



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR**  
**BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

**MATHEUS LUCAS SANTOS ROCHA**

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ACTINOBACTÉRIAS DO SEMIÁRIDO  
NORDESTINO NA BUSCA POR NOVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS**

**FORTALEZA**

**2025**

MATHEUS LUCAS SANTOS ROCHA

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ACTINOBACTÉRIAS DO SEMIÁRIDO  
NORDESTINO NA BUSCA POR NOVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador(a): Profa. Dra. Suzana Cláudia Silveira Martins.

FORTALEZA

2025

MATHEUS LUCAS SANTOS ROCHA

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ACTINOBACTÉRIAS DO SEMIÁRIDO  
NORDESTINO NA BUSCA POR NOVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Aprovada em: 16/12/2025.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Suzana Cláudia Silveira Martins (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Raquel Guimarães Benevides  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Me. João Moreira de Matos Neto  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À minha mãe, família e amigos.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará, por proporcionar essa graduação e o ambiente acadêmico, o qual cria diversas oportunidades além do curso em si.

À minha orientadora, Profa. Dra. Suzana Cláudia, pela incrível mentoria e apoio durante todos os momentos.

À Profa. Dra. Claudia Miranda, por ter me dado a oportunidade de adentrar no meio científico.

À minha mãe, Maria Lucinete, por ter me dado a vida e ser uma mãe incrível a todo momento, por ser apoio, companheirismo e me dar amor incondicional durante toda minha existência.

Ao meu pai, Francisco José pelo apoio, mesmo que distante e a presença na minha infância.

Aos meus irmãos, Ivna Lia e Vinícius Leandro, por serem meus primeiros amigos da vida e companheiros eternos para o que for.

Aos meus tios, Sérgio Francisco e Elionete Melo, e minha prima, Mariana Melo, por serem meu segundo lar e me proporcionado diversos momentos inesquecíveis.

À toda minha família, por serem alegria em suporte para todos em todos os momentos.

Aos meus amigos, Maria Clara e Thalisson Vinícius, por serem apoio, refúgio e luz durante momentos bons e ruins.

À meu amigo, Dino Adler, por ser um irmão que a vida me deu e por estar junto a mim durante tudo desde o início.

Aos meus amigos, Luiz Gustavo, Fê e Gabriela, por serem amizades sinceras estarem sempre disponíveis a qualquer adversidade e dispostos a me entender em situações complicadas.

Aos meus amigos, Amanda, Ariane, Ariel, Bruno, João Neto, Laís e Leonardo, por serem grande inspiração e suporte para todas as situações, sendo elas profissionais ou não.

À equipe do LAMAB, todos os que passaram e estão presentes, por formarem uma família e comunidade que se apoia, mesmo com brigas e discordâncias que por ventura acontecem.

Aos professores da grade curricular do curso de graduação em biotecnologia, por serem profissionais competentes e inspirarem muitos alunos todos os dias.

À meus companheiros da T12, que formaram uma turma que fez diferença e faz dentro do curso de biotecnologia.

*“If million pieces are needed to create the image of the end, then I hope I get to be one of the pieces. Not a powerless onlooker putting them together.”*  
(Cyrene, 2025).

## RESUMO

As actinobactérias constituem um grupo de microrganismos filamentosos de grande relevância ecológica e biotecnológica, notoriamente reconhecido por sua capacidade de sintetizar uma vasta gama de metabólitos secundários, incluindo enzimas industriais e agentes antimicrobianos. Embora o gênero *Streptomyces* tenha maior destaque na literatura em geral, as chamadas actinobactérias raras, que compreendem gêneros morfológica e filogeneticamente distintos, emergem como fontes promissoras para a descoberta de novos compostos bioativos, por serem menos explorados e por consequência, munidos de possíveis mecanismos desconhecidos, como vias de produção de metabólitos com atividade antimicrobiana. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo isolar e caracterizar o potencial antimicrobiano de 16 linhagens de actinobactérias raras, designadas como AU (Actinobactéria de Ubajara), provenientes de amostras de solo do bioma Caatinga no semiárido nordestino. A triagem inicial da atividade antimicrobiana conduzida pela técnica de *cross-streak* com os patógenos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella enterica* (ATCC 14028) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) revelou que quatro destas cepas (AU-1, AU-2, AU-8 e AU-11), correspondendo a 25% do total, exibiram um perfil inibitório promissor. Estas cepas foram então submetidas a um ensaio de fermentação em condições padrão, e em co-cultura, com coleta posterior dos seus sobrenadantes livres de células (SLCs), obtidos pela centrifugação dos caldos fermentados. Os SLCs coletados foram reavaliados quanto ao seu potencial antimicrobiano pelo método de difusão em poços - uma etapa mais específica, onde apenas as cepas AU-2 e AU-8 mantiveram sua atividade antimicrobiana, com a AU-2 demonstrando notável ampliação do seu espectro de ação contra os patógenos testados. Os resultados obtidos não apenas validam o potencial biotecnológico da microbiota do semiárido, mas também destacam a cepa AU-2 como um candidato particularmente robusto para estudos futuros de identificação, purificação e caracterização dos compostos bioativos responsáveis por sua atividade, reforçando a importância estratégica da prospecção de actinobactérias, em destaque para as raras, em biomas únicos.

**Palavras-chave:** Caatinga; Actinomicetos; Patógenos; cross-streak; Difusão em poço; Atividade antimicrobiana; Actinobactérias raras.

## ABSTRACT

Actinobacteria constitute a group of filamentous microorganisms of significant ecological and biotechnological relevance, widely recognized for their ability to synthesize a vast array of secondary metabolites, including industrial enzymes and antimicrobial agents. Although the genus *Streptomyces* is the most prominent in the literature overall, the so-called rare actinobacteria comprising morphologically and phylogenetically distinct genera emerge as promising sources for the discovery of new bioactive compounds, as they are less explored and consequently may possess unknown mechanisms, such as biosynthetic pathways for metabolites with antimicrobial activity. In this context, the present study aimed to isolate and characterize the antimicrobial potential of 16 strains of rare actinobacteria, designated as AU (Ubajara Actinobacteria), originating from soil samples of the Caatinga biome in the semi-arid Northeast of Brazil. Initial antimicrobial screening conducted using the cross-streak technique against the pathogens *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella enterica* (ATCC 14028), and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) revealed that four of these strains (AU-1, AU-2, AU-8, and AU-11), corresponding to 25% of the total, exhibited promising inhibitory profiles. These strains were then subjected to fermentation assays under standard conditions and in co-culture, followed by the collection of their cell-free supernatants (CFSs), obtained by centrifugation of the fermented broths. The collected CFSs were reassessed for their antimicrobial potential using the well diffusion method - a more specific step in which only strains AU-2 and AU-8 maintained their antimicrobial activity, with AU-2 demonstrating a notable broadening of its spectrum of action against the tested pathogens. The obtained results not only validate the biotechnological potential of the semi-arid microbiota but also highlight strain AU-2 as a particularly robust candidate for future studies aimed at identifying, purifying, and characterizing the bioactive compounds responsible for its activity, reinforcing the strategic importance of prospecting actinobacteria, especially rare ones, in unique biomes.

**Keywords:** Caatinga; Actinomycetes; Pathogens; Cross-streak; Well diffusion; Antimicrobial activity; Rare actinobacteria.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Mapa do Parque Nacional de Ubajara.....	17
Figura 2	– Exemplos de diferentes culturas de actinobactérias.....	23
Figura 3	– Fluxograma do processo de preparo das diluições e inoculação em placa.....	31
Figura 4	– Fluxograma do preparo de cepas e armazenamento.....	33
Figura 5	– Fluxograma do processo de coloração de GRAM.....	36
Figura 6	– Fluxograma do processo de microcultivo.....	37
Figura 7	– Fluxograma do processo de <i>cross-streak</i> .....	39
Figura 8	– Fluxograma do processo de preparo e avaliação do teste de difusão em poço.....	41
Figura 9	– Coloração de actinobactéria Gram-positiva (A) e coloração de actinobactéria “Gram-variável” (B).....	47
Figura 10	– Exemplos dos possíveis gêneros deduzidos de actinobactérias por microcultivo. <i>Micromonospora</i> (A); <i>Nocardia</i> (B) e <i>Saccharomonospora</i> (C).....	50
Figura 11	– Teste positivo para inibição (A) e teste negativo para inibição (B) por <i>cross-streak</i> .....	51
Figura 12	– Formação de halo no teste de difusão em poço da cepa AU-2 contra <i>S. aureus</i> em concentração de ágar 1,5% (A) e 1,2% (B).....	56

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Produção antibiótica entre diferentes microrganismos.....	27
Gráfico 2	– Esquema da ocorrência de cores em relação ao micélio aéreo (A) e vegetativo (B) das cepas crescidas em CDA.....	44
Gráfico 3	– Esquema da ocorrência de cores em relação ao micélio aéreo (A) e vegetativo (B) das cepas crescidas em SCA.....	45
Gráfico 4	– Esquema da ocorrência de cores em relação ao micélio aéreo (A) e vegetativo (B) das cepas crescidas em Bennett.....	45
Gráfico 5	– Ocorrência dos possíveis gêneros deduzidos por microcultivo nos solos de isolamento A64 (mata seca) e S88 (mata úmida).....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados sobre o número de metabólitos secundários isolados de diferentes espécies de actinobactérias.....	23
Tabela 2 – Composição do meio de cultura <i>Actinomycetes Isolation Agar</i> (AIA).....	30
Tabela 3 – Composição do meio de cultura <i>Casein Dextrose Agar</i> (CDA).....	32
Tabela 4 – Composição do meio de cultura <i>Internacional Streptomyces Program 2</i> (ISP-2) .....	32
Tabela 5 – Composição do meio de cultura <i>Starch Casein Agar</i> (SCA).....	34
Tabela 6 – Composição do meio de cultura Bennett.....	34
Tabela 7 – Tabela contendo informações sobre o isolamento de cada cepa de actinobactéria.....	42
Tabela 8 – Tabela contendo informações sobre o gênero deduzido de cada cepa de actinobactéria.....	49
Tabela 9 – Conjunto de dados positivos (+) e negativos (-) das cepas de actinobactérias contra <i>S. aureus</i> , <i>S. enterica</i> e <i>K. pneumoniae</i> por <i>cross-streak</i> .....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIA	<i>Actinomycetes Isolation Agar</i> (Ágar de Isolamento para Actinomicetos)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APA	Área de Proteção Ambiental
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
AU	Actinobactéria de Ubajara
BGCs	<i>Biosynthetic Gene Clusters</i> (Clusters Gênicos Biossintéticos)
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i> (usado para se referir a estufa de incubação)
CDA	<i>Casein Dextrose Agar</i> (Ágar Dextrose-Caseína)
cKP	<i>Klebsiella pneumoniae</i> clássica ( <i>classic Klebsiella pneumoniae</i> )
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
HvKP	<i>Klebsiella pneumoniae</i> hipervirulenta ( <i>hypervirulent Klebsiella pneumoniae</i> )
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
INSA	Instituto Nacional do Semiárido
ISP-2	<i>International Streptomyces Project 2</i>
KPC-2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase-2
LAMAB	Laboratório de Microbiologia Ambiental
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina ( <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> )
OMS/WHO	Organização Mundial da Saúde/ <i>World Health Organization</i>
PARNA	Parque Nacional
PNU	Parque Nacional de Ubajara
PSMs	Peptídeos Semelhantes à Surfactina
RAM	Resistência aos Antimicrobianos
SCA	<i>Starch Casein Agar</i>
UC	Unidade de Conservação
UV	Ultravioleta

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>g</b>	gramas
<b>mg</b>	miligramas
<b>µg</b>	microgramas
<b>L</b>	litro
<b>mL</b>	mililitro
<b>µL</b>	microlitro
<b>m</b>	metro
<b>Km</b>	quilômetro
<b>mm</b>	milímetro
<b>µm</b>	mícron
<b>ha</b>	hectare
<b>°C</b>	grau Celsius
<b>%</b>	porcentagem
<b>M</b>	molar
<b>v/v</b>	volume por volume
<b>pH</b>	potencial hidrogeniônico
<b>rpm</b>	rotações por minuto
<b>× g</b>	força gravitacional
<b>UI</b>	Unidade Internacional
<b>+</b>	Positivo (usado em tabelas de resultados)
<b>-</b>	Negativo (usado em tabelas de resultados)
<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	Fosfato de potássio dibásico
<b>MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</b>	Sulfato de magnésio hepta-hidratado
<b>FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</b>	Sulfato ferroso hepta-hidratado
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	Carbonato de Cálcio
<b>NaCl</b>	Cloreto de Sódio
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	Água destilada
<b>NaNO<sub>3</sub></b>	Nitrato de Sódio
<b>KNO<sub>3</sub></b>	Nitrato de potássio
<b>NaOH</b>	Hidróxido de sódio
<b>HCl</b>	Ácido Clorídrico

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	15
2.1	Semiárido nordestino.....	15
2.2	Parque Nacional de Ubajara.....	15
2.3	Microrganismos resistentes.....	17
2.3.1	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
2.3.2	<i>Salmonella enterica</i> .....	19
2.3.3	<i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	20
2.4	Actinobactérias.....	21
2.5	Principais metabólitos.....	23
2.5.1	<i>Atividade enzimática</i> .....	24
2.5.2	<i>Atividade pesticida</i> .....	25
2.5.3	<i>Atividade antitumoral</i> .....	25
2.5.4	<i>Atividade antifúngica</i> .....	26
2.5.5	<i>Atividade antiviral</i> .....	26
2.5.6	<i>Atividade antibiótica</i> .....	26
3	OBJETIVOS.....	27
3.1	Objetivo geral.....	27
3.2	Objetivo específicos.....	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1	Coleta de solo.....	28
4.2	Isolamento e armazenamento.....	28
4.2.1	<i>Pré-tratamentos do solo</i> .....	29
4.2.2	<i>Isolamento das Actinobactérias</i> .....	29
4.2.3	<i>Armazenamento das cepas</i> .....	31
4.3	Caracterização cultural.....	33
4.3.1	<i>Caracterização macromorfológica</i> .....	33
4.3.2	<i>Coloração de Gram</i> .....	35
4.3.3	<i>Microcultivo</i> .....	36
4.4	Cross-Streak.....	37
4.5	Fermentação.....	39

4.5.1	<i>Fermentação convencional</i> .....	39
4.5.2	<i>Fermentação com co-cultivo</i> .....	40
4.6	Difusão em poço.....	40
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	41
5.1	Isolamento de actinobactérias.....	41
5.2	Caracterização cultural.....	43
5.2.1	<i>Caracterização macromorfológica</i> .....	43
5.2.2	<i>Coloração de Gram</i> .....	46
5.2.3	<i>Microcultivo</i> .....	47
5.3	Cross-Streak.....	50
5.4	Fermentação.....	54
5.5	Difusão em poço.....	55
6	<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	57
7	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	58

## 1 INTRODUÇÃO

A cada avanço, a humanidade enfrenta novos desafios sanitários, agravados pelo crescente cenário de resistência antimicrobiana. Desde a descoberta da penicilina por Fleming em 1928, a busca por novos antibióticos mantém-se crucial para o avanço da medicina e o combate a patógenos multirresistentes (Murray *et al.*, 2022). O uso indiscriminado de agentes antimicrobianos acelerou a seleção de linhagens bacterianas resistentes, dificultando tratamentos e aumentando a morbimortalidade em ambientes hospitalares, o que reforça a urgência na descoberta de novos compostos bioativos (WHO, 2021).

Nesse contexto, as actinobactérias destacam-se como uma das fontes mais promissoras de metabólitos secundários com atividade antimicrobiana. Amplamente distribuídas em diversos biomas, esses procariotos Gram-positivos de morfologia filamentosa apresentam notável diversidade metabólica e capacidade de produzir compostos bioativos como enzimas e antibióticos (Alvarez *et al.*, 2023). Embora o gênero *Streptomyces* seja o mais estudado e responsável pela maioria dos antibióticos comercializados, gêneros não-*Streptomyces* como *Nocardia*, *Micromonospora*, *Amycolatopsis* e *Saccharomonospora* vêm ganhando atenção como fontes de novas estruturas químicas com atividade antimicrobiana (Azman *et al.*, 2023).

A exploração de actinobactérias raras ou negligenciadas representa uma fronteira promissora na bioprospecção de novos antimicrobianos. Isso se deve ao esgotamento na descoberta de moléculas bioativas a partir de linhagens convencionais de *Streptomyces*, como exemplos já consolidados: Estreptomicina, Tetraciclina, Clorafenicol e Neomicina, que tem se mostrado um obstáculo significativo. Diante desse contexto, este trabalho tem como objetivo caracterizar o perfil antimicrobiano de cepas de actinobactérias não-*Streptomyces* isoladas do semiárido nordestino. As cepas em estudo foram obtidas de solos coletados em diferentes áreas, como a região de mata seca e a mata úmida do Parque Nacional de Ubajara, uma unidade de conservação (UC) inserida no bioma Caatinga. Trata-se de um bioma exclusivamente brasileiro, predominante na região Nordeste, cujas condições ambientais extremas selecionam organismos com notáveis adaptações. O estudo visa, portanto, avaliar a capacidade inibitória de extratos brutos dessas actinobactérias contra patógenos padronizados.

## 2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

### 2.1 Semiárido nordestino

Estendido por toda a região Nordeste do Brasil, o semiárido nordestino ocupa aproximadamente 12% do território nacional (INSA, 2022). Caracterizado por elevadas temperaturas, baixa umidade, aridez acentuada e escassez hídrica sazonal, chegando numa máxima precipitação de 400 a 1200mm por ano, esse bioma Caatinga abriga uma biodiversidade singular, na qual espécies vegetais e animais desenvolveram notáveis adaptações morfofisiológicas e comportamentais para resistir a condições extremas (Martinelli *et al.*, 2014).

A competição por recursos limitados, como água, nutrientes e espaço favorece a emergência de interações ecológicas complexas e a expressão de mecanismos microbianos de sobrevivência. Entre os microrganismos que se destacam nesse ambiente estão as actinobactérias, em especial os actinomicetos, conhecidos por sua capacidade de produzir uma gama de metabólitos secundários com atividade antimicrobiana, antitumoral e antifúngica, como os conhecidos como estreptomicina, actinomicina-D e Nistatina (Bull, 2004; Bérdy, 2005).

Sob condições de estresse biótico e abiótico, tais como deficiência nutricional, radiação UV e oscilações térmicas, esses microrganismos ativam vias metabólicas especializadas, frequentemente reguladas por genes dormentes ou clusters gênicos silenciosos (como os Clusters Gênicos Biossintéticos – CGBs), que são expressos em resposta a sinais ambientais (Barka *et al.*, 2015). Tais adaptações não apenas garantem a sobrevivência no ambiente hostil, mas também representam uma fonte promissora de compostos bioativos ainda pouco explorados.

Dessa forma, o semiárido nordestino configura-se como um bioprospectivo de relevância ímpar para a busca por novos agentes antimicrobianos, em um momento em que a resistência a antibióticos se consolida como uma das maiores ameaças à saúde pública global (OMS, 2021).

### 2.2 Parque Nacional de Ubajara

Localizado no Nordeste brasileiro, mais especificamente no Ceará, o Parque Nacional

de Ubajara (PNU ou PARNA Ubajara) é uma unidade de conservação que engloba os biomas de Caatinga, resquícios de mata atlântica e cerrado, apresentando relevo acidentado com uma mata úmida em sua extensão. Criado em 1959 e possuindo aproximadamente 6.300 hectares, o PNU está sob a gestão do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e insere-se na Área de Proteção Ambiental (APA) da Serra da Ibiapaba, situando-se na sua vertente leste (ICMBIO, 2023).

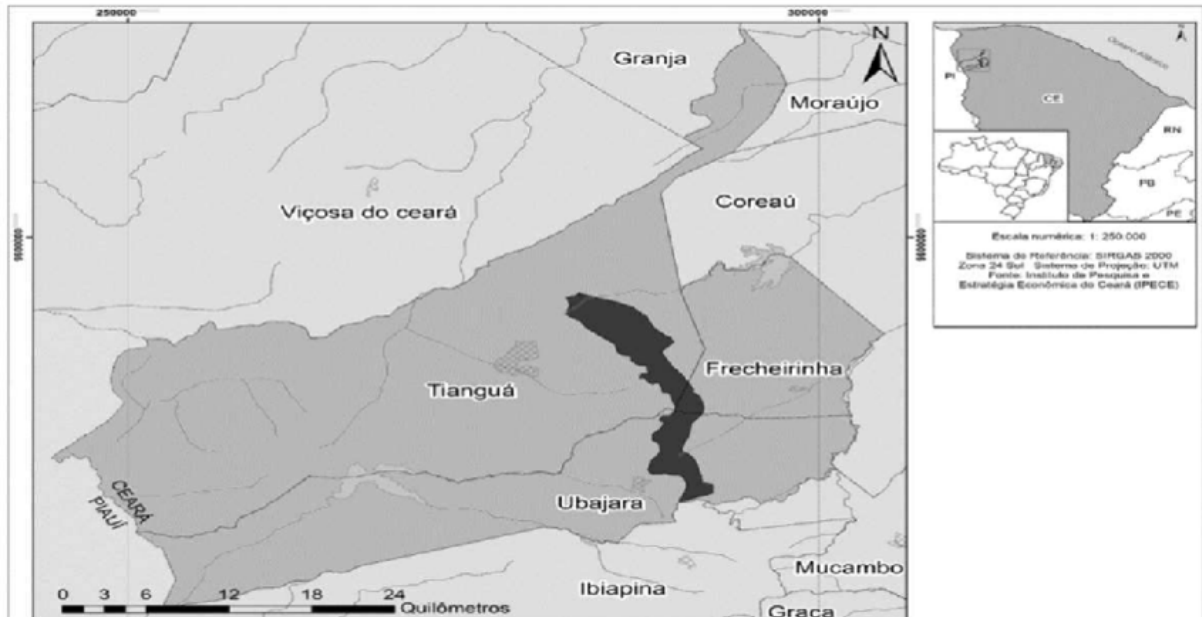
O clima do parque, embora localizado na região semiárida, apresenta duas variações climáticas distintas: uma com temperaturas mais baixas, em torno de 24°C a 26°C, e outra com temperaturas mais elevadas, entre 31°C a 38°C (ICMBIO, 2023).

A variação de altitude do relevo do PNU influencia diretamente a formação de sua vegetação. Em maiores altitudes encontram-se resquícios de Mata-Atlântica, matas úmidas estacionais sempre-verdes, enquanto na região de menor altitude, próxima à base, observa-se uma Savana Estépica (IBGE, 2012; Silveira *et al.*, 2020). Entre essas duas faixas, forma-se uma extensa camada de vegetação decídua, denominada mata seca, que ocupa cerca de 72,1% do parque, constituindo um ecossistema resistente a variações de temperatura e à escassez hídrica (IBGE, 2012; Silveira *et al.*, 2020).

O uso do solo na unidade de conservação é conservado, mas seu entorno apresenta pequenas proporções de áreas secundárias e antropizadas. Por ser uma unidade de conservação, o parque tem como objetivo a preservação, sendo práticas como agricultura ou alteração antrópica do solo estritamente proibidas. No entanto, os solos do entorno, denominados zonas de amortecimento, são amplamente utilizados para agricultura familiar, o que impacta diretamente a conservação da área protegida, ameaçando a integridade do solo por meio de degradação, erosão e uso indiscriminado de agrotóxicos (Araújo, 2004).

A grande diversidade do Parque Nacional de Ubajara, com ênfase na conservação local, torna pertinentes estudos sobre os solos da unidade de conservação, visando avaliar microrganismos endêmicos e suas capacidades.

**Figura 1**— Mapa do Parque Nacional de Ubajara.



Fonte: Aragão e Araújo, 2019.

### 2.3 Microrganismos resistentes

A resistência aos antimicrobianos (RAM) configura-se como um dos maiores desafios contemporâneos da saúde global (Murray *et al.*, 2022), uma vez que as doenças infecciosas representam uma ameaça constante ao longo da história. No contexto brasileiro, estima-se que aproximadamente 34 mil mortes anuais são diretamente atribuídas à RAM, enquanto outras 138 mil estão associadas a ela (ANVISA, 2023). Em escala mundial, o impacto da RAM supera as mortes por câncer e acidentes de trânsito combinados, totalizando cerca de 700 mil óbitos anuais (Naghavi *et al.*, 2024). Projeções indicam que, sem medidas efetivas de contenção, esse número poderá atingir 10 milhões de mortes anuais até 2050 (Ferri *et al.*, 2017).

O surgimento dessas ameaças microbianas está intrinsecamente relacionado ao uso indiscriminado de agentes antimicrobianos, tanto na saúde humana quanto na produção animal. A aplicação inadequada dessas substâncias resulta na seleção de linhagens bacterianas resistentes e sua subsequente disseminação. O agravamento desse cenário deve-se principalmente aos mecanismos de transferência horizontal de genes, nos quais bactérias adquirem ou transferem determinantes de resistência por meio de elementos genéticos móveis, como plasmídeos (Blair *et al.* 2015). Um exemplo emblemático é a disseminação da *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-2 (KPC-2), enzima capaz de inativar antibióticos

carbapenêmicos, considerados de última linha. Outro caso preocupante envolve a colistina, polipeptídeo utilizado como última alternativa terapêutica, frente ao qual já foram identificados mecanismos de resistência plasmidiais (Vidovic; Vidovic, 2020).

A problemática do aumento de populações bacterianas resistentes impacta a sociedade de forma multifacetada, com reflexos diretos na saúde pública, economia e políticas sociais. A incapacidade de tratar infecções comuns resulta em aumento da morbimortalidade, prolongamento de hospitalizações e elevação dos custos em saúde, exigindo uma abordagem intersetorial e coordenada para seu enfrentamento (Vidovic; Vidovic, 2020).

### 2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Geralmente presente na pele e fossas nasais humanas, a bactéria *Staphylococcus aureus* se destaca por ser amplamente estudada. Conhecida por causar inúmeras infecções humanas, desde condições mais simples, como espinhas e furúnculos, até casos mais graves, como pneumonia e meningite, essa bactéria tem chamado atenção devido à sua alta adaptabilidade e variedade de mecanismos de resistência a inibidores. São cocos, que podem ser observados em conjuntos ou isolados, Gram-positivos, e medem cerca de 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$ .

Sendo uma das primeiras a ser controlada por antimicrobianos, a *S. aureus* também se tornou uma das primeiras bactérias a adquirir resistência a quimioterápicos, como a sulfanilamida, descoberta por Gerhard Domagk em 1932 (Santos *et al.*, 2007). O desenvolvimento de resistência ocorre, muitas das vezes, por conta da mobilidade genética ou de mutações cromossômicas, o que prolonga e dificulta tratamentos hospitalares, representando uma ameaça a pacientes com condições de saúde mais delicadas (Chambers; DeLeo, 2009).

A *S. aureus* apresenta múltiplos mecanismos de evasão imunológica que lhe permitem contornar a destruição pelo hospedeiro e favorecem a persistência da infecção. Esses mecanismos incluem, como por exemplo: a produção de cápsula polissacarídica, que dificulta a fagocitose; a expressão da proteína A, que interfere na opsonização ao se ligar à fração Fc das imunoglobulinas; a ação de enzimas antioxidantes, como catalase e superóxido dismutase, que neutralizam espécies reativas de oxigênio; além da produção de toxinas e da formação de biofilmes, que conferem proteção contra células imunes e antimicrobianos. Adicionalmente, a bactéria é capaz de interferir diretamente na resposta imune inata, produzindo proteínas que bloqueiam receptores essenciais para a quimiotaxia de fagócitos até o local da infecção, bem como peptídeos semelhantes à surfactina (PSMs), que promovem a lise de neutrófilos após a

fagocitose, liberando compostos que agravam a disfunção da resposta imune (Foster, 2005; Otto, 2014; Malak *et al.*, 2020).

No contexto da resistência de *S. aureus*, é necessário citar a cepa MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina), que tem sido motivo de preocupação desde sua descoberta. Essa linhagem apresenta variados mecanismos de resistência, como alterações na parede celular e espessamento da camada de peptidoglicano, que reduzem ou impedem a afinidade de drogas aos seus receptores ou bloqueiam a penetração de antibióticos, como no caso da vancomicina, que fica retida na espessa camada de peptidoglicano (Gardete; Tomasz, 2014).

*S. aureus* é uma bactéria com alta taxa de mutação e adaptação. Esses fatores, associados ao problema da indução de resistência pelo uso indiscriminado de antibióticos, reforçam a importância do estudo dos mecanismos de tolerância e sobrevivência de suas cepas para a descoberta de novos agentes efetivos e robustos.

### **2.3.2 *Salmonella enterica***

Principalmente encontrada em aquíferos, produtos de origem animal e plantas contaminadas, a *Salmonella enterica* é uma bactéria Gram-negativa, flagelada e com formato de bastonete, que apresenta significativa participação em mortes humanas, sendo considerada uma das principais responsáveis por óbitos relacionados a doenças diarreicas. Dentro da espécie *S. enterica*, há uma divisão em seis subespécies: *S. enterica subsp. enterica* (I), *S. enterica subsp. salamae* (II), *S. enterica subsp. arizonae* (III), *S. enterica subsp. diarizonae* (IV), *S. enterica subsp. houtenae* (V) e *S. enterica subsp. indica* (VI). Essa classificação está relacionada à preferência por hospedeiro e à distribuição geográfica, sendo a *S. enterica subsp. enterica* a mais relevante do ponto de vista patogênico para humanos e animais domésticos, além de ser a principal causadora de salmonelose nesses indivíduos (Pulford *et al.*, 2025), podendo ocasionar diferentes formas clínicas da doença, como a gastroenterite não tifoide, geralmente autolimitada e associada a diarreia e febre; a febre entérica (tifoide e paratifoide), uma infecção sistêmica mais grave; e, em casos específicos, infecções invasivas, incluindo bacteremia e acometimentos extraintestinais, sobretudo em indivíduos imunocomprometidos, idosos e crianças.

Essa bactéria atua principalmente por meio da invasão de células epiteliais do trato gastrointestinal. Após a infecção por ingestão de alimentos contaminados, a *S. enterica* inicia sua colonização nas células epiteliais, invadindo-as por meio de mecanismos de virulência e

estabelecendo nichos intracelulares, incluindo a utilização do sistema de secreção tipo III (T3SS) para injeção de proteínas efectoras, a formação de vacúolos de *Salmonella* (SCV) que permitem sobrevivência dentro de fagócitos, a expressão de lipopolissacarídeo (LPS) que confere resistência ao complemento e à lise, e a produção de sideróforos, essenciais para a aquisição de ferro no hospedeiro (Galán, 2001; Steele-Mortimer, 2008; Figueira & Holden, 2012). Também possui a capacidade de atravessar a mucosa intestinal e atingir a corrente sanguínea, causando infecções sistêmicas. A habilidade de invadir células auxilia a bactéria a evadir a resposta imune do hospedeiro, e suas ações geralmente resultam em quadros de inflamação, febre, dores abdominais e diarreia, que pode levar à desidratação (FARDSANEI *et al.*, 2018).

Além disso, por meio de transferência horizontal de genes, as subespécies de *S. enterica* adquiriram diversos mecanismos de resistência a antibióticos. Entre eles, destacam-se a secreção de enzimas que hidrolisam ou modificam a estrutura dos antibióticos, a síntese de bombas de efluxo que os expulsam ativamente da célula, modificações em enzimas-alvo (como as DNA girases) para reduzir a afinidade por antimicrobianos, e alterações em receptores de membrana que impedem a ligação de determinados agentes. Esse conjunto de mecanismos confere a essas bactérias um perfil de multirresistência, dificultando o tratamento de infecções (Alvarez *et al.*, 2023).

### **2.3.3 *Klebsiella pneumoniae***

Isolada pela primeira vez de amostras do pulmão de pessoas falecidas por pneumonia, a *Klebsiella pneumoniae* foi catalogada em 1882 por Carl Friedlander. São bactérias Gram-negativas, imóveis e com formato de bastonete (Xu *et al.*, 2024), encontradas principalmente em superfícies aquáticas, solo, plantas e mucosas de mamíferos, incluindo o trato intestinal humano (Jin *et al.*, 2025).

Assim como muitas bactérias já estudadas, a *K. pneumoniae* também soa o alerta em torno de sua ameaça para a humanidade. Cepas mais agressivas resultantes de anos de adaptação a substâncias antimicrobianas, antes eficazes, vêm preocupando a ciência; bactérias como *K. pneumoniae* tornam-se resistentes e mais virulentas ao passar das últimas décadas (Cireșă *et al.*, 2024). Essas bactérias atuam causando infecções oportunistas no hospedeiro e, com auxílio de mecanismos próprios de defesa, potencializam esse impacto. Espécies como a cKP (*K. pneumoniae* clássica) têm uma forma de atuação mais branda, sendo mais comum em pacientes imunodeficientes. Elas atacam o trato respiratório e intestinal, podendo causar

pneumonia, infecções urinárias e septicemias (Wang *et al.*, 2020). Já cepas resistentes e mais virulentas, como a HvKP (*K. pneumoniae* hipervirulenta), podem ser mais nocivas para pessoas em geral, podendo causar abscesso hepático, pneumonia necrosante e meningite (Dai; Hu, 2022).

A forma de defesa mais comum estudada em cepas de alta virulência de *K. pneumoniae* é a resistência a carbapenêmicos, mediada por variantes que produzem enzimas conhecidas como carbapenemases, que hidrolisam o antibiótico, tornando-o ineficaz (Han *et al.*, 2020). Esse mecanismo pode se somar a muitos outros semelhantes, como outras enzimas que hidrolisam diferentes antibióticos ou mecanismos de defesa mais robustos, como a formação de uma cápsula ao redor da bactéria que protege a célula de ser reconhecida pelo sistema imunológico, "escondendo" antígenos da sua superfície (Xu *et al.*, 2024).

## 2.4 Actinobactérias

As actinobactérias ou actinomicetos (Figura 2) constituem um filo de bactérias Gram-positivas, majoritariamente filamentosas e formadoras de esporos. Apresentam alto conteúdo de G+C em seu DNA (55% a 75%), o que confere maior estabilidade genômica e adaptabilidade a ambientes hostis (De Simeis; Serra, 2021). A formação de micélio aéreo e vegetativo é uma característica marcante desses microrganismos e representa uma fonte crucial de informações para a identificação de gêneros por meio de diversas técnicas. Essas bactérias também se destacam como um dos maiores grupos taxonômicos no domínio Bacteria (Ventura *et al.*, 2007).

Embora a maioria dos gêneros de actinobactérias estudados apresentem características morfológicas constantes, existem exceções. As actinobactérias podem ocorrer na forma de cocos, bastonetes, hifas fragmentadas ou, na sua forma mais conhecida, ramificadas.

O filo Actinobacteria é historicamente reconhecido como uma importante fonte de compostos bioativos, especialmente antibióticos, devido à elevada diversidade metabólica de seus representantes, com destaque para o gênero *Streptomyces*. Esse grupo tornou-se emblemático por ser responsável pela maior parte dos antibióticos naturais já descritos, incluindo estreptomicina, tetraciclina e eritromicina, além de fármacos amplamente conhecidos e comercializados como vancomicina, rifampicina e cloranfenicol. Estima-se que espécies de *Streptomyces* tenham originado cerca de 70% a 80% dos antibióticos conhecidos até o início do século XXI, consolidando seu papel central na descoberta de novos fármacos. (Procópio *et al.*, 2012). Essa capacidade está relacionada ao seu habitat natural altamente

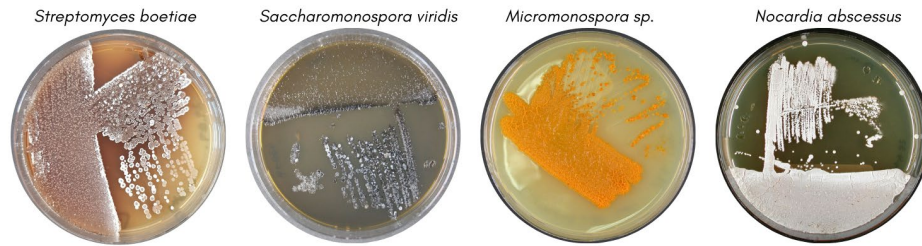
competitivo, como o solo, que favorece a produção de substâncias antimicrobianas, bem como aos seus grandes genomas ricos em clusters biossintéticos. Além disso, a facilidade de cultivo e manipulação genética dessas bactérias contribuiu para que fossem mais exploradas do que outros microrganismos, plantas ou animais na descoberta de novos fármacos (Alam *et al.*, 2022). O genoma das actinobactérias é considerado robusto e mantém integridade entre as espécies, em parte por possuírem cromossomos lineares diferindo de muitas bactérias, que possuem DNA circular, o que exige mecanismos regulatórios semelhantes a telômeros para evitar deleções e regular genes secundários essenciais (Borda-de-sá, 2007).

As actinobactérias possuem ampla distribuição em solos marinhos, cavernosos, vulcânicos etc, estômagos de animais e associadas a plantas. Considerados organismos de alta relevância ecológica, participam ativamente na ciclagem de nutrientes por meio da decomposição de matéria orgânica, desde resíduos vegetais até carcaças de animais, disponibilizando nutrientes para absorção pelas plantas (Barka *et al.*, 2015).

A alta adaptabilidade das actinobactérias está relacionada a mecanismos de resistência que permitem sua sobrevivência em condições extremas, como alta salinidade, presença de pesticidas e metais pesados no solo. A persistência desses microrganismos em solos contaminados tem motivado estudos que demonstram a capacidade de actinobactérias em reduzir a toxicidade de locais afetados, transformando moléculas contaminantes em formas não contaminantes ou menos agressivas. Essa versatilidade abre perspectivas para a compreensão desses processos e sua aplicação em situações reais, como ações biotecnológicas de bioaumento (Mawang *et al.*, 2021).

Muitas das habilidades associadas aos gêneros de actinobactérias derivam da produção de bioativos, como enzimas e antibióticos. Esses metabólitos estão diretamente ligados a respostas a condições de estresse ambiental, sendo produzidos em reação a irregularidades ou ao final do ciclo de crescimento, como na fase estacionária, onde a escassez de nutrientes induz a produção desses compostos (Van Bergeijk *et al.*, 2020).

A identificação e caracterização de metabólitos produzidos por actinobactérias são abordagens de grande importância para a ciência atual, especialmente na busca por novos compostos antimicrobianos. Com base nos mecanismos de adaptação dessas bactérias, é possível otimizar processos de indução da produção desses compostos para uso em testes de sensibilidade, avaliando o potencial das actinobactérias como produtoras de bioativos antimicrobianos (Subramani; Sipkema, 2019).

**Figura 2**— Exemplos de diferentes culturas de actinobactérias.

Fonte: © Leibniz-Institut DSMZ, 2024.

## 2.5 Principais metabólitos

A produção de metabólitos por actinobactérias é um tópico extremamente estudado, tendo em vista que elas são responsáveis por cerca de mais de 20 mil dos metabólitos entendidos pela sociedade (Núñez-Montero; Barrientos, 2018). Dentro dos metabólitos provindos de cepas de actinobactérias englobam-se uma ampla variedade de atividades, dentre elas, enzimática, pesticida, antitumoral, antifúngica e antibiótica etc (Selim *et al.*, 2021).

**Tabela 1** — Dados sobre o número de metabólitos secundários isolados de diferentes gêneros de actinobactérias.

Espécie de actinomiceto	Nº	Exemplos
<i>Streptomyces</i>	8000	Estreptomicina e Tetraciclina
<i>Streptoverlicillium</i>	258	Mitomicina C e Bleomicina
<i>Nocardioides</i>	9	Nocardicina A e Peptídeos antimicrobianos do tipo $\beta$ -lactâmico
<i>Micromonospora</i>	740	Gentamicina e Sisomicina
<i>Actinoplanes</i>	248	Acabiose e Teicoplanina
<i>Saccharopolyspora</i>	131	Eritromicina e Rifamicina
<i>Saccharomonospora</i>	2	Saccharomicinas e Glicopeptídeos antimicrobianos
<i>Streptosporangium</i>	79	Streptosporangina e

		Anguciclinas
<i>Streptoalloteichus</i>	48	Alloteicinas e Compostos glicopeptídicos relacionados à vancomicina
<i>Nocardiopsis</i>	41	Nocardiopsina e Poliquetídicos antimicrobianos
<i>Thermomonospora</i>	19	Termomicina e enzimas termoestáveis com atividade antimicrobiana
<i>Nocardia</i>	357	Nocardicina e ácidos micólicos
<i>Mycobacterium</i>	57	Fenol glicolipídeos (PGLs)
<i>Actinosporangium</i>	30	Actinosporina e Metabólitos policetídicos antimicrobianos

Fonte: Adaptado de Selim *et al.*, 2021 e Sharma, 2017.

### 2.5.1 Atividade enzimática

O uso de enzimas possui grande importância para as indústrias, atuando em diversos processos produtivos nos setores alimentício, de detergentes, têxtil, de bebidas, farmacêutico, entre outros. Essas biomoléculas proteicas atuam como catalisadores biológicos, acelerando reações químicas específicas a partir da interação com seus substratos. As enzimas produzidas por actinobactérias têm diversas aplicações biotecnológicas, com destaque para os estreptomicetos marinhos, que sintetizam enzimas capazes de degradar matéria orgânica presente nos sedimentos marinhos. Diferentemente dos actinomicetos terrestres, que atuam na ciclagem de nutrientes do solo, os estreptomicetos marinhos precisam lidar com matéria orgânica complexa e recalcitrante, condições de baixa disponibilidade de oxigênio e altas pressões osmóticas, tornando suas enzimas particularmente resistentes, versáteis e atraentes para aplicações industriais e ambientais (Devi *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2016).

O mercado de enzimas se renova anualmente, uma vez que a indústria busca

continuamente por formas de otimizar processos produtivos, sendo as enzimas uma alternativa eficiente para acelerar reações e reduzir custos operacionais (Grand View Research, 2023). Dados do principal banco de dados enzimático, Brenda (2024), indicam que centenas de novas enzimas são caracterizadas e incorporadas anualmente ao seu sistema. As actinobactérias constituem fontes ricas para a investigação da produção de novas enzimas, tornando-se microrganismos de suma importância na descoberta desses compostos (Mukhtar *et al.*, 2017; Ramírez; Calzadiaz, 2016).

### **2.5.2 Atividade pesticida**

A agricultura é uma das práticas mais antigas da humanidade, e os cultivadores sempre enfrentaram problemas com pragas que prejudicam as plantações. As actinobactérias também são consideradas organismos endofíticos, ou seja, podem ser encontradas em associação simbiótica com plantas. Essa relação traz benefícios significativos para o vegetal, uma vez que cepas de actinobactérias comumente encontradas no solo, como as do gênero *Streptomyces*, são capazes de produzir metabólitos com atividade pesticida e antibiótica, controlando pragas e promovendo o desenvolvimento saudável da planta (Golinska *et al.*, 2015; Diab *et al.*, 2024).

Estudos de toxicidade foram realizados contra espécies de insetos comumente reportadas como problemáticas em plantações para comprovar a capacidade pesticida de produtos derivados de actinobactérias. Por exemplo, o estudo de Arasu *et al.* (2013) aborda cepas de *Streptomyces* que produziram metabólitos bioativos com efeito inseticida contra larvas da lagarta-do-algodoeiro (*Helicoverpa armigera*). De modo semelhante, Ruanpanun *et al.* (2010) relatam a capacidade de um isolado de streptomyces, *Streptomyces sp.*, de produzir metabólitos ativos contra o nematoide *Meloidogyne incognita*, demonstrando atividade nematicida.

### **2.5.3 Atividade antitumoral**

A atividade citotóxica está presente no espectro de metabólitos produzidos por actinobactérias. Compostos com essa propriedade, comumente identificados em actinobactérias marinhas, vêm sendo isolados e testados para o tratamento de câncer (Abdel-Razik *et al.*, 2025).

A indução a apoptose em células cancerígenas por metabólitos derivados de actinobactérias ocorre por meio da ativação de diversas vias de sinalização celular (Rui *et al.*,

2025). Entre os mecanismos envolvidos, destacam-se a ativação de caspases e o aumento na concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs) no interior das células cancerígenas, o que gera estresse oxidativo e culmina na morte celular programada (Adeluola *et al.*, 2022).

#### **2.5.4 Atividade antifúngica**

Os fungos possuem muitas semelhanças com as actinobactérias, principalmente as do solo. Por serem encontrados geralmente nos mesmos habitats, esses microrganismos tendem a competir por nutrientes entre si (Zhang *et al.*, 2025). Além da competição, actinomicetos do solo podem ser encontrados associados a plantas, e muitas espécies com esse comportamento rizosférico são propícias à produção de metabólitos ativos (Elshafie; Camele, 2022; Vurukonda *et al.*, 2018).

Estudos, como o descrito por Girão *et al.* (2019), realizados com cepas de actinobactérias isoladas da espécie de algas marinhas, *Laminaria ochroleuca*, demonstraram também, além da inibição de *S. aureus*, a inibição de *Candida albicans*.

#### **2.5.5 Atividade antiviral**

A atividade de inibição de agentes virais também pode ser observada entre os metabólitos produzidos por actinobactérias. Com o aumento na incidência de doenças virais ao longo do tempo, a busca por agentes antivirais de fontes naturais torna-se uma alternativa promissora, especialmente considerando o histórico de produção de compostos bioativos pelo filo Actinobacteria, particularmente pelo gênero *Streptomyces* (Elnahas *et al.*, 2021).

Diversos antibióticos isolados de actinobactérias já demonstraram atividade antiviral, como é o caso da Vidarabina (Ara-A), que atua impedindo a replicação viral por ser um análogo de nucleosídeo (Ngamcharungchit *et al.*, 2023). Um estudo conduzido por Cally *et al.* (2020) demonstrou que a Ivermectina, derivada da actinobactéria *Streptomyces avermitilis*, é capaz de inibir a replicação do vírus SARS-CoV-2, interferindo no transporte de proteínas virais por meio da desestabilização do heterodímero IMP $\alpha$ / $\beta$ 1 (importina alfa/beta 1), complexo responsável pelo transporte de proteínas do citoplasma para o núcleo.

#### **2.5.6 Atividade antibiótica**

A produção de bioativos antibióticos por actinobactérias engloba diversos tipos de metabólitos capazes de afetar microrganismos. Principalmente representada pela ação de

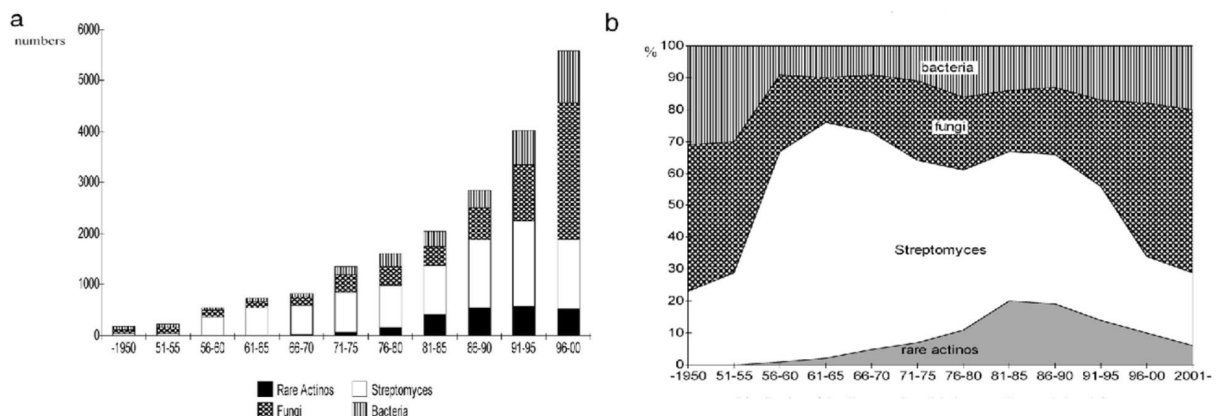
inibição de bactérias patogênicas, esses metabólitos destacam-se por interferirem no metabolismo desses patógenos, impedindo sua multiplicação, o que também pode ser estendido para fungos e vírus, como citado anteriormente (Sharma *et al.*, 2020).

Muitas espécies desses microrganismos (principalmente actinomicetos) possuem a capacidade de produzir antibióticos (Gráfico 1), com destaque para o gênero de actinobactéria *Streptomyces*, amplamente estudado e explorado. Outros gêneros também investigados, em menor escala, como *Actinoalloteichus*, *Actinomadura*, *Amycolatopsis*, *Kibdelosporangium*, *Kitasatospora*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Rhodococcus*, *Nocardiosis*, *Pseudonocardia*, *Streptomonospora*, *Streptosporangium*, *Thermoactinomyces* e *Verrucosisspora*, identificados como culturas raras ou não-*Streptomyces*, também demonstram capacidade de produzir bioativos antibióticos (Ngamcharungchit *et al.*, 2023).

Diante da diversidade de gêneros de actinobactérias capazes de produzir antibióticos, torna-se evidente o enorme potencial desses microrganismos como fonte de novos compostos bioativos. No entanto, grande parte dos estudos concentra-se em espécies de regiões bem exploradas, deixando ambientes extremos, como o semiárido nordestino, pouco investigados.

Considerando que condições ambientais adversas tendem a selecionar microrganismos com metabolismos únicos e potencial produtivo diferenciado, o isolamento de actinobactérias dessas regiões surge como uma estratégia promissora para a descoberta de novos antibióticos (Mohammadipanah & Wink, 2016).

**Gráfico 1** — Produção antibiótica entre diferentes microrganismos.



Fonte: Selim *et al.*, 2021 e Hong *et al.*, 2017.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Observar a atividade antimicrobiana de bioativos de cepas de actinobactérias e, por meio de técnicas laboratoriais, avaliar seu potencial biotecnológico.

### 3.2 Objetivos específicos

- Isolar cepas de actinobactérias do solo do semiárido nordestino;
- Realizar um *screening* para a atividade antimicrobiana por *cross-streak* das cepas contra patógenos selecionados;
- Fermentação das cepas positivas com dois tratamentos diferentes para obtenção dos caldos enriquecidos com a substância antimicrobiana;
- Testagem da capacidade antimicrobiana dos fermentados através do método de difusão em poço.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Coleta de solo

Para a coleta, foram utilizadas imagens de satélite que mapearam o parque e, com base nesses dados, delimitaram-se as áreas de amostragem. Dentro das delimitações, foram marcados quatro transectos distintos, de acordo com o uso do solo na área delimitada, sendo eles: Agricultura, Secundário, Conservado e Preservado. Sendo solos de Agricultura aqueles antropizados, onde ocorreram cultivos; Secundários, solos de antropização em recuperação; Conservados, solos que possuem manejo humano, mas de forma controlada e sustentável, e por fim, Preservados, solos protegidos com ausência ou baixíssima atividade humana.

As amostras de solo utilizadas no estudo foram coletadas respectivamente em 3 e 13 julho de 2018 em duas áreas diferentes no entorno do PARNA Ubajara: uma amostra proveniente de solo secundário, nativo e de mata úmida, identificada como S88; e outra de solo agrícola, utilizado para o plantio de milho e feijão na região de mata seca, identificada como A64. As amostras foram armazenadas em sacos estéreis e encaminhadas ao LAMAB (Laboratório de Microbiologia Ambiental) do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará.

### 4.2 Isolamento e armazenamento

#### 4.2.1 Pré-tratamentos do solo

Com o objetivo de enriquecer a diversidade de gêneros de actinobactérias e suprimir a microbiota contaminante, as amostras de solo foram submetidas a uma sequência de três pré-tratamentos físicos. Esta abordagem visa reduzir populações de bactérias Gram-negativas, fungos e espécies convencionais de *Streptomyces*, que frequentemente dominam em protocolos de isolamento padrão (Kumar; Jadeja, 2016).

O primeiro pré-tratamento consistiu na exposição de suspensões de solo à radiação ultravioleta (UV) por 15 minutos. Este método é eficaz na eliminação de células vegetativas sensíveis, como a maioria das bactérias Gram-negativas (ex.: *Escherichia coli*), devido aos danos causados ao DNA durante a replicação. Actinobactérias, particularmente as formadoras de esporos, exibem maior resistência a esse tratamento, atribuída a mecanismos de proteção celular e a sistemas de reparo de DNA mais eficientes (Wahisaka *et al.*, 1982).

O segundo pré-tratamento envolveu o aquecimento de amostras de solo seco em estufa a 65°C por 20 minutos. Esta etapa termosselativa tem como finalidade a inativação de células vegetativas termossensíveis, promovendo simultaneamente a seleção de esporos termorresistentes, uma característica prevalente em diversos gêneros de actinobactérias (Cross, 1989).

O terceiro pré-tratamento constituiu-se na centrifugação de suspensões de solo a 1000 × g por 10 minutos. A centrifugação diferencial em baixa velocidade permite a sedimentação de propágulos densos, como os esporos de *Streptomyces*. Contudo, propágulos de actinobactérias raras, como os esporos únicos e menos densos de *Micromonospora*, tendem a permanecer no sobrenadante, permitindo seu posterior isolamento seletivo e contribuindo para o aumento da diversidade recuperada (Wakisaka *et al.*, 1982).

#### 4.2.2 Isolamento das Actinobactérias

Para o isolamento de actinobactérias, procedeu-se com a preparação de uma suspensão inicial a partir de 10 g de cada amostra de solo (já submetida aos pré-tratamentos supracitados) e 90 mL de solução salina estéril a 0,85%. A partir desta suspensão-mãe, foram realizadas diluições seriadas (1:10), transferindo-se alíquotas de 1 mL da diluição anterior para 9 mL de solução salina estéril, até se obter a diluição 10<sup>-4</sup>, conforme protocolo estabelecido para a dispersão da microbiota do solo (Kumar; Jadeja, 2016).

O plaqueamento foi realizado em duplicata para cada diluição, totalizando oito placas por amostra de solo. A inoculação consistiu no depósito de 100 µL de cada diluição na superfície do meio de cultura Ágar de Isolamento para Actinobactérias (Tabela 2), seguido de espalhamento homogêneo com alça de Drigalski estéril (Shirling; Gottlieb, 1966). Para suprimir o crescimento de fungos filamentosos, o meio foi suplementado com o antifúngico nistatina na concentração de 100 µg/mL, um procedimento padrão em protocolos de isolamento de actinobactérias (Wakisaka *et al.*, 1982). As placas foram incubadas em estufa BOD a 28°C por um período de 14 dias, tempo necessário para o desenvolvimento completo de colônias de actinobactérias de crescimento lento.

Após o período de incubação, realizou-se a triagem das placas. Foram descartadas aquelas que apresentavam crescimento bacteriano excessivo ou confluyente, o que inviabilizava o isolamento de culturas puras. A coleta foi direcionada para placas com densidade moderada e colônias bem isoladas e dispersas.

A seleção das cepas foi baseada em critérios morfológicos e fenotípicos, priorizando-se colônias com características distintivas, tais como: produção de pigmentos difusíveis ou constitutivos, morfologia colonial típica de actinobactérias (seca, áspera e filamentosa), e evidência de atividade antagônica (halos de inibição) ou enzimática (halos de clarificação) no meio de cultura (Williams; Cross, 1971). Este processo de triagem resultou no isolamento de 16 cepas, que foram codificadas como Actinobactéria de Ubajara (AU) e incorporadas à coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAB).

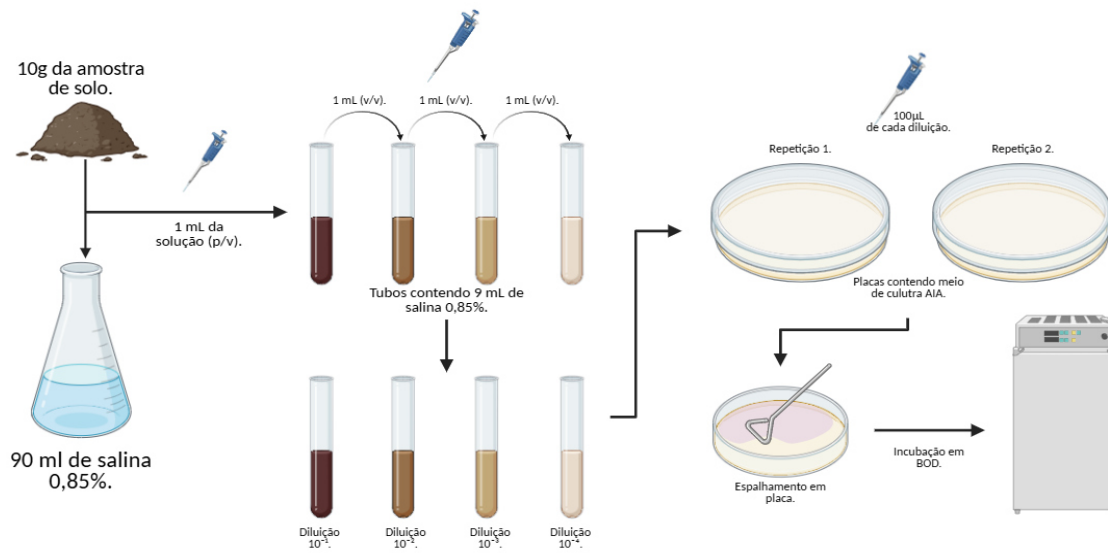
**Tabela 2** — Composição do meio de cultura Ágar de Isolamento de Actinobactérias (AIA).

MEIO AIA - pH 7,0	
Asparagina	1g
Glicerol	10g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,1g
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,001g
NaNO <sub>3</sub>	2g
dH <sub>2</sub> O	1000 ml

Ágar	15 g
------	------

Fonte: Adaptado de Waksman, S.A. (1950).

**Figura 3** — Fluxograma do processo de preparo das diluições e inoculação em placa.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

#### 4.2.3 Armazenagem das cepas

As cepas selecionadas foram submetidas a um protocolo de purificação e preservação para garantir sua viabilidade e estabilidade genética para estudos futuros. Inicialmente, as colônias foram purificadas por repicagem sucessiva em Ágar Dextrose-Caseína (Tabela 3) seguido de incubação em estufa BOD a 28°C por 14 dias (Shirling; Gottlieb, 1966).

Para a formação de uma coleção de cepas e obtenção de inóculos padronizados, as linhagens purificadas foram transferidas para o meio ISP-2 (Tabela 4). Este meio é reconhecido por seu alto valor nutricional, que estimula um crescimento vigoroso e a esporulação da maioria das actinobactérias, conforme estabelecido pelo projeto internacional de caracterização destes microrganismos (Shirling; Gottlieb, 1966). As culturas foram incubadas nas mesmas condições por 14 dias.

Após a esporulação, procedeu-se com a colheita do material. Adicionou-se 2 mL de solução salina estéril (0,85%) suplementada com 100 µL do agente surfactante Tween 80 a cada placa. A solução foi distribuída homogeneamente sobre a superfície colonial com auxílio de alça de Drigalski estéril, promovendo a liberação dos esporos aderidos ao micélio aéreo

(Williams; Cross, 1971). A suspensão resultante foi pipetada e transferida para microtubos de centrífuga.

Os microtubos foram submetidos à centrifugação a  $12.000 \times g$  por 12 minutos para sedimentação dos esporos. O sobrenadante foi descartado e o pellet foi submetido a três ciclos de lavagem com solução salina 0,85% para remover resíduos de metabólitos e nutrientes do meio de cultura (Kieser *et al.*, 2000). O material final foi ressuspensão em solução de glicerol a 50% (v/v) e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . A criopreservação em glicerol é um método consolidado para a manutenção da viabilidade celular a longo prazo, conforme demonstrado por Howard (1956) em estudos fundamentais sobre preservação bacteriana, onde a adição de glicerol previne a formação de cristais de gelo intracelulares letais durante o congelamento.

**Tabela 3** — Composição do meio de cultura *Casein Dextrose Ágar* (CDA).

<b>MEIO CDA - pH 6,6</b>	
Caseína	0,2g
Dextrose	2g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,2g
FeSO <sub>4</sub>	0,01g
Nistatina	2ml
dH <sub>2</sub> O	1000ml
Ágar	15 g

Fonte: Adaptado de Kuster; William (1964).

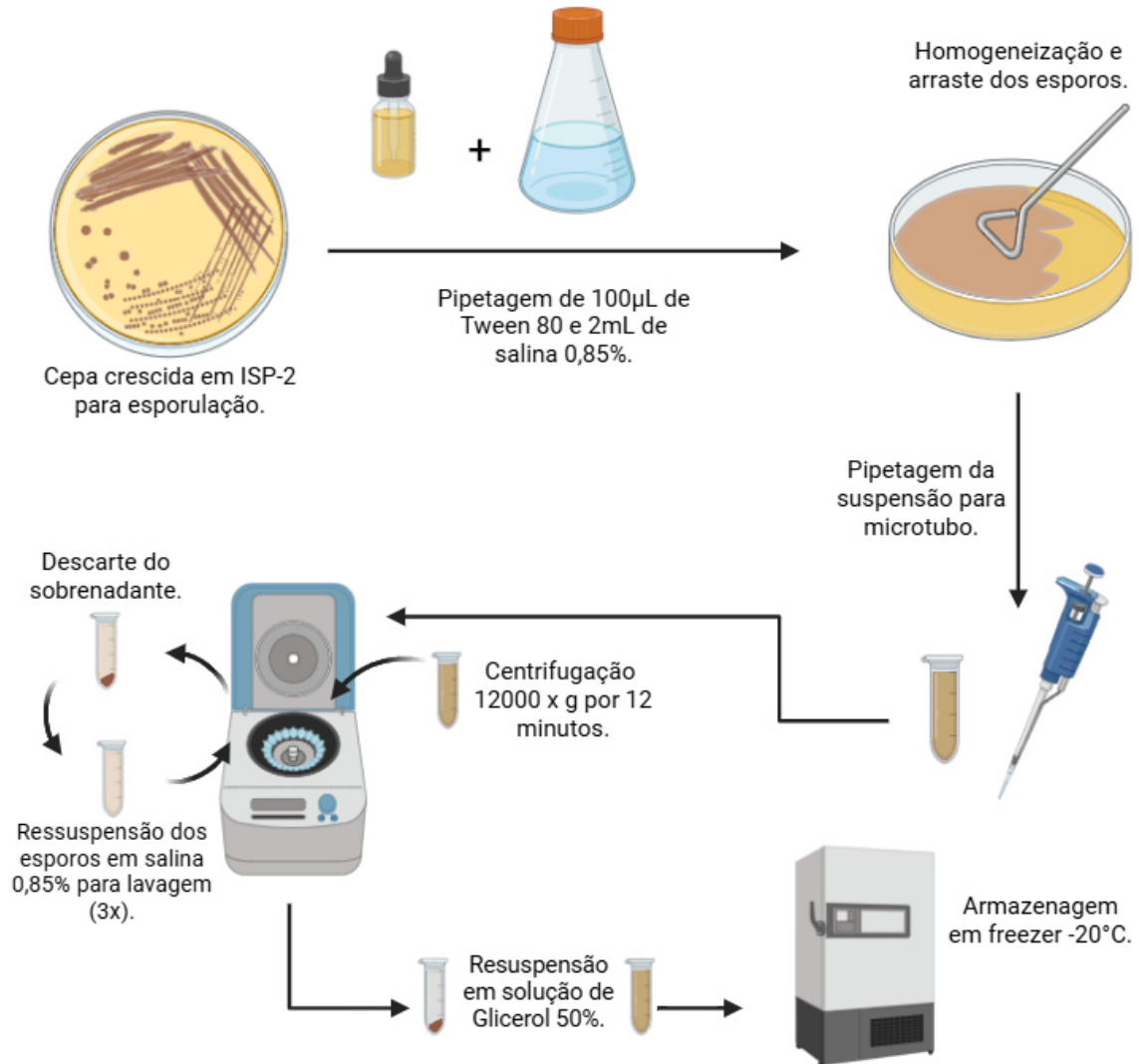
**Tabela 4** — Composição do meio de cultura *Internacional Streptomyces Program 2* (ISP-2).

<b>MEIO ISP-2 - pH 7,2</b>	
Extrato de levedura	4g
Extrato de malte	10g
Dextrose	4g

dH <sub>2</sub> O	1000 ml
Ágar	15 g

Fonte: Shirling & Gottlieb (1966).

**Figura 4** — Fluxograma do processo de preparo das cepas para armazenamento.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

### 4.3 Caracterização cultural

#### 4.3.1 Caracterização macromorfológica

A macro caracterização foi realizada por meio da observação das cores do micélio

aéreo e do micélio vegetativo (reverso) das 16 cepas isoladas (Shirling; Gottlieb, 1966), com o objetivo de avaliar suas características morfológicas e a formação de micélio em diferentes meios de cultura. Foram selecionados três meios de cultura: CDA, SCA e Bennett (Atlas, R.M. 2010), os quais possuem fontes de nutrições principais distintas: dextrose, amido e extrato de levedura, respectivamente.

As 16 cepas de actinobactérias foram inoculadas e incubadas em cada um dos meios em BOD, a 28°C por 14 dias. Após o período de crescimento, as colônias foram observadas sob lupa, e suas características morfológicas foram registradas com base na escala de cores disponível no site RAL Color (Tresner; Backus, 1963).

**Tabela 5** — Composição do meio de cultura *Starch Casein Agar* (SCA).

<b>MEIO SCA - pH 7,0</b>	
Amido solúvel	10g
Caseína	0,3g
KNO <sub>3</sub>	2g
NaCl	2g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2g
CaCO <sub>3</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,05g
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,01g
dH <sub>2</sub> O	1000 ml
Ágar	15 g

Fonte: Adaptado de Kuster; William (1964).

**Tabela 6** — Composição do meio de cultura Bennett.

<b>MEIO Bennett - pH 7,0</b>	
Glucose	10g
Extrato de levedura	2g

Extrato de carne	1g
Peptona	2g
dH <sub>2</sub> O	1000 ml
Ágar	15 g

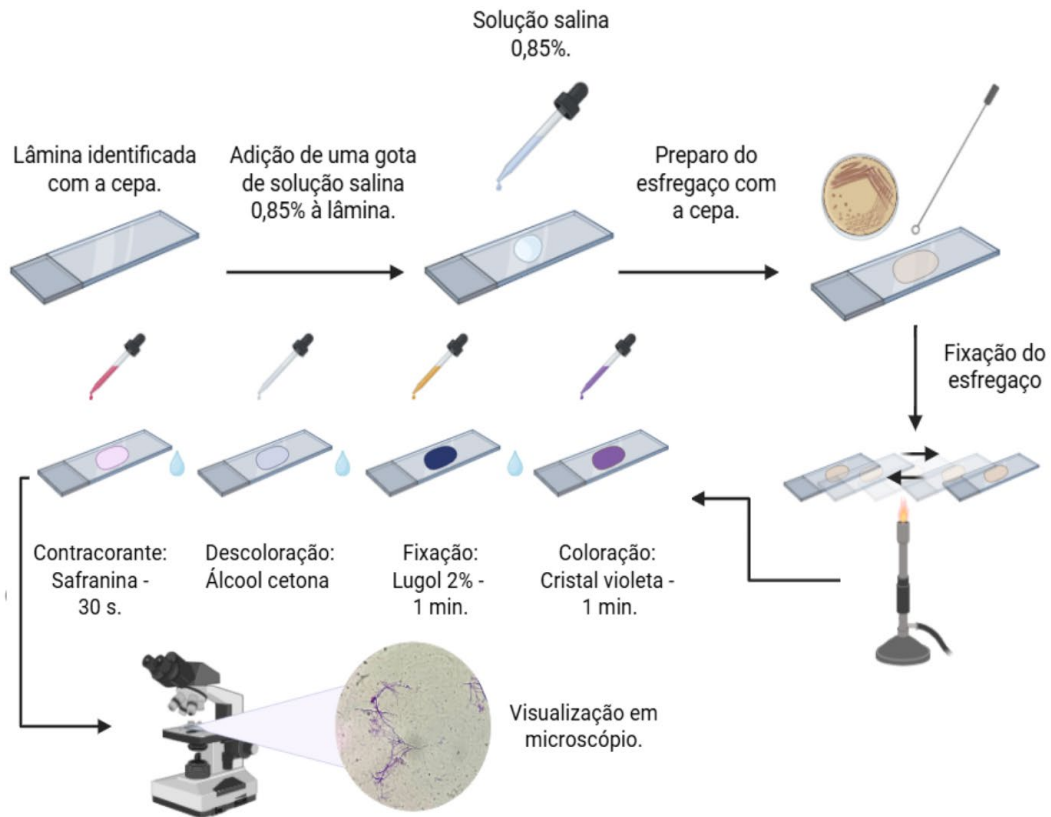
Fonte: Ait Assou *et al.* (2025).

#### 4.3.2 Coloração de Gram

As cepas selecionadas foram cultivadas em meio CDA e suas colônias foram fixadas em esfregaços para coloração. Para a preparação do esfregaço, foram utilizados 10 µL de solução salina 0,85% sobre uma lâmina de microscópio previamente identificada. Com o auxílio de uma alça de inoculação estéril, o micélio aéreo das bactérias foi coletado suavemente para minimizar danos à sua estrutura e homogeneizado levemente com a solução salina na lâmina. A suspensão foi fixada por passagens rápidas da lâmina sobre a chama de um bico de Bunsen (Tortora; Funke; Case, 2017).

Após a fixação, procedeu-se à coloração de Gram. Inicialmente, aplicou-se cristal violeta por 1 minuto para fixação do corante. Em seguida, a lâmina foi lavada com água destilada e a solução mordente de Lugol a 2% foi adicionada por mais 1 minuto, promovendo a fixação do cristal violeta na camada de peptidoglicano das bactérias Gram-positivas. Após nova lavagem, utilizou-se álcool-acetona como agente descolorante, removendo a coloração das bactérias Gram-negativas. Os resíduos do álcool foram eliminados por lavagem e o contracorante safranina foi aplicado por 30 segundos, corando as bactérias que foram descoloridas no passo anterior. Por fim, realizou-se uma última lavagem e a lâmina foi seca para visualização em microscópio (Carroll, 2019).

**Figura 5** — Fluxograma do processo de coloração de Gram.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

#### 4.3.3 Microcultivo

O microcultivo em câmara foi empregado como técnica para a observação detalhada das estruturas morfológicas de actinobactérias, seguindo adaptações de metodologias consagradas para fungos filamentosos (Durrell, 1968; Smith, 1991). Este método permite a visualização *in situ* do desenvolvimento de hifas e estruturas de esporulação, sendo fundamental para a identificação preliminar de gêneros.

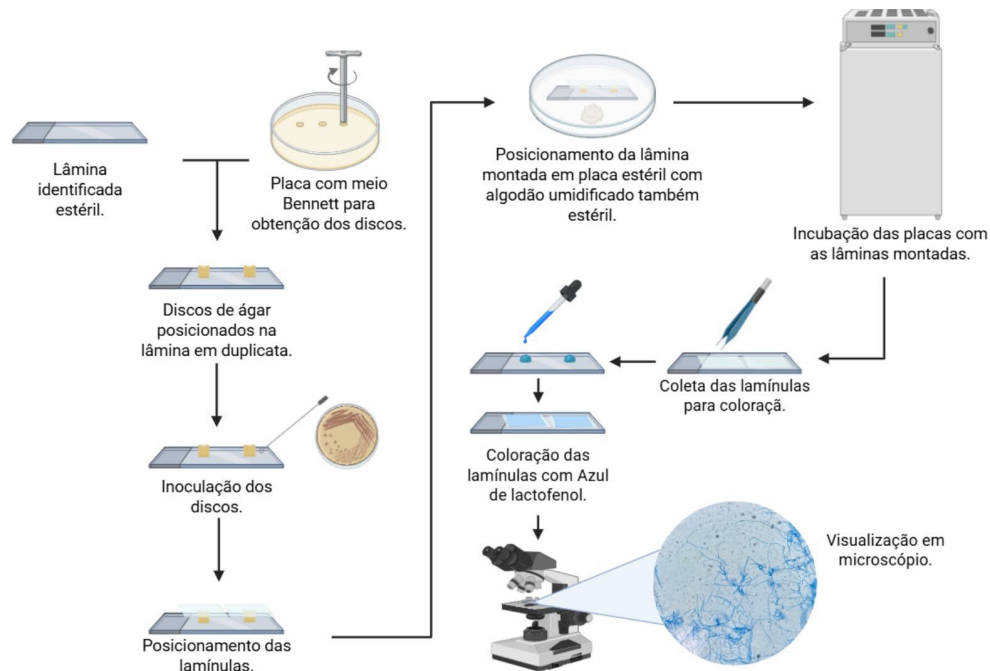
Para a execução da técnica, preparou-se o meio de cultura Bennett, que foi plaqueado e, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur de vidro estéril, foram obtidos discos circulares do ágar. Estes discos foram transferidos cuidadosamente para lâminas de microscópio estéreis, sendo posicionados dois discos por lâmina para realização do teste em duplicata. Após o posicionamento dos discos, as culturas bacterianas foram inoculadas nas laterais dos mesmos utilizando alça de inoculação estéril, conforme descrito por Williams e Cross (1971) para actinomicetos. Finalmente, lamínulas esterilizadas foram posicionadas sobre os discos inoculados.

As lâminas preparadas foram acondicionadas em placas de Petri estéreis contendo algodão umedecido com água esteril, criando uma câmara úmida para manutenção da umidade durante a incubação em BOD a 28°C por 7 dias (Shirling; Gottlieb, 1966).

Após o período de incubação, as lamínulas que exibiam as impressões das estruturas de crescimento das actinobactérias foram cuidadosamente coletadas e montadas sobre novas lâminas de microscópio identificadas, utilizando azul de lactofenol como meio de contraste para facilitar a visualização microscópica das estruturas celulares (Locci, 1989).

Com as lamínulas devidamente posicionadas e fixadas após secagem, procedeu-se à observação das estruturas morfológicas em microscópio óptico, com posterior identificação do gênero com base em atlas microbiológicos de referência (Atlas, 2022; Williams; Cross, 1971).

**Figura 6** — Fluxograma do processo de microcultivo.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

#### 4.4 Cross-Streak

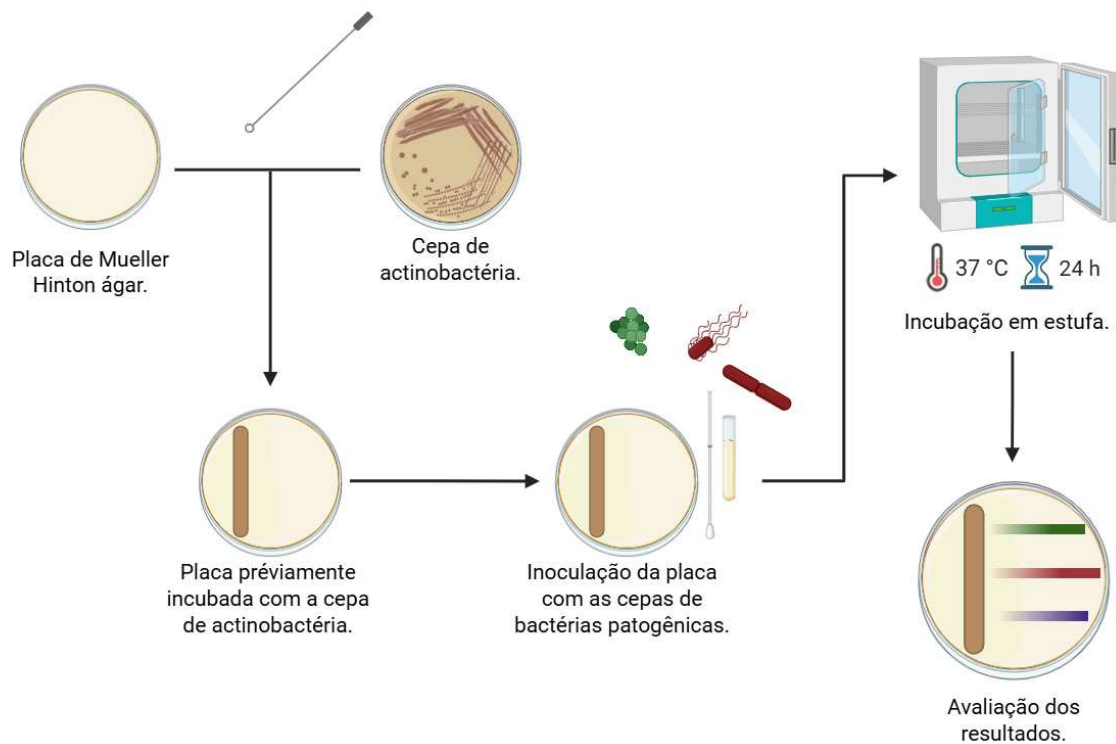
O teste de antagonismo pelo método *cross-streak* foi conduzido para avaliar a capacidade das actinobactérias em inibir o crescimento de patógenos de interesse clínico. A técnica foi executada conforme adaptado de métodos previamente estabelecidos para a triagem de atividade antimicrobiana (Balouiri; Sadiki; Ibsouda, 2016).

Inicialmente, preparou-se placas de Petri com Ágar Mueller Hinton solidificado. Em uma das extremidades da placa, cada actinobactéria foi inoculada através de uma estria vertical única ("*streak*"). As placas foram incubadas em estufa BOD a 28°C por 7 dias, visando permitir o estabelecimento prévio do isolado e a possível produção de metabólitos inibitórios no meio, uma adaptação necessária devido ao crescimento tipicamente mais lento das actinobactérias quando comparado aos patógenos bacterianos de crescimento rápido (SHIRLING; GOTTLIEB, 1966).

Após o período de pré-cultivo, as placas contendo o desenvolvimento das actinobactérias foram reinoculadas perpendicularmente com as cepas patogênicas padrão - *S. aureus* (ATCC 25923), *S. enterica* (ATCC 14028) e *K. pneumoniae* (ATCC 10031). A inoculação dos patógenos foi realizada em estrias horizontais, partindo da extremidade oposta à linha de crescimento da actinobactéria em direção a ela, formando um ponto de cruzamento ("*cross*"). Esta configuração permite a observação de um gradiente de interação entre microrganismos (Okudoh; Wallis, 2007). Finalmente, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, temperatura ótima para o crescimento dos patógenos.

A leitura dos resultados baseou-se na observação da inibição do crescimento dos patógenos nas proximidades da estria da actinobactéria. Um resultado foi considerado positivo quando observada uma zona clara de inibição (halo) no ponto de cruzamento ou ao longo do caminho do patógeno em direção à actinobactéria.

**Figura 7** — Fluxograma do processo de *cross-streak*.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

## 4.5 Fermentação

### 4.5.1 Fermentação convencional

Para a produção de metabólitos secundários pelos isolados que testaram positivo ao teste de *cross-streak*, empregou-se o protocolo de fermentação em meio líquido, adaptado de metodologias estabelecidas para o cultivo de actinobactérias (Kieser *et al.*, 2000). Inicialmente, preparou-se uma suspensão de esporos, conforme descrito no tópico 4.2.3, para padronização do inóculo. Para tal, a suspensão de esporos foi coletada e diluída 50 vezes em solução salina 0,85% estéril, sendo subsequentemente submetida à leitura de densidade óptica (DO) a 600 nm em espectrofotômetro, para obtenção do valor de referência da suspensão concentrada. Com base nesse dado, calculou-se o fator de diluição necessário para o preparo de um inóculo padronizado a DO 0,5.

Adicionou-se 100  $\mu$ L deste inóculo padronizado a 5 mL de caldo Mueller Hinton, constituindo o pré-inóculo, o qual foi incubado a 28°C por 4 dias sob agitação de 200 rpm. Esta etapa visa assegurar a adaptação celular e o crescimento ativo da cultura. Finalmente, o

pré-inóculo foi transferido na íntegra para um erlenmeyer estéril de 500 mL contendo 120 mL de caldo Mueller Hinton, totalizando um volume final de 125 mL. O cultivo foi incubado a 28°C por 14 dias sob agitação constante de 200 rpm, permitindo a produção de metabólitos secundários (Okudoh; Wallis, 2007).

#### **4.5.2 Fermentação com co-cultivo**

Com o intuito de investigar a potencial indução da produção de metabólitos antimicrobianos em condições de competição microbiana, foi realizado um protocolo de fermentação em co-cultivo, seguindo a premissa de que interações bióticas podem modular o metabolismo microbiano (Van Der Meij *et al.*, 2017). O procedimento básico de fermentação, conforme descrito no item 3.5.1, foi mantido para as actinobactérias. Contudo, no sétimo dia de incubação, adicionou-se 5 mL de um pré-inóculo padronizado da cepa indutora *S. enterica* aos erlenmeyers. A padronização deste pré-inóculo seguiu a mesma metodologia anterior, resultando em uma suspensão com DO ajustada para 0,5. Os frascos de co-cultivo foram então reincubados a 37°C por mais sete dias, sob agitação de 200 rpm em agitador orbital, temperatura esta que é ideal para o crescimento do patógeno e para a interação competitiva entre os microrganismos.

#### **4.6 Difusão em poço**

O potencial antimicrobiano dos metabólitos secundários solúveis presentes nos caldos fermentados foi avaliado por meio do teste de difusão em poço, seguindo metodologia padronizada com adaptações (Balouiri; Sadiki; Ibnsouda, 2016). O ensaio foi realizado em Ágar Mueller-Hinton, utilizando-se duas concentrações distintas do agente gelificante (1,5% e 1,2%) para investigar se há a influência da densidade da matriz de ágar na taxa de difusão dos compostos bioativos (Lennette *et al.*, 1985).

Após a solidificação do meio, as placas de Petri foram inoculadas por espalhamento superficial com 100 µL de uma suspensão bacteriana padronizada de cada patógeno (*S. aureus*, *S. enterica* e *K. pneumoniae*), ajustada para densidade óptica de 0,1 a 600 nm (equivalente à escala 0,5 de McFarland), conforme descrito no tópico 3.5.1. A distribuição uniforme do inóculo foi garantida com o auxílio de alça de Drigalski estéril.

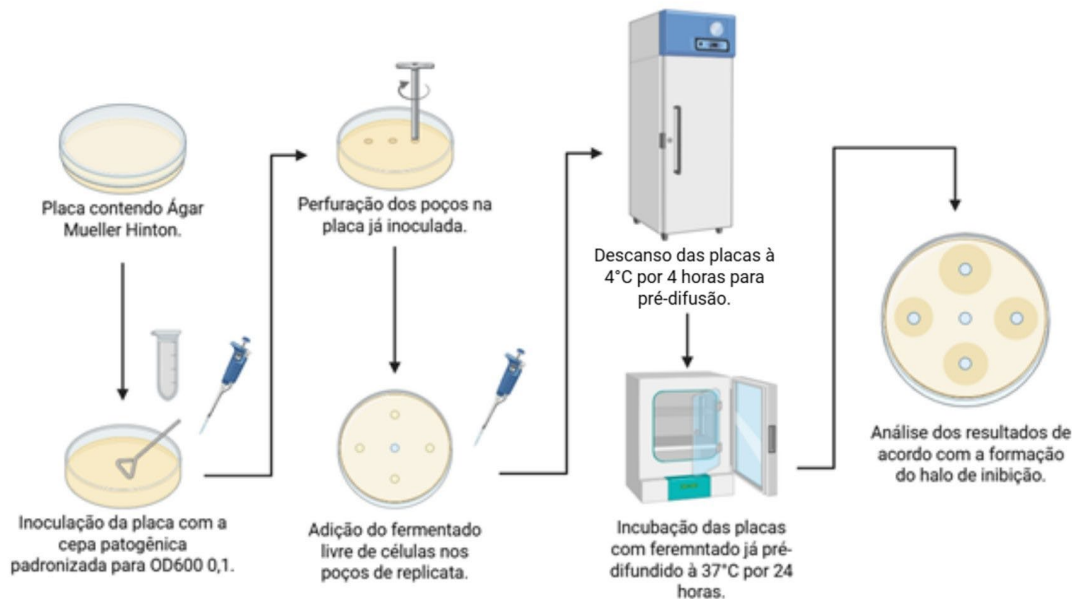
Em seguida, realizou-se a perfuração do ágar para a criação dos poços, cujo número total correspondeu às repetições de cada tratamento, incluindo uma repetição adicional para o

controle negativo (caldo de cultivo estéril). Os poços foram confeccionados com ponteiras de pipeta estéreis, padronizados com diâmetro de 6 mm.

Posteriormente, adicionou-se alíquotas de 100  $\mu$ L do sobrenadante livre de células, obtido pela centrifugação do caldo fermentado a  $9.500 \times g$  por 15 minutos, em cada poço, conforme procedimento descrito por Okudoh e Wallis (2007) para a obtenção de extratos livres de células. As placas foram mantidas sob refrigeração (4°C) por 4 horas para permitir a pré-difusão dos metabólitos no ágar antes do início do crescimento bacteriano. Finalmente, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, temperatura ótima para o desenvolvimento dos patógenos testados.

A atividade antimicrobiana foi determinada pela mensuração do diâmetro dos halos de inibição formados ao redor dos poços, considerando-se apenas halos superiores a 6 mm (diâmetro do poço) como resultado positivo.

**Figura 8** — Fluxograma do processo de preparo e avaliação do teste de difusão em poço.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Isolamento de actinobactérias

O conjunto de técnicas utilizadas para afinamento das amostras de solo em relação às actinobactérias e a utilização de um meio de cultura seletivo suplementado com agentes antifúngicos teve um resultado significativo na aparição de diferentes cepas de actinobactérias na cultura mista plaqueada das diluições seriadas realizadas, sendo as diluições D3 e D4 as que se destacaram por resultarem em cepas diferenciadas e uma densidade bacteriana satisfatória.

**Tabela 7** — Tabela contendo informações sobre o isolamento de cada cepa de actinobactéria.

<b>CEPA</b>	<b>SOLO</b>	<b>DILUIÇÃO</b>	<b>REPETIÇÃO</b>
AU-1	S88	-3	1
AU-2	S88	-3	1
AU-3	S88	-4	1
AU-4	S88	-3	2
AU-5	S88	-3	2
AU-6	S88	-4	2
AU-7	S88	-4	2
AU-8	S88	-3	2
AU-9	A64	-2	2
AU-10	A64	-3	2
AU-11	A64	-3	2
AU-12	A64	-2	2
AU-13	A64	-4	2
AU-14	A64	-3	1
AU-15	A64	-3	1
AU-16	A64	-4	1

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

## 5.2 Caracterização cultural

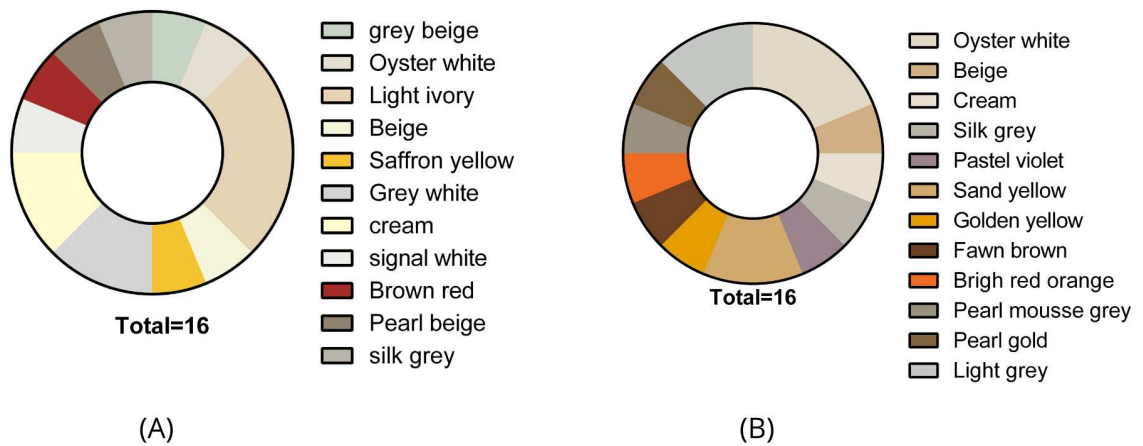
### 5.2.1 Caracterização macromorfológica

O crescimento das actinobactérias variou significativamente entre os meios de cultura testados. Observou-se um desenvolvimento mais lento nos ágaros Amido-Caseína (SCA) e Dextrose-Caseína (CDA), com o aparecimento de colônias visíveis somente após 6 a 7 dias de incubação. Em contraste, no meio Bennett, as colônias tornaram-se visíveis em um período significativamente menor, de 2 a 4 dias. Essa disparidade pode ser atribuída à natureza dos nutrientes disponíveis em cada meio. Enquanto os meios SCA e CDA contêm fontes de carbono complexas, como amido e caseína, que exigem a produção de enzimas extracelulares para sua hidrólise, o meio Bennett é composto por nutrientes prontamente assimiláveis, como extrato de levedura e extrato de carne, que são facilmente metabolizados, resultando em um crescimento mais rápido (Shomura *et al.*, 2019). Esse resultado corrobora estudos que demonstram a influência da fonte de carbono na cinética de crescimento bacteriano (Jonsbu; Mcintyre; Nielsen, 2002).

Além das diferenças na velocidade de crescimento, a morfologia colonial e a pigmentação variaram conforme o meio de cultura. A avaliação cromática utilizando a tabela RAL revelou que a coloração *light ivory* se destacou por estar presente em todos os tratamentos. A cepa UA-1 exibiu a maior variabilidade na coloração do micélio reverso entre os meios, enquanto as cepas UA-2, UA-8 e UA-11 mantiveram suas características morfocromáticas mais estáveis, com apenas variações sutis de tonalidade. A produção de pigmentos solúveis no meio também foi distinta: cepas como UA-1, UA-7 e UA-12 produziram pigmentos intensos no meio CDA; UA-3, UA-4, UA-5, UA-7, UA-9 e UA-13 no meio SCA; e UA-3, UA-4, UA-5 e UA-13 no meio Bennett. Tais variações na pigmentação são indicativas de uma regulação diferencial das vias metabólicas em resposta aos componentes do meio, um fenômeno amplamente documentado em actinobactérias. Essas vias metabólicas estão frequentemente associadas à biossíntese de metabólitos secundários, como antibióticos, compostos fenólicos, quinonas, melaninas e outros pigmentos bioativos, cuja produção pode desempenhar diferentes funções ecológicas e fisiológicas. Entre essas funções destacam-se a proteção contra estresses ambientais (como radiação UV e estresse oxidativo), a competição microbiana, por meio da inibição de microrganismos competidores, e a adaptação metabólica às fontes de carbono e nitrogênio disponíveis no meio. Assim, a diversidade de perfis de pigmentação observada sugere não apenas diferenças fenotípicas

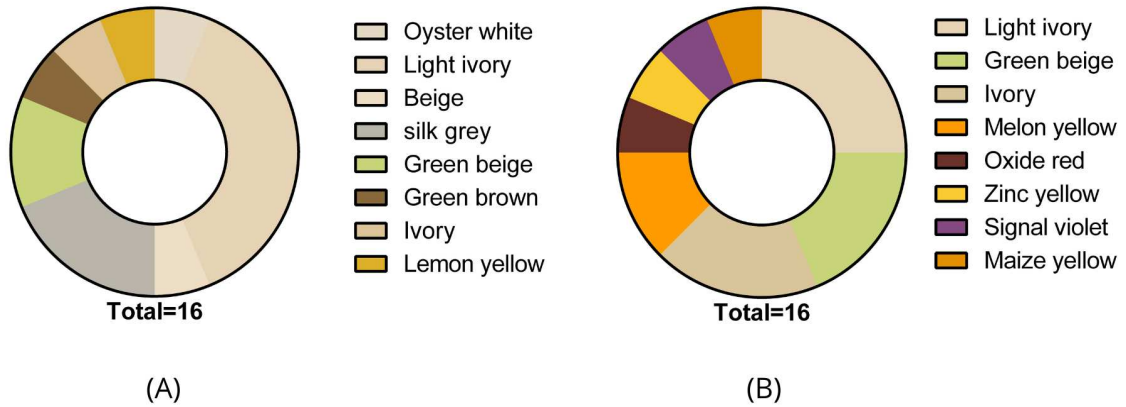
entre as cepas, mas também um potencial metabólico distinto, possivelmente relacionado à produção de compostos de interesse biotecnológico. (Ser *et al.*, 2016; Selim *et al.*, 2021).

**Gráfico 2** — Esquema da ocorrência de cores em relação ao micélio aéreo (A) e vegetativo (B) das cepas crescidas em CDA.



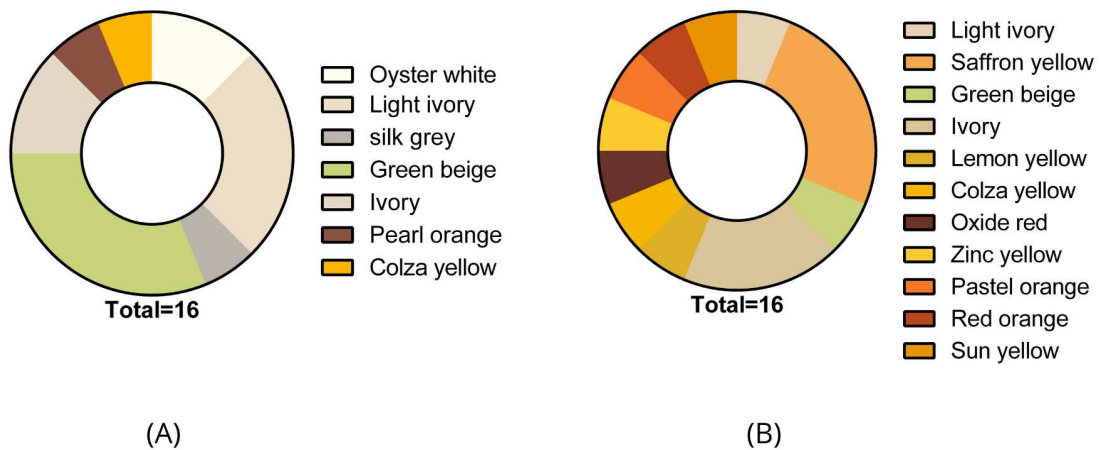
Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

**Gráfico 3** — Esquema da ocorrência de cores em relação ao micélio aéreo (A) e vegetativo (B) das cepas crescidas em SCA.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

**Gráfico 4** — Esquema da ocorrência de cores em relação ao micélio aéreo (A) e vegetativo (B) das cepas crescidas em Bennett.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

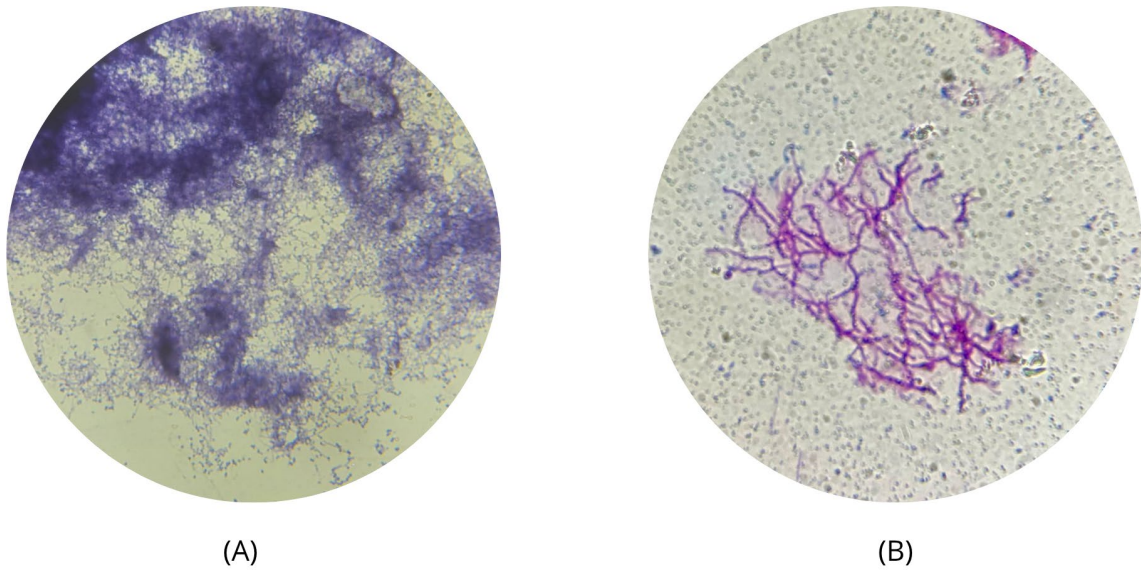
### **5.2.2 Coloração de Gram**

As actinobactérias são classificadas como bactérias Gram-positivas devido à presença de uma espessa camada de peptidoglicano em sua parede celular, que teoricamente retém o corante cristal violeta, resultando na coloração roxa característica (Tortora; Funke; Case, 2016). No entanto, a complexidade estrutural da parede celular desses microrganismos pode comprometer a precisão do método, gerando resultados incongruentes.

Conforme destacado por Goodfellow e Williams (1983), a coloração de Gram foi originalmente desenvolvida para bactérias de morfologia simples e apresenta aplicação limitada em actinobactérias. Células jovens em crescimento ativo frequentemente retêm o cristal violeta de forma eficaz, corando-se como Gram-positivas. Por outro lado, células em estágios avançados de desenvolvimento ou em processo de esporulação – frequentemente denominadas “células velhas” – podem exibir uma parede celular modificada, com maior conteúdo de lipídios complexos, o que impede a retenção adequada do corante primário (Stackebrandt; Rainey; Ward-rainey, 1997). Como resultado, essas células podem ser descoradas durante o processo e adquirir a coloração vermelha/rosa do contracorante safranina, apresentando um fenômeno conhecido como “Gram-variável” (Berd, 1973).

A técnica pode ser aplicada, mas não é tida como confiável. Resultados de actinobactérias Gram-positivas e suas versões relativas podem ser observadas na figura 9.

**Figura 9** — Coloração de actinobactéria Gram-positiva (A) e coloração de actinobactéria “Gram-variável” (B).

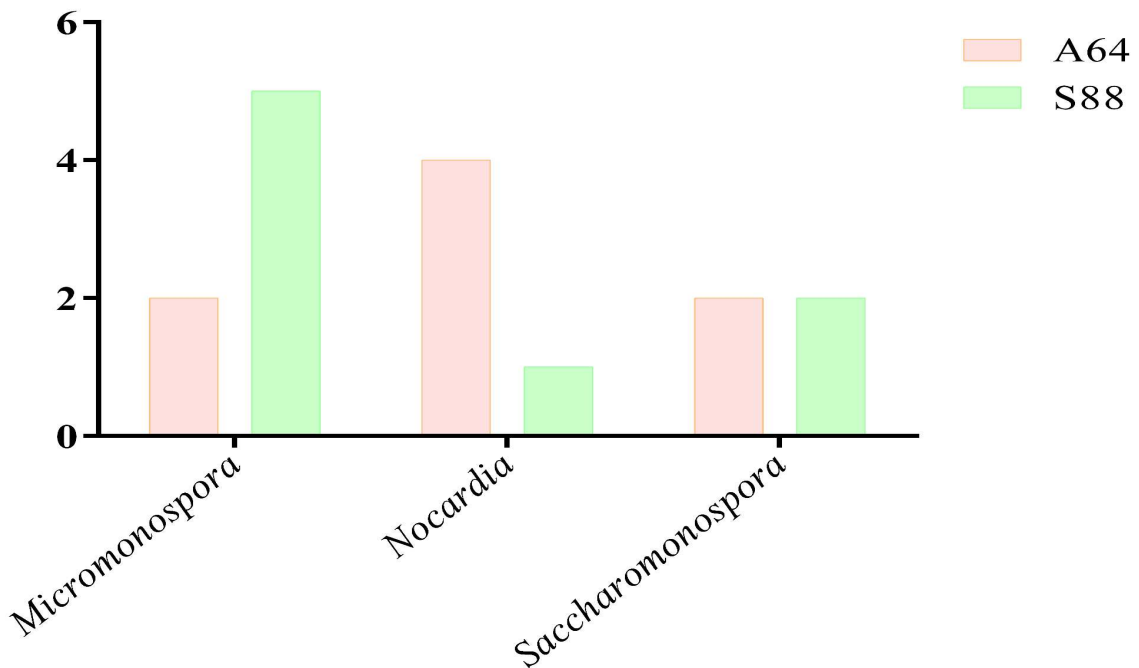


Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

### 5.2.3 *Microcultivo*

Com base na comparação das características morfológicas observadas nas 16 cepas de actinobactérias isoladas com imagens de referência disponíveis em obras consagradas da literatura, como o "Atlas of Actinomycetes" (Atlas, 2022), foi possível inferir a provável identidade de três gêneros entre os isolados. O conjunto de técnicas de pré-tratamento aplicado para suprimir o crescimento de *Streptomyces* mostrou-se eficaz, uma vez que esse gênero não foi detectado entre as cepas isoladas, confirmando a seletividade do protocolo utilizado.

**Gráfico 5** — Ocorrência dos possíveis gêneros deduzidos por microcultivo nos solos de isolamento A64 (mata seca) e S88 (mata úmida).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

Com base na análise de 16 cepas de actinobactérias isoladas, observou-se a seguinte distribuição: o gênero *Micromonospora* foi o mais predominante, representando 7 isolados (43,75%), sendo 2 originários de solo agrícola e 5 de solo preservado (secundário). Esse gênero é reconhecido por sua resistência e adaptabilidade a condições adversas, atuando como um especialista na degradação de material orgânico complexo em solos maduros e ecológicamente equilibrados (Goodfellow; Williams, 1983; Genilloud, 2015).

Em seguida, o gênero *Nocardia* representou 5 isolados (31,25%), com 4 provenientes de solo agrícola e apenas 1 de solo preservado. Diferente de gêneros especialistas como *Micromonospora*, as *Nocardia* são consideradas oportunistas, adaptando-se preferencialmente a ambientes enriquecidos com nutrientes de fácil acesso, como os solos agrícolas. Sua capacidade de degradar compostos recalcitrantes, incluindo hidrocarbonetos e pesticidas, explica sua maior prevalência nesses ambientes (Bennur *et al.*, 2015).

O gênero *Saccharomonospora* foi representado por 4 isolados (25,00%), distribuídos igualmente entre os dois tipos de solo. Embora comumente associada a ambientes agrícolas onde a decomposição de matéria orgânica gera calor, sua presença em solos preservados pode ser atribuída à formação de microhabitats termais temporários, como em pilhas de folhas em decomposição, e à sua notável termotolerância (Cross, 1968; Lacey, 1968).

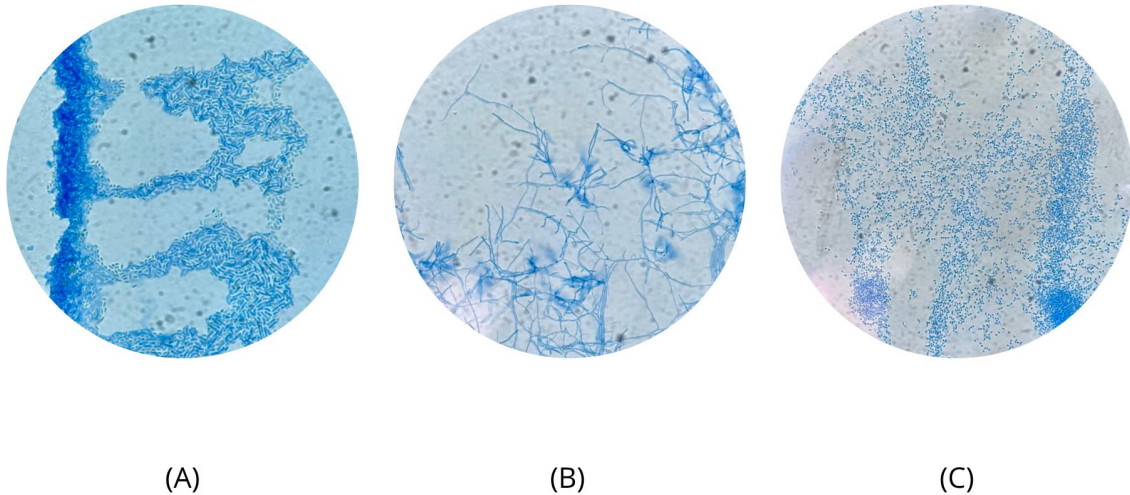
Embora o tamanho amostral limitado não permita generalizações robustas, os padrões observados estão alinhados com estudos prévios, reforçando a influência do tipo de manejo do solo na estruturação das comunidades de actinobactérias.

**Tabela 8** — Tabela contendo informações sobre o gênero deduzido de cada cepa de actinobactéria.

<b>Cepa</b>	<b>Amostra de solo</b>	<b>Gênero deduzido</b>
AU 1	S88	<i>Micromonospora</i>
AU 2	S88	<i>Micromonospora</i>
AU 3	S88	<i>Micromonospora</i>
AU 4	S88	<i>Micromonospora</i>
AU 5	S88	<i>Nocardia</i>
AU 6	S88	<i>Saccharomonospora</i>
AU 7	S88	<i>Micromonospora</i>
AU 8	S88	<i>Saccharomonospora</i>
AU 9	A64	<i>Nocardia</i>
AU 10	A64	<i>Micromonospora</i>
AU 11	A64	<i>Saccharomonospora</i>
AU 12	A64	<i>Nocardia</i>
AU 13	A64	<i>Nocardia</i>
AU 14	A64	<i>Nocardia</i>
AU 15	A64	<i>Saccharomonospora</i>
AU 16	A64	<i>Micromonospora</i>

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

**Figura 10** — Exemplos dos possíveis gêneros deduzidos de actinobactérias por microcultivo. *Micromonospora* (A); *Nocardia* (B) e *Saccharomonospora* (C).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

### 5.3 Cross-streak

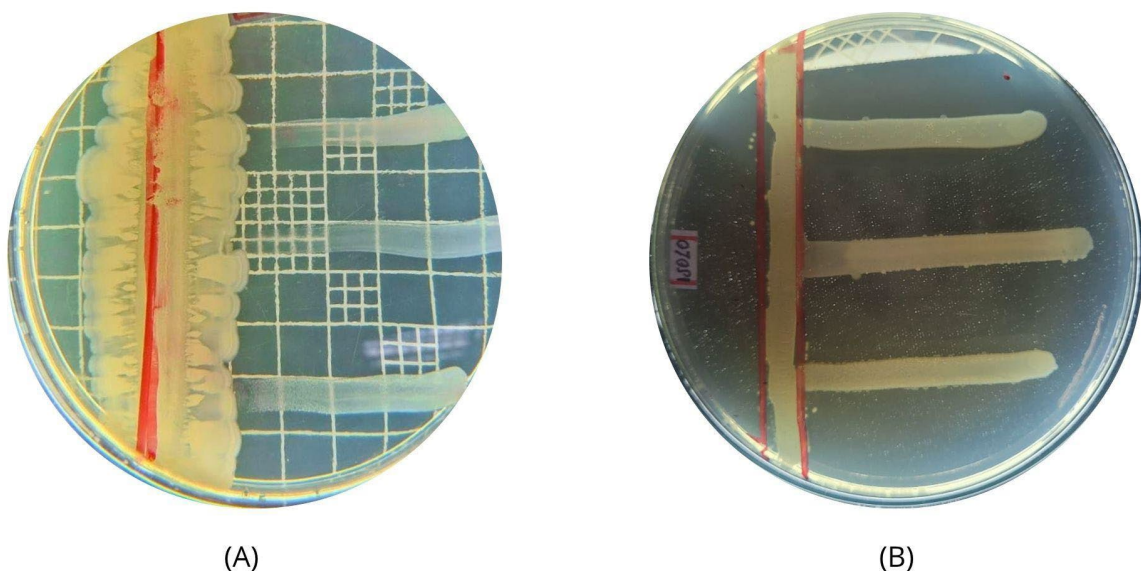
O ensaio de antagonismo *in vitro* pelo método de *cross-streak* foi utilizado para avaliar a interação competitiva entre as cepas isoladas de actinobactérias e microrganismos-teste, permitindo a observação direta de mecanismos de competição microbiana, como a inibição do crescimento, a produção de metabólitos antagonistas e a ocupação preferencial do espaço e dos nutrientes disponíveis no meio de cultivo. Nessa técnica, o crescimento da actinobactéria é inicialmente favorecido, estabelecendo-se primeiramente no meio de cultura. Em muitos casos, isso confere uma posição de dominância, que posteriormente é contestada pelo desenvolvimento rápido de cepas patogênicas, criando um cenário dinâmico de competição (Schulz; Boyle, 2006).

O teste simula um ambiente confinado com disponibilidade limitada de nutrientes. Quando o patógeno é inoculado e entra em contato com a actinobactéria previamente estabelecida, esta pode desencadear diversas respostas antagônicas. A produção de metabólitos secundários com atividade antimicrobiana é uma característica marcante desse grupo bacteriano (Bérdy, 2005). No entanto, frequentemente, a produção desses compostos não é apenas constitutiva, mas sim regulada por mecanismos genéticos específicos, ativados

pela detecção de sinais de competição ou pela presença do competidor, um fenômeno relacionado a sistemas de quorum sensing e regulação gênica diferencial (Van Der Meij *et al.*, 2017). Dessa forma, metabólitos inibitórios podem ser liberados de maneira direcionada, suprimindo o crescimento do patógeno e resultando em um resultado positivo no teste de antagonismo.

A aplicação da metodologia é extremamente eficaz, uma vez que permite a observação direta de cepas com potencial, como pode ser exemplificado na figura 11.

**Figura 11** — Teste positivo para inibição (A) e teste negativo para inibição (B) por *cross-streak*.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

O meio de cultura Mueller-Hinton é amplamente utilizado em testes de antagonismo microbiano devido à sua composição, que favorece o crescimento de uma ampla variedade de bactérias e permite uma difusão satisfatória da maioria dos metabólitos no ágar (CLSI, 2023). No entanto, é crucial reconhecer que a produção de metabólitos secundários por actinobactérias é altamente influenciada pelas condições do meio de cultura. Existem formulações específicas, como o ágar ISP-2, que são otimizadas para induzir a produção de compostos bioativos específicos nesse grupo bacteriano (Shomura *et al.*, 2019).

A padronização de meios para testes de antagonismo demanda investigação aprofundada, pois a concentração e a natureza dos metabólitos produzidos variam

significativamente de acordo com a composição do meio (Van Der Meij *et al.*, 2017). Outro desafio reside na compatibilidade do meio com ambos os microrganismos: algumas formulações que estimulam a produção de antimicrobianos pelas actinobactérias podem, simultaneamente, inibir o crescimento das cepas patogênicas alvo. Essa inibição do crescimento do patógeno, que não é necessariamente causada por um metabólito antagônico, pode levar à interpretação de falsos positivos, comprometendo a confiabilidade do ensaio (Schulz; Boyle, 2006).

Com isso em mente, a padronização para a utilização do meio Mueller Hinton no teste foi adotada, tendo embasamento na literatura para esse tipo de *screening*, resultando nos dados amostrados na tabela 9.

**Tabela 9** — Conjunto de dados positivos (+) e negativos (-) das cepas de actinobactérias contra *S. aureus*, *S. enterica* e *K. pneumoniae* por cross-streak.

CEPA	<i>S. aureus</i>	<i>S. enterica</i>	<i>K. pneumoniae</i>
AU-1	-	+	-
AU-2	-	+	-
AU-3	-	-	-
AU-4	-	-	-
AU-5	-	-	-
AU-6	-	-	-
AU-7	-	-	-
AU-8	+	+	+
AU-9	-	-	-
AU-10	-	-	-
AU-11	+	+	-
AU-12	-	-	-

AU-13	-	-	-
AU-14	-	-	-
AU-15	-	-	-
AU-16	-	-	-

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

Dentre um total de 16 cepas de actinobactérias isoladas, 4 (25%) demonstraram atividade antagônica contra pelo menos um dos três patógenos testados. O perfil de inibição revelou que *S. enterica* foi o microrganismo mais suscetível, seguido por *S. aureus* e, por último, *K. pneumoniae*. A cepa identificada como AU-8 destacou-se por apresentar ação inibitória contra todos os patógenos alvo, enquanto a cepa AU-11 inibiu *S. enterica* e *S. aureus*, mas não *K. pneumoniae*.

De acordo com os dados de identificação (Tabela 8), os gêneros *Micromonospora* e *Saccharomonospora* foram os únicos que apresentaram atividade inibitória no screening primário. Desses, três isolados eram provenientes da área secundária e úmida do parque, e apenas um era originário da área seca de agricultura.

A presença de gêneros como *Micromonospora* é comumente associada a solos consolidados e ecologicamente estáveis, por se tratarem de microrganismos especialistas. Esses organismos apresentam elevada adaptação a nichos específicos, com metabolismo voltado à utilização eficiente de substratos complexos e recalcitrantes, além de crescimento geralmente mais lento quando comparado a microrganismos generalistas. Tal especialização metabólica favorece sua persistência em ambientes com baixa disponibilidade de nutrientes facilmente assimiláveis, contribuindo para processos como a ciclagem de matéria orgânica e a manutenção da estabilidade funcional do solo (Ra *et al.*, 2021). No contexto da área secundária do parque, isso indica que, apesar do histórico de antropização, o solo já se encontra em um estágio avançado de regeneração e com uma microbiota característica de vegetação estabelecida, o que converge com a política de conservação da unidade.

A maior frequência de isolados com atividade antibiótica na área secundária pode ser interpretada considerando que estes microrganismos, em sua maioria especialistas, atuam em um ambiente de intensa competição por recursos (Sapkota *et al.*, 2020). Nesse cenário, a capacidade de produzir compostos antimicrobianos configura uma vantagem seletiva crucial para a sobrevivência e estabelecimento de nichos (Liu *et al.*, 2025).

Por outro lado, a menor ocorrência de exemplares inibidores na área de agricultura sustenta a premissa de que solos manejados, com alta disponibilidade de nutrições de fácil assimilação devido à adubação, podem selecionar uma microbiota menos competitiva (Liu *et al.*, 2025). Nesses ambientes, a pressão seletiva para a produção de antibióticos é reduzida, embora ainda seja possível isolar linhagens com essa capacidade, como observado com a *Saccharomonospora*, um gênero conhecido por sua versatilidade metabólica e potencial de produção de compostos bioativos mesmo em ambientes alterados (Kim *et al.*, 2022).

Embora possuam suas discrepâncias em relação às origens das bactérias que os geraram esses resultados, de modo geral, são considerados promissores, uma vez que a inibição de patógenos de relevância clínica e alimentar sugere o potencial dessas actinobactérias para a produção de novos metabólitos secundários com atividade antimicrobiana (Bérdy, 2005). A descoberta de novos compostos naturais é de extrema importância, tendo em vista o contexto atual de crescente resistência antimicrobiana (OMS, 2025).

É importante salientar que a técnica de *cross-streak*, embora valiosa para triagem inicial e seleção de cepas, possui limitações inerentes. O método é comumente realizado em meios de cultura de uso geral, como o Ágar Mueller-Hinton, que, apesar de permitir boa difusão de metabólitos, pode não ser o ideal para induzir a expressão de vias biossintéticas específicas em actinobactérias (Van Der Meij *et al.*, 2017). Consequentemente, o potencial antagônico de algumas cepas pode ser subestimado, mascarado pela composição não seletiva do meio. Esta limitação reforça a necessidade de investigações complementares, empregando uma gama diversificada de meios de cultura para maximizar a expressão e detecção de compostos bioativos (Genilloud, 2017). Estudos demonstram que meios com diferentes fontes e proporções de carbono e nitrogênio, como ISP-2, ISP-3, ISP-4, Bennett, SCA, CDA e meios suplementados com precursores metabólicos ou sais específicos, podem ativar conjuntos distintos de Clusters de Genes Biossintéticos (CGBs), resultando na produção diferencial de antibióticos, pigmentos e outros metabólitos secundários. Essa abordagem, frequentemente denominada estratégia “*one strain–many compounds*” (OSMAC), tem se mostrado eficaz para ampliar a detecção do potencial biossintético oculto de actinobactérias (Loarer *et al.*, 2023).

## 5.4 Fermentação

A fermentação em meio líquido foi conduzida com o objetivo de investigar a capacidade de produção de metabólitos secundários solúveis pelas actinobactérias que

demonstraram atividade antagônica prévia no teste de *cross-streak* (cepas AU-1, AU-2, AU-8 e AU-11). A técnica de co-inoculação foi adotada para avaliar a possível ativação de mecanismos específicos de competição, os quais podem induzir a liberação de compostos inibidores no meio de cultura em resposta à presença de um competidor (Azzollini *et al.*, 2018). Tendo em vista que *S. enterica* foi o único patógeno inibido por todas as cepas de actinobactérias testadas, este foi selecionado como o indutor na etapa de co-cultivo.

De modo geral, os caldos fermentados, tanto em cultivo axênico quanto em co-inoculação, não apresentaram diferenças macroscópicas notáveis, como alterações drásticas de turbidez ou formação de precipitados. Entretanto, uma observação relevante foi registrada para a cepa AU-8. Durante a fermentação em cultivo puro por 14 dias, esta cepa produziu uma pigmentação característica no caldo. Quando submetida à co-inoculação com *S. enterica* a partir do sétimo dia de incubação, a coloração do caldo manteve-se estável, apresentando a mesma tonalidade observada no início do co-cultivo até o 14º dia. A estabilização da pigmentação na presença do patógeno pode indicar uma interação microbiana, onde a presença do competidor potencialmente influencia o metabolismo da actinobactéria, afetando a produção ou a degradação do pigmento. A produção de pigmentos por actinobactérias está frequentemente associada à síntese de metabólitos secundários de interesse biotecnológico, e suas alterações em condições de estresse ou competição são alvo de investigação (Ser *et al.*, 2016).

## 5.5 Difusão em poço

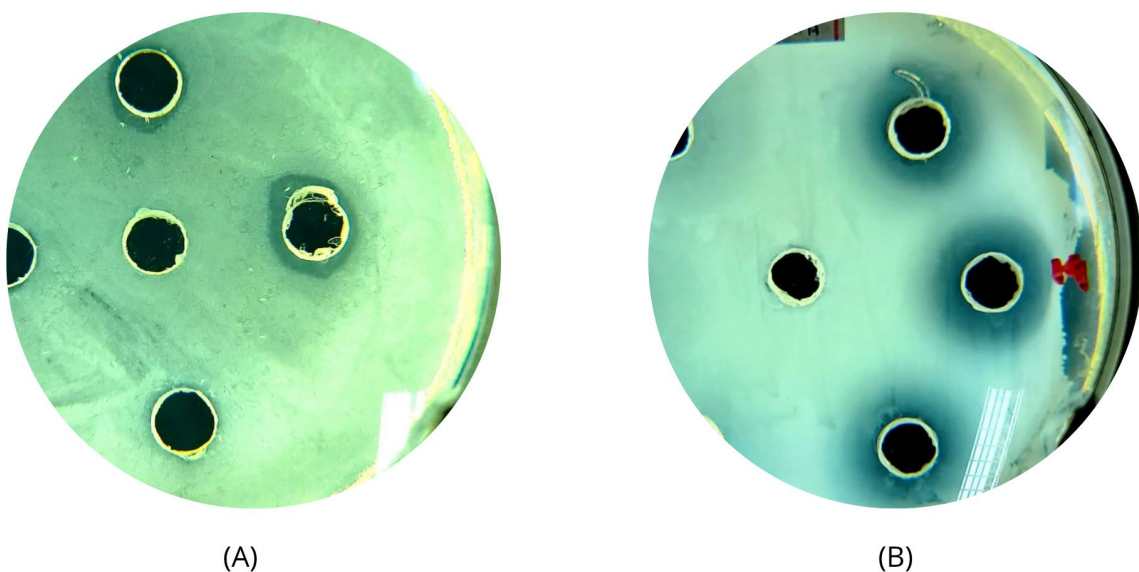
O teste de difusão em poço foi empregado para avaliar a presença de metabólitos antimicrobianos solúveis nos caldos fermentados e subsequentemente centrifugados. De modo geral, os resultados obtidos foram promissores, embora tenham sido observadas discrepâncias significativas entre o potencial antagônico demonstrado no teste de *cross-streak* e a atividade nos caldos fermentados. As cepas AU-1 e AU-11, que previamente inibiram *S. enterica* (e *S. aureus* no caso da AU-11) no teste em ágar, não formaram halos de inibição no teste de difusão com o caldo fermentado. Essa divergência pode ser atribuída a diferenças fundamentais nas condições de cultivo, uma vez que a fermentação em meio líquido proporciona estímulos físico-químicos distintos (agitação, aeração, disponibilidade de nutrientes) em comparação com o cultivo sólido, podendo levar à ativação ou repressão de vias biossintéticas específicas em diferentes linhagens (Van Der Meij *et al.*, 2017).

Em contrapartida, a cepa AU-2, que no teste inicial havia inibido apenas *S. enterica*,

demonstrou, através do seu caldo fermentado livre de células, atividade inibitória expandida contra *S. aureus* e *K. pneumoniae*. Este resultado sugere que as condições de fermentação líquida foram mais favoráveis para a produção e/ou liberação dos compostos antimicrobianos por esta linhagem. A cepa AU-8 manteve seu perfil de amplo espectro, com o caldo fermentado inibindo todos os patógenos testados, confirmando seu consistente potencial antagônico.

A concentração do ágar no meio Mueller Hinton mostrou-se um fator crítico para a visualização da atividade. Halos de inibição maiores foram consistentemente observados no meio com 1,2% de ágar em comparação com o de 1,5%. Este fenômeno é explicado pela física da difusão: meios de gelificação menos concentrados formam uma matriz com poros maiores e menos densa, o que reduz a resistência e facilita a difusão das moléculas ativas, resultando em halos mais amplos. Meios mais concentrados (ex.: 1,5% de ágar) criam uma rede mais densa que restringe a difusão, particularmente de moléculas, aumentando o arrasto hidrodinâmico e reduzindo o diâmetro do halo (Lennette *et al.*, 1985). O fato de halos maiores terem sido formados no ágar a 1,2% sugere que os metabólitos antimicrobianos produzidos são provavelmente moléculas de baixo a médio peso molecular, as quais possuem um alto coeficiente de difusão e são mais sensíveis às variações na viscosidade do meio. A discrepância do tamanho dos halos pode ser observada na figura 12.

**Figura 12**— Formação de halo no teste de difusão em poço da cepa AU-2 contra *S. aureus* em concentração de ágar 1,5% (A) e 1,2% (B).



## 6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Este trabalho demonstrou que o bioma único do semiárido nordestino abriga uma diversidade de actinobactérias com potencial biotecnológico para a produção de antimicrobianos. Conclui-se que esse potencial pode ser otimizado mediante abordagens estratégicas, com destaque para a fermentação em co-cultivo, que se mostrou eficaz na indução da síntese de compostos bioativos.

Os resultados validam a viabilidade de investigações mais aprofundadas, particularmente no que tange à influência de diferentes composições de meios de cultura na regulação metabólica. A padronização de condições de cultivo específicas representa uma frente crucial para maximizar o rendimento dos compostos de interesse. Destaca-se ainda a etapa subsequente e fundamental de purificação e identificação estrutural dos metabólitos ativos, empregando técnicas analíticas avançadas para elucidar as substâncias responsáveis pela ação antibiótica.

Cepas como AU-2 e AU-8, deduzidas respectivamente como *Micromonospora* e *Saccharomonospora* (Tabela 8), se apresentaram como linhagens particularmente promissoras, tendo a AU-2 demonstrado notável ampliação do seu espectro de ação sob estresse competitivo. Este achado sugere que a aplicação de técnicas de indução microbiana pode revelar potencial antimicrobiano latente em outras cepas do conjunto de isolados, abrindo uma perspectiva investigativa robusta. A confirmação desse potencial, especialmente em um bioma singular, corrobora a premissa inicial deste estudo e reforça a importância da prospecção microbiana em ambientes brasileiros. Portanto, os resultados aqui apresentados não apenas validam o potencial das actinobactérias do semiárido, mas também fornecem um roteiro valioso para etapas futuras de bioprospecção e descoberta de novos fármacos.

## REFERÊNCIAS

A ELKHATEEB, Waill. Marine Actinomycetes the Past, the Present and the Future. **Open Access Journal Of Pharmaceutical Research**, [S.L.], v. 5, n. 2, p. 1-7, 2021. Medwin Publishers. <http://dx.doi.org/10.23880/oajpr-16000241>.

ABDEL-RAZIK, Mahmoud A.; AZMY, Ahmed F.; DISHISHA, Tarek; EL-GENDY, Ahmed O.; AFZAN, Adlin; KAMAL, Nurkhalida; TAWFIKE, Ahmed; SEBAK, Mohamed. Screening of Red Sea- and Mediterranean Sea-derived Actinomycetes for Antimicrobial and Antitumor activities: lc-esi-hrms-based metabolomics study. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 1-21, 18 jun. 2025. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12934-025-02759-0>.

ADELUOLA, Adeoluwa A.; BOSOMTWE, Nana; LONG, Timothy e; AMIN, A. R. M. Ruhul. Context-dependent activation of p53 target genes and induction of apoptosis by actinomycin D in aerodigestive tract cancers. **Apoptosis**, [S.L.], v. 27, n. 5-6, p. 342-353, 10 mar. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10495-022-01720-5>.

ALAM, Khorshed; MAZUMDER, Arpita; SIKDAR, Suranjana; ZHAO, Yi-Ming; HAO, Jinfang; SONG, Chaoyi; WANG, Yanyan; SARKAR, Rajib; ISLAM, Saiful; ZHANG, Youming. Streptomyces: the biofactory of secondary metabolites. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 13, p. 1-21, 29 set. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.968053>.

ALVAREZ, Diana M.; BARRÓN-MONTENEGRO, Rocío; CONEJEROS, José; RIVERA, Dácil; UNDURRAGA, Eduardo A.; MORENO-SWITT, Andrea I.. A review of the global emergence of multidrug-resistant Salmonella enterica subsp. enterica Serovar Infantis. **International Journal Of Food Microbiology**, [S.L.], v. 403, p. 110297, out. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110297>.

ARASU, Mariadhas Valan; AL-DHABI, Naif Abdullah; SARITHA, Valsalam; DURAIANDIYAN, Veeramuthu; MUTHUKUMAR, Chinnasamy; KIM, Sun-Ju. Antifeedant, larvicidal and growth inhibitory bioactivities of novel polyketide metabolite isolated from Streptomyces sp. AP-123 against Helicoverpa armigera and Spodoptera litura. **Bmc Microbiology**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 105, 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-13-105>.

ARAUJO, Vilma Terezinha de. O entorno do parque nacional de Ubajara-Ce: caracterização socioambiental do Distrito de Araticum, Fortaleza – CE, 2008. 128 f. : Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós – Graduação, PRODEMA - Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente, Fortaleza-CE, 2008

ASSOU, Soumia Ait; ANISSI, Jaouad; DUFOSSÉ, Laurent; FOUILLAUD, Mireille; HASSOUNI, Mohammed El. Inducing and Enhancing Antimicrobial Activity of Mining-Soil-Derived Actinomycetes Through Component Modification of Bennett's Culture Medium. **Microbiology Research**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 72, 22 mar. 2025. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microbiolres16040072>.

ATLAS, Ronald M. **Handbook of Microbiological Media**. 4. ed. Boca Raton: Crc Press, 2010. 2040 p.

AZZOLLINI, Antonio; BOGGIA, Lorenzo; BOCCARD, Julien; SGORBINI, Barbara; LECOULTRE, Nicole; ALLARD, Pierre-Marie; RUBIOLO, Patrizia; RUDAZ, Serge; GINDRO, Katia; BICCHI, Carlo. Dynamics of Metabolite Induction in Fungal Co-cultures by Metabolomics at Both Volatile and Non-volatile Levels. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 9, p. 1-12, 5 fev. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.00072>.

BALOUIRI, Mounyr; SADIKI, Moulay; IBNSOUDA, Saad Koraichi. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. **Journal Of Pharmaceutical Analysis**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 71-79, abr. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.

BARKA, Essaid Ait; VATSA, Parul; SANCHEZ, Lisa; GAVEAU-VAILLANT, Nathalie; JACQUARD, Cedric; KLENK, Hans-Peter; CLÉMENT, Christophe; OUHDOUCH, Yder; VAN WEZEL, Gilles P.. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, [S.L.], v. 80, n. 1, p. 1-43, mar. 2016. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mubr.00019-15>.

BENNUR, Tahsin; KUMAR, Ameeta Ravi; ZINJARDE, Smita; JAVDEKAR, Vaishali. Nocardiosis species: incidence, ecological roles and adaptations. **Microbiological Research**, [S.L.], v. 174, p. 33-47, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2015.03.010>.

BERD, D. **Laboratory Identification of Clinically Important Aerobic Actinomycetes**. Applied Microbiology, v. 25, n. 4, p. 665-681, 1973.

BÉRDY, J. **Bioactive microbial metabolites**. The Journal of Antibiotics, v. 58, n. 1, p. 1–26, 2005. DOI: 10.1038/ja.2005.1.

BLAIR, Jessica M. A.; WEBBER, Mark A.; BAYLAY, Alison J.; OGBOLU, David O.; PIDDOCK, Laura J. V.. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 42-51, 1 dez. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro3380>.

BORDA-DE-SÁ, M. M. **Actinobacteria: características gerais e importância biotecnológica**. Revista de Biotecnologia & Ciência, v. 5, n. 2, p. 45-60, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Relatório de resistência microbiana em serviços de saúde no Brasil**. Brasília: ANVISA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/servicosdesaude/prevencao-e-controle-de-infeccao/relatorios-de-resistencia-microbiana>.

BRENDA. **The Comprehensive Enzyme Information System**. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://www.brenda-enzymes.org/>.

BULL, A. T. **Microbial diversity and bioprospecting**. Washington, DC: ASM Press, 2004.

CALY, Leon; DRUCE, Julian D.; CATTON, Mike G.; JANS, David A.; WAGSTAFF, Kylie

M.. The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. **Antiviral Research**, [S.L.], v. 178, p. 104787, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104787>.

CARROLL, Karen Colleen; A PFALLER, Michael; MICROBIOLOGY, American Society For. **Manual of clinical microbiology**. 12. ed. United States: Washington, Dc : Asm Press, 2019. 2690 p. 2 v.

CHAMBERS, H. F.; DELEO, F. R. **Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era**. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n. 9, p. 629-641, 2009.

CIREȘĂ, Alexandra; TĂLĂPAN, Daniela; VASILE, Carmen-Cristina; POPESCU, Cristina; POPESCU, Gabriel-Adrian. Evolution of Antimicrobial Resistance in *Klebsiella pneumoniae* over 3 Years (2019–2021) in a Tertiary Hospital in Bucharest, Romania. **Antibiotics**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 431, 10 maio 2024. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics13050431>.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 33. ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023.

CROSS, T. **Growth and examination of actinomycetes—some guidelines**. In: WILLIAMS, S. T. et al. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1989. v. 4, p. 2340-2343.

CROSS, T. **The thermophilic actinomycetes**. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 31, n. 1, p. 36-53, 1968.

DAI, P.; HU, D. **Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a narrative review**. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, 2022.

DE SIMEIS, D.; SERRA, S. **Actinobacteria: a never-ending source of bioactive compounds—an overview on antibiotics production**. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 483, 2021.

DEVI, N.K. Asha; ., M. Jeyarani; ., K. Balakrishnan. Isolation and Identification of Marine Actinomycetes and their Potential in Antimicrobial Activity. **Pakistan Journal Of Biological Sciences**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 470-472, 15 jan. 2006. Science Alert. <http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2006.470.472>.

DIAB, Mohamed Khaled *et al.* Actinomycetes are a natural resource for sustainable pest control and safeguarding agriculture. **Archives Of Microbiology**, [S.L.], v. 206, n. 6, p. 1-18, 19 maio 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00203-024-03975-9>.

DURRELL, L. W. **The composition and structure of fungi**. In: *The fungi: an advanced treatise*. New York: Academic Press, 1968. v. 3, p. 505-525.

ELSHAFIE, Hazem S.; CAMELE, Ippolito. Rhizospheric Actinomycetes Revealed Antifungal and Plant-Growth-Promoting Activities under Controlled Environment. **Plants**, [S.L.], v. 11, n. 14, p. 1872, 18 jul. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/plants11141872>.

FARDSANEI, Fatemeh; DALLAL, Mohammad Mehdi Soltan; DOURAGHI, Masoumeh; MEMARIANI, Hamed; BAKHSHI, Bitá; SALEHI, Taghi Zahraei; NIKKHAHI, Farhad. Antimicrobial resistance, virulence genes and genetic relatedness of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates recovered from human gastroenteritis in Tehran, Iran. **Journal Of Global Antimicrobial Resistance**, [S.L.], v. 12, p. 220-226, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2017.10.005>.

FERRI, Maurizio; RANUCCI, Elena; ROMAGNOLI, Paola; GIACCONE, Valerio. Antimicrobial resistance: a global emerging threat to public health systems. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 57, n. 13, p. 2857-2876, 13 out. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2015.1077192>.

FIGUEIRA, Rita; HOLDEN, David W.. Functions of the *Salmonella* pathogenicity island 2 (SPI-2) type III secretion system effectors. **Microbiology**, [S.L.], v. 158, n. 5, p. 1147-1161, 1 maio 2012. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.058115-0>.

FOSTER, Timothy J.. Immune evasion by staphylococci. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 3, n. 12, p. 948-958, dez. 2005. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1289>.

FRIEDMAN, N.D.; TEMKIN, E.; CARMELI, Y.. The negative impact of antibiotic resistance. **Clinical Microbiology And Infection**, [S.L.], v. 22, n. 5, p. 416-422, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.002>.

GALÁN, Jorge E.. *Salmonella* Interactions with Host Cells: type iii secretion at work. **Annual Review Of Cell And Developmental Biology**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 53-86, nov. 2001. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.cellbio.17.1.53>.

GARDETE, Susana; TOMASZ, Alexander. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 124, n. 7, p. 2836-2840, 1 jul. 2014. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci68834>.

GENILLOU, Olga. Actinomycetes: still a source of novel antibiotics. **Natural Product Reports**, [S.L.], v. 34, n. 10, p. 1203-1232, 2017. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7np00026j>.

GENILLOU, Olga. Micromonospora. **Bergey'S Manual Of Systematics Of Archaea And Bacteria**, [S.L.], p. 1-28, 14 set. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00148>

GIRÃO, Mariana *et al.* Actinobacteria Isolated From *Laminaria ochroleuca*: a source of new bioactive compounds. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 10, p. 683-683, 9 abr. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.00683>.

GOLINSKA, Patrycja; WYPIJ, Magdalena; AGARKAR, Gauravi; RATHOD, Dnyaneshwar; DAHM, Hanna; RAI, Mahendra. Endophytic actinobacteria of medicinal plants: diversity and bioactivity. **Antonie van Leeuwenhoek**, [S.L.], v. 108, n. 2, p. 267-289, 21 jun. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10482-015-0502-7>. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0502-7>. Acesso em: 10 nov. 2025.

GOODFELLOW, M.; WILLIAMS, S. T. ECOLOGY OF ACTINOMYCETES. **Annual Review Of Microbiology**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 189-216, out. 1983. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.mi.37.100183.001201>.

GRAND VIEW RESEARCH. Enzymes **Market Size, Share & Trends Analysis Report**. [S. l.], 2023.

HAN, Yu-Ling; WEN, Xu-Hui; ZHAO, Wen; CAO, XI-Shan; WEN, Jian-Xun; WANG, Jun-Rui; HU, Zhi-De; ZHENG, Wen-Qi. Epidemiological characteristics and molecular evolution mechanisms of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 13, n. 1003783, p. 1-13, 12 set. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.1003783>.

HONG, Hui; SAMBORSKYY, Markiyan; USACHOVA, Katsiaryna; SCHNATZ, Katharina; LEADLAY, Peter F. Sulfation and amidinohydrolysis in the biosynthesis of giant linear polyenes. **Beilstein Journal Of Organic Chemistry**, [S.L.], v. 13, p. 2408-2415, 13 nov. 2017. Beilstein Institut. <http://dx.doi.org/10.3762/bjoc.13.238>.

HOWARD, Dexter H.. THE PRESERVATION OF BACTERIA BY FREEZING IN GLYCEROL BROTH,. **Journal Of Bacteriology**, [S.L.], v. 71, n. 5, p. 625-625, maio 1956. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jb.71.5.625-625.1956>.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Manual Técnico da Vegetação Brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2012.

ICMBIO - INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. **Parque Nacional de Ubajara**. 2023. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/portal/visitacao/1/unidades-abertas-a-visitacao/211-parque-nacional-de-ubajara..>

INSA - INSTITUTO NACIONAL DO SEMIÁRIDO. **O Semiárido Brasileiro**. Disponível em: <https://www.gov.br/insa/pt-br>.

JIN, Shan-Shan; WANG, Wei-Qin; JIANG, Yi-Han; YU, Yue-Tian; WANG, Rui-Lan. A Comprehensive Overview of *Klebsiella pneumoniae*: resistance dynamics, clinical manifestations, and therapeutic options. **Infection And Drug Resistance**, [S.L.], v. 18, p. 1611-1628, mar. 2025. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/idr.s502175>.

JONSBU, Einar; MCINTYRE, Mhairi; NIELSEN, Jens. The influence of carbon sources and morphology on nystatin production by *Streptomyces noursei*. **Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 95, n. 2, p. 133-144, maio 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1656\(02\)00003-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1656(02)00003-2).

KIESER, T.; BIBB, M. J.; CHATER, K. F.; BUTTER, M.; HOPWOOD, D.; BITTNER, M. L.; BUTTNER, M. J. Practical *Streptomyces* Genetics: A Laboratory Manual. Norwich: **The John Innes Foundation**, 2000.

KIM, Sohee; LE, Tu Cam; HAN, Sang-Ah; HILLMAN, Prima F.; HONG, Ahreum; HWANG, Sunghoon; DU, Young Eun; KIM, Hiyoung; OH, Dong-Chan; CHA, Sun-Shin.

Saccharobisindole, Neoasterric Methyl Ester, and 7-Chloro-4(1H)-quinolone: three new compounds isolated from the marine bacterium *saccharomonospora* sp.. **Marine Drugs**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 35, 29 dez. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/md20010035>.

KUMAR, Ravi Ranjan; JADEJA, Vasantba J.. Isolation of Actinomycetes: a complete approach. **International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences**, [S.L.], v. 5, n. 5, p. 606-618, 10 maio 2016. Excellent Publishers. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.505.062>.

LACEY, J.. The Microflora of Fodders Associated with Bovine Respiratory Disease. **Journal Of General Microbiology**, [S.L.], v. 51, n. 2, p. 173-177, 1 abr. 1968. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/00221287-51-2-173>.

LENNETTE, E. H. (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. 4. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1985.

LIU, Yi-Yun; WANG, Yang; WALSH, Timothy R; YI, Ling-Xian; ZHANG, Rong; SPENCER, James; DOI, Yohei; TIAN, Guobao; DONG, Baolei; HUANG, Xianhui. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 161-168, fev. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(15\)00424-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(15)00424-7).

LIU, Zishu; YAO, Xiangwu; CHEN, Chengyi; ZHAO, Yuxiang; DONG, Chifei; SUN, Lingtao; ZHAO, Junxian; ZHANG, Baofeng; YU, Zhendi; CHENG, Dongqing. Growth of microbes in competitive lifestyles promotes increased ARGs in soil microbiota: insights based on genetic traits. **Microbiome**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-17, 13 jan. 2025. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40168-024-02005-6>.

LOARER, Alexandre Le; DUFOSSÉ, Laurent; BIGNON, Jérôme; FRÉDÉRICH, Michel; LEDOUX, Allison; FOUILLAUD, Mireille; GAUVIN-BIALECKI, Anne. OSMAC Method to Assess Impact of Culture Parameters on Metabolomic Diversity and Biological Activity of Marine-Derived Actinobacteria. **Marine Drugs**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 23, 28 dez. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/md22010023>.

LOCCI, R. Streptomycetes and related genera. In: WILLIAMS, S. T. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore, MD: Williams and Wilkins Company, 1989. p. 2451-2469.

MALAK, Hesham A.; ABULREESH, Hussein H.; ORGANJI, Sameer R.; ELBANNA, Khaled; SHAABAN, Mohammed R.; SAMREEN; AHMAD, Iqbal; SHAMI, Ashwag; ALSHEHRI, Wafa A.; KHALEL, Ashjan. Immune System Evasion Mechanisms in *Staphylococcus aureus*: current understanding. **Journal Of Pure And Applied Microbiology**, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 2219-2234, 24 dez. 2020. Journal of Pure and Applied Microbiology. <http://dx.doi.org/10.22207/jpam.14.4.01>.

MARTINELLI, G. (Org.); MESSINA, T. (Org.); SANTOS FILHO, L. (Org.). *Livro vermelho da flora do Brasil – Plantas raras do Cerrado*. 1. ed. Tradução David Straker, Chris Hieatt. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro: CNCFlora, 2014. 320 p.

MAWANG, Christina-Injan; AZMAN, Adzzie-Shazleen; FUAD, Aalina-Sakiinah Mohd; AHAMAD, Mariana. Actinobacteria: an eco-friendly and promising technology for the bioaugmentation of contaminants. **Biotechnology Reports**, [S.L.], v. 32, n. 00679, p. 1-10, dez. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00679>.

MEIJ, Anne van Der; WORSLEY, Sarah F.; HUTCHINGS, Matthew I.; VAN WEZEL, Gilles P.. Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes. **Fems Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 41, n. 3, p. 392-416, 1 maio 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/femsre/fux005>.

MOHAMMADIPANAH, Fatemeh; WINK, Joachim. Actinobacteria from Arid and Desert Habitats: diversity and biological activity. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 6, p. 1-10, 28 jan. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.01541>.

MUKHTAR, Salma; ZAHEER, Ahmad; AIYSHA, Dalaq; MALIK, Kauser Abdulla; MEHNAZ, Samina. Actinomycetes: a source of industrially important enzymes. **Journal Of Proteomics & Bioinformatics**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 316-319, 2017. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4172/jpb.1000456>.

MUNOZ-PRICE, L Silvia; POIREL, Laurent; A BONOMO, Robert; SCHWABER, Mitchell J; DAIKOS, George L; CORMICAN, Martin; CORNAGLIA, Giuseppe; GARAU, Javier; GNIADKOWSKI, Marek; HAYDEN, Mary K. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 13, n. 9, p. 785-796, set. 2013. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(13\)70190-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(13)70190-7).

MURRAY, Christopher J L; IKUTA, Kevin Shunji; SHARARA, Fablina; SWETSCHINSKI, Lucien; AGUILAR, Gisela Robles; GRAY, Authia; HAN, Chieh; BISIGNANO, Catherine; RAO, Puja; WOOL, Eve. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, [S.L.], v. 399, n. 10325, p. 629-655, fev. 2022. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0).

NAGHAVI, Mohsen; VOLLSET, Stein Emil; IKUTA, Kevin s; SWETSCHINSKI, Lucien R; GRAY, Authia P; WOOL, Eve e; AGUILAR, Gisela Robles; MESTROVIC, Tomislav; SMITH, Georgia; HAN, Chieh. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. **The Lancet**, [S.L.], v. 404, n. 10459, p. 1199-1226, set. 2024. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(24\)01867-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(24)01867-1).

NGAMCHARUNGCHIT, Chananan; CHAIMUSIK, Nutsuda; PANBANGRED, Watanalai; EUANORASETR, Jirayut; INTRA, Bungonsiri. Bioactive Metabolites from Terrestrial and Marine Actinomycetes. **Molecules**, [S.L.], v. 28, n. 15, p. 5915, 6 ago. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28155915>.

NÚÑEZ-MONTERO, Kattia; BARRIENTOS, Leticia. Advances in Antarctic Research for Antimicrobial Discovery: a comprehensive narrative review of bacteria from antarctic environments as potential sources of novel antibiotic compounds against human pathogens and microorganisms of industrial importance. **Antibiotics**, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 90, 19 out. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics7040090>.

OKUDOH, Vincent Ifeanyi; WALLIS, F.M.. Antimicrobial activity of rare actinomycetes

isolated from natural habitats in KwaZulu-Natal, South Africa. **South African Journal Of Science**, [S. I.], v. 5, n. 105, p. 216-222, maio 2007.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Resistência antimicrobiana**, 2021. Disponível em: <https://www.who.int/>.

OTTO, Michael. Staphylococcus aureus toxins. **Current Opinion In Microbiology**, [S.L.], v. 17, p. 32-37, fev. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.11.004>.

PROCÓPIO, Rudi Emerson de Lima; SILVA, Ingrid Reis da; MARTINS, Mayra Kassawara; AZEVEDO, João Lúcio de; ARAÚJO, Janete Magali de. Antibiotics produced by Streptomyces. **The Brazilian Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 16, n. 5, p. 466-471, set. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.014>.

PULFORD, Caisey V; PEREZ-SEPULVEDA, Blanca M; INGLE, Danielle J; BENGTTSSON, Rebecca J; BENNETT, Rebecca J; RODWELL, Ella V; LAGANDARA, Maria Pardos de; CHONG, Charlotte e; SILVA, P Malaka de; RAVEL, Magali. Global diversity and evolution of Salmonella enterica serovar Panama: a genomic epidemiology study. **The Lancet Microbe**, [S.L.], v. 6, n. 9, p. 101150, set. 2025. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lanmic.2025.101150>

RA, Jun Sik; KIM, Min Ji; LEE, Dong Hyeon; JEONG, Ji Won; KIM, Seung Bum. Micromonospora humida sp. nov., exhibiting antimicrobial potential, isolated from riverside soil. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, [S.L.], v. 71, n. 12, p. 1-7, 16 dez. 2021. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/ijsem.0.005157>.

RAMÍREZ, María Valdés; CALZADÍAZ, Liliana. Industrial Enzymes and Metabolites from Actinobacteria in Food and Medicine Industry. In: DHANASEKARAN, Dharumadurai; JIANG, Yi. **Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications**. [S. L.]: Intechopen, 2016. p. 1-400.

RUANPANUN, Pornthip; LAATSCH, Hartmut; TANGCHITSOMKID, Nuchanart; LUMYONG, Saisamorn. Nematicidal activity of fervenulin isolated from a nematicidal actinomycete, Streptomyces sp. CMU-MH021, on Meloidogyne incognita. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 1373-1380, 22 out. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-010-0588-z>.

RUI, Sun; FENGRUI, Guo; YINING, Zhang; HONG, Shao; XUEWEN, Yang; CHANGPING, Wang; CHUNJIA, Yang. Biological activity of secondary metabolites of actinomycetes and their potential sources as antineoplastic drugs: a review. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 16, p. 1-21, 8 maio 2025. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2025.1550516>.

SANTOS, André Luis dos; SANTOS, Dilvani Oliveira; FREITAS, Cícero Carlos de; FERREIRA, Bruno Leal Alves; AFONSO, Ilídio F.; RODRIGUES, Carlos Rangel; CASTRO, Helena C.. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S.L.], v. 43, n. 6, p. 413-423, dez. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442007000600005>.

SAPKOTA, Anupama; THAPA, Aishwarya; BUDHATHOKI, Anupa; SAINJU, Muskan;

SHRESTHA, Prativa; ARYAL, Sagar. Isolation, Characterization, and Screening of Antimicrobial-Producing Actinomycetes from Soil Samples. **International Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 2020, p. 1-7, 27 mar. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1155/2020/2716584>.

SCHULZ, Barbara; BOYLE, Christine. What are Endophytes? In: SCHULZ, Barbara J. E.; BOYLE, Christine J. C.; SIEBER, Thomas N.. **Microbial Root Endophytes**. [S. I.]: Springer Berlin, Heidelberg, 2006. p. 1-13. (Soil Biology).

SELIM, Manal Selim Mohamed; ABDELHAMID, Sayeda Abdelrazek; MOHAMED, Sahar Saleh. Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. **Journal Of Genetic Engineering And Biotechnology**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 72, dez. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1186/s43141-021-00156-9>.

SER, Hooi-Leng; MUTALIB, Nurul-Syakima Ab; YIN, Wai-Fong; CHAN, Kok-Gan; GOH, Bey-Hing; LEE, Learn-Han. Evaluation of Antioxidative and Cytotoxic Activities of *Streptomyces pluripotens* MUSC 137 Isolated from Mangrove Soil in Malaysia. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 6, p. 1-11, 16 dez. 2015. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.01398>.

SHARMA, Kapil Dev. Antibacterial Activity of Biogenic Platinum Nanoparticles: an in vitro study. **International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 801-808, 10 fev. 2017. Excellent Publishers. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2017.602.089>.

SHARMA, Priyanka; THAKUR, Debajit. Antimicrobial biosynthetic potential and diversity of culturable soil actinobacteria from forest ecosystems of Northeast India. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-18, 5 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-60968-6>.

SHIRLING, E. B.; GOTTLIEB, D.. Methods for characterization of *Streptomyces* species. **International Journal Of Systematic Bacteriology**, [S.L.], v. 16, n. 3, p. 313-340, 1 jul. 1966. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-16-3-313>.

SHOMURA, Takashi; YOSHIDA, Junko; AMANO, Shoichi; KOJIMA, Michio; INOUE, Shigeharu; NIIDA, Taro. Studies on Actinomycetales producing antibiotics only on agar culture. I. Screening, taxonomy and morphology-productivity relationship of *Streptomyces halstedii*, strain SF-1993. **The Journal Of Antibiotics**, [S.L.], v. 32, n. 5, p. 427-435, 1979. Japan Antibiotics Research Association. <http://dx.doi.org/10.7164/antibiotics.32.427>.

SILVEIRA, Andréa Pereira; MENEZES, Bruno Sousa de; LOIOLA, Maria Iracema Bezerra; LIMA-VERDE, Luiz Wilson; ZANINA, Dalva Neta e; CARVALHO, Ellen Cristina Dantas de; SOUZA, Bruno Cruz de; COSTA, Rafael Carvalho da; MANTOVANI, Waldir; MENEZES, Marcelo Oliveira Teles de. Flora and Annual Distribution of Flowers and Fruits in the Ubajara National Park, Ceará, Brazil. **Floresta e Ambiente**, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 1-19, 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.005819>.

SMITH, D; A ONIONS,. **Preservation and Maintenance of Living Fungi**. 2. ed. [S. I.]: Cabi Digital Library, 1994. 132 p.

SOCIETY FOR ACTIONMYCETES JAPAN. Atlas of Actinomycetes. 2. ed. [S. l.]: **The Society**, 2022.

STACKEBRANDT, E.; RAINEY, F. A.; WARD-RAINEY, N. L.. Proposal for a New Hierarchic Classification System, Actinobacteria classis nov. **International Journal Of Systematic Bacteriology**, [S.L.], v. 47, n. 2, p. 479-491, 1 abr. 1997. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-47-2-479>.

STEELE-MORTIMER, Olivia. The Salmonella-containing vacuole—Moving with the times. **Current Opinion In Microbiology**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 38-45, fev. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2008.01.002>.

SUBRAMANI, Ramesh; SIPKEMA, Detmer. Marine Rare Actinomycetes: a promising source of structurally diverse and unique novel natural products. **Marine Drugs**, [S.L.], v. 17, n. 5, p. 249, 26 abr. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/md17050249>.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 12. ed. [S. l.]: Artmed, 2017. 962 p.

TRESNER, H. D.; BACKUS, E. J.. System of Color Wheels for Streptomyces Taxonomy. **Applied Microbiology**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 335-338, jul. 1963. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/am.11.4.335-338.1963>.

VAN BERGEIJK, Doris A.; TERLOUW, Barbara R.; MEDEMA, Marnix H.; VAN WEZEL, Gilles P.. Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 18, n. 10, p. 546-558, 1 jun. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-020-0379-y>.

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **P & T: a peer-reviewed journal for formulary management**, v. 40, n. 4, p. 277–283, 2015.

VENTURA, Marco; CANCHAYA, Carlos; TAUCH, Andreas; CHANDRA, Govind; FITZGERALD, Gerald F.; CHATER, Keith F.; VAN SINDEREN, Douwe. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, [S.L.], v. 71, n. 3, p. 495-548, set. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/membr.00005-07>.

VIDOVIC, Nikola; VIDOVIC, Sinisa. Antimicrobial Resistance and Food Animals: influence of livestock environment on the emergence and dissemination of antimicrobial resistance. **Antibiotics**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 52, 31 jan. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics9020052>.

VURUKONDA, Sai Shiva Krishna Prasad; GIOVANARDI, Davide; STEFANI, Emilio. Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of Streptomyces spp. as Endophytes. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 952, 22 mar. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19040952>.

WAKISAKA, Yoshiharu; KAWAMURA, Yoshimi; YASUDA, Yukio; KOIZUMI, Kenzo; NISHIMOTO, Yoji. A selective isolation procedure for Micromonospora. **The Journal Of Antibiotics**, [S.L.], v. 35, n. 7, p. 822-836, 1982. Japan Antibiotics Research Association.

<http://dx.doi.org/10.7164/antibiotics.35.822>.

WANG, Guoying; ZHAO, Guo; CHAO, Xiaoyu; XIE, Longxiang; WANG, Hongju. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 17, n. 17, p. 6278, 28 ago. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph17176278>.

WILLIAMS, S. T.; CROSS, T. Actinomycetes. In: BOOTH, C. (ed.). *Methods in microbiology*. London: Academic Press, 1971.

WORLD BANK. *Drug-resistant infections: a threat to our economic future*. Washington, DC: World Bank, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global action plan on antimicrobial resistance**. Geneva: WHO, 2021.

XU, Li; LI, Jiayang; WU, Wenqi; WU, Xiuwen; REN, Jianan. *Klebsiella pneumoniae* capsular polysaccharide: mechanism in regulation of synthesis, virulence, and pathogenicity. **Virulence**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-15, 13 dez. 2024. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/21505594.2024.2439509>.

ZHANG, Manyu; ZHANG, Yuwei; ZHAO, Zhengge; DENG, Feilong; JIANG, Hui; LIU, Ce; LI, Ying; CHAI, Jianmin. Bacterial–Fungal Interactions: mutualism, antagonism, and competition. **Life**, [S.L.], v. 15, n. 8, p. 1242, 5 ago. 2025. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/life15081242>.

ZHAO, X.Q.; XU, X.N.; CHEN, L.y.. Production of Enzymes from Marine Actinobacteria. **Advances In Food And Nutrition Research**, [S.L.], p. 137-151, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.06.002>.