

Utilização da curcumina como modulador epigenético para produção de metabólitos antimicrobianos por *Streptomyces pratensis*

Use of curcumin as an epigenetic modulator for the production of antimicrobial metabolites by Streptomyces pratensis

Uso de la curcumina como modulador epigenético para la producción de metabolitos antimicrobianos por Streptomyces pratensis

Sarah Cavalcanti¹, Juliana Henrique², Robson Silva³, Tiago Araújo⁴, Rosângela Falcão⁵, Carolina Albuquerque⁶ e Vladimir Silveira-Filho⁷

1. Universidade de Pernambuco, Departamento de Ciências Biológicas, Garanhuns, Brasil. E-mail: sarahcavalcantedasilva@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4277-8350>
2. Universidade de Pernambuco, Departamento de Ciências Biológicas, Garanhuns, Brasil. E-mail: juliana.henrique@upe.br
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-8124-7342>
3. Universidade de Pernambuco, Departamento de Ciências Biológicas, Garanhuns, Brasil. E-mail: robson.araujosilva@upe.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5730-4027>
4. Universidade de Pernambuco, Departamento de Ciências Biológicas, Garanhuns, Brasil. E-mail: tiago.araujo@upe.br
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-2066-2227>
5. Universidade de Pernambuco, Departamento de Ciências Biológicas, Garanhuns, Brasil. E-mail: rosangela.falcao@upe.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7693-4630>
6. Universidade de Pernambuco, Departamento de Odontologia, Arcoverde, Brasil. E-mail: carolina.albuquerque@upe.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9086-3739>
7. Universidade de Pernambuco, Departamento de Ciências Biológicas, Garanhuns, Brasil. E-mail: vladimir.filho@upe.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0148-1454>

Resumo: O uso indiscriminado de antimicrobianos é a principal causa da resistência antimicrobiana, que se tornou uma preocupação global. Diante disso, há necessidade do desenvolvimento de novas drogas no combate aos microrganismos resistentes. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da curcumina como modulador epigenético em bactérias filamentosas do gênero *Streptomyces* para potencializar sua produção de metabólitos com ação antimicrobiana. Para isso, foram analisadas três cepas da Coleção Bacteriológica da Universidade de Pernambuco *Campus* Garanhuns. Após a triagem, a cepa com maior potencial antimicrobiano foi identificada molecularmente e submetida à modulação epigenética com curcumina a 50 µM e 150 µM, para a produção de metabólitos com ação antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*. A cepa *Streptomyces pratensis* B14 mostrou potencial antimicrobiano promissor, com halos de inibição variando entre 14 e 18 mm. Ao analisar o poder inibitório do seu extrato bruto, foi possível constatar um aumento significativo (de até 62x) na ação antimicrobiana, atribuído à modulação epigenética com a curcumina. Esses resultados são promissores e inéditos, o que reforça sua importância e relevância para ser explorado em futuros trabalhos.

Palavras-chave: Biotecnologia; Resistência Bacteriana; Compostos Bioativos.

Abstract: The indiscriminate use of antimicrobials is the main cause of antimicrobial resistance, which has become a global concern. Consequently, there is a need for the development of new drugs to combat resistant microorganisms. This study aimed to evaluate the effect of curcumin as an epigenetic modulator in filamentous bacteria of the genus *Streptomyces* to enhance their production of metabolites with antimicrobial activity. Three strains from the Bacteriological Collection of the University of Pernambuco, Garanhuns Campus, were analyzed for this purpose. Following screening, the strain showing the highest antimicrobial potential was molecularly identified and subjected to epigenetic modulation with curcumin at concentrations of 50 μM and 150 μM , aiming to produce metabolites with antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus subtilis*. The strain *Streptomyces pratensis* B14 exhibited promising antimicrobial potential, with inhibition zones ranging from 14 to 18 mm. Analysis of the inhibitory power of its crude extract revealed a significant increase (up to 62-fold) in antimicrobial activity, attributed to epigenetic modulation with curcumin. These findings are promising and unprecedented, underscoring their importance and relevance for exploration in future studies.

Keywords: Biotechnology; Bacterial Resistance; Bioactive Compounds.

Resumen: El uso indiscriminado de antimicrobianos es la principal causa de la resistencia antimicrobiana, la cual se ha convertido en una preocupación global. Ante esto, es necesario desarrollar nuevos medicamentos para combatir los microorganismos resistentes. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la curcumina como modulador epigenético en bacterias filamentosas del género *Streptomyces* para potenciar su producción de metabolitos con actividad antimicrobiana. Para ello, se analizaron tres cepas de la Colección Bacteriológica de la Universidad de Pernambuco Campus Garanhuns. Tras el cribado, se identificó molecularmente la cepa con mayor potencial antimicrobiano y se sometió a modulación epigenética con curcumina a concentraciones de 50 μM y 150 μM , con el fin de producir metabolitos con actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis*. La cepa *Streptomyces pratensis* B14 mostró un potencial antimicrobiano prometedor, con halos de inhibición que variaron entre 14 y 18 mm. Al analizar el poder inhibitorio de su extracto bruto, se observó un aumento significativo (de hasta 62 veces) en la acción antimicrobiana, atribuido a la modulación epigenética con curcumina. Estos resultados son prometedores e inéditos, lo cual refuerza su importancia y relevancia para ser explorados en futuros trabajos.

Palabras clave: Biotecnología; Resistencia Bacteriana; Compuestos Bioactivos.

1. Introdução

Nos últimos anos, a resistência antimicrobiana tornou-se um dos maiores desafios globais em saúde pública, afetando seres humanos, animais e o meio ambiente. Esse fenômeno afeta vários aspectos, como a saúde global, a segurança e a sustentabilidade alimentar, o bem-estar ambiental e o desenvolvimento socioeconômico (MAJUMDER *et al.*, 2020; CARVALHO *et al.*, 2021). Por conta disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a necessidade urgente de criação de novas drogas, novos antimicrobianos, ou abordagens terapêuticas a fim de combater essa ameaça (SILVA; NOGUEIRA, 2021).

As bactérias do gênero *Streptomyces* spp., pertencentes à ordem Streptomycetales da classe Actinobacteria, são microrganismos aeróbicos, Gram-positivos e filamentosos, encontrados em ambientes marinhos e terrestres. Estas bactérias destacam-se como produtoras de agentes antimicrobianos, enzimas hidrolíticas e diversos metabólitos bioativos com ação herbicida, pesticida, antibiótica e antiparasitária. O gênero *Streptomyces* possui, portanto, grande potencial biotecnológico, com aplicações nas áreas de medicina humana, veterinária, ecologia e industrial (CHAIHARN, THEANTANA e PATHOM-AREE, 2020; SHARMA e MANHAS, 2020; CARRATORE *et al.*, 2022).

Paralelamente, a modulação epigenética de cromatina tem se mostrado uma estratégia eficaz para intensificar a produção do metabolismo silenciado em microrganismos. Essa técnica envolve a manipulação da expressão gênica através de interações com enzimas reguladoras da cromatina, o que permite a ativação de genes que estavam silenciados (GULYAMOVA *et al.*, 2019). Esse processo tem se mostrado promissor na descoberta de novos produtos microbianos, como antibióticos e outras moléculas bioativas, o que é crucial para o desenvolvimento de novas terapias e medicamentos.

Ao longo dos últimos dez anos, o uso de moduladores epigenéticos sintéticos, como hidralazina, 5-azacitidina, ácido suberoil bishidroxâmico, ácido suberoilnilida hidroxâmico, ácido valpróico e nicotinamida, tem sido responsável por importantes avanços na área da biotecnologia, e continua sendo objeto de intensa pesquisa em todo o mundo (ARAÚJO *et al.*, 2023; SHOAIIB *et al.*, 2023). Contudo, algumas substâncias naturais, comuns na dieta humana, possuem ação moduladora, como por exemplo a curcumina, presente no açafrão-da-terra (*Curcuma longa*

Linn), que alteram a expressão gênica por ação direta nas DNA-metil-transferases (DNMTs) e histonas-desacetilases (HDACs) (MISHRA *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2017).

Assim, a utilização da curcumina como modulador epigenético para bioprospecção de metabólitos antimicrobianos representa uma estratégia inovadora, mais econômica e natural para a prevenção e tratamento de infecções bacterianas. Dessa forma, esta pesquisa tem como objetivo avaliar o efeito da curcumina na modulação epigenética de bactérias filamentosas para produção de metabólitos com ação antimicrobiana.

2. Materiais e Métodos

2.1 Microrganismos

Para o estudo, foram utilizadas três cepas de bactérias filamentosas identificadas como B8, B14 e B20, pertencentes à Coleção Bacteriológica da Universidade de Pernambuco *Campus* Garanhuns. Essas cepas tratam-se de isolados ambientais, obtidos no ambiente doméstico (parede), na cidade de Garanhuns/PE, e encontravam-se em meio *International Streptomyces Project* (ISP2) com óleo mineral.

2.2 Seleção dos microrganismos com atividade antimicrobiana

Utilizou-se uma abordagem qualitativa clássica (ICHIKAWA, 1971) para averiguar a ação antimicrobiana dos isolados. Cada um dos isolados foi cultivado em placas de Petri com meio de cultura ISP2, mantidas em temperatura ambiente entre 20 e 26 °C, por um período de 7 dias, com o intuito de formar uma camada uniforme de células. Após o crescimento dos microrganismos, discos de ágar, com 8 mm de diâmetro, foram coletados e transferidos para a superfície de placas de Petri com meio de cultura ágar Müeller-Hinton, individualmente semeadas com uma suspensão bacteriana composta por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*, fornecidos pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, equivalente a 0,5 na escala de McFarland. As placas foram incubadas a 37 °C durante 24 h, para aferição da atividade antimicrobiana através da formação do halo de inibição.

2.3 Identificação molecular

A bactéria filamentosa que apresentou melhor halo de inibição foi selecionada para identificação molecular. Para isso, seu DNA genômico foi extraído pela técnica de fenol-clorofórmio (SAMBROOK; RUSSEL, 2001). Para a amplificação do gene 16S, foram utilizados os primers 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' e 5'-GGTACCTTGTACGACTT-3' descritos por Srinivasan *et al.* (2015), utilizando o seguinte ciclo de PCR: 95°C por 1 min, seguida de 40 ciclos a 95°C por 30 seg, 50°C por 1 min e 72°C por 90 seg, e uma extensão final a 72°C por 5 min.. O amplicon de 1350 pb foi purificado e encaminhado para a plataforma de sequenciamento LABCEN/CCB da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). A sequência obtida foi comparada com as sequências depositadas no GenBank/NCBI e EZBiocloud.

2.4 Modulação epigenética

A bactéria filamentosa foi cultivada em meio líquido ISP2 por 5 dias, em seguida foi incubado, na proporção de 10% do volume total, em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de meio líquido de farinha de soja (pH 7,21 : 1,6% (p/v) de farinha de soja fervida e filtrada previamente, 0,1% (p/v) de NH₄Cl, 0,06% (p/v) de MgSO₄ · 7 H₂O, 0,435% (p/v) de K₂HPO₄, 0,01% (p/v) de glicose) e solução mineral a 1,0% (v/v) (100 mL de água destilada, 100 mg de FeSO₄ · 7 H₂O, 100 mg de MgCl₂ · 4 H₂O, 100 mg de ZnSO₄ · H₂O e 100 mg de CaCl₂ · H₂O) (LIMA *et al.*, 2011). Para o teste epigenético (Figura 1), a farinha de soja foi suplementada com a substância moduladora curcumina nas concentrações de 150 µM (CM150) e 50 µM (CM50). Como controle, também foi utilizada uma cultura sem curcumina. As culturas foram incubadas a 30 °C, 200 rpm por 7 dias e o caldo resultante foi filtrado usando membranas de nitrocelulose de 0,45 µm para remoção do micélio. Em seguida, o filtrado foi liofilizado por aproximadamente 6 dias até a completa secagem e, posteriormente, utilizado para avaliar a atividade antimicrobiana.

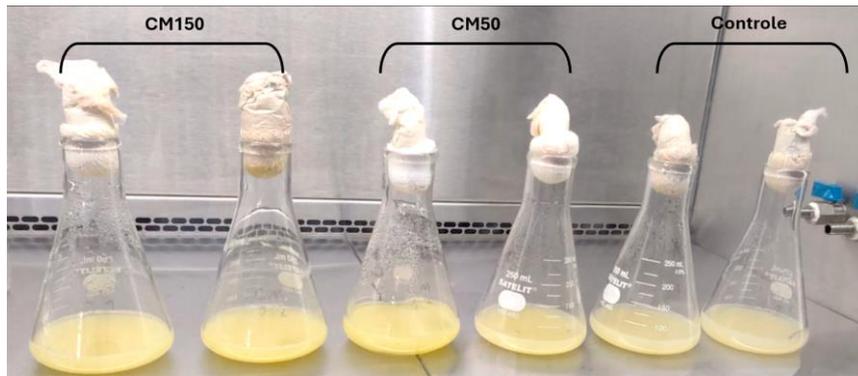


Figura 1. Preparo do caldo de farinha de soja suplementado com curcumina 150 μ M (CM150), curcumina 50 μ M (CM50) e sem curcumina (Controle).

2.5 Atividade antibacteriana

As diretrizes estabelecidas pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) e pelo BrCAST (*Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) foram seguidas durante o experimento. As cepas bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis* foram reativadas em caldo Müeller-Hinton (MH) e incubadas a uma temperatura de 37 °C por 24 h. Após isso, as amostras foram ajustadas para uma concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, que é equivalente a 0,5 na escala de McFarland. Em seguida as amostras foram dispostas numa microplaca de 96 poços, conforme o esquema da Figura 2. Em (A0) foram dispostos controles positivo e negativo para o crescimento bacteriano; em (A1) foi realizado o controle do extrato sem bactérias adicionadas; e em (A2) foram realizados os testes antimicrobianos em triplicata com extratos de *Streptomyces* sp. nas concentrações de 1000, 500 e 250 μ g/mL em contato com as bactérias.

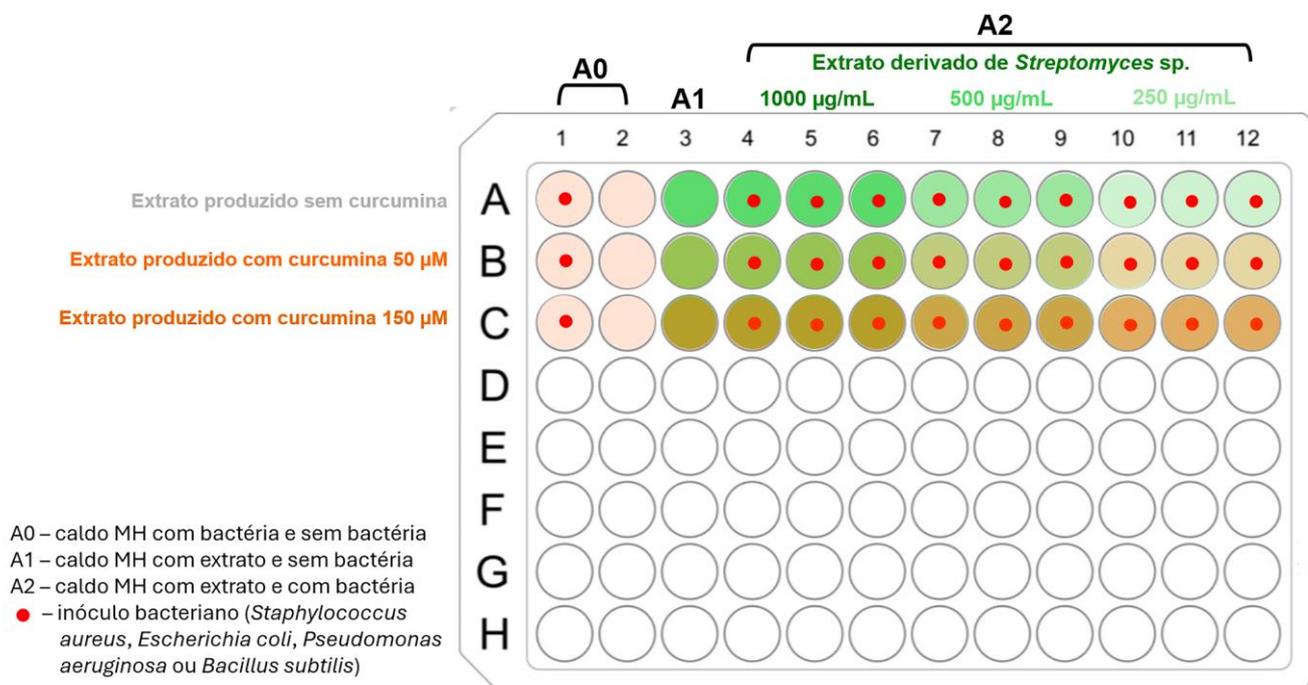


Figura 2. Esquema de distribuição das amostras nos testes antimicrobianos.

A microplaca foi incubada a 37 °C por 24 h em uma estufa bacteriológica e lida em um leitor de microplacas a 600 nm. A porcentagem de inibição foi calculada utilizando a fórmula elaborada por Nagalakshmi, Saranraj, Sivasakthivelan (2019), onde a inibição total (I100) foi considerada quando a inibição foi de 100%, enquanto a inibição parcial (I50) foi considerada quando a inibição variou de 50 a 99%.

3. Resultados

Testada a atividade antibacteriana dos isolados, na Figura 3 e Tabela 1 é possível observar que as bactérias filamentosas B8 e B20 não conseguiram formar halo de inibição contra nenhuma das bactérias testadas. A bactéria filamentosa 14 (B14) conseguiu formar o halo de inibição 16 mm contra a bactéria *S. aureus*, 14 mm contra a *P. aeruginosa* e 18 mm contra a *B. subtilis*, porém não houve inibição contra a *E. coli*, segundo a metodologia proposta para a triagem.

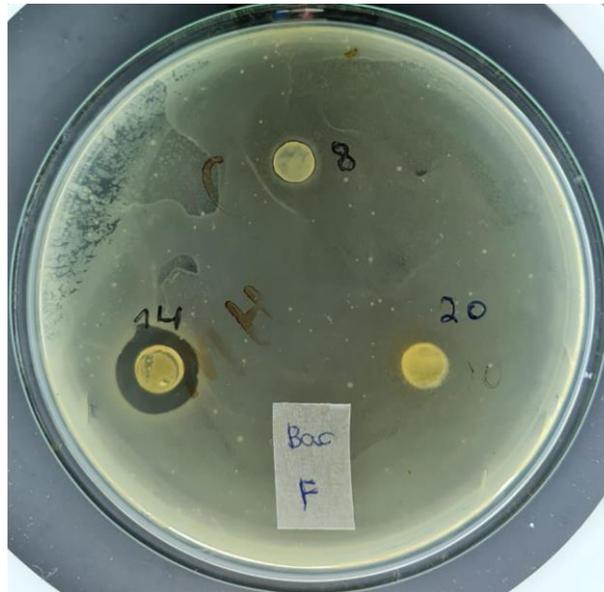


Figura 3. Halo de inibição da cepa B14 de *Streptomyces* sp. contra cultura de *Pseudomonas aeruginosa*s.

A análise da sequência do gene 16S permitiu a identificação da espécie como *Streptomyces pratensis*, com identidade de 99,9% no GenBank/NCBI e de 100% no EZBiocloud. Esta espécie é comum no solo e importante na produção de diversos compostos bioativos como bacteriocinas para inibir o crescimento de outras espécies bacterianas (ZHANG *et al.*, 2021). O extrato obtido a partir de *S. pratensis* apresentou atividade antibacteriana contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *B. subtilis*, com ou sem a modulação epigenética com curcumina. Contudo, em nenhuma condição o extrato de *S. pratensis* foi capaz de inibir o desenvolvimento de *E. coli*.

Na concentração de 1000 µg/mL do extrato (Figura 4), o extrato produzido sem o tratamento epigenético (controle) demonstrou atividade contra as bactérias *S. aureus* e *B. subtilis* inferior à inibição parcial (I50). Porém, após a modulação com curcumina (CM50 e CM100), o extrato conseguiu ultrapassar o limiar da inibição parcial contra *S. aureus* e *B. subtilis*. Contra a bactéria *P. aeruginosa*, o extrato de *S. pratensis* foi eficiente em todas as concentrações, com ou sem modulação. Por fim, a inibição total (I100) só foi possível no extrato modulado CM150, contra *B. subtilis* e *P. aeruginosa*.

Tabela 1. Medidas dos halos de inibição das cepas de *Streptomyces* sp. contra culturas bacterianas.

Amostra	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
B8	-	-	-	-
B14	16 mm	-	14 mm	18 mm
B20	-	-	-	-

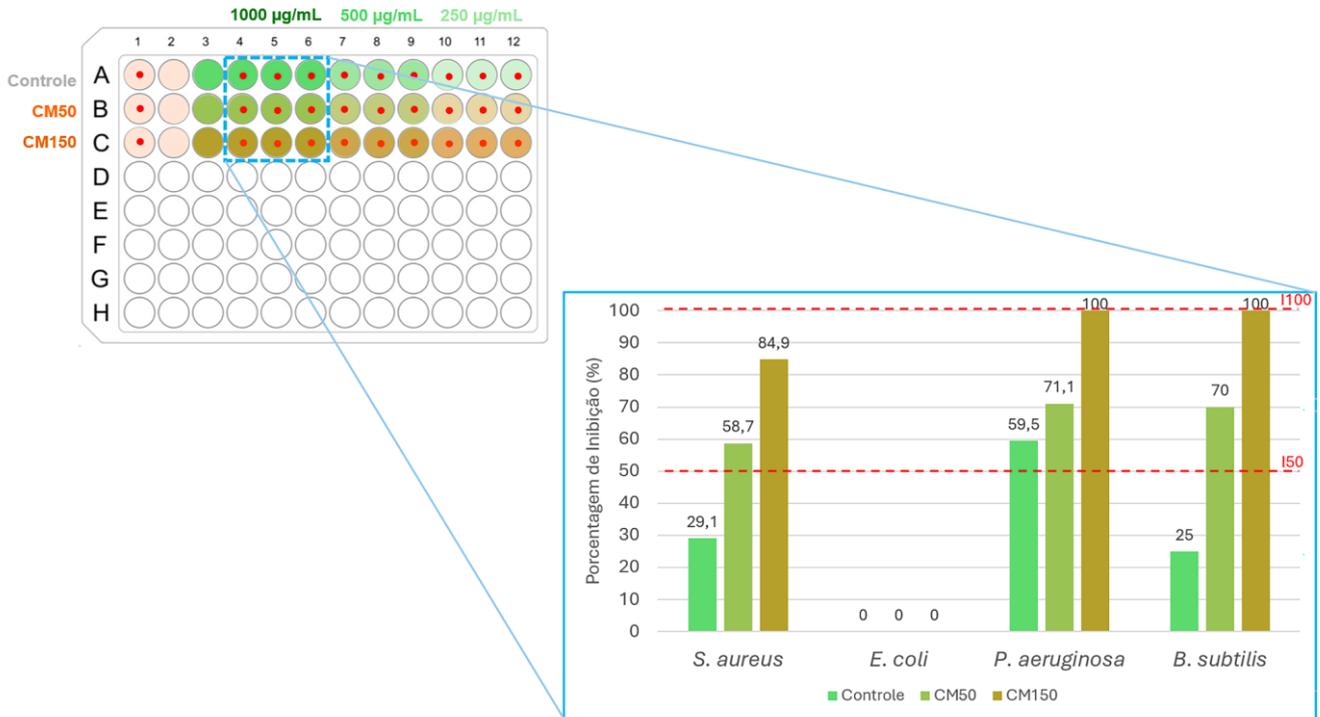


Figura 4. Porcentagem da inibição do crescimento bacteriano utilizando 1000 µg/mL do extrato bruto de *Streptomyces pratensis*. I50 - Limiar de 50% de inibição. I100 - Limiar de 100% de inibição.

Na concentração de 500 µg/mL (Figura 5), o extrato só conseguiu ultrapassar o limiar da inibição parcial após as modulações com curcumina (CM50 e CM150), mas nenhuma atingiu o limiar I100.

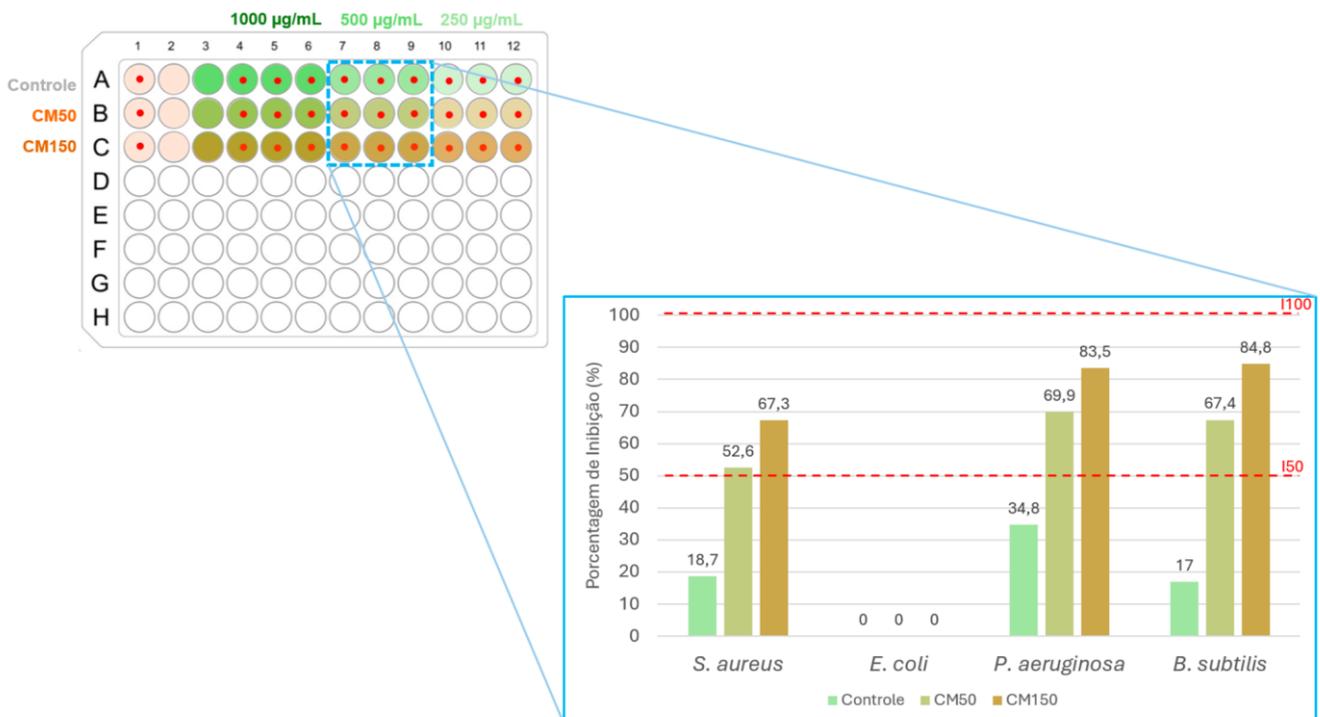


Figura 5. Porcentagem da inibição do crescimento bacteriano utilizando 500 µg/mL do extrato bruto de *Streptomyces pratensis*. I50 - Limiar de 50% de inibição. I100 - Limiar de 100% de inibição.

Na contração de 250 µg/mL (Figura 6), o controle das bactérias *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *B. subtilis* tiveram a inibição de 0, 1,3 e 9,4%, respectivamente, sendo inferior a I50. Porém, nos tratamentos com a curcumina, houve um aumento de até 62x no poder inibitório do extrato de *S. pratensis* contra *P. aeruginosa*.

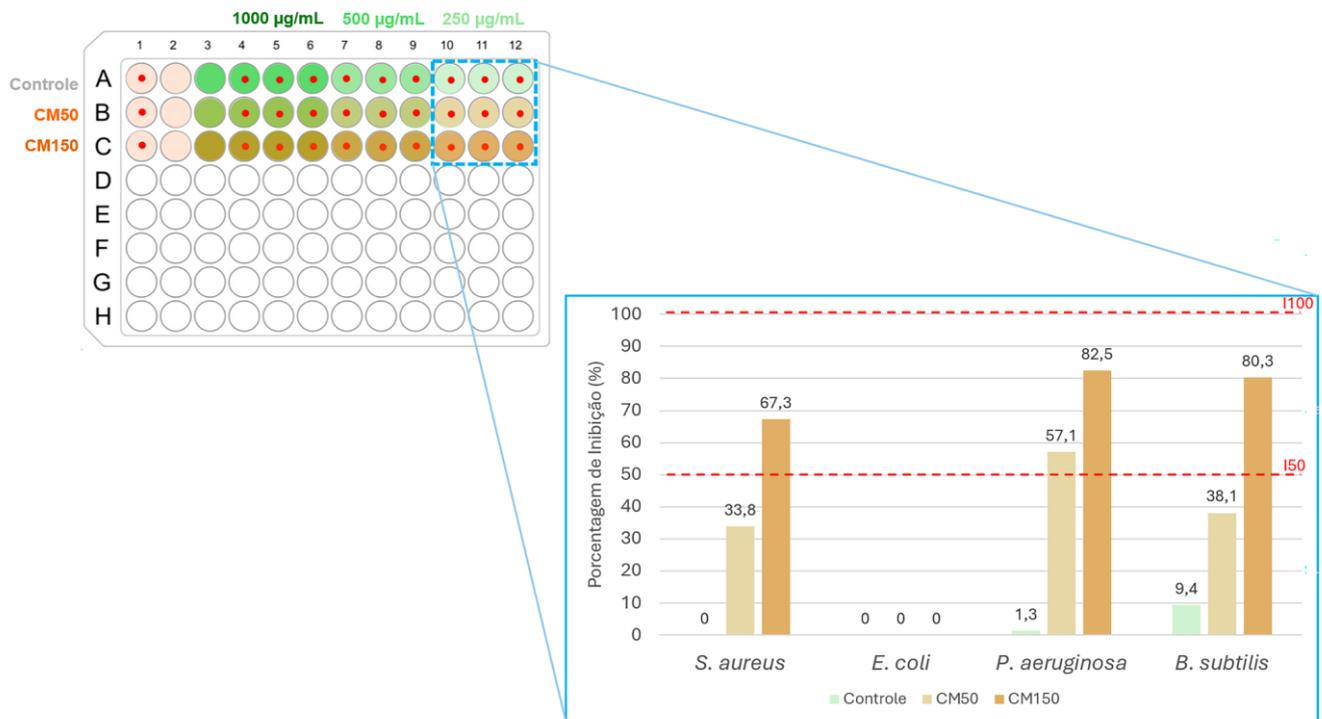


Figura 6. Porcentagem da inibição do crescimento bacteriano utilizando 250 µg/mL do extrato bruto de *Streptomyces pratensis*. I50 - Limiar de 50% de inibição. I100 - Limiar de 100% de inibição.

4. Discussão

A espécie bacteriana *Streptomyces pratensis* já é reconhecida pelo seu potencial de produção de antimicrobiano a partir dos seus metabólitos secundários, sendo observados nos estudos de Shah *et al.* (2017), onde a cepa de *Streptomyces pratensis* IIM06 produziu a substância actinomicina que possui atividade antibiótica, dessa forma realizando a inibição contra as bactérias patógenas *S. aureus* e *Mycobacterium tuberculosis*.

Consoante a isso, a modulação da curcumina na bactéria *S. pratensis* se mostrou capaz de potencializar a produção de compostos antimicrobianos. Trabalhos anteriores, comprovaram a capacidade da curcumina de alterar a expressão de genes envolvidos na resistência bacteriana, aumentando a suscetibilidade das bactérias a diferentes classes de antibióticos (GUO *et al.*, 2013; ZHENG *et al.*, 2020; DAI *et al.*, 2019).

Essa ação se assemelha ao resultados obtidos nos trabalhos de Sharma e Manhas (2020), onde os metabólitos secundários do fungo endofítico *Colletotrichum gloeosporioides*, modulado epigeneticamente com açafrão, que tem como princípio ativo a curcumina, mostraram a atividade antibacteriana aumentada contra as bactérias patógenas *Aeromonas hydrophila* IMS/GN 11, *Shigella boydii* IMS/GN17, *Salmonella typhi* MTCC 3216, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* IMS/GN 19.

Este trabalho apresenta uma contribuição significativa para o campo da microbiologia, relatando um avanço inédito na modulação epigenética da bactéria *S. pratensis*. Pela primeira vez, foi demonstrado que a curcumina pode ser utilizada como modulador positivo para essa bactéria, abrindo novas possibilidades para a exploração metabólica de bactérias e para a compreensão dos mecanismos epigenéticos envolvidos em seu funcionamento. Com isso, os resultados obtidos neste estudo fornecem informações valiosas para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

Nesse sentido, futuras pesquisas podem se beneficiar ao explorar outras combinações de agentes epigenéticos e metabólicos para potencializar ainda mais a produção de compostos bioativos, bem como outras pesquisas

podem contribuir a validar esses achados em diferentes condições de cultivo e com outras cepas bacterianas, expandindo o potencial terapêutico desses compostos.

5. Conclusões

A modulação epigenética com curcumina, mostrou-se como uma metodologia capaz de aumentar a produção de compostos com atividade antimicrobiana por microrganismos isolados do ambiente fermentados em meio de farinha de soja. A bactéria filamentosa *Streptomyces pratensis* obteve uma ótima reação ao estímulo epigenético, por inibir parcialmente ou completamente o crescimento de patógenos. Esse achado é particularmente significativo, pois existem poucos estudos realizados com moduladores epigenéticos de origem natural e, portanto, essa pesquisa tem o potencial de abrir novas perspectivas para a aplicação dessas substâncias na indústria farmacêutica e biotecnológica. Além disso, este trabalho é o primeiro a testar a modulação de uma bactéria filamentosa com curcumina, o que reforça sua importância e relevância para a comunidade acadêmica.

Contribuições dos Autores: Concepção, S.C., T.A. e C.A.; metodologia, S.C., R.S. e T.A.; escrita do artigo, S.C. e J.H.; revisão, R.F., C.A. e V.S.; supervisão, C.A. e V.S. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Agradecimentos: Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro concedido através da bolsa [PIBIC].

Conflito de Interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.

Referências

1. ARAÚJO, T. S. *et al.* Epigenetic modulation in the production of fungal antimicrobials: a systematic review. **Revista Foco**, v. 16, n. 10, e3261. DOI:10.54751/revistafoco.v16n10-161
2. BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (BrCAST). **Teste sensibilidade aos antimicrobianos: Método de disco-difusão BrCAST. Versão 9.0** (2021). Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/> Acesso em: 05 de Abr de 2023. DOCUMENTO CONSULTADO ON-LINE.
3. CARRATORE, F. *et al.* Biotechnological application of *Streptomyces* for the production of clinical drugs and other bioactive molecules. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 77, p. 102762, 2022. DOI: 10.1016/j.copbio.2022.102762
4. CARVALHO, J. J. V. *et al.* Multiresistant bacteria and their impacts on public health: A social responsibility. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, e58810616303, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i6.16303
5. CHAIHARN, M.; THEANTANA, T.; PATHOM-AREE, W. Evaluation of biocontrol activities of *Streptomyces* spp. against rice blast disease fungi. **Pathogens**, v. 9, n. 2, p. 126, 2020. DOI: 10.3390/pathogens9020126
6. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically** (2012). Disponível em: <https://clsi.org/standards/>. Acesso em: 05 Abr 2023. DOCUMENTO CONSULTADO ON-LINE.
7. DAI, C. *et al.* The natural product curcumin as an antibacterial agent: Current achievements and problems. **Antioxidants**, v. 11, n. 3, p. 459, 2022. DOI: 10.3390/antiox11030459
8. GULYAMOVA, T. *et al.* Effect of epigenetic modifiers on fermentation parameters of endophytic fungi from plants growing in Uzbekistan. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 8, p. 2019, 2019. DOI:10.20546/ijcmas.2019.803.102
9. GUO, C. *et al.* Curcumin induces human cathelicidin antimicrobial peptide gene expression through a vitamin D receptor-independent pathway. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 24, n. 5, p. 754-759, 2013. DOI:10.1016/j.jnutbio.2012.04.002
10. ICHIKAWA, T. *et al.* Improvement of kasugamycin-producing strain by the agar piece method and the prototroph method. **Folia microbiologica**, v. 16, n. 3, p. 218-224, 1971. DOI: 10.1007/BF02884210
11. LIMA, C. A. *et al.* Production and characterization of a collagenolytic serine proteinase by *Penicillium aurantiogriseum* URM 4622: A factorial study. **Biotechnology and bioprocess engineering**, v. 16, p. 549-560, 2011. DOI: 10.1007/s12257-010-0247-0
12. MAJUMDER, M. A. A. *et al.* Antimicrobial stewardship: Fighting antimicrobial resistance and protecting global public health. **Infection and drug resistance**, p. 4713-4738, 2020. DOI: 10.2147/IDR.S290835
13. MISHRA, R. *et al.* Stimulation of secondary metabolite production in *Hypoxylon anthochroum* by naturally occurring epigenetic modifiers. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 14, n. 2, p. 946-962, 2019. DOI: 10.1007/s11694-019-00345-8
14. NAGALAKSHMI, S.; SARANRAJ, P.; SIVASAKTHIVELAN, P. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and percentage bacterial growth inhibition of essential oils against gram positive bacterial pathogens. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 9, n. 3, p. 33-35, 2019. DOI: 10.22270/jddt.v9i3.2596
15. SAMBROOCK, J.; RUSSEL, D. W. Molecular cloning: a laboratory manual. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**. 2001

16. SHAH, A. M. *et al.* Antimicrobial investigation of selected soil actinomycetes isolated from unexplored regions of Kashmir Himalayas, India. **Microbial Pathogenesis**, v. 110, p. 93-99, 2017. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.06.017
17. SHARMA, M.; MANHAS, R. K.. Purification and characterization of salvianolic acid B from *Streptomyces* sp. M4 possessing antifungal activity against fungal phytopathogens. **Microbiological research**, v. 237, p. 126478, 2020. DOI:10.1016/j.micres.2020.126478
18. SHARMA, M.; MANHAS, R. K. Purification and characterization of salvianolic acid B from *Streptomyces* sp. M4 possessing antifungal activity against fungal phytopathogens. **Microbiological research**, v. 237, p. 126478, 2020. DOI: 10.1016/j.micres.2020.126478
19. SHARMA, V. K. *et al.* Induction of cryptic and bioactive metabolites through natural dietary components in an endophytic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1126, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01126
20. SHOAI, S. *et al.* Prospective Epigenetic Actions of Organo-Sulfur Compounds against Cancer: Perspectives and Molecular Mechanisms. **Cancers**, v. 15, n. 3, p. 697, 2023. DOI:10.3390/cancers15030697
21. SILVA, L. O. P.; NOGUEIRA, J. M. R. Resistência bacteriana: potencial de plantas medicinais como alternativa para antimicrobianos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, p. 21-27, 2021. DOI: 10.21877/2448-3877.202002033
22. SRINIVASAN, R. *et al.* Use of 16S rRNA gene for: identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens. **PloS one**, v. 10, n. 2, p. e0117617, 2015. DOI:10.1371/journal.pone.0117617
23. ZHENG, D. *et al.* Antibacterial mechanism of curcumin: a review. **Chemistry & Biodiversity**, v. 17, n. 8, p. e2000171, 2020. DOI: 10.1002/cbdv.202000