de Actinobactérias possuem estrutura filamentosa, porém ramificada e em certas espécies possuem o desenvolvimento de micélios. (Kaari et al., 2023). Essa morfologia miceliar das Actinobactérias, tem a peculiaridade característica de possuir duas regiões em seus micélios. Essas regiões são denominadas de: micélio aéreo e micélio substrato (Pongen et al., 2023; Kaari et al., 2023).

Os micélios aéreos realizam um crescimento projetado externamente da estrutura corporal da bactéria e eles são utilizados como meio reprodutivo. A reprodução das Actinobactérias acontece por meio desses micélios e são usados os mecanismos reprodutivos de fissão binária, conídios e esporulação (Kaari et al., 2023). Os micélios substratos são usados pelas Actinobactérias para realizar a fixação do corpo bacteriano em algum substrato. Ainda, esses micélios substratos são usados como ferramenta de nutrição para essas bactérias (Pongen et al., 2023).

Também, as Actinobactérias possuem em seu genoma uma alta concentração de Guanina e Citosina (Fatahi-Bafghi, 2019). A maioria das Actinobactérias são aeróbicas, porém, muitas podem ser anaeróbicas também (PONGEN et al., 2023; Kaari et al., 2023). Dessa maneira, essa produção de micélio pelas Actinobactérias, produção muito característico dos fungos, fez com elas já fossem classificadas como fungos e morfológicamente ligadas a firmicutes. (Pongen et al., 2023) Porém, estudos moleculares do genoma das Actinobactérias, foi identificado um gene comum a todos os organismos desse filo, o gene 16S rRNA. (Gohel; Singh, 2018)

Nessa perspectiva, o filo Actinobactéria compreende 50 famílias (Gohel; Singh, 2018), porém de acordo com (Kaari et al., 2023) as actinobactérias possuem 67 famílias, 391 gêneros, mas de acordo com (Gohel; Singh, 2018) há 219 gêneros. Quanto às espécies, segundo (Kaari et al., 2023) há 3900 espécies. Em complementação, 6 classes do filo Actinobactérias que são: Acidimicrobila, Coriobacterilia, Rubrobactéria, Termoleophilia, Actinobactéria (o nome do Filo é homônimo do nome de uma das classes) e Nitiruptoria. Dessas classes apresentadas, a classe Actinobactéria compõe 90% do total das classes apresentadas. (Kaari et al., 2023)

Assim, sob a classe Actinobactéria, está a classificação do gênero *Streptomyces*, o gênero mais abundante sob a classe apresentada, este gênero contém 961 espécies (KAARI et al., 2023). Em vista disso, as *Streptomyces* compõem um gênero da classe de Actinobactéria, o qual contém bactérias de importância para ciclagem biogeoquímica e aplicações industriais. Os micélios das Actinobactérias são organizados com o objetivo de que essa organização resulte em uma colônia de bactérias. Os micélios substratos realizam a absorção de nutrientes e esses microrganismos possuem enzimas que realizam a quebra dos nutrientes absorvidos por meio de hidrólise (Kaari et al., 2023).

Nessa perspectiva, *Streptomyces* é um dos mais conhecidos produtores de metabólitos secundários bioativos, dentre todos os recursos microbianos conhecidos até então pela comunidade científica e responsável pela produção de cerca de dois terços dos antibióticos naturais e atualmente usuais no cotidiano humano (Kaari et al., 2023). Doravante, será seguido o raciocínio da explanação dos sintagmas que compõem o tema deste presente estudo. Dessa forma, o escopo da bioprospecção das Actinobactérias será exercido no solo do Bioma Cerrado, situado, majoritariamente, na região mais central do Brasil. Por consequência, é importante discorrer acerca de características desse bioma, as quais são as mais relevantes para o estudo em questão.

O bioma Cerrado possui duas estações definidas e diferentes entre si. Uma das estações é seca, que permeia entre os meses de Maio até Setembro. A outra estação é a estação chuvosa, a qual permeia entre os meses de Novembro a Abril (Suela Silva et al., 2013).

Em continuidade, os solos do Cerrado cobrem uma área de até 25% de todo o Brasil, esses solos são ácidos com $\text{pH} \sim 5$, possuem grandes quantidades de íons Alumínio e Ferro e por causa dessas condições é um solo com pouca quantidade de nutrientes (Suela Silva et al., 2013). Porém, os solos, de maneira geral, são um meio importante de diversidade microbiana e ela é um dos fatores de manutenção da saúde desses solos (Gohel; Singh, 2018). O solo do Cerrado brasileiro possui um grande potencial de biodiversidade (Suela Silva et al., 2013). Vários gêneros de Actinobactérias são frequentemente encontrados em solos, *Streptomyces* é considerado o gênero mais abundante de solos florestais e chegam até 50% das alíquotas isoladas (Hamdi et al., 2023).

Nos solos, as actinobactérias participam na ciclagem de compostos orgânicos e têm associações à produção de matéria orgânica do solo. Nessa matéria também está incluso a produção de pigmentos escuros de melanina, uma proteína, que no caso de solos, está associada ao ácido húmico presente no solo (Suela Silva et al., 2013).

Em prosseguimento, os antimicrobianos são substâncias que devem provocar: morte ou inibição do crescimento de microrganismos. O ponto chave de um antimicrobiano é de que ele deve ter toxicidade seletiva, ou seja, não deve prejudicar

de modo significativo o hospedeiro desse microrganismo, somente o patógeno (Jawetz E, Melnick e Adelberg E., 2005).

Ainda, os antimicrobianos podem ser produzidos pelos próprios microrganismos, como bactérias e fungos. Para que um antimicrobiano seja considerado antibiótico, ele deve combater, exclusivamente, bactérias. Pode ser produzido de forma sintética ou produzido por microrganismos, já que ele se enquadra no conceito de antimicrobianos (Katzung BG, 2005).

Paralelamente, quando se fala de antimicrobianos é de extrema importância ressaltar um problema de saúde pública que a sociedade está vivendo (Sangkanu et al., 2017). Essa problemática é sobre o surgimento de microrganismos resistentes aos antibióticos, ou seja, não são afetados quando entram em contato com antimicrobianos usuais (Cumsille et al., 2017; Tacconelli et al., 2018). Em 1945, Alexander Fleming ganhou um Prêmio Nobel porque ele e seus colaboradores isolaram de um fungo, do qual foi isolado um antibiótico marcante para a história da humanidade, que foi a Penicilina. Assim, desde 1945 Fleming já alertava à comunidade científica acerca do surgimento de agentes microbianos patogênicos resistentes aos antibióticos (Djinni et al., 2019).

Diante disso, Fleming tinha razão em sua proposição sobre a resistência microbiana porque infecções provocadas por bactérias resistentes aos antibióticos vigentes tornaram-se uma problemática de saúde global no século XXI (Djinni et al., 2019; Sangkanu et al., 2017). Assim, já em 2014, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu um relatório sobre vigilância da resistência antimicrobiana e declarou como alarmante a situação de resistência antimicrobiana em vários locais do mundo. (Cumsille et al., 2017) Ainda, a OMS declarou um Plano de Ação Global para a resistência antimicrobiana, o qual tem como meta até 2050 diminuir o mínimo possível do uso de antibióticos usuais em detrimento de outros tratamentos antimicrobianos vigentes (Tacconelli et al., 2018).

Nesse cenário, as Actinobactérias já se mostraram eficientes para interagirem como antimicrobianos. Elas têm potencial para fornecerem futuros medicamentos

cruciais contra as bactérias resistentes a medicamentos (Hassan; Shaikh, 2017; Zhao et al.; 2018; Katsuyama, 2019).

Diante disso, há uma célere necessidade e preocupação crescente em todo mundo por conta da resistência bacteriana aos antibióticos vigentes. Por consequência, há a possibilidade do surgimento de infecções não tratáveis por antibioticoterapia e por isso serem causas de altas taxas de mortalidade humana (Cumsille et al., 2017; Assad et al., 2021). Atualmente, infecções causadas por bactérias multirresistentes matam cerca de 700.000 pessoas em todo o mundo (Assad et al., 2021). Então, há uma célere corrida científica para o desenvolvimento de novos tratamentos antimicrobianos provenientes de diversas fontes (Sangkanu et al., 2017; Elbendary et al., 2018).

Portanto, as Actinobactérias são um filo muito promissor em fornecer moléculas biomedicinais, as quais podem ser transformadas em futuros medicamentos contra doenças causadas por microrganismos resistentes (Hassan; shaikh, 2017).

OBJETIVOS

Nesse contexto, diante da urgência no desenvolvimento de novos antimicrobianos, o presente trabalho tem como objetivos bioprospectar, selecionar e isolar amostras de solos no escopo do bioma Cerrado, as quais contenham a presença de actinobactérias e isolá-las por meio de plaqueamento em meios nutritivos específicos. Também, caracterizar morfológicamente as actinobactérias, por meio de análise das lâminas preparadas em coloração Gram, as classes de actinobactérias selecionadas, por intermédio de microscopia de luz. Por fim, identificar nas actinobactérias, já caracterizadas, alguma atividade antimicrobiana competente contra os microrganismos patogênicos testados.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os solos são ambientes que abrigam uma diversidade de microrganismos e, de uma maneira geral, esses microrganismos são de extrema importância para a manutenção da saúde desses solos (Gohel; Singh, 2018). As actinobactérias são extremamente distribuídas em ambientes de solo e elas desempenham um papel crucial na decomposição de polímeros complexos em plantas mortas, por isso, são consideradas saprófitas (Hamdi et al., 2023).

As Actinobactérias, no caso, as do gênero *Streptomyces*, constituem quase todos os microbiomas biomas actinobactérias do solo, representando cerca de 95% deles. As actinobactérias possuem funções importantes em um solo, pois melhoram o crescimento de plantas, auxiliam na fixação de nitrogênio e também na solubilização de macro e micro nutrientes (Kaari et al., 2023).

Nesse contexto, os ambientes de solo são os ambientes inatos das Actinobactérias (Assad et al., 2021; GOLINSKA et al., 2015). Assim, é possível encontrar Actinobactérias em diversos tipos de solo, numa distribuição de variados habitats e com características bióticas e abióticas completamente diferentes umas das outras. Dessa forma, é possível encontrar Actinobactérias em diversos contextos de solos pelos ambientes terrestres. Assim, já houve coleta de Actinobactérias em solos vulcânicos, as quais são denominadas Actinobactérias extremófilas, pelo fato de viverem em ambientes termofílicos de altas temperaturas. Essas extremófilas foram extraídas de solos geotérmicos, encontradas em solos de fontes termais terrestres e gêiseres alemães. Dessas bactérias termofílicas a maioria sendo *Streptomyces* (Ningsih et al., 2020).

As Actinobactérias também já foram extraídas de solo chileno, dessa vez marinho, também foram extraídas diversas cepas de *Streptomyces* (Cumsille et al., 2017). Também, já foram encontradas em solos rizosféricos florestais tunisianos (Patrícia Golinska), já foram encontradas em solo de gramínea coreanos (Jin et al., 2013). As *Streptomyces* foi o gênero mais dominante encontrado e representa mais de 50% da população de Actinobactérias desse solo (Hamdi et al., 2023) e, finalmente, foram encontradas em solo do bioma do Cerrado brasileiro (Suela Silva et al., 2013).

Diante do exposto, é possível pontuar a maior distribuição de Actinobactérias, no caso, as do gênero streptomyces. As bactérias pertencentes ao gênero streptomyces constituem quase todos os microbiomas biomas de Actinobactérias do solo, representando cerca de 95% deles. As actinobactérias possuem funções importantes em um solo, pois melhoram o crescimento de plantas, auxiliam na fixação de nitrogênio e também na solubilização de macro e micro nutrientes (Kaari et al., 2023).

As actinobactérias são fontes abundantes de substâncias antimicrobianas e por meio de sua bioprospecção já foi possível a produção de muitos antibióticos de uso vigente. Dessa forma, as Streptomyces são os principais organismos produtores de antibióticos já explorados pela indústria farmacêutica por conta de seus componentes metabólitos (Ventura et al., 2007). Diante dessa afirmação no estudo de (Ventura et al., 2007), sendo as streptomyces com maior potencial metabólito de produzir antimicrobianos. Assim, é possível levantar uma outra hipótese de que, por causa desse maior potencial antimicrobiano das streptomyces, o resultado de atividade antimicrobiana encontrada nesse estudo, contra a bactéria e.coli, tenha sido efetuado por uma actinobactéria identificada como streptomyces. Em continuidade, para tornar essa segunda hipótese mais baseada em evidências, será explanado a seguir, uma resumida listagem de antibióticos cruciais, os quais foram extraídos de streptomyces no decorrer da história da Microbiologia.

Nessa direção, a listagem proposta a seguir tem como objetivo de apresentar a grande gama de possibilidades de antimicrobianos já produzidos por Actinobactéria do gênero streptomyces, gênero esse detentor de maior poder antimicrobiano entre os gêneros bacterianos, apresentando mais evidências para a última hipótese citada pela autora. Nesse cenário, existem muitas famílias de antibióticos, porém, para o foco de interesse deste trabalho serão apresentadas somente as famílias que apresentam representantes derivados de Actinobactérias, especialmente, os derivados do gênero streptomyces. As famílias apresentadas serão as dos Glicopeptídeos, Aminoglicosídeo, Cloranfenicol, a grande família MLSKO (Macrólido-Lincosamida-Estreptogramina B Cetolídeos Oxazolidinonas) e família Tetraciclina (Fatahi-Bafghi, 2019).

Em continuidade, da família dos Glicopeptídeos a Vancomicina é o primeiro agente antibiótico isolado de uma Actinobactéria que foi a amycolatopsis

(anteriormente identificada como streptomyces) em 1950. Um outro antibiótico dessa família é o Teicoplanina (isolado primeiramente de uma actinoplanee teicometicue). Esses antibióticos inibem a síntese peptidoglicana da parede celular bacteriana (Fatahi-Bafghi, 2019).

Na família dos Aminoglicosídeos, foram isolados de espécies de streptomyces e micronospora. A estreptomina é o primeiro antibiótico desta família descoberto de *Streptomyces griseus*, pelo pesquisador Selman Waksman e é muito eficaz contra *m.tuberculose*. Há outros agentes antimicrobianos desta família tais como a gentamicina, isolado em 1960, da Actinobactéria *micromonospora echinospora* (anteriormente identificada como *micronospora purpúrea*); o antibiótico neomicina isolado de *streptomyces fradiae* no ano de 1949 e por último o canamicina, isolado da *streptomyces kanamyceticus* no ano de 1957. Os antibióticos da família dos Aminoglicosídeos inibem as subunidades 30S e 50S dos ribossomos bacterianos, por consequência, inibem a síntese proteica bacteriana (Fatahi-Bafghi, 2019).

Em prosseguimento, o primeiro antibiótico isolado da família dos Cloranfenicol, foi o Cloranfenicol (homônimo da família). Ele foi isolado pela primeira vez de uma *streptomyces*, na Venezuela, no ano de 1950. Este fármaco é um bacteriostático contra uma gama de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Fatahi-Bafghi, 2019). Para a família MLSKO, os antibióticos Eritromicina (espectro estreito), Azitromicina e a Claritromicina (ambos de espectro estendidos) são macrólidos muito usados no tratamento de infecções. A Eritromicina foi o primeiro macrólido isolado de uma Actinobactéria identificada como *streptomyces erythreus*. Os antibióticos Lincomicina e Espstreptograminas foram extraídos pela primeira vez de *streptomyces lincolnensis* e *streptomyces halstedii* (anteriormente identificada *streptomyces graminofaciens*). Essa família tem como característica principal a inibição da proteína sintetase bacteriana, a qual se liga à unidade ribossômica 50S da bacteriana e impede sua síntese proteica (Fatahi-Bafghi, 2019).

Por último, a família Tetraciclina engloba os antibióticos Clortetraciclina (nome comercial é Aureomicina extraído da Actinobactéria *Streptomyces aureofaciens* o antibiótico Oxitetraciclina (nome comercial é Terramicina) extraído de *streptomyces rimosus*, ambos antimicrobianos foram extraídos no ano de 1948. Em

complementação, os dois antibióticos possuem a propriedade de se ligarem à subunidade 30S do ribossomo bacteriano e impede que haja a continuidade da síntese proteica da bactéria. Ainda, esses antibióticos têm atividade bacteriostática contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Fatahi-Bafghi, 2019).

Ainda, de acordo de acordo com o trabalho de (Suela Silva et al., 2013), o qual realizou um estudo bem sucedido de bioprospecção de actinobactérias em solo do Cerrado. Também, de acordo com (Mohammadipanah; Wink, 2016), seu estudo revelou afinidade de tipos de as actinobactérias tolerantes a ambientes ácidos. Dessa forma, é possível inferir que o bioma Cerrado, por ter um PH de solo ácido, seja um solo promissor para bioprospectar actinobactérias.

Portanto, diante da fundamentação teórica apresentada é possível inferir que processos de bioprospecção de actinobactérias em diferentes tipos de solos e também em solo do Cerrado podem ser fontes importantes de actinobactérias com potenciais antimicrobianos promissores.

3. MÉTODO

A coleta de solo foi realizada em Brasília, Distrito Federal, no Parque da Cidade Dona Sarah Kubitschek, com as seguintes coordenadas geográficas 15° 48' 1.236" S 47° 54'28.081" O. A coleta das amostras foi realizada nas proximidades das raízes das árvores, as regiões de coletas tiveram diâmetro de 5cm e as profundidades dessas regiões variaram de 5 a 10 cm. Essa preferência para as áreas de coleta não foi aleatória, porque já foi demonstrado que a rizosfera vegetal serve como reservatório antimicrobiano, porque o exsudado da raiz é uma fonte de alimento bem acessível, a qual facilita o desenvolvimento de muitos microrganismos. Por consequência, há um aumento de diversidade de microrganismos muito maior num solo rizosférico do que num solo não rizosférico. As amostras de solo coletadas foram armazenadas em recipientes denominados de Tubo Falcon de 15 ml de volume, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente e transportados até o laboratório para serem submetidos às futuras análises.

As amostras foram submetidas ao processo de diluição nas seguintes proporções: 1:10, 1:100 e 1:1000. O primeiro número de cada proporção é referente à parte de massa, em gramas, da amostra de solo. Por sua vez, o segundo número de cada proporção é referente ao volume, em microlitros, de água destilada. As diluições foram realizadas em tubos de ensaio de 15 ml de volume. Após a realização das diluições, os conteúdos foram reservados para uma próxima etapa da metodologia. Em sequência, houve plaqueamento para cultivo dos microrganismos presentes nas alíquotas das diluições de solo. Esse cultivo foi realizado em meios ISP2 e ISP3, as placas com esses meios foram incubadas por sete dias e em temperatura de 30° graus Célsius.

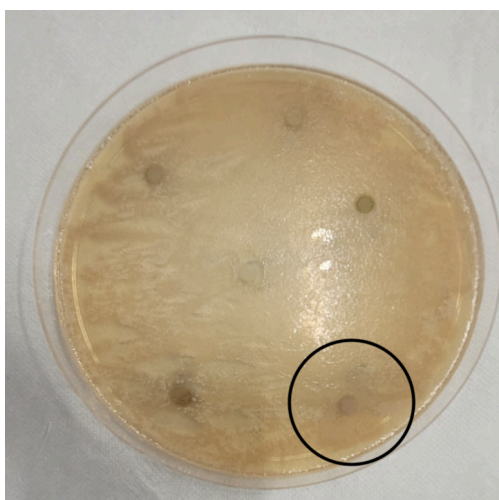
Nesse contexto, após o crescimento das colônias cultivadas em meios ISP2 e ISP3, as colônias morfológicamente semelhantes à actinobactéria foram transferidas e isoladas e plaqueadas em meio composto por ágar Mueller Hinton / MH até obtenção de um crescimento significativo de colônias actinobacterianas. Posteriormente, foram preparadas lâminas com coloração Gram, com o objetivo de realizar uma análise morfológica dos microrganismos, por meio de microscopia de luz. Para título de confirmação, a identificação das actinobactérias foi realizada, por meio de comparações das imagens da microscopia de luz com as imagens morfológicas das actinobactérias listadas em literatura.

A atividade antimicrobiana foi testada em placas de ágar Mueller Hinton e foi utilizado método de difusão segundo Kirby-Bauern. Com base neste método de difusão, discos de papel filtro foram impregnados à placa, já divididas em quadrantes. Dessa forma, em cada disco, de cada quadrante, foi adicionada uma alíquota de alguma cepa humano-patogênicas que seria testada, em seguida, adicionada uma alíquota de Actinobactéria já isolada (isso, também, em cada disco onde já havia sido adicionada a cepa de bactérias patogênica). Ainda, para um disco controle (para comparação de diâmetro de halo) foi inserido um antibiótico conhecido e nesse mesmo disco inserido a cepa bacteriana de análise. Logo, após a aplicação dessa metodologia, as placas foram deixadas em estufa a temperatura de 30°C, por 120 horas, para futura análise de potencial antimicrobiano realizado pelas actinobactérias coletadas em solo do cerrado brasileiro.

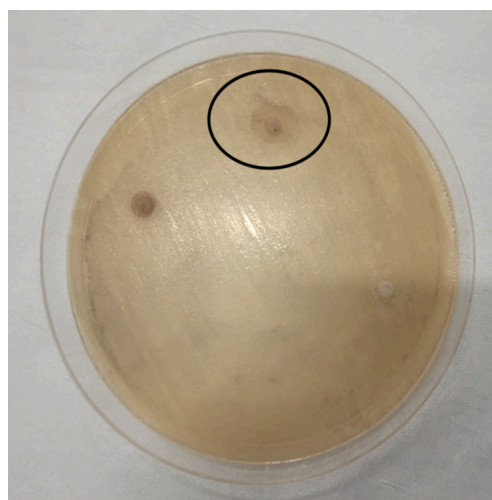
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em continuidade, a título de confirmação, a identificação das actinobactérias foi realizada, por meio de comparações das imagens da microscopia de luz com as imagens morfológicas das actinobactérias listadas em literatura. Assim, por meio de análise morfológica 60% das actinobactérias usadas na análise de antimicrobiana deste estudo foram identificadas pelo gênero *Streptomyces*, quanto ao restante das placas, não foi possível identificar com exatidão qual era o gênero actinobacteriano. Porém, foram identificadas como actinobactérias, por meio de presença de características marcantes de actinobactérias. Essas características estão de acordo com os aspectos morfológicos gerais de actinobactérias citados no estudo de (VENTURA et al., 2007).

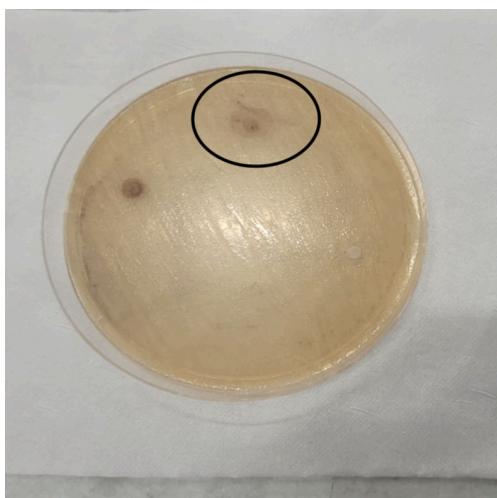
Ao todo foram 20 placas semeadas com as Actinobactérias e a alíquota bacteriana inserida nos discos foi da Bactéria *Escherichia coli*, uma bactéria Gram-negativa. Nesse contexto, das 20 placas semeadas com a bactéria *E. coli*, somente 4 placas (Placa A; Placa B; Placa C; Placa D) apresentaram atividade antimicrobiana contra a *E. coli*, ou seja, 20 % das placas apresentaram halos de inibição antimicrobiana contra a bactéria *E. coli*. Os halos de atividade antimicrobiana variaram de 1cm até 3 cm de diâmetro e dessa atividade antimicrobiana, mais de 50% foi exercida por *Streptomyces*. A seguir estão as imagens das placas com actinobactérias que apresentaram os halos de inibição.



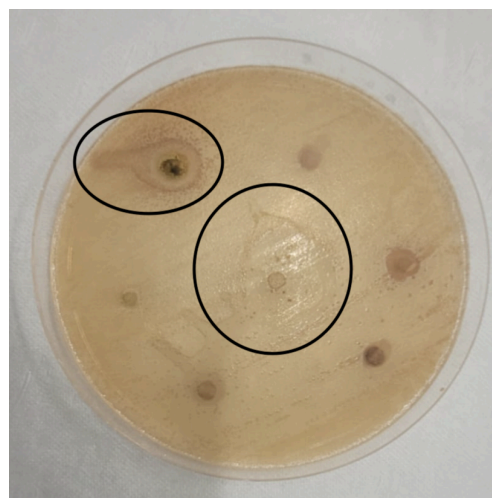
Placa A



Placa B



Placa C



Placa D

Em continuidade, a autora (Suela Silva et al., 2013) pontuou em seu estudo, acerca da escassez de estudos bioprospectivos em solo do Cerrado brasileiro. Porém, o trabalho de (Suela Silva et al., 2013), foi bem sucedido para a bioprospecção de actinobactérias em solo do Cerrado. Em conformidade com os achados de actinobactérias em solo do Cerrado, do trabalho de (Suela Silva et al., 2013), o presente estudo obteve achados de actinobactérias por meio de bioprospecção, porém diferente do estudo de (Suela Silva et al., 2013), este estudo concebeu, além da bioprospecção, configurou a presença de atividade antimicrobiana contra a bactéria *E. coli*. Nesse contexto, as actinobactérias são recursos biológicos muito importantes para receberem foco de bioprospecção, no que diz respeito a descoberta de antimicrobianos, elas são as espécies de bactérias saprófitas de solo, as quais possuem maior importância em termos de capacidade de produção de metabólitos com potenciais antimicrobianos. (Sangkanu et al., 2017; Solans et al., 2016)

Nessa senda, as actinobactérias membros do gênero *Streptomyces* são as mais abundantes em distribuição espacial e também em diversidade para a produção de possibilidades para produção de metabólitos de uso médico (Sangkanu et al., 2017). Assim, levando em consideração essa informação do estudo de (Sangkanu et al., 2017) e de (Solans et al., 2016) é possível levantar uma primeira hipótese, para o presente estudo, de que por causa dessa abundante distribuição espacial das actinobactérias nos solos, tenham ocorrido maior incidência de *Streptomyces* presentes nas amostras bioprostectadas do solo do Cerrado.

Num outro cenário, é possível observar que estudos de bioprospecção de solo, especificamente, tiveram abordagens metodológicas totalmente diferentes umas das outras, porém, apresentaram a mesma atividade antimicrobiana. Esses estudos não apresentaram um padrão exato dos protocolos de isolamento das actinobactérias do solo e nem em relação à testagem de atividade antimicrobiana. Entretanto, todas essas diferenças de protocolo não foram fatores determinantes ou impeditivos para que os estudos chegassem ao mesmo resultado de atividade antimicrobiana.

Dessa forma, esse cenário de não padronização dos protocolos, quanto às abordagens de bioprospecção de actinobactérias do solo, porém de resultados de atividade antimicrobiana ao mesmo tipo de microrganismo, cabe analogias acerca de três estudos diferentes. Tais estudos, tiveram abordagens metodológicas completamente diferentes, mas chegaram ao resultado antimicrobiano contra o fungo *Candida albicans*.

Em continuidade, as analogias acontecerão no âmbito desta discussão, por meio das diferenças e coincidências nos protocolos abordados nos estudos encontrados na literatura científica, a qual foi utilizada de fundamentação teórica para elaboração do presente trabalho. Para o primeiro exemplo, no estudo de (Kumar et al., 2018) para o isolamento das actinobactérias de solo indiano, foi usado o ágar amido caseína em solução salina e para a análise de atividade antimicrobiana foi usado o ágar Bennet incubado a 28° C de 7 até 10 dias. Nesse estudo, um dos efeitos antimicrobianos obtidos foi contra o fungo *Candida albicans*. Em prosseguimento, de segundo exemplo, será usado o estudo de (Elbendary et al., 2018) nesse estudo, para cultivo e isolamento das actinobactérias de solo egípcio, foi usado o “ágar de

isolamento de actinobactéria” (nome do ágar relatado no estudo), mantido o cultivo a 30°C por 5 a 7 dias e para testagem de atividade antimicrobiana foi usado o ágar Mueller Hinton pelo método de listras perpendiculares. Nesse estudo também foi obtido como um dos resultados a atividade antimicrobiana contra o fungo *Candida albicans*.

Logo, para o terceiro exemplo, será usado o estudo de (Hong et al., 2009), o qual usou 11 meios (totalmente diferentes entre si) para a cultura e para o isolamento bruto de actinobactéria de solo chinês. As placas, preparadas com os 11 meios diferentes, passaram por inoculação de frações, em microlitros, de solo já diluído, foram incubadas em temperatura de 28° C, no intervalo de uma até doze semanas. Porém, para a realização da caracterização morfológica das actinobactérias foi usado o meio em placas de ágar de aveia. As placas usadas para identificação morfológica foram incubadas a 28° C por 3 semanas e 4 dias. Nesse estudo de (Hong et al., 2009) também teve como resultado atividade antimicrobiana contra *Candida albicans*.

Nessa perspectiva de analogia entre os estudos, os quais apresentaram resultados de atividade antimicrobiana contra *Candida albicans*, é possível observar que há uma igualdade na temperatura de isolamento das actinobactérias entre os estudos de (Kumar et al., 2018) e de (Hong et al., 2009). Ambos estudos usaram uma temperatura de 28° C. Ainda que o estudo de (Elbendary et al., 2018) não tenha usado uma temperatura de 28° C, ainda assim, no estudo foi usado uma temperatura bem próxima aos dois primeiros estudos da analogia, que foi a temperatura de 30° C.

Em complementação, o presente estudo de actinobactérias do solo de Cerrado, também usou um protocolo, cujo a temperatura de cultivo e isolamento das actinobactérias foi de 30° C, coincidindo com o protocolo de isolamento do estudo de (Elbendary et al., 2018), porém, os meios para o cultivo bruto, à obtenção de actinobactérias foi usado dois tipos de ágar: ISP2 E ISP3 e para detecção de atividade antimicrobiana foi usado meio Mueller Hinton, mesmo ágar usado em testagem de atividade antimicrobiana no estudo de (Elbendary et al., 2018).

Além do exposto, o estudo de (Suela Silva et al., 2013) também, foi um estudo de bioprospecção de actinobactérias do solo do cerrado e esse estudo apresentou um

protocolo de isolamento bruto de actinobactérias do solo o ágar de Aaronson e meio vitamínico de ácido húmico. As placas foram incubadas por 72 horas, por 120 horas a 28° C, coincidindo a temperatura de cultivo utilizada nos estudos de (Kumar et al., 2018) e de (Hong et al., 2009). Portanto, analisando esses estudos de bioprospecção, não há um meio único e específico de ágar protocolado para os isolamentos brutos de actinobactérias de solo e nem para a testagem de atividade antimicrobiana, apesar de que o ágar mais utilizado para essa finalidade seja o ágar Mueller Hinton. Porém, quanto às temperaturas de isolamento bruto das actinobactérias do solo e às temperaturas usadas para as testagens de atividade antimicrobiana são de 28° C e de 30° C. Dessa forma, essas temperaturas parecem ótimas, no sentido de ideais, para as finalidades de cultivo já especificadas.

O presente estudo apresentou resultados de placas em que actinobactérias, bioprospectadas do solo do cerrado, as quais apresentaram atividade antimicrobiana contra a bactéria *e. coli*. Outros estudos de bioprospecção de actinobactérias de outros solos também tiveram a mesma atividade antimicrobiana. Assim, estudo de (Elbendary et al., 2018), já citado anteriormente, usou para o cultivo e para o isolamento das actinobactérias de solo egípcio, o “ágar de isolamento de actinobactéria” (nome do ágar relatado no estudo), mantido o cultivo por 5 a 7 dias, numa temperatura de a 30°C. Para a testagem de atividade antimicrobiana foi usado o ágar Mueller Hinton pelo método de listras perpendiculares.

Desta forma, o estudo de (Elbendary et al., 2018), apresentou atividade antimicrobiana de actinobactérias, bioprospectadas de solo, contra a bactéria *e. coli*. O presente estudo teve semelhanças com o estudo de (Elbendary et al., 2018) em relação à mesma atividade antimicrobiana contra a bactéria *e. coli*, ao mesmo tempo de cultivo de 120 horas (5 dias) e à mesma temperatura de cultivo de 30°C. O estudo de (Sangkanu et al., 2017) mostrou a semelhança com o presente estudo, porque mostrou atividade antimicrobiana contra a bactéria *e. coli*., porém, não tem semelhança quanto ao meio de inóculo das amostras de solo diluídas, pois no estudo de (Sangkanu et al., 2017), as alíquotas das amostras de solo foram elas inseridas nos meios seletivos: ágar de isolamento bruto de actinobactérias, ágar de extrato de solo modificado, ágar

vitamina de ácido húmico e ágar nitrato de amido. Já o presente estudo inoculou as alíquotas de solo, já diluídas, foram inseridas em meio em meio ISP2. °C.

Em continuidade, para a análise morfológica, as actinobactérias foram inseridas em meio ISP2, incubação a 28°C e por 14 dias. Em semelhança, o presente estudo, também colheu as amostras de actinobactérias para análise morfológica também de um meio ISP2. Assim, o estudo de (Sangkanu et al., 2017) usou para análise de atividade antimicrobiana primária o meio ISP2, com 50 % de água do mar, incubado 28°C e numa faixa de intervalo de 7 a 14 dias. Para análise secundária de atividade antimicrobiana, foi usado o meio ISP2, porém a temperatura de incubação foi de 35°C. Esses últimos dados de meio, temperatura e tempo de incubação para a análise de atividade antimicrobiana do estudo de (Sangkanu et al., 2017), diferem em todos os dados do presente estudo.

O estudo de (Tistechok et al., 2021), assim como este estudo, também apresentou atividade antimicrobiana contra a bactéria e.coli, somente uma das treze cepas de actinobactéria que foram coletadas apresentou atividade contra a e.coli. As cepas de actinobactérias foram cultivadas em meio TSB de 3 a 5 dias a uma temperatura de 28°C. O teste antimicrobiano foi realizado em ágar OM, com solução salina e os discos de antibióticos foram incubados a 28°C e num período de 7 dias, mesmo tempo de testagem de análise antimicrobiana deste presente estudo.

Mais uma vez, levando em conta os dados dos estudos que tiveram resposta antimicrobiana contra a e.coli, um ponto marcante de semelhança entre eles são as temperaturas de 28 °C, para a incubação das placas usadas como meios, à aquisição de material bruto de actinobactéria. Ainda, mais uma vez, a variedade dos tipos de ágar usados nos estudos, não foi um agente limitante à obtenção da mesma atividade antimicrobiana contra a e.coli. É muito importante pontuar que os estudos já mostrados, os quais tiveram bioprospecção de actinobactéria de solos e tiveram atividade antimicrobiana contra o fungo candida albicans e contra a bactéria e.coli, também apresentaram atividade antimicrobiana contra patógenos de importância médica. Nessa perspectiva, o estudo de (Liu et al., 2023) apresentou uma cepa rara de actinobactéria, a qual apresentou um amplo espectro de atividade antimicrobiana. Por

meio dessa descoberta de cepa rara, foi descoberto um novo antibiótico classificado como membro da classe Riamicina.

Nesse contexto, o estudo de (Elbendary et al., 2018), mostrou que a bioprospecção de actinobactérias de solo, além serem eficientes contra *Candida albicans* e *E. coli*, as actinobactérias tiveram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, o *Bacillus cereus* é uma bactéria beta-hemolítica gram-positiva, *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa e contra *Klebsiella pneumoniae*. Além de atividade antifúngica aos fungos *Aspergillus niger*. Os estudos de (Elbendary et al., 2018), como já mostrado, apresentou atividade antimicrobiana contra *E. coli*, mas em semelhança ao estudo de (Liu et al., 2023) também, apresentou atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, em conformidade, um outro estudo o de (Hong et al., 2009) já citado por conta de inibição contra *Candida albicans*, também apresentou atividade inibitória contra a bactéria *S. aureus*. Ainda, os estudos de (Elbendary et al., 2018) apresentaram como resultado a atividade antimicrobiana contra a bactéria *Acinetobacter baumannii*, porém não apresentou atividade inibitória contra *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria gram-negativa.

Diante das informações já apresentadas, acerca de bioprospecção de actinobactérias de solo, bem como seus resultados de atividade antimicrobiana, os microrganismos patogênicos que sofreram inibição por meio de cepas de actinobactérias, são microrganismos que, quando infectam humanos, conseguem provocar uma sintomatologia muito violenta no indivíduo que está acometido de doença causadas por esses patógenos.

Portanto, apresentar estudos que produziram resultados de importantes atividades antimicrobianas é um ganho para a humanidade, por meio da ciência. Logo, esses agentes antimicrobianos podem ser foco para uma elaboração mais sofisticada de fármacos antimicrobianos competentes e capazes de contribuir com o cenário de novas resistências microbianas. Por último, o presente estudo apresentou muitas limitações, porque a identificação das actinobactérias foi feita somente morfolologicamente, ainda que tenha sido usado método de comparação das imagens da microscopia de luz com imagens registradas em estudos literatura científica de

estudos já realizados com actinobactérias. Todavia, há a possibilidade, ainda que mínima, de que possa ter havido equívoco de identificação.

Tendo isso em vista, um meio de identificação mais certo para identificar as actinobactérias bioprospectadas de solo é, por intermédio da extração de DNA da actinobactéria, a identificação e o sequenciamento do gene 16 sRNA. Esse gene está presente em todas as actinobactérias já identificadas. Essa identificação pode ser realizada pelo uso de eletroforese, realizando uma PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e por meio dessa análise, verificar a compatibilidade dos pares de bases. (Assad et al., 2021; Do Nascimento et al., 2022; Hamdi et al., 2023). Porém, o estudo não teve essa fonte de análise para realizar a identificação desse gene 16 sRNA.

Uma outra limitação deste estudo, foi a ausência de um estudo genômico actinobacteriano, pois a realização de uma análise a nível genômico poderia desvendar vários aspectos das actinobactérias, já que os estudos de actinobactérias são escassos. Acerca dessa escassez de estudos sobre estudos de actinobactérias do Cerrado pode ser verificado em (Suela Silva et al., 2013). Sendo assim, o genoma actinobacteriano é rico em agrupamentos de genes biossintéticos (um grupo de dois ou mais genes que juntos codificam metabólitos já conhecidos ou novos para serem aplicados em níveis terapêuticos. O sequenciamento genômico revela genes silenciosos, biossintéticos e promissores. Os quais não são expressos de forma natural (Djinni et al., 2019). Então, estender esses estudos genômicos para as actinobactérias do Cerrado brasileiro, poderia ser muito promissor.

Em vista disso, um outro ponto importante presente nas actinobactérias é a grande presença de ligações das bases nitrogenadas de Guanina e Citocina. O efeito da grande concentração dessas estruturas presentes no DNA e RNA das actinobactérias ainda é muito desconhecido na interferência de seus efeitos antimicrobianos (Azman et al., 2019; D Nascimento et al., 2022; Pongen et al., 2023). Ainda, outra limitação deste estudo é um acerca de um estudo da bioquímica estrutural das actinobactérias, porque as actinobactérias produzem substâncias com numerosos esqueletos de carbono e a presença dessa rede de carbonos faz com que essas bactérias sejam capazes de interferir em casos de patogênese humana e interferir na ação de

microrganismos e combatê-los em diversos locais do corpo humano (Hassan; Shaikh, 2017).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em 1945, quando Fleming ganhou um prêmio Nobel pela descoberta do antibiótico Penicilina, o antibiótico mais revolucionário da história da microbiologia, Fleming já alertara sobre o risco de resistências bacterianas, as quais poderiam ser perigosas. Atualmente, a sociedade vive sob a problemática que Fleming alertou, pois está vivendo um dos grandes problemas do século XXI, que é a problemática do surgimento de agentes patogênicos multirresistentes. Ainda, infecções são uma das causas de maior mortalidade no mundo.

Nesse cenário de resistência bacteriana, é iminente que haja investimentos para a descoberta de novas fontes naturais, as quais sejam fontes de compostos competentes para agirem como agentes antimicrobianos. Por último, apesar de todas as limitações deste presente estudo, foi possível encontrar atividade antimicrobiana contra uma bactéria patogênica aos humanos, que é a *E. coli*. Portanto, para perspectivas de estudos futuros, cabe um investimento maior e mais elaborado para bioprospectar actinobactérias do solo do Cerrado e avaliar com mais afinco seus potenciais antimicrobianos, principalmente, aprofundar os estudos bioquímicos, por meio de técnicas de cromatografia, do exato componente que foi responsável pelo efeito antimicrobiano na cepa da bactéria *E. coli* e também ampliar o espectro de estudo do filo das actinobactérias do bioma Cerrado.

REFERÊNCIAS

Cerrado. ARTUSO, A. **Bioprospecting, Benefit Sharing, and Biotechnological Capacity Building**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/worlddev>.

ASSAD, B. M. et al. Endophytic actinobacteria of *Hymenachne amplexicaulis* from the Brazilian Pantanal wetland produce compounds with antibacterial and antitumor activities. **Microbiological Research**, v. 248, 1 jul. 2021.

AZMAN, A. S. et al. **Actinobacteria—a promising natural source of anti-biofilm agents**. **International Microbiology** Springer, 1 dez. 2019.

BARKA, ESSAID AIT et al. **Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria**. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR* vol. 80,1 1-43. 25 Nov. 2015, doi:10.1128/MMBR.00019-15

CUMSILLE, A. et al. Biodiversity of actinobacteria from the South Pacific and the assessment of *Streptomyces* chemical diversity with metabolic profiling. **Marine Drugs**, v. 15, n. 9, 1 set. 2017.

DJINNI, I. et al. **Actinobacteria derived from algerian ecosystems as a prominent source of antimicrobial molecules**. **Antibiotics** MDPI AG, 2019.

DO NASCIMENTO, M. O. et al. Soil actinobacteria inhibit antagonistic fungi of leafcutter ant colonies. **Journal of Basic Microbiology**, v. 62, n. 1, p. 63–73, 1 jan. 2022.

ELBENDARY, A. A. et al. Isolation of antimicrobial producing Actinobacteria from soil samples. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 44–46, 1 jan. 2018.

FATAHI-BAFGHI, M. **Antibiotic resistance genes in the Actinobacteria phylum**. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases** Springer Verlag, 1 set. 2019.

GOHEL, S. D.; SINGH, S. P. Molecular Phylogeny and Diversity of the Salt-Tolerant Alkaliphilic Actinobacteria Inhabiting Coastal Gujarat, India. **Geomicrobiology Journal**, v. 35, n. 9, p. 775–789, 21 out. 2018.

GOLINSKA, P. et al. **Endophytic actinobacteria of medicinal plants: Diversity and bioactivity**. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology** Kluwer Academic Publishers, 1 ago. 2015.

HAMDI, C. et al. Actinobacteria isolated from Tunisian forest soils show high diversity and biotechnological potential. **Biologia**, v. 78, n. 12, p. 3653–3665, 1 dez. 2023.

HASSAN, S. S. UL; SHAIKH, A. L. **Marine actinobacteria as a drug treasure house**. **Biomedicine and Pharmacotherapy** Elsevier Masson SAS, 1 mar. 2017.

HONG, K. et al. Actinomycetes for marine drug discovery isolated from mangrove soils and plants in China. **Marine Drugs**, v. 7, n. 1, p. 24–44, 2009.

JAWETZ E, MELNICK AND ADELBERG E. **Microbiologia Médica**. 21a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005

JIN, L. et al. *Amnibacterium soli* sp. nov., an actinobacterium isolated from grass soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, n. PART 12, p. 4750–4753, dez. 2013.

KAARI, M. et al. **Actinobacteria as a source of biofertilizer/biocontrol agents for bio-organic agriculture**. **Journal of Applied Microbiology** Oxford University Press, 1 fev. 2023.

KATSUYAMA, Y. **Mining novel biosynthetic machineries of secondary metabolites from actinobacteria**. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry** Japan Society for Bioscience Biotechnology and Agrochemistry, 2019.

KATZUNG BG. **Farmacologia Básica e Clínica 9a. Ed.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005

KUMAR, J. G. S. P. et al. Bioactivity assessment of indian origin-mangrove actinobacteria against candida albicans. **Marine Drugs**, v. 16, n. 2, 1 fev. 2018.

LIU, L. et al. Bioprospecting for the soil-derived actinobacteria and bioactive secondary metabolites on the Western Qinghai-Tibet Plateau. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 2023.

MAHMOUD, H. M.; KALENDAR, A. A. Coral-associated Actinobacteria: Diversity, abundance, and biotechnological potentials. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. FEB, 29 fev. 2016.

MOHAMMADIPANAH, F.; WINK, J. **Actinobacteria from arid and desert habitats: Diversity and biological activity. Frontiers in Microbiology** Frontiers Media S.A., 2016.

NINGSIH, F. et al. **Isolation and 16S rRNA gene sequences analysis of thermophilic Actinobacteria isolated from soil in Cisolok geothermal area, West Java, Indonesia.** IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. **Anais**.Institute of Physics Publishing, 26 mar. 2020.

PONGEN, Y. L. et al. **Harnessing actinobacteria potential for cancer prevention and treatment. Microbial Pathogenesis.** Academic Press, 1 out. 2023.

SANGKANU, S. et al. Evaluation of antibacterial potential of mangrove sediment-derived actinomycetes. **Microbial Pathogenesis**, v. 112, p. 303–312, 1 nov. 2017.

SOLANS, M. et al. Potential biocontrol actinobacteria: Rhizospheric isolates from the Argentine Pampas lowlands legumes. **Journal of Basic Microbiology**, v. 56, n. 11, p. 1289–1298, 1 nov. 2016.

SUELA SILVA, M. et al. Brazilian cerrado soil actinobacteria ecology. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

TACCONELLI, E. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 318–327, 1 mar. 2018.

TISTECHOK, S. et al. The diversity and antibacterial activity of culturable actinobacteria isolated from the rhizosphere soil of *Deschampsia antarctica* (Galindez Island, Maritime Antarctic). **Polar Biology**, v. 44, n. 9, p. 1859–1868, 1 set. 2021.

VENTURA, M. et al. Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 71, n. 3, p. 495–548, set. 2007.

ZHAO, P. et al. **Actinobacteria–Derived peptide antibiotics since 2000**. **Peptides** Elsevier Inc., 1 maio 2018.