

BIOPROSPECÇÃO DE ACTINOBACTÉRIA ISOLADA DE ROCHAS CARBONÁTICAS NA AMAZÔNIA**BIOPROSPECTION OF ACTINOBACTERIA ISOLATED FROM CARBONATIC ROCKS IN THE AMAZON****Karine Rodrigues do Nascimento Chaves**Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, PA, Brasil
karinernbiomedica@gmail.com**Maria Lucila Texeira de Andrade França**Instituto Esperança de Ensino Superior, Santarém, PA, Brasil
lucilafrancastm.biomedic@gmail.com**Anna Ludmylla Oliveira Mendes**Instituto Esperança de Ensino Superior, Santarém, PA, Brasil
oliveiraannaludmylla@gmail.com**Kamila Brielle Pantoja Vasconcelos**Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, PA, Brasil
kamilabrielle@hotmail.com**Letícia Veras Costa Lotufo**Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil
cotalotufo@gmail.com**Gabriel Padilla**Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil
gpadilla@icb.usp.br**Silvia Katrine Rabelo da Silva**Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, PA, Brasil
katrinerabelo@gmail.com**RESUMO**

A bioprospecção busca aprimorar produtos e processos a partir de recursos naturais. Apesar do potencial biotecnológico das Actinobactérias, a Amazônia permanece subexplorada nesse contexto. Portanto, o presente estudo investigou o potencial de uma cepa de Actinobactéria isolada de rochas carbonáticas amazônicas. Para tanto, foi realizada a caracterização morfológica e bioquímica, obtenção dos metabólitos secundários antitumorais e teste citotóxico de Actinobactérias coletadas nessa região. Os resultados demonstraram que a cepa bacteriana PML5, exibe características promissoras para aplicações biotecnológicas e farmacológicas. A morfologia da cultura é consistente com o perfil morfológico típico de bactérias do gênero *Streptomyces*. A caracterização bioquímica revelou a produção de enzimas lipase, esterase e L-asparaginase, sugerindo um potencial metabólico diversificado e adaptativo da cepa. O teste de antagonismo destacou sua notável atividade antimicrobiana contra patógenos gram-positivos e gram-negativos. Mais notavelmente, o extrato bruto da cepa demonstrou 96% inibição do crescimento celular em uma linhagem de células de câncer colorretal humano, sugerindo a presença de compostos bioativos com potencial anticâncer. Portanto, este estudo não apenas contribui para o conhecimento sobre a biodiversidade microbiana na região amazônica, mas também abre novas perspectivas para a bioprospecção de Actinobactérias como fontes de compostos bioativos e agentes terapêuticos promissores.

Palavras-chave: Bioinovação. *Streptomyces*. Biotecnologia.

ABSTRACT

Bioprospecting seeks to improve products and processes from natural resources. Despite the biotechnological potential of Actinobacteria, the Amazon remains underexplored in this context. The present study investigated the potential of a strain of *Actinobacterium* isolated from carbonate rocks in Amazonia region. For this purpose, a biochemical characterization was carried out, obtaining antitumor secondary metabolites and cytotoxic testing of Actinobacterians. The results showed that the bacterial strain PML5, exhibits promising for biotechnological and pharmacological applications. The morphology of the culture is consistent with the typical morphological profile of bacteria of genus *Streptomyces*. The biochemical characterization revealed the production of lipase, esterase and L-asparaginase enzymes, suggesting a diversified and adaptive metabolic potential of the strain. The antagonism test highlighted its remarkable antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative pathogens. Most notably, the crude extract of the strain demonstrated 96% inhibition of cell growth in lineage of human colorectal cancer cells, suggesting the presence of bioactive compounds with anticancer potential. Therefore, this study contributes to the microbial biodiversity in the Amazon region, and also opens new perspectives, for the bioprospecting of Actinobacteria as sources of bioactive compounds and therapeutic agents.

Keywords: Bioinnovation. *Streptomyces*. Biotechnology.

INTRODUÇÃO

A bioprospecção representa um campo multidisciplinar voltado para a descoberta e aprimoramento de novos produtos, processos e aplicações a partir de recursos biotecnológicos (Yun et al., 2023). Este campo incorpora conhecimentos das áreas de Biologia, Química, Farmacologia, Microbiologia e Ecologia com o intuito de identificar e explorar novos compostos químicos, enzimas e produtos naturais. Dentro do amplo espectro de abordagens e técnicas empregadas na prospecção biológica, destacam-se duas vertentes: a triagem de produtos naturais, que envolve a avaliação da atividade antimicrobiana, antitumoral e antioxidante de compostos químicos e o desenvolvimento de novos fármacos (Gaudêncio et al., 2023).

A exploração de microrganismos ricos em compostos bioativos é uma prática que encontra raízes na literatura desde o século XX, e neste cenário, as Actinobactérias emergem como uma fonte de metabólitos secundários, caracterizados por suas notáveis propriedades farmacológicas e uma estrutura química excepcionalmente diversificada (Gaudêncio et al., 2023). Esses microrganismos, de morfologia filamentosa, pertencentes à classe gram-positiva e notáveis por sua elevada proporção de guanina e citosina no DNA, desempenham um papel fundamental na reciclagem de resíduos orgânicos de valor nutricional, além de serem proeminentes na produção de uma vasta gama de metabólitos secundários (Yun et al., 2023).

Adicionalmente, Actinobactérias isoladas de ambientes extremos revelam um potencial em ascensão devido à sua notável adaptação a condições desafiadoras de sobrevivência, o que lhes confere características únicas e propriedades biotecnológicas específicas, razão a qual cerca de 70% dos antimicrobianos de origem natural sejam produzidos por *Streptomyces*. Para corroborar essa afirmativa, as vias de biossíntese de Actinobactérias do gênero *Streptomyces* envolvem enzimas multifuncionais, como as Sintases de Peptídeos Não-ribossômicos (NRPs) e as Sintases de Polipeptídios (PKSs). As NRPs desempenham um papel importante na produção de antibióticos, tais como penicilinas, vancomicinas e ciclosporinas, enquanto as PKSs sintetizam eritromicinas e outras substâncias relacionadas (Nielsen et al., 2022).

Actinobactérias constituem um grupo de microrganismos Gram-positivos, predominantemente aeróbios e heterotróficos, pertencentes ao domínio *Bacteria*, filo *Actinobacteriae* e classe *Actinobacteria*. Esses microorganismos são distintos de outras bactérias devido a sua morfologia filamentosa, que se manifesta sob a forma de cadeias ou hifas, conferindo-lhes semelhanças com

fungos filamentosos. Além disso, sua capacidade de formar micélio permite a exploração eficaz do ambiente em busca de nutrientes e a adaptação a condições variáveis (Yun et al., 2023).

Esses microrganismos exibem uma notável variedade de colorações, com a capacidade de produzir pigmentos que abrangem desde tons brancos a matrizes de amarelo, laranja, rosa, vermelho e até mesmo cores mais escuras (Nielsen et al., 2022). Um traço característico de Actinobactérias é a formação de esporos resistentes, o que lhes concede a habilidade de sobreviver em condições adversas (Gaudêncio, et al., 2023). Quando liberados em um ambiente propício, esses esporos têm a capacidade de germinar e dar origem a um novo crescimento (Yun et al., 2023).

O crescimento desses microrganismos tende a ser notoriamente lento, devido à sua morfologia filamentosa influenciada pela presença de mureína na sua rígida parede celular (Yun et al., 2023). Além disso, Actinobactérias são reconhecidas por sua capacidade de produzir metabólitos secundários com propriedades bioativas (Nielsen et al., 2022). Esses microrganismos desempenham um papel essencial na degradação de uma ampla gama de compostos orgânicos complexos, na decomposição da matéria orgânica, na ciclagem de nutrientes e na produção de enzimas (Yun et al., 2023). Por esse motivo, elas têm despertado considerável interesse no campo da biotecnologia (Gaudêncio, et al., 2023).

Encontrados em ambientes aquáticos, em plantas e em solos, particularmente em solos alcalinos e neutros, os microrganismos do gênero *Streptomyces* se destacam por apresentar cromossomos lineares de tamanhos variados, podendo atingir até 9 megabases (Mb). A diversidade morfológica, bioquímica e a classe dos metabólitos produzidos por essas espécies estão refletidas em seus genomas (Gaudêncio, et al., 2023).. Nas extremidades dos cromossomos de *Streptomyces*, observam-se telômeros com proteínas ligadas covalentemente, permitindo que o gênero assuma uma forma circular (Yun et al., 2023).

Streptomyces apresentam filamentos com diâmetro que varia entre 0,5 e 1,0 µm e comprimento indefinido, sem a formação de paredes transversais durante a fase vegetativa (Reis et.al., 2019). A reprodução desses microrganismos ocorre por meio da produção abundante de esporos, a partir dos quais se origina um novo organismo (Yun et al., 2023). O crescimento subsequente começa a partir da ponta dos filamentos, acompanhado pela formação de ramificações. Durante a fase vegetativa, a intrincada matriz de filamentos entrelaçados dá origem a um micélio compacto e, posteriormente, a uma colônia (Gaudêncio et al., 2023).

Os esporos de *Streptomyces* geralmente apresentam pigmentação, conferindo uma coloração característica às colônias em diferentes meios de cultura, facilitando a identificação das espécies em meios sólidos (Yun et al., 2023). . A morfologia dessas colônias pode variar entre as diferentes espécies, mas, em sua maioria, são lisas e exibem micélio aéreo e vegetativo, além de possuírem a capacidade de degradar lignocelulose e quitina, desempenhando um papel fundamental nos ciclos biológicos da matéria orgânica (Gaudêncio et al., 2023).

Contudo, apesar dos benefícios econômicos e biotecnológicos inerentes aos isolados de Actinobactérias, a região amazônica mantém-se relativamente subexplorada nesse âmbito. A extensa biodiversidade e ecossistemas singulares da região sugerem a possibilidade de abrigar *Streptomyces* com propriedades ainda não documentadas. Assim, a bioprospecção de actinobactérias oferece uma perspectiva inovadora na busca por recursos antimicrobianos, com destaque às regiões pouco exploradas, como rochas carbonáticas amazônicas (Reis et.al., 2019).

Com uma notável antiguidade de 300 milhões de anos, as rochas sedimentares da Formação Itaituba, localizada no norte brasileiro, a uma latitude 04°16'34" sul e a uma longitude 5559'01" oferecem um ecossistema singular, possivelmente abrigando microrganismos que se adaptaram de maneiras únicas ao longo dos milênios, o que sugere a presença de uma microbiota capaz de sobreviver em

condições desafiadoras. A pesquisa do material rochoso pode, portanto, oferecer a oportunidade de descobrir novos compostos bioativos e enzimas, ampliando as possíveis aplicações farmacológicas, ambientais e industriais (Reis et.al., 2019).

A Amazônia exibe diversidade biológica e alto grau de endemismo com uma extensão de aproximadamente 4 milhões de quilômetros quadrados do território brasileiro presentes em oito Estados, a saber: Pará, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Acre, Amapá, Rondônia e Roraima (Reis et.al., 2019).

Este bioma amazônico ostenta a maior extensão de floresta tropical em todo o planeta, sendo amplamente reconhecido por sua riqueza biológica abundante (Reis et.al., 2019).. No entanto, é importante notar que, apesar da essencial contribuição dos microrganismos aos ecossistemas e seu papel crítico em processos ecológicos e biogeoquímicos, a pesquisa e exploração da microbiodiversidade permanecem relativamente escassa quando comparadas às investigações que envolvem plantas e animais (Nielsen et al., 2022).

Nesse contexto, destaca-se o crescente interesse pelo potencial antifúngico e antimicrobiano de Actinobactérias da Amazônia, pois esta região constitui um notável depósito geológico datado aproximadamente de 300 milhões de anos atrás. Majoritariamente composta por rochas carbonáticas, essa formação sedimentar oferece uma rica fonte de informações sobre as condições ambientais e geológicas que prevaleciam durante o Permiano (Reis et.al., 2019).

Inserida na Bacia do Amazonas, a formação Itaituba compõe uma das maiores e mais antigas bacias sedimentares do Brasil, preservando eventos geológicos cruciais que influenciaram a deposição dos sedimentos e moldaram a paisagem local ao longo do tempo, sendo principalmente constituídas por minerais como calcita e dolomita, composição que reflete a intensa atividade biogênica que ocorreu durante o Permiano. As características dessas rochas sobreviventes ao tempo indicam a presença de processos biogeoquímicos de degradação da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e liberação de substâncias químicas no ambiente, que podem estar relacionados à presença de actinobactérias (Reis et.al., 2019).

Um aspecto relevante a ser considerado é o potencial de Actinobactérias em produzir metabólitos secundários bioativos, como antibióticos, enzimas industriais e compostos com atividades antifúngicas e antitumorais. A simbiose entre *Streptomyces* e rochas pode estar relacionada à capacidade dessas bactérias em secretar enzimas e produtos metabólicos que influenciam a mineralização e a dissolução de minerais presentes nos sedimentos. A compreensão do papel dessa classe bacteriana e de seus benefícios potenciais presentes nos sedimentos carbonáticos pode fornecer informações valiosas e contribuir no desenvolvimento de novas terapias na área da saúde humana, incluindo a investigação e desenvolvimento de novos antibióticos, substâncias antitumorais e antioxidantes (Nielsen et al., 2022).

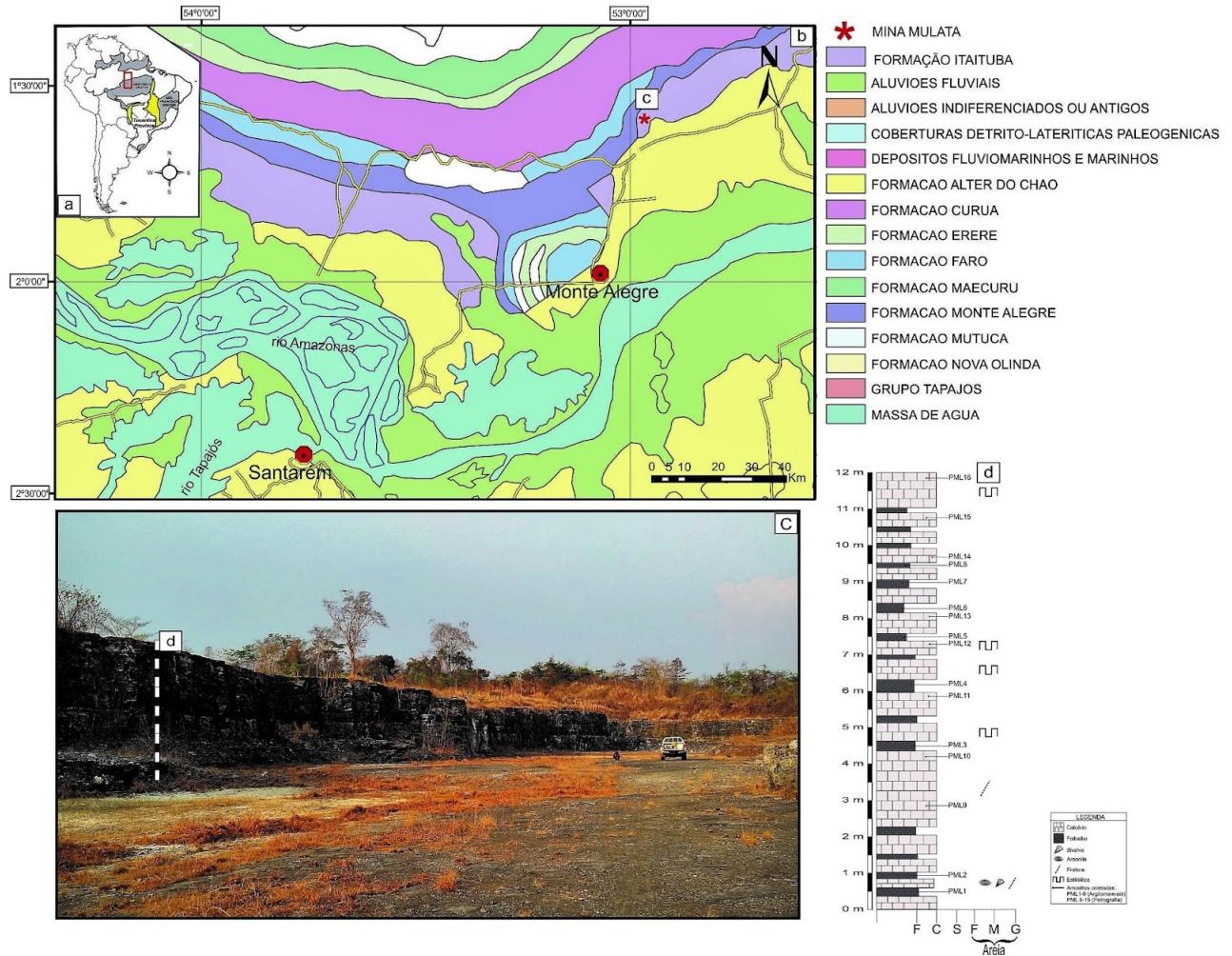
Dessa forma geral, o presente estudo buscou realizar a bioprospecção de actinobactérias isoladas de rochas carbonáticas na Amazônia.

METODOLOGIA

Área de estudo

Para realização da pesquisa foi utilizada uma cepa de actinobactéria isolada de Rochas Carbonáticas da Formação Itaituba, localizada no município brasileiro Itaituba, no sudoeste do Estado do Pará, com latitude 04° 16' 34" S e a uma longitude 55° 59' 01" O, conforme Figura 1. A cepa pertence ao Biobanco de Actinobactérias Amazônicas da Universidade Federal do Oeste do Pará (BIOACTA) mantidas em tubos com meio Arginina Levedura Ágar-ALA -L-arginina 0,3 g, Glicose 1,0 g, Glicerol 1,0 g, K₂HPO₄ 0,3 g, MgSO₄.7H₂O 0,2 g, KCl 0,3 g, Extrato de levedura 1,0 g, Água destilada 1000 mL, Ágar 20,0 g e pH 7,4 a 25° C.

Figura 1 – Mapa da Formação Itaituba



Fonte: Autores, 2024.

Caracterização morfológica e bioquímica

Para realizar a pesquisa foi feita a caracterização morfológica e bioquímica da cepa intitulada PML5 – isolada de rochas carbonáticas amazônicas – através do protocolo recomendado pelo International Streptomyces Project (ISP) (Shirilling; Gottlieb, 1966).

A micromorfologia foi feita pela técnica de microcultivo e a caracterização das colônias bacterianas determinada segundo recomendado pelo manual ISP para o detalhamento do aspecto do micélio vegetativo e aéreo, produção de pigmentos, em meio International Streptomyces Project 2 (ISP2), utilizando os procedimentos recomendados por ISP. A microscopia eletrônica de varredura foi realizada após cultivo das Actinobactérias em meio Ágar ISP2 a 30º C durante 7 dias, em microscópio eletrônico de varredura (LEO 5410LV) em 10 Kilovolts (kV), para detalhamento da cadeia de esporos (Shirilling; Gottlieb, 1966).

Para a caracterização bioquímica, foi realizado o teste de coloração de Gram e determinada a produção de diversas enzimas, que puderam fornecer *insights* sobre as capacidades metabólicas dos microrganismos em relação à utilização de substratos específicos. Foram avaliadas a Lipase e

Esterase, responsáveis pela quebra de lipídios e ésteres, respectivamente; Amilase, que indica a capacidade de degradar amido; Caseinase, que quebra a caseína presente no leite; e Catalase, enzima útil na decomposição do peróxido de hidrogênio; e L-Asparaginase, que influencia o crescimento de células malignas. Com base nessas características bioquímicas, a identificação do isolado foi conduzida ao nível de gênero, seguindo o manual de bacteriologia sistemática de Bergey (1934).

Avaliação de isolados produtores de substâncias antimicrobianas

O isolado bacteriano foi inoculado em placas de Petri contendo meio ágar ISP2 até completa esporulação e posteriormente foram recortados blocos de ágar de 6 mm de diâmetro, contendo as colônias bacterianas, para a realização do teste de antagonismo pelo método do bloco de gelose (Ichikawa; Date; Ishikura; Ozaki, 1971). Foram utilizados cinco patógenos de interesse de interesse clínico: Entre os gram-positivos estão *Micrococcus luteus* ATCC 7468, *Streptococcus pneumoniae*; por outro lado, os gram-negativos incluem *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606.

A intensidade da atividade inibitória foi determinada de acordo com o tamanho do halo de inibição segundo o tamanho da zona de inibição dividido em quatro grupos distintos: grupo passivo - zona de inibição menor que 10 mm; grupo ligeiramente ativo - zona de inibição entre 11 e 20 mm; grupo moderadamente ativo - zona de inibição entre 21 e 30 mm; e grupo altamente ativo, cuja zona de inibição é maior que 31 mm (Şahin; Uğur, 2003).

Obtenção dos metabólitos secundários

Para obtenção dos metabólitos secundários foi realizado o cultivo da PML5 em quatro placas de Petri 60 x 90 contendo meio sólido ISP2. O período de incubação foi feito em estufa bacteriológica a 30º C de 7 a 14 dias para que o crescimento das actinobactérias.

Finalizado esse período, foi recortado com bisturi blocos no meio contendo os isolados, e posteriormente o material foi adicionado em dois tubos falcon para adição do solvente acetato de etila até cobrir todo o conteúdo. Agitou-se manualmente durante 20 min, com pausa de 1 hr, e mais 20 min de agitação manual. Na fase subsequente, o material foi deixado overnight na capela de exaustão a evaporação do solvente. Para que houvesse a separação da camada orgânica, o conteúdo do tubo falcon foi filtrado em papel de filtro, e em seguida foi realizada a concentração em um evaporador rotativo (Thakur; Bora; Bordoloi; Mazumdar, 2009).

Avaliação da atividade citotóxica e antitumoral

Para triagem, foram plaqueadas 2×10^3 células por poço, em placas de 96 poços (1×10^4 células/mL em 200 µL de meio) para a linhagem de células tumorais de câncer de cólon de reto (HCT116) e 10×10^3 células por poço, em placas de 96 poços (5×10^4 células/mL em 200 µL de meio) para a linhagem de células tumorais de câncer de mama (MCF7). Após 24 horas, as substâncias foram adicionadas na concentração de 10 µg/mL a 0,0064 µM para ambas as linhagens, cada concentração em duplicata, e incubadas por 72 horas. A doxorrbicina foi utilizada como controle positivo e dimetilsulfóxido (DMSO) como controle negativo. Após 72 horas de incubação, o sobrenadante foi substituído por meio de cultura contendo MTT (0,5 mg/mL). Três horas mais tarde, o sobrenadante foi removido, e após secagem da placa, o precipitado contendo azul de formazan de MTT foi dissolvido em 150 µL de DMSO, e a absorbância foi medida a 570 nanômetros (nm). Os valores de concentração inibitória média (IC50) juntamente com intervalos de confiança de 95% foram calculados por regressão não linear usando GraphPad Prism 8 (Mosmann, 1983).

Análise estatística

Foi adotado um delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições para todos os procedimentos realizados e os dados foram submetidos à análise de variância. A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk, garantido que a distribuição segue um padrão adequado para a aplicação de testes estatísticos paramétricos. Após isso, asas médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade com o programa Sisvar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cultura da PML5 apresentou presença de micélio aéreo pouco desenvolvido de coloração branca e reverso de coloração amarela, um critério taxonômico de relevância nas análises de Actinobactérias, conforme destacado por Mabrouk e Saleh (2014). As características morfológicas das colônias incluíram uma forma irregular e uma aparência pulverulenta, assemelhando-se ao que é comumente descrito como "pó de giz". Sob o escopo da morfologia celular, foram observadas estruturas filamentosas e configurações de coccoides.

Quanto à disposição dos esporos, identificou-se a presença de hifas flexuosas em cadeias simples, filamentos flexuosos em cadeias ramificadas, filamentos lineares em cadeias simples e hifas flexuosas em cadeias ramificadas, todas essas características convergindo com o perfil morfológico típico do gênero *Streptomyces*.

Para a caracterização bioquímica foi feita a coloração de Gram, determinando a produção de Lipase, Esterase, Amilase, Caseinase, Catalase e L-Asparaginase (Tabela 1).

Tabela 1 – Características bioquímicas (lipase, esterase, amilase, caseinase, catalase e L-asparaginase) dos isolados de rochas carbonáticas amazônicas

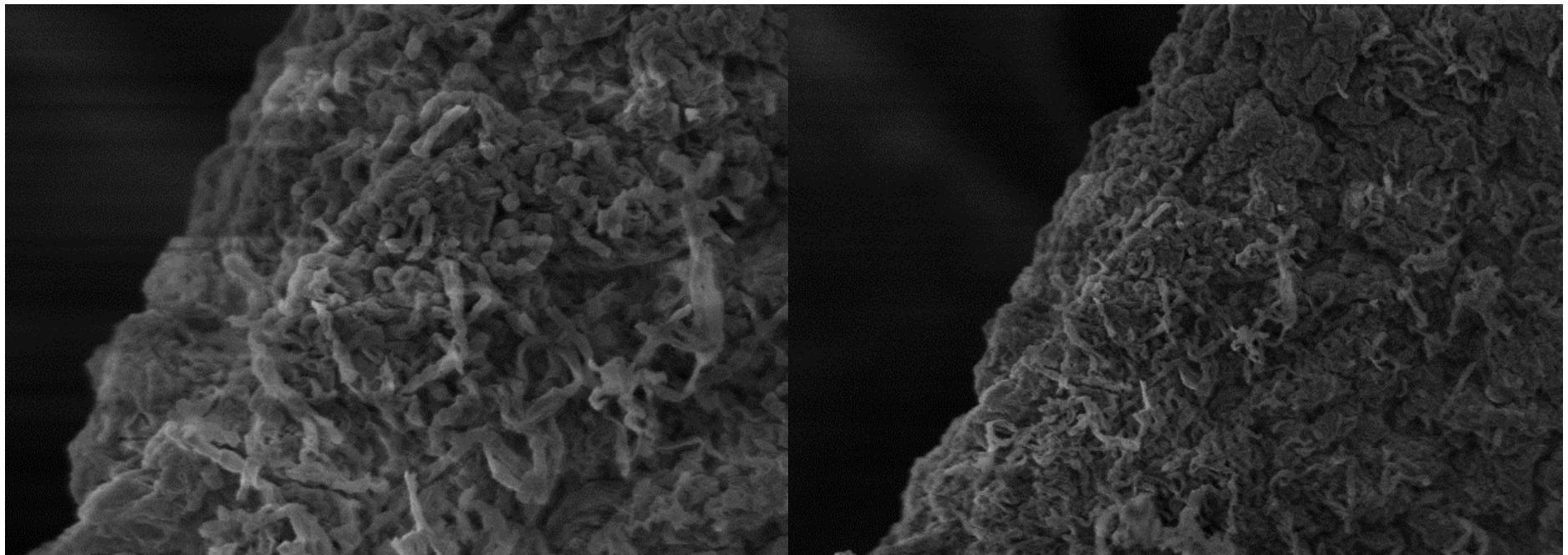
Enzimas	Resultado
Lipase (IE)	3,58
Esterase (IE)	3,58
Amilase (IE)	0
Caseinase (IE)	0
Catalase	+
L-asparaginase	+

(+) positividade para crescimento e (-) negatividade para crescimento

Fonte: Autores, 2024.

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada após cultivo da Actinobactéria em meio Ágar ISP2 a 30° C durante 7 dias, em microscópio eletrônico de varredura (LEO 5410LV) em 10 kV, para detalhamento da cadeia de esporos (Figura 2).

Figura 2 – Registro da microscopia eletrônica de varredura do isolado



Mag = 7.00 K X EHT = 5.00kV WD = 12mm
Fonte: Autores, 2024.

A realização do teste de antagonismo revelou halos de inibição ligeiramente intenso contra os patógenos gram-positivos e gram-negativos, conforme se observa na Tabela 2.

Tabela 2 – Halos de inibição de crescimento de patógenos frente aos isolados

	Patógenos	PML5
Gram-positivo	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	12
	<i>Micrococcus lutteus ATCC7468</i>	12
Gram-negativo	<i>Escherichia coli ATCC10536</i>	13
	<i>Acinetobacter baumannii ATCC19606</i>	11,5
	<i>Proteus vulgaris ATCC13315</i>	13

Fonte: Autores, 2024.

A inibição do crescimento celular do extrato bruto da PML5 testada contra linhagem de carcinoma de colorretal humano (HCT116), na concentração de 10 µg/mL, teve média de 96,55% de resposta de combate, demonstrando alta capacidade antitumoral do isolado.

Os resultados deste estudo fornecem uma análise meticulosa das características fenotípicas, bioquímicas e funcionais da cepa bacteriana PML5, isolada de rochas carbonáticas na região amazônica. A observação de micélio aéreo pouco desenvolvido com coloração branca e reverso amarelo, em conformidade com a descrição taxonômica do gênero *Streptomyces*, é crucial para a identificação precisa da cepa. Estas características morfológicas são fundamentais não apenas para a taxonomia, mas também para compreender a ecologia e a diversidade desses microrganismos em ambientes naturais.

A caracterização bioquímica revelou um perfil metabólico complexo da cepa PML5, destacando-se a produção de diversas enzimas de interesse biotecnológico. A presença de lipase, esterase, catalase e L-asparaginase sugere a capacidade da cepa de utilizar uma variedade de substratos e de desempenhar papéis importantes em processos fisiológicos e ecológicos. Além disso, a ausência de atividade amilase e caseinase indica a especificidade do perfil enzimático da cepa, o que pode ser explorado em estudos futuros sobre sua ecologia funcional e potencial biotecnológico.

A microscopia eletrônica de varredura proporcionou uma visão detalhada da estrutura da cadeia de esporos da PML5, ampliando a compreensão da morfologia celular e da organização estrutural dessa cepa. A análise morfológica de alta resolução é essencial para identificar características distintivas e potencialmente adaptativas das Actinobactérias, como a formação de esporos, que desempenham papéis importantes na sobrevivência e na dispersão desses microrganismos em ambientes diversos.

Os resultados do teste de antagonismo revelaram uma atividade antimicrobiana ligeiramente ativa da cepa PML5 contra patógenos gram-positivos e gram-negativos, indicando um potencial promissor para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

Além disso, a significativa inibição do crescimento celular da linha de células de câncer colorretal humano (HCT116) pelo extrato bruto da PML5 destaca o potencial antitumoral da cepa. Esta descoberta sugere a presença de compostos bioativos com atividade anticâncer, que podem ser alvos promissores para o desenvolvimento de novas terapias contra o câncer, especialmente em um contexto de busca por tratamentos mais eficazes e com menos efeitos colaterais.

Este estudo contribui significativamente para o conhecimento atual sobre as Actinobactérias da região amazônica, fornecendo insights valiosos sobre sua diversidade, ecologia e potencial biotecnológico e farmacológico. Essas descobertas não apenas ampliam nossa compreensão da biodiversidade microbiana, mas também abrem novas perspectivas para aplicações práticas, como a descoberta de novos compostos bioativos e agentes terapêuticos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo contribui para a ampliação do conhecimento sobre Actinobactérias da região amazônica, destacando a cepa PML5 como um potencial recurso biotecnológico. A caracterização fenotípica, bioquímica e funcional revelou traços morfológicos compatíveis com o gênero *Streptomyces* e um perfil metabólico diversificado, sugerindo um importante papel ecológico e possíveis aplicações em diferentes áreas da biotecnologia.

A produção de enzimas de interesse, aliada à atividade antimicrobiana e ao efeito citotóxico contra células de câncer colorretal humano, reforça o potencial dessa cepa na busca por novos agentes terapêuticos. O comportamento específico do perfil enzimático observado sugere oportunidades para investigações adicionais sobre seus mecanismos de ação e aplicações industriais ou farmacêuticas.

Diante desses achados, novas abordagens experimentais são recomendadas para o isolamento e caracterização dos compostos bioativos responsáveis pelas atividades observadas. Estudos adicionais poderão esclarecer a viabilidade da aplicação biotecnológica da PML5, especialmente na formulação de novos antimicrobianos e agentes antitumorais.

Assim, os resultados obtidos reforçam a importância da biodiversidade microbiana da Amazônia como fonte de inovação para a ciência e a saúde, evidenciando a necessidade de mais pesquisas voltadas à bioprospecção e ao aproveitamento sustentável desses recursos naturais.

REFERÊNCIAS

BERGEY, D. H. BERGEY'S Manual Of Determinative Bacteriology. *The American Journal of the Medical Sciences*, 188, n. 2, p. 282, 1934. <https://doi.org/10.1097/00000441-193408000-00030>

GAUDÊNCIO, S. P.; BAYRAM, E.; LUKIĆ BILELA, L.; CUETO, M. et al. Advanced Methods for Natural Products Discovery: Bioactivity Screening, Dereplication, Metabolomics Profiling, Genomic Sequencing, Databases and Informatic Tools, and Structure Elucidation. *Marine Drugs*, v. 21, n. 5, p. 308, 2023. <https://doi.org/10.3390/md21050308>

ICHIKAWA, T.; DATE, M.; ISHIKURA, T.; OZAKI, A. Improvement of kasugamycin-producing strain by the agar piece method and the prototroph method. *Folia Microbiol (Praha)*, v. 16, n. 3, p. 218-224, 1971. <https://doi.org/10.1007/BF02884210>

MABROUK, M. I.; SALEH, N. M. Molecular identification and characterization of antimicrobial active actinomycetes strains from some Egyptian soils. *American-Eurasian Journal Agriculture & Environment Science*, v.14, p.954-963, 2014.

MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)

NIELSEN, J. B.; GREN, T.; MOHITE, O. S.; JØRGENSEN, T. S. et al. Identification of the Biosynthetic Gene Cluster for Pyractrimycin A, an Antibiotic Produced by. *ACS chemical biology*, v. 17, n. 9, p. 2411-2417, 2022. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.2c00480>

SHIRLING, EB T.; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 16, n. 3, p. 313-340, 1966. <https://doi.org/10.1099/00207713-16-3-313>

ŞAHIN, Nurettin; UĞUR, Aysel. Investigation of the antimicrobial activity of some *Streptomyces* isolates. **Turkish Journal of Biology**, v. 27, n. 2, p. 79-84, 2003.

THAKUR, D. et al. Influence of nutrition and culturing conditions for optimum growth and antimicrobial metabolite production by *Streptomyces* sp. 201. **Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology**, v. 19, n. 3, p. 161-167, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2009.04.001>

VICENTE DOS REIS, G. et al. Gloeosporiocide, a new antifungal cyclic peptide from *Streptomyces morookae* AM25 isolated from the Amazon bulk soil. **FEMS Microbiol Lett**, v. 366, n. 14, p. 1-10, 2019. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz175>

YUN, T . et al. Antimicrobial mechanisms and secondary metabolite profiles of *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* 5–4 against banana fusarium wilt disease using metabolomics. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p.1-13, 2023. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1159534>