



ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ACTINOBACTERIA DE SOLO E SUA PRODUÇÃO DA ENZIMA QUITINASE

Isabella Cristina Ribeiro Perantoni¹ • Ana Carla Stieven^{2✉} • Daniela Tiago da Silva Campos³

Resumo

As actinobactérias são microrganismos produtores de uma variedade de metabólitos secundários com alto interesse farmacológico e comercial que promovem a bioprospecção delas. Na agricultura, faz-se necessária a utilização de fontes de produtos naturais como alternativa ao uso de inseticidas e compostos químicos para o controle de pragas nas lavouras. Em função da demanda mundial pungente por novas moléculas advindas de microrganismos este trabalho teve por objetivo isolar e caracterizar morfológicamente actinobactérias do solo e avaliar a sua atividade quitinolítica. As actinobactérias foram isoladas por meio da técnica de diluição seriada seguida pelo plaqueamento em spread plate em meio de cultura Extrato de Solo. Treze grupos morfológicos distintos foram encontrados e os mesmos foram avaliados quanto à atividade quitinolítica por meio de ensaios de degradação da quitina. O halo de degradação da quitina foi observado para apenas quatro cepas, sendo elas “ACT3”, “ACT11”, “ACT14” e “ACT19”. Este trabalho permitiu a identificação de colônias de actinobactérias e a seleção de cepas degradadoras de quitina, observou-se presença somente de hifas não septadas entre os isolados, 13 cepas foram indicadas como possíveis pertencentes ao filo Actinobacteria, revelando a variedade na morfologia e pigmentação do grupo. Os resultados são iniciais e norteiam futuros trabalhos de pesquisa.

Palavras-chave: Metabólitos secundários, bioprospecção, caracterização, quitina

Abstract

Actinobacteria are microorganisms that produce a variety of secondary metabolites with high pharmacological and commercial interest that promote their bioprospecting. In agriculture, it is necessary to use sources of natural products as an alternative to the use of insecticides and chemical compounds to control pests in crops. Due to the strong worldwide demand for new molecules from microorganisms, this work aimed to isolate and morphologically characterize actinobacteria from soil and evaluate their chitinolytic activity. Actinobacteria were isolated using the serial dilution technique followed by spread plate plating in Soil Extract culture medium. Thirteen distinct morphological groups were found, and they were evaluated for chitinolytic activity through chitin degradation assays. The chitin degradation halo was observed for only four strains, namely “ACT3”, “ACT11”, “ACT14” and “ACT19”. This work allowed the identification of actinobacterial colonies and the selection of chitin degrading strains, it was observed the presence of non-septate hyphae among the isolates, 13 strains were indicated as possible belonging to the phylum Actinobacteria, revealing the variety in the morphology and pigmentation of the group. The results are initial and guide future research work.

Keywords: Secondary metabolites, bioprospecting, characterization, chitin.

✉ Ana Carla Stieven, anastieven@yahoo.com.br

1. ORCID 0009-0009-2327-6046, Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Corrêa da Costa, 2367, Boa Esperança, Cuiabá – MT
2. ORCID 0009-0006-0862-9972, UNIVAG Centro Universitário, Av. Dom Orlando Chaves, 2655 - Cristo Rei, Várzea Grande – MT
3. ORCID 0000-0001-8740-6908, Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Corrêa da Costa, 2367, Boa Esperança, Cuiabá – MT

Manuscrito recebido: 17/05/2024
Aceito para publicação: 12/10/2024

Introdução

As actinobactérias constituem um grupo de bactérias Gram-positivas, reconhecidas por sua morfologia filamentosa e pela capacidade de produzir esporos. Estas bactérias desempenham um papel fundamental na decomposição da matéria orgânica e na reciclagem de nutrientes, contribuindo significativamente para a saúde dos ecossistemas (VENTURA et al., 2007).

A morfologia é uma característica essencial para a identificação das actinobactérias, como demonstrado por Shirling e Gottlieb (1966), que desenvolveram métodos para caracterizar a espécie *Streptomyces*, examinando a estrutura da superfície dos esporos e seus arranjos, assim como

a coloração da massa micelial. Oliveira (2003) isolou actinobactérias de resíduos em processo de compostagem, observando características como a aparência pulverulenta e a produção de hifas filamentosas e ramificadas. Ao utilizar a coloração de Gram, a autora identificou formas fragmentadas no gênero *Nocardia* e formas filamentosas em *Streptomyces*, além de relatar uma variedade de cores no micélio aéreo, que variavam do branco ao marrom.

Anandan et al. (2016) descreveram o micélio aéreo das actinobactérias como apresentando estruturas algodoadas, aveludadas ou pulverulentas, frequentemente com formação de anéis ou zonas concêntricas e diversas pigmentações. Para uma classificação mais detalhada das actinobactérias, são utilizadas ferramentas de microscopia de luz e eletrônica de varredura, além de crescimento em meios de cultura específicos e sequenciamento do rDNA 16S. Métodos quimiotaxonômicos e taxonomia numérica também são empregados na identificação dessas bactérias (SHIRLING; GOTTLIEB, 1966; SEMÊDO et al., 2001; SEMÊDO et al., 2004).

Com base nas características morfológicas observadas, técnicas de isolamento como diluição seriada seguidas de plaqueamento foram aplicadas neste estudo para o isolamento de actinobactérias. Outras abordagens, como a técnica de dispersão e centrifugação diferencial (DDC), utilizada por Gomes et al. (1999), mostraram-se eficazes na obtenção de actinobactérias a partir de amostras de solo, visando a máxima dissociação dos propágulos desses organismos dos agregados do solo (SEMÊDO et al., 2001). Para selecionar actinobactérias com potencial de solubilização de compostos específicos, é fundamental ajustar o meio de cultura conforme o objetivo da pesquisa. Lingappa e Lockwood (1961) exemplificaram essa abordagem ao isolar actinobactérias do solo utilizando quitina tratada com hidróxido de sódio, ácido clorídrico e álcool etílico, observando zonas limpas de quitina em torno das colônias de actinomicetos. Estudos sobre actinobactérias degradadoras de quitina, com aplicações em pupas ou larvas de insetos, também têm sido documentados (GADELHAK et al., 2005; EL-KHAWAGH et al., 2011).

Adicionalmente, a produção de metabólitos secundários por actinobactérias tem sido objeto de intensas pesquisas, uma vez que

esses organismos são responsáveis por aproximadamente 45% dos cerca de 10.000 metabólitos bioativos já descobertos (BERDY, 2005; ARASU et al., 2016; ANANDAN et al., 2016). Assim, o presente trabalho visa isolar actinobactérias de amostras de solo, caracterizar os isolados quanto à morfologia das colônias e à coloração de Gram, além de avaliar a atividade quitinolítica dos mesmos.

Material e Métodos

Isolamento das actinobactérias

As actinobactérias foram isoladas de amostras de solo cedidas pelo Laboratório de Microbiologia do Solo, localizado na Faculdade de Agronomia e Zootecnia (FAAZ) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Campus de Cuiabá, MT, apresenta coordenadas geográficas de aproximadamente 15.6017° S de latitude e 56.0972° W de longitude, a uma altitude de cerca de 600 metros. O clima é tropical savânico (Aw), caracterizado por uma estação chuvosa de novembro a março, com altas temperaturas e umidade elevada, e uma estação seca de abril a outubro, marcada por poucas chuvas e calor intenso. A região é predominantemente coberta por cerrado, com solos do tipo Latossolo, que exigem manejo adequado para otimizar a fertilidade e suportar as atividades acadêmicas focadas em agronomia e zootecnia. Para o isolamento e o cultivo das actinobactérias do solo, utilizou-se o meio de cultura Extrato de Solo (ES), meio este que fornece nutrientes orgânicos essenciais, ágar como agente solidificante, água destilada como solvente, e, ocasionalmente, sais minerais e carboidratos para equilibrar a dieta dos microrganismos, e a técnica de Diluição Seriada seguida pelo plaqueamento Spread Plate (PRAMER E SCHMIDT, 1964).

As placas de ES foram incubadas a 28 °C em câmara de crescimento tipo B.O.D. (demanda bioquímica de oxigênio) por sete dias. As colônias com características de actinomicetos, foram selecionadas e purificadas usando o método de estrias em meio de cultura ES.

Armazenamento das amostras

As amostras de actinobactérias foram acondicionadas em solução de glicerina 50%, em tubos plástico de 1,5 mL e armazenadas em freezer à temperatura de -20 °C. Também, foram

armazenadas em meio de cultura inclinado, em tubo de vidro com rosca. Em cada tubo de ensaio adicionou-se 3 mL de meio de cultura ES.

Os tubos contendo o meio de cultura foram esterilizados, retirados da autoclave, colocados inclinados no fluxo para secar e após a solidificação do meio de cultura, com o auxílio da alça de platina, os isolados foram transferidos no meio de cultura e levados para a incubadora a 28 °C, por quatorze dias. Logo após, os tubos foram preenchidos com glicerina a 50% e mantidos em geladeira a 5°C.

Caracterização morfológica

Os isolados obtidos foram multiplicados por esgotamento em estrias em meio de cultura ES e mantidos em B.O.D a 28 °C por sete dias para ser feita a caracterização morfológica. Inicialmente, observou-se o aspecto morfológico das colônias em lupa, e posteriormente, foi feita a coloração de Gram. O processo envolve a aplicação de um corante cristal violeta, seguido pelo uso de um mordente, como o iodo, que fixa o corante nas células. Em seguida, uma solução descolorante, geralmente álcool ou acetona, é aplicada, removendo o corante das bactérias Gram-negativas, que possuem uma parede celular mais fina. Por fim, um corante de contraste, como a safranina, é utilizado, permitindo que as bactérias Gram-negativas adquiram uma coloração rosa ou vermelha, enquanto as Gram-positivas permanecem roxas.

A coloração de Gram, permitiu, além da diferenciação entre gram-positivas e negativas, a observação do formato das células. Os isolados que apresentaram as mesmas características morfológicas, como coloração e formato celular, foram consideradas iguais, e agrupadas num mesmo morfotipo e, as outras foram caracterizadas como morfotipo diferente.

Ensaio quitinolítico

Para avaliar o potencial de degradação da quitina, pequenas porções das culturas de actinobactérias com sete dias de crescimento em meio ES foram transferidas com ponteiros esterilizados, para o centro da placa de Petri contendo quitina coloidal, preparada seguindo metodologia de Souza et al. (2009).

Para o preparo de quitina coloidal, adicionou-se 5 g de pó de quitina de cascas de caranguejo (C7170, Sigma-Aldrich Co., EUA) a

60 mL de Ácido Clorídrico (HCl) 37% P.A./ACS em Erlenmeyer, e em seguida, a mistura foi levada a um agitador magnético por 2 horas e 30 min em temperatura ambiente. Depois, foi adicionado à mistura, 200 mL de Álcool Etílico Absoluto P.A. (Etanol) a 7° C e então, deixou-a over night no agitador magnético, aproximadamente 12h. O preparo foi feito em capela de exaustão (SOUZA et al., 2009).

No dia seguinte, o material foi colocado em tubos de vidro e levados à centrífuga a 5000 rpm por 20 min a 4 °C. Posteriormente, o precipitado foi transferido para um Erlenmeyer com um funil de vidro e papel filtro 80 g/m², e fez-se a lavagem da quitina coloidal com 8 L de água destilada esterilizada até seu pH se tornar neutro (7,0).

A quitina coloidal foi retirada do papel filtro e utilizada para incrementar o meio ágar de quitina coloidal (CCA) (GUPTA et al., 1995). Este meio, foi composto por 15 g de quitina coloidal; 0,5 g de extrato de levedura; 1 g de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄); 0,3 g de sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO₄.7H₂O); 1,36 g de di-hidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄); 15 g de ágar e 1000 mL de água destilada. O pH foi ajustado para 6,8 adicionando hidróxido de sódio (NaOH) como solução básica ou ácido clorídrico (HCl) como solução ácida.

Após a inoculação dos isolados de actinobactérias no meio Czapek Dox Agar, conhecido como CCA, os mesmos foram colocados à 28°C em B.O.D por sete dias para a observação da capacidade de produção de quitinase pelos isolados. A leitura foi realizada com a observação da presença de halo transparente em torno da colônia ou ausência de halo. Amostras consideradas positivas para a produção de quitinase foram aquelas que apresentaram halo de inibição ao redor da cepa, independentemente do diâmetro do halo.

Resultados e Discussão

Aspecto cultural e morfologia celular

Com a técnica de isolamento aplicada neste estudo, foram selecionados 60 microrganismos com características de actinobactérias. A caracterização morfológica resultou na identificação de apenas 13 isolados como actinobactérias, classificados nas cepas "ACT3", "ACT7", "ACT11", "ACT14", "ACT15", "ACT18", "ACT19", "ACT23", "ACT40",

"ACT42", "ACT48", "ACT58" e "ACT60" (Figura 1). As colônias apresentaram uma variedade de aspectos, incluindo texturas pulverulentas, algodonosas e aveludadas. Dentre os isolados, quatro produziram massa de esporos bege, enquanto outros dois apresentaram massa cinza, dois de cor salmão, dois verde claro, um branco e um marrom, com predominância da coloração bege. A morfologia celular das cepas revelou formas filamentosas, bacilos e cocos.

A heterogeneidade de cores na massa do micélio aéreo observada neste estudo está em concordância com os achados de Silva et al. (2019), que isolaram colônias de actinobactérias com colorações cinza, marrom e branca no solo do semiárido nordestino. No presente trabalho, as colônias aveludadas e pulverulentas também foram notadas, corroborando os resultados de Sousa et al. (2019), que relataram características similares em actinobactérias isoladas de solo rizosférico, com colorações variando entre branco e cinza. Augustine (2014) isolou actinobactérias de sedimentos marinhos e encontrou texturas

2000 a 2005, notou-se variação nas datas de florescimento devido a fatores climáticos que influenciam diretamente o florescimento das ameixeiras. Outras cultivares, como Irati e Letícia, também apresentam variações, embora ocorram em períodos diferentes. Isso se deve ao fato de que ambas as cultivares têm origens genéticas distintas (SIMONETTO et al., 2007).

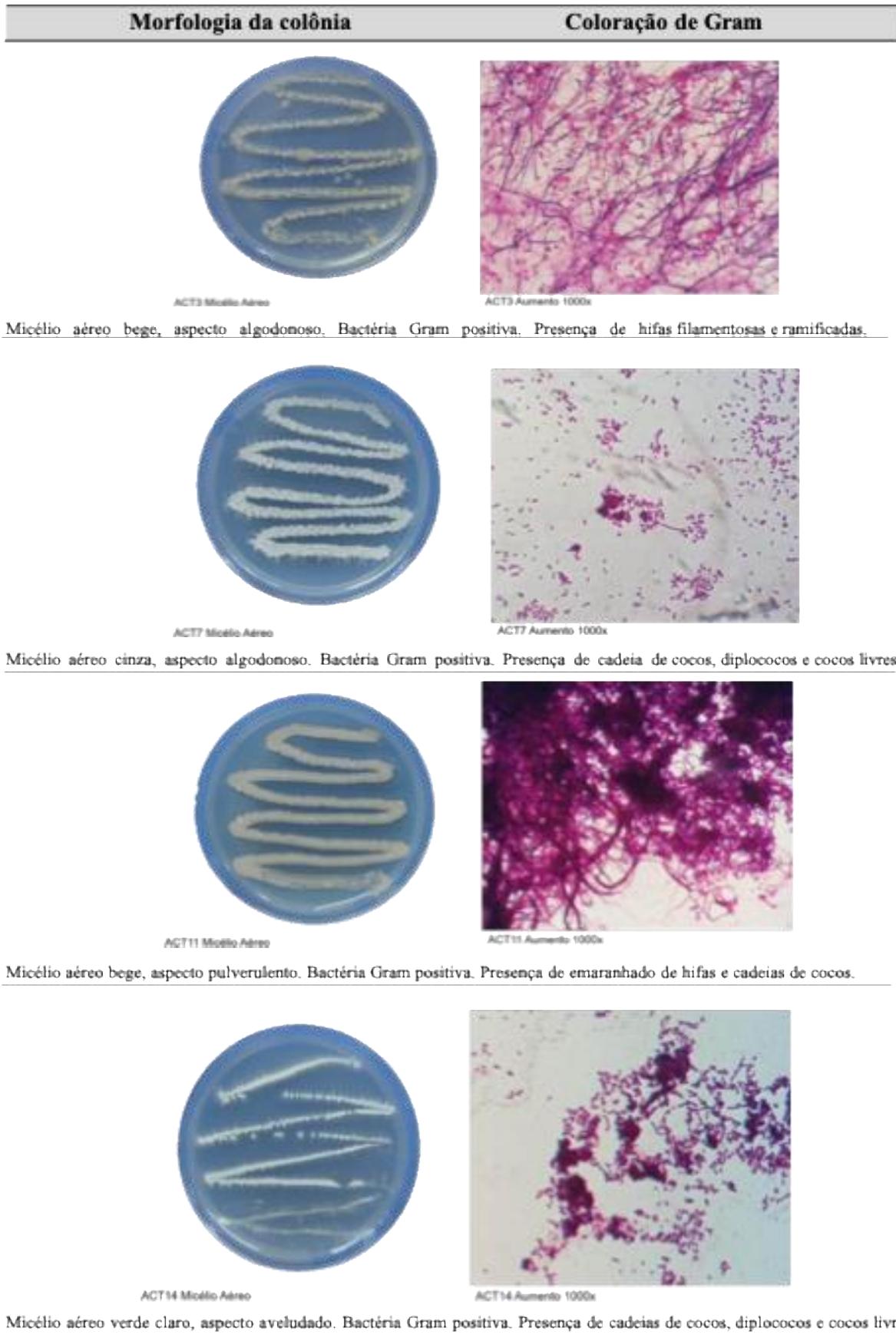
Fioravanzo et al. (2008) quando realizou a recomendação cultivar Gulfruby para o estado do

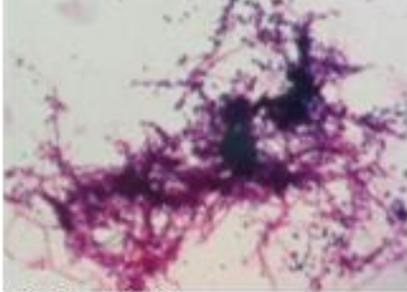
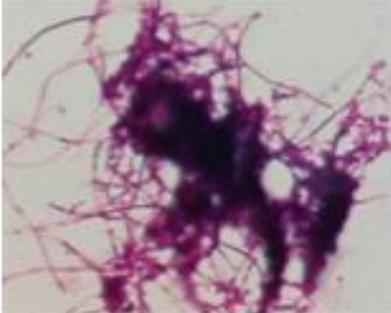
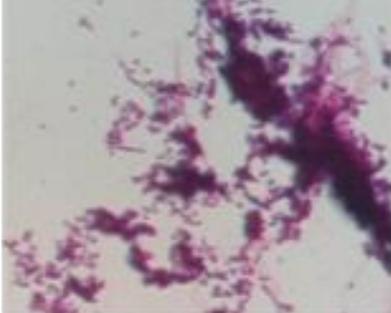
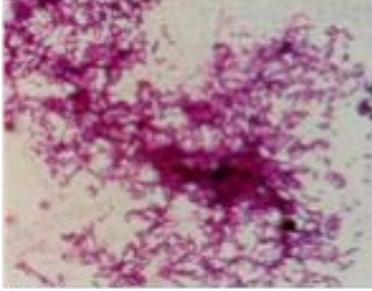
pulverulentas, algodonosas, aveludadas e coriáceas, com cores como branco/esbranquiçado, cinza, amarelo, verde e rosa/vermelho.

Adicionalmente, a caracterização das cepas neste estudo revelou formatos esféricos, bacilares e filamentosos, estruturas também descritas por Azuma (2011), que estudou actinobactérias em sedimentos superficiais da região entre-marés, observando emaranhados de finos filamentos que se fragmentavam em formas bacilares e esféricas. Santos et al. (2019) confirmaram a diversidade morfológica das actinobactérias, identificando formatos cocóides, filamentos fragmentados e hifas filamentosas, com o gênero predominante sendo *Streptomyces*. Semêdo et al. (2001) relataram que *Streptomyces* é o gênero mais comum de actinobactérias em solos, correspondendo a até 90% dos isolados. Além disso, Silva (2010) observou hifas extensas e ramificadas em actinobactérias, algumas com fragmentação em bacilos, identificadas neste caso como *Nocardia*.

Rio Grande do Sul obteve nos ciclos de florescimento e frutificação uma duração de 30 dias aproximadamente no florescimento e de 112 dias durante a frutificação, com variação na quantidade de dias com os diferentes anos de avaliação. Ele atribuiu este fato a existência de variação na temperatura dos diferentes anos analisados.

Figura 1. Morfologia de colônia e coloração de Gram de actinobactérias de solo

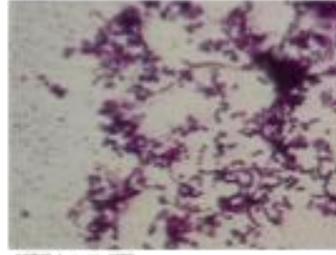


Morfologia da colônia	Coloração de Gram
 <p data-bbox="395 607 539 622">ACT15 Micélio Aéreo</p>	 <p data-bbox="815 607 970 622">ACT15 Aumento 1000x</p>
<p>Micélio aéreo bege, aspecto algodonososo. Bactéria Gram positiva. Presença de emaranhado de hifas e cocos.</p>	
 <p data-bbox="427 1014 560 1030">ACT18 Micélio Aéreo</p>	 <p data-bbox="831 1014 986 1030">ACT18 Aumento 1000x</p>
<p>Micélio aéreo bege, aspecto aveludado. Bactéria Gram positiva. Presença de emaranhado de hifas.</p>	
 <p data-bbox="427 1440 560 1456">ACT19 Micélio Aéreo</p>	 <p data-bbox="831 1440 986 1456">ACT19 Aumento 1000x</p>
<p>Micélio aéreo verde claro, aspecto aveludado. Bactéria Gram positiva. Presença de filamentos e cocos.</p>	
 <p data-bbox="443 1854 571 1870">ACT23 Micélio Aéreo</p>	 <p data-bbox="831 1854 986 1870">ACT23 Aumento 1000x</p>
<p>Micélio aéreo branco, aspecto pulverulento. Bactéria Gram positiva. Presença de hifas filamentosas e cocos</p>	

Morfologia da colônia	Coloração de Gram
-----------------------	-------------------



ACT40 Micélio Aéreo

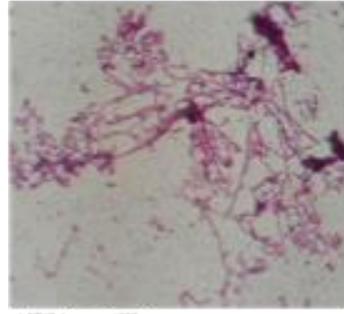


ACT40 Aumento 1000x

Micélio aéreo cinza, aspecto pulverulento. Bactéria Gram positiva. Presença de hifas filamentosas e cocos.



ACT42 Micélio Aéreo

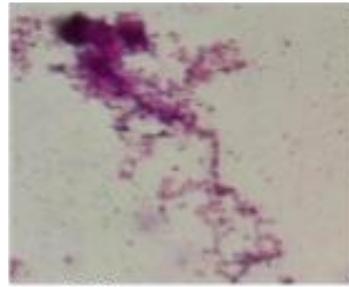


ACT42 Aumento 1000x

Micélio aéreo salmão, aspecto aveludado. Bactéria Gram positiva. Presença de bacilos.



ACT48 Micélio Aéreo



ACT48 Aumento 1000x

Micélio aéreo salmão, aspecto aveludado. Bactéria Gram positiva. Presença de bacilos.



ACT58 Micélio Aéreo

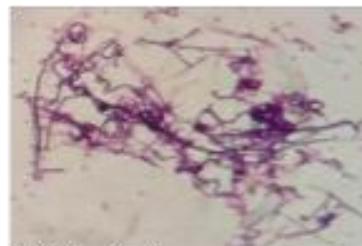


ACT58 Aumento 1000x

Micélio aéreo branco e cinza, aspecto pulverulento. Bactéria Gram positiva. Presença de hifas filamentosas.



ACT60 Micélio Aéreo



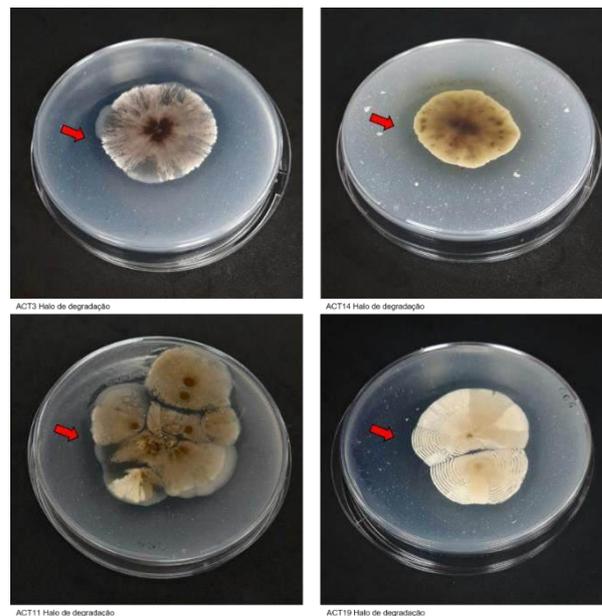
ACT60 Aumento 1000x

Atividade quitinolítica de actinobactérias de solo

Das treze cepas, apenas “ACT3”, “ACT11”, “ACT14” e “ACT19” foram selecionadas com base na produção da enzima

quitinase. Os resultados positivos com relação à capacidade de degradação de actinobactérias de solo isoladas no estudo, são apresentados na Figura 2.

Figura 2. Placas de CCA com presença de zonas claras de produção de enzima quitinase.



Observou-se a presença exclusiva de hifas não septadas entre os isolados, corroborando os achados de Ichiwaki (2017), que também relatou essa característica em actinobactérias isoladas de amostras de água e sedimento da bacia do Rio Tietê. Além disso, apenas quatro cepas demonstraram sucesso na degradação da quitina.

Segundo Lacombe-Harvey et al. (2018, p. 7220), uma das justificativas para essa limitação é que “existem organismos que possuem genes que codificam enzimas quitinolíticas, mas não crescem em meios de cultura contendo quitina”, sugerindo que, para as cepas que conseguem degradar a quitina, seu crescimento está intimamente relacionado à sua capacidade de solubilizar esse polissacarídeo. Como evidenciado, a busca por substâncias bioativas em actinobactérias para aplicações biotecnológicas continua sendo uma área de grande interesse.

Com base nas características morfológicas e culturais das colônias, 13 cepas foram indicadas como possíveis representantes

do filo Actinobacteria, ressaltando mais uma vez a diversidade em morfologia e pigmentação deste grupo.

Quanto a formação de zonas de atividade quitinolítica, diversos autores já as identificaram e determinaram zonas de diversos tamanhos, variando de 5 até 13 mm no trabalho de Das et al. (2017), e acima de 0,2 cm encontrados em estudos de Thirumurugan et al. (2015) e Wang et al. (2015). O presente trabalho não se ateu na medição das zonas, pois o objetivo era apenas identificar a atividade ou não de quitinase.

Conclusões

Neste estudo, as cepas “ACT3”, “ACT11”, “ACT14” e “ACT19” demonstraram produção da enzima quitinase, através da formação de halos transparentes ao redor da colônia. Corroborando, a capacidade quitinolítica do grupo. Quanto a morfologia, observou-se presença exclusiva de hifas não septadas entre os isolados. Ainda, é necessário classificar a níveis mais específicos da

taxonomia os isolados estudados, e que sejam testados quanto a sua aplicação como agentes de biocontrole.

Referências

- AUGUSTINE, D. **Actinomycete isolates from Arabian Sea and Bay of Bengal: biochemical, molecular and functional characterization**. 2014. p. 39-41. Tese de doutorado (Department of Marine Biology, Microbiology and Biochemistry) - Cochin University of Science and Technology, Kochi.
- ANANDAN, R.; DHARUMADURAI, D.; MANOGARAN, G. P. An introduction to actinobacteria. **In: Actinobacteria-basics and biotechnological applications**, Intechopen, p. 3-37, 2016.
- ARASU, M. V.; ESMAIL, G. A.; AL-DHABI, N. A.; PONMURUGAN, K. Managing pests and diseases of grain legumes with secondary metabolites from actinomycetes. **In: Plant growth promoting actinobacteria**, Springer, p. 83-98, 2016.
- AZUMA, M. V. P. **Actinobactérias com potencial biotecnológico isoladas da região entre- marés da Ilha do Mel**. 2011. p. 77-82. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- BERDY, J. Bioactive microbial metabolites, a personal view. **The Journal of Antibiotics**, v. 58, n. 1, p. 1-26, 2005.
- DAS, PAYAL; KUMAR, PRATEEK; KUMAR, MUNENDRA; SOLANKI, RENU; KHANNA KAPUR, MONISHA. Purification and molecular characterization of chitinases from soil actinomycetes. **African Journal of Microbiology Research**, v. 11, n. 27, p. 1086-1102, 2017.
- EL-KHAWAGH, M. A.; HAMADAH, K. S.; EL-SHEIKH, T. M. The insecticidal activity of actinomycete metabolites, against the mosquito *Culex pipiens*. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 1, p. 103-113, 2011.
- GADELHAK, G. G.; EL-TARABILY, K. A.; AL-KAABI, F. K. Insect control using chitinolytic soil actinomycetes as biocontrol agents. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 7, n. 4, p. 627-633, 2005.
- GOMES, R. C.; SEMÊDO, L. T. A. S.; LINHARES, A. A.; GUIMARÃES, A. C. C.; ALVIANO, C. S.; LINHARES, L. F.; COELHO, R. R. R. Efficiency of the dispersion and differential centrifugation technique in the isolation of chitinolytic actinomycetes from soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 47-50, 1999.
- GUPTA, R.; SAXENA, R. K.; CHATURVEDI, P.; VIRDI, J. S. Chitinaseproduction by *Streptomyces viridificans*: its potential in fungal cell wall lysis. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 78, n. 4, p. 378-383, 1995.
- ICHIWAKI, S. **Caracterização e identificação de linhagens de actinomicetos isoladas de amostras de água e sedimento da bacia do rio Tietê**. 2017. Tese de Doutorado (Biotecnologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 65-68, 2017.
- LACOMBE-HARVEY, M.; BRZEZINSKI, R.; BEAULIEU, C. Chitinolytic functions in actinobacteria: ecology, enzymes, and evolution. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 17, p. 7219-7230, 2018.
- LINGAPPA, Y.; LOCKWOOD, J. L. A chitin medium for isolation, growth and maintenance of actinomycetes. **Nature**, v. 189, n. 4759, p. 158-159, 1961.
- OLIVEIRA, M. F. **Identificação e caracterização de actinomicetos isolados de processo de compostagem**. 2003. p. 55-66. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Universidade Federal de Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- PRAMER, D.; SCHIMDT, E. L. Bacteria and actinomycetes by the dilution plate method. **In: Experimental Soil Microbiology**, Burgess publishing co. minneapolis, p. 35-37, 1964.

SEMÊDO, L. T. A. S.; LINHARES, A. A.; GOMES, R. C.; MANFIO, G. P.; ALVIANO, C. S.; LINHARES, L. F.; COELHO, R. R. R. Isolation and characterization of actinomycetes from Brazilian tropical soils. **Research in Microbiology**, v. 155, n. 4, p. 291-299, 2001.

SEMÊDO, L. T. A. S.; GOMES, R. C.; LINHARES, A. A.; DUARTE, G. F.; NASCIMENTO, R. P.; ROSADO, A. S.; MARGIS-PINHEIRO, M.; MARGIS, R.; SILVA, K. R. A.; ALVIANO, C. S.; MANFIO, G. P.; SOARES, R. M. A.; LINHARES, L. F.; COELHO, R. R. *Streptomyces drozdowiczii* sp. nov., a novel cellulolytic streptomycete from soil in Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 4, p. 1323-1328, 2004.

SILVA, L. C. B. **Identificação de actinobactérias e Thermoactinomyces spp. isolados do processo de compostagem para a produção de *Agaricus brasiliensis***. 2010. p. 7-10. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, M. J.; SOUSA, J.; MARTINS, S. C.; MARTINS, C. Diversidade de cepas de actinobactérias da RPPN “Fazenda não me deixes” - Quixadá (CE). **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 1857-1869, 2019.

SOUZA, C. P.; BURBANO-ROSETO, E. M.; ALMEIDA, B. C.; MARTINS, G. G.; ALBERTINI, L. S.; RIVERA, I. N. G. Culture medium for isolating chitinolytic bacteria from seawater and plankton. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, n. 11, p. 2079-2082, 2009.

SOUZA, S. F.; LIBERAL, T. C. F.; SOUSA JÚNIOR, J. J. V.; SANTOS, B.V.L.; FABIAN, M. Z.; SANTANA, R. C. F.; ARAÚJO, J. M.; TSAI, S. M.; RABELO, S. K. S. *Streptomyces* sp. isolados da Amazônia como agentes de biocontrole de fungos aflatoxigênicos. **In: Diversidade microbiana da Amazônia, INPA**, p. 46-49, 2019.

SHIRLING, E. B.; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species¹.

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 16, n. 3, p. 313-340, 1966.

THIRUMURUGAN, D.; SANKARI, D.; KUMAR, R.V. Screening of chitinase production and antifungal activity of *Streptomyces* sp. Act7 from east coast region, South India. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical**, v. 7, n. 5, p.38-41, 2015.

VENTURA, M., CANCHAYA, C., TAUCH, A. Actinobacteria: A Key Player in the Biosphere. **Microbial Ecology**, v. 53, n. 2, p. 171-182, 2007.

WANG, Q.; DUAN, B.H.; YANG, R.; ZHAO, Y.R.; ZHANG, L. Screening and identification of chitinolytic actinomycetes and study on the inhibitory activity against turfgrass root rot disease fungi. **Journal of Bioscience and Medicine**, v. 3, p.56-65, 2015.