



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
VEGETAL E BIOPROCESSOS

ATIVIDADE FOTOPROTETORA DE ACTINOBACTÉRIAS PIGMENTADAS
DA PENÍNSULA ANTÁRTICA

BEATRIZ VIVIAN PAREDES CONTRERAS



RIO DE JANEIRO

2023

BEATRIZ VIVIAN PAREDES CONTRERAS

**ATIVIDADE FOTOPROTETORA DE ACTINOBACTÉRIAS PIGMENTADAS
DA PENÍNSULA ANTÁRTICA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal e Bioprocessos da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Vegetal e Bioprocessos.

Orientador

ALEXANDRE SOARES ROSADO

Co-orientadora

ALANE BEATRIZ VERMELHO

RIO DE JANEIRO

2023

Ficha catalográfica

CIP - Catalogação na Publicação

P227a PAREDES CONTRERAS, BEATRIZ VIVIAN
ATIVIDADE FOTOPROTETORA DE ACTINOBACTÉRIAS
PIGMENTADAS DA PENÍNSULA ANTÁRTICA / BEATRIZ VIVIAN
PAREDES CONTRERAS. -- Rio de Janeiro, 2023.
148 f.

Orientador: Alexandre Rosado.
Coorientadora: Alane Beatriz Vermelho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do
Rio de Janeiro, Decania do Centro de Ciências da
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Vegetal, 2023.

1. Antártica . 2. actinobactérias. 3.
carotenoides. 4. radiação UV. 5. resistência. I.
Rosado, Alexandre, orient. II. Vermelho, Alane
Beatriz , coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

AGRADECIMENTOS

Aos meus irmãos Carlitos, Alejandra, aos meus pais Marcelina e Carlos, que sempre acreditaram em mim, me deram apoio e estão sempre me dando ânimos para continuar com cada etapa do meu desenvolvimento.

Ao meu orientador, Alexandre Rosado, e minha co-orientadora, Alane Beatriz Vermelho, pela confiança e facilidade de trabalhar numa ótima equipe, pela compreensão e os conhecimentos brindados.

Aos meus amigos de laboratório do LEMM e do BIOINOVAR que me ajudaram e se preocuparam por mim, e aos laboratórios de Radiações em Biologia (Instituto de Biofísica, UFRJ), Laboratório de Microbiologia e Avaliação Genotóxica, Laboratório de Biotecnologia e Ecologia Microbiana (LABEM, IMBG, UFRJ), Centro de Espectrometria de Massas de Biomoléculas (CEMBIO, Instituto de Biofísica, UFRJ) por permitirem usar os equipamentos para realizar algumas análises nas suas instalações.

À Júnia Schultz, Caren Vilela, Livia Marques Casanova, Verônica da Silva Cardoso, Claudia Lage, Janine Cardoso, Eikon Alves, grandes cientistas que me auxiliaram muito em várias etapas dos experimentos.

À Maria, Fluvio, Laene, Sulamita, Camila, Frank, Bernard, Bright, Eikon, Athayde, Edir, Daniele, Carol pelo apoio incondicional e as trocas.

Aos meus amigos de graduação Cindy, Naty, Antonio e a minha orientadora de graduação Débora que mesmo assim pela distância ainda matem a comunicação comigo.

A minha amiga de casa Isabella, e as minhas amigas peruanas no Brasil Cynthia e Vanessa pela paciência, compreensão e preocupação de cada dia.

As minhas tias Silvia, Marisol, Felicitas, Mari Chalco, meus tios Rubén, Vidal, meus avós paternos Alejandro e Aleja, e demais familiares que me ajudaram nos momentos difíceis, e pelos seus gestos de preocupação e carinho na jornada longe de casa.

Ao Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR), por promover pesquisa na Antártica.

À Universidade Federal do Rio de Janeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal e Bioprocessos (PBV) pelo acolhimento, atenção e apoio.

E por fim, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES) pelo apoio financeiro concedido que ajudou na estadia no país estrangeiro.

Gratidão

RESUMO

A Antártica apresenta condições hostis, entre elas, a alta incidência de radiação ultravioleta (UV). Para habitar esse ambiente desafiador, os microrganismos apresentam estratégias para resistir à radiação UV, como por exemplo, a produção de carotenoides. O presente trabalho avaliou o potencial de actinobactérias de solos da Península Antártica para a produção de altas concentrações de carotenoides, assim como a influência dos carotenoides na resistência à UV-B e UV-C. Primeiramente, os isolados foram reativados da Coleção de microrganismos antárticos do LEMM-UFRJ e submetidos a bioprospecção por meio de extração dos pigmentos com DMSO e quantificação por espectrofotometria. Os extratos brutos com maior quantidade de carotenoides totais foram submetidos a análises por HPLC-DAD e HPLC-DAD-MS/MS. Os isolados com alta produção de carotenoides foram identificados taxonomicamente pelo gene RNAr 16S. Após disso, determinou-se em qual fase de crescimento houve maior produção de carotenoides. Nos experimentos de irradiação com influência de irradiação UV-B e UV-C, foram feitos testes qualitativos e as estirpes com maior resistência foram submetidas à análise do genoma completo. Adicionalmente, foram feitos testes quantitativos com influência de irradiação UV-B e UV-C para determinar as curvas de sobrevivência das bactérias nas fases logarítmica e estacionária. Posteriormente, determinou-se a curva de sobrevivência em comparação com o organismo modelo *E.coli* K12A15 na fase estacionária. No total, de 21 actinobactérias reativadas, somente 13 exibiram ótimo crescimento no meio LB a 25°C. Dessas, 5 bactérias produziram elevadas concentrações de carotenoides totais, sendo 4 pertencentes ao gênero *Arthrobacter*, produtoras de carotenoides C50 (decaprenoxantina ou sarcinaxantina), e uma do gênero *Rhodococcus*. Das 5 bactérias, 4 apresentaram mais resistência no teste qualitativo de irradiação UV, e no seu genoma foram identificados grupos de genes biossintéticos pertencentes à rota metabólica de carotenoides C50. No caso das curvas de sobrevivência, a estirpe do gênero *Arthrobacter* (80) (provável espécie nova) foi mais resistente a UV-B na fase estacionária inicial (maior produção de carotenoides totais), e na irradiação UV-C a maior produção de carotenoides totais não pareceu influenciar na resistência. Entretanto, o isolado mais resistente a UV-C foi a estirpe do gênero *Rhodococcus* (122) (provável espécie nova). Devido aos resultados, conclui-se que os carotenoides C50 e demais compostos minoritários do extrato do *Arthrobacter* (80) podem ter influenciado na resistência a UV-B, não tendo efeito na irradiação UV-C, e sendo interessante para uso em futuros testes como componente de formulações fotoprotetoras. Palavras-chave: Antártica, actinobactérias, carotenoides, radiação UV, resistência.

ABSTRACT

Antarctic presents harsh environmental conditions, among them, incidence of ultraviolet radiation (UV). In order inhabit this challenging environment, microorganisms present different strategies to resist UV radiation, for example production of carotenoids. The present work evaluated the potential of actinobacteria isolated from Antarctic Peninsula soils to produce high concentrations of carotenoids, as well as the influence of carotenoids in the resistance to UV-B and UV-C. First of all, the isolates were reactivated of the Antarctic Microorganisms Collection from LEMM-UFRJ and submitted to bioprospection by extraction of pigments with DMSO and quantification by spectrophotometry. The crude extracts with the highest carotenoid quantification were submitted to HPLC-DAD and HPLC-DAD-MS/MS analyses. Isolates with high carotenoid production were identified taxonomically by the 16S rRNA gene. After that, it was determined in which growth phase there was greater production of carotenoids. In the irradiation experiments under the influence of UV-B and UV-C radiation, qualitative tests were performed and the strains with high resistance were submitted to whole-genome analysis. Additionally, quantitative tests were performed to determine survival curves in the logarithmic and stationary phases. Subsequently, it was determined the survival curve in comparison with the model organism *E.coli* K12A15 in the stationary phase. In total, from 21 actinobacteria reactivated, only 13 exhibited excellent growth in LB medium at 25°C. Of these, 5 bacteria produced high concentrations of total carotenoids, 4 belonging to the genus *Arthrobacter*, producers of carotenoids C50 (decaprenoxanthin or sarcinaxanthin), and 1 bacteria of the genus *Rhodococcus*. Of the 5 selected bacteria, 4 showed good resistance in the qualitative test under UV radiation, and in their genome biosynthetic cluster genes belonging to the C50 carotenoid metabolic pathway were identified. In the case of survival curves, a strain of the genus *Arthrobacter* (80) (probable new species) was more resistant to UV-B in the initial stationary phase (higher production of total carotenoids), and under UV-C radiation the higher production of total carotenoids did not seem to influence in the resistance. However, the most resistant isolate to UV-C was the strain of genus *Rhodococcus* (122) (probable new species). Due to the results, it is concluded that the carotenoids C50 and other minority compounds of the extract of *Arthrobacter* (80) may have influenced the resistance to UV-B, not having any effect under UV-C, and being interesting for use in future tests as compound in photoprotectors.

Keywords: Antarctic, actinobacteria, carotenoids, UV radiation, resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Nichos ecológicos ocupados pelas diferentes comunidades microbianas na Antártica. 1—Solo e comunidades rochosas; 2—Comunidades de águas interiores e glaciais; 3—Comunidades de lagoas de água de degelo; 4—Comunidades de água subglacial; 5—Comunidades de água marinha; 6— Comunidade de esteiras microbianas e sedimentos; 7—Buraco de crioconita, gelo glacial e comunidades de neve; 8— Microrganismos transportados pelo ar. Fonte: adaptação de DOYTCHINOV; DIMOV, 2022.....	21
Figura 2: Estrutura de carotenoide formada por cadeias de hidrocarbonetos de polieno com ligações simples e duplas alternadas.	21
Figura 3: Regiões das áreas livres de gelo da Antártica. Fonte: adaptação de BOTTOS et al., 2014.....	23
Figura 4: Radiação ultravioleta absorvida pela camada de ozônio. Maior e menor fração de UV-A e UV-B, respectivamente, que alcançam a Terra. Fonte: adaptação de WILMOUTH et al., 2018.	33
Figura 5: Dano causado pela luz solar (A-H); e respostas para minimizar as lesões (I, II, III). Fonte: adaptação de NELSON et al., 2018.....	35
Figura 6: Estrutura dos carotenoides xantofilas (a) e carotenos (b). Fonte: adaptação de :VALDUGA et al., 2009; MENDES-SILVA et al., 2020.....	43
Figura 7: Mecanismos de supressão dos radicais livres por carotenoides. Fonte: adaptação de JOSHI et al., 2023.	44
Figura 8: Exemplo de estrutura de carotenoide com grupos cetônicos em C-4/C-4'.	45
Figura 9: Biossíntese de carotenoides C50. Fonte: adaptação de HENKE et al., 2017b. .	51
Figura 10: Fotografia de pellets antes (A) e depois (B) de serem extraídos com DMSO para obtenção de carotenoides em Falcon de 15 ml (C).	70
Figura 11: Concentração de carotenoides totais na biomassa dos isolados bacterianos. .	71
Figura 12: Sobreposição dos cromatogramas a 450 nm (HPLC-DAD) dos extratos dos isolados 5, 80, 90 e 107.....	73
Figura 13: Cromatogramas obtidos nas análises por HPLC-DAD-MS/MS em 450 nm. .	74
Figura 14: Cromatograma extraído do íon de m/z 705.5649 (A) a partir dos dados de MS full scan. Espectro MS/MS (MS2) do referido íon (Tr = 9,5 min) (B).	74
Figura 15. Estruturas dos carotenoides decaprenoxantina (1) e sarcinaxantina (2) Fonte: adaptação de WEEKS et al., 1980; GIUFFRIDA et al., 2016; VILA et al., 2019.....	75

Figura 16: Árvore filogenética consenso 16S dos isolados de bactérias e sequências similares do RDP gerada no MEGAX pelo método de máxima verossimilhança e o modelo Tamura-Nei.	76
Figura 17: Árvore filogenética consenso 16S dos isolados de bactérias e sequências similares do GenBank gerada no MEGAX pelo método de máxima verossimilhança e o modelo Tamura-Nei.	77
Figura 18: Curva de crescimento dos isolados pigmentados, baseado na D.O. As barras de erro representam o desvio padrão de 3 experiências independentes.	78
Figura 19: Curva de produção de carotenoides totais ($\mu\text{g/ml}$) dos isolados. As barras de erro representam o desvio padrão de 3 experiências independentes.	79
Figura 20: Crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo gotas de 5 μL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-B.	81
Figura 21: Crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo gotas de 5 μL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-C.	82
Figura 22: Crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo gotas de 10 μL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-B, foram feitas várias diluições.	86
Figura 23: Crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo gotas de 10 μL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-C, foram feitas várias diluições.	86
Figura 24: Fração de sobrevivência da bactéria 5 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.	87
Figura 25: Fração de sobrevivência da bactéria 80 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas (asterisco indica $p < 0,05$ no teste de significância pelo teste de Man-Whitney, onetail).	88
Figura 26: Fração de sobrevivência da bactéria 90 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas	

biológicas (asterisco indica $p < 0,05$ no teste de significância pelo teste de Man-Whitney, onetail).....	88
Figura 27: Fração de sobrevivência da bactéria 122 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.	89
Figura 28: Fração de sobrevivência da bactéria 5 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.	90
Figura 29: Fração de sobrevivência da bactéria 80 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.	90
Figura 30: Fração de sobrevivência da bactéria 90 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.	91
Figura 31: Fração de sobrevivência da bactéria 122 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.	91
Figura 32: Fração de sobrevivência das bactérias 80 (●), 122 (■) e <i>E. coli</i> K12A15 (▼) na fase estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos experiências independentes com as réplicas biológicas. O asterisco indica $p < 0,05$ no teste de significância pelo teste de Man-Whitney, onetail, comparando os resultados das actinobactérias com os da <i>E.coli</i> K12A15.	92
Figura 33: Crescimento dos isolados em fase estacionaria inicial, sendo gotas de 10 μ L depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-B, foram feitas várias diluições.	93
Figura 34: Fração de sobrevivência das bactérias 80 (●), 122 (■) e <i>E. coli</i> K12A15 (▼) na fase estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as	

réplicas biológicas. O asterisco indica $p < 0,05$ no teste de significância pelo teste de Man-Whiney, onetail, comparando os resultados das actinobactérias com os da *E.coli* K12A15.

.....94

Figura 35: Crescimento dos isolados em fase estacionaria inicial, sendo gotas de 10 μ L depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-C, foram feitas várias diluições.95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Diversidade bacteriana de solos com vegetação da Antártica marítima.	27
Tabela 2: Diversidade bacteriana de Actinomycetota obtidos de métodos dependentes e independentes de cultivo de diversos solos da Antártica marítima.....	29
Tabela 3: Carotenoides bacterianos reportados com atividade antioxidante.	46
Tabela 4: Relação de bactérias que foram reportadas e produziram carotenoides de alto valor. Fonte: adaptação de BHOSALE; BERNSTEIN, 2004; SILVA et al., 2004; DUFOSSÉ, 2006; ASKER et al., 2012; SASIDHARAN et al., 2013; MIRZAIE et al., 2015; GALASSO et al., 2017; PRADEL et al., 2021; AGARWAL et al., 2023; JOSHI et al., 2023.....	54
Tabela 5: Códigos dos isolados de bactérias da Coleção de Bactérias Antárticas do LEMM utilizadas neste estudo.....	60
Tabela 6: Resultado da quantificação dos carotenoides totais dos isolados.	70
Tabela 7: Dados cromatográficos das amostras analisadas por HPLC-DAD	72
Tabela 8: Identificação taxonômica dos isolados de bactérias obtida do sequenciamento do gene 16S rRNA e comparação das sequências similares obtidas no RDP, e no GenBank através do BLASTn.....	75
Tabela 9: Registro dos resultados observados do crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo gotas de 5 µL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-B.	80
Tabela 10: Registro dos resultados observados do crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo gotas de 5 µL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-C.	80
Tabela 11: Resumo dos parâmetros da montagem do genoma e de anotação de Prokka (carotenoides) dos isolado 5, 80, 90, 122.....	83
Tabela 12: Resumo da anotação do AntiSMASH para carotenoides, anotação de enzimas encontradas da comparação dos grupos de genes biossintéticos dos isolados com similares agrupamentos genéticos biossintéticos de carotenoides conhecidos do MIBiG 3.1 (TERLOUW et al., 2023).....	84

ABREVIATURAS E SIGLAS

ANiB	Cálculo de identidade média de nucleotídeos por BLAST
AntiSMASH	Programa de Análise de Antibióticos e Metabolitos Secundários (<i>Antibiotics and Secondary Metabolite Analysis Shell</i>).
APCI	Ionização química a pressão atmosférica
ATP	Trifosfato de Adenosina (<i>Adenosine TriPhosphate</i>)
BGCs	Grupos de Genes Biossintéticos (<i>Biosynthetic Gene Clusters</i>)
BER	Reparo por excisão de bases (<i>Base Excision Repair</i>)
BLAST	Ferramenta de alinhamento local
Car ^{•-}	Ânion radical de carotenoide
Car ^{•+}	Cátion radical de carotenoide
CFCs	Clorofluorcarbonetos (<i>Chlorofluorocarbons</i>)
°C	Graus Celsius
cm	Centímetro
C	Carbono
C30	Trinta átomos de carbono
C40	Quarenta átomos de carbono
C50	Cinquenta átomos de carbono
CPD	Dímeros de pirimidina ciclobutano (<i>Cyclobutane pyrimidine dimers</i>)
Crt	Carotenoide
DGGE	Eletroforese em gel de gradiente desnaturante (<i>Denaturing gradient gel electrophoresis</i>)
DDA/AutoMS	Aquisição dependente de dados
GenBank	Banco de dados de Nucleotídeos do NLM/NCBI
BBC	Corporação Britânica de Radiodifusão
Dddh	Valores de hibridização DNA-DNA
MAFFT	Alinhamento múltiplo usando transformada rápida de Fourier
PCR	Reação em cadeia da polimerase

FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos
DSSC	Células solares sensibilizadas por corante
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucléico (<i>Desoxyribonucleic acid</i>)
DMAPP	Dimetilalil difosfato
D.O	Densidade Óptica (<i>Optical density</i>)
ERO	Espécies Ativas de Oxigênio (ROS: <i>Reactive oxygen species</i>)
Est	Crescimento na fase estacionaria
Fe	Ferro
FPS	Fator de proteção solar
xg	Gravidade
GGPP	Geranilgeranil pirofosfato
H	Hidrogênio
h	Horas
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HPLC-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de arranjos de diodos
HPLC-MS/MS	Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjos de diodos acoplados à espectrometria de massas sequencial.
IMG-ABC	Atlas Integrado de Genomas Microbianos de Grupos de Genes Biossintéticos (<i>Integrated Microbial Genomes Atlas of Biosynthetic gene Clusters</i>)
IPP	Isopentenil pirofosfato
J/m ²	Joule por metro quadrado
J/m ² /s	Joule por metro quadrado por segundo
J/s	Joule por segundo
kJ/m ²	Kilojoule por metro quadrado
kJ/s	KiloJoule por segundo
LB	Meio líquido para lisogenia (<i>Lysogeny Broth</i>)
LEMM	Laboratório de Ecologia Microbiana Molecular
L	Litro
Log	Crescimento na fase logarítmica

log	Unidade logarítmica
LPS	Lipopolissacarídeos
mg	Miligrama
m/z	Relação massa carga
MIBiG	Informações Mínimas para Grupos de Genes Biossintéticos (<i>Minimum Information about a Biosynthetic Gene Cluster</i>)
Min	Minutos
ml	Mililitro
mm	Milímetro
MMR	Sistema de reparo de erros de emparelhamento
Mn	Manganês
N	Unidades formadoras de colônia do cultivo irradiado
N0	Unidades formadoras de colônia do cultivo não irradiado
N/N0	Frações de sobrevivência
N50	Tamanho médio do contig do conjunto genômico
NER	Reparo por excisão de nucleotídeos (<i>Nucleotide excision repair</i>)
NNI	Algoritmo heurístico intercâmbio de vizinho mais próximo
NY	Filtros de poliamida
nm	Nanômetro
³ O ₂	Oxigênio
¹ O ₂	Oxigênio singlete
O ₃	Ozônio
·OH	Radical hidroxila
O ₂ ⁻	Radical superóxido
pH	Potencial Hidrogeniônico
PHB	Polihidroxibutirato
PHBHHx	Polihidroxialcanoatos copolímeros de 3-hidroxibutirato y 3-hidroxihexanoato
pHMM	Modelo oculto de Markov
PP	Fotoproduto
Ppm	Partes por milhão
PPRI	Fotoprodução de intermediários reativos (<i>Photo-produced reactive intermediates</i>)

PROANTAR	Programa Antártico Brasileiro
PROTEÍNAS DPS	Proteínas de ligação a DNA em carência nutricional (<i>DNA binding proteins from starved cell</i>)
Q-TOF	Analisador tipo quadrupolo com tempo de voo
O	Oxigênio
R	Radical livre
RecA	Proteína de reparo por recombinação homóloga A
R-Car•	Adutos de carotenoide
RDP	Projeto do Banco de Dados Ribossômico (<i>Ribosomal Database Project</i>)
RNA	Ácido ribonucléico (<i>Ribonucleic acid</i>)
RNAr	RNA ribossômico (<i>Ribosomal RNA</i>)
RPM	Rotações por minuto
SOS	Sistema de reparo de DNA bacteriano sujeito a erros (Sistema SOS)
SOD	Superóxido dismutases (SOD).
SP	Fotoproduto de esporos (<i>Spore photoproduct</i>)
TBE	Tampão Tris-borato-EDTA
Tr	Tempo de retenção (<i>Retention time</i>)
tRNA	RNA de transferência (<i>Transfer RNA</i>)
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
Mm	Micrometro
Mm	Micromolar
UmuD'2C-RecA-ATP	DNA Mut polimerase V ativada (UmuD'2C-RecA-ATP)
µL	Microlitro
UV	Ultravioleta
UV-A	Radiação Ultravioleta A
UV-B	Radiação Ultravioleta B
UV-C	Radiação Ultravioleta C
UVDE	Endonuclease UVDE (<i>UV damage endonuclease</i>)
UVI	Índice Radiação Ultravioleta (<i>UV Radiation Index</i>)
UVR	Radiação Ultravioleta
UV/VIS	Ultravioleta-visível

V	Voltios
W	Watts
WMO	Organização Meteorológica Mundial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1. Antártica e condições ambientais	22
2.2. Microbiologia de solos da Antártica	24
2.2.1. Biodiversidade bacteriana do solo da Antártica marítima	25
2.2.2. Actinobactérias do solo da Antártica marítima	29
2.3. Radiação UV	32
2.3.1. Radiação ultravioleta	32
2.3.2. Efeitos da radiação ultravioleta nas bactérias	33
2.3.3. Mecanismos de resistência bacteriana à radiação UV	35
2.3.3.1. Mecanismos de reparo do DNA	37
2.3.3.2. Pigmentos fotoprotetores	38
2.3.4. Bactérias radiorresistentes	38
2.4. Fotoproteção na indústria: potencial de aplicação biotecnológica	39
2.5. Pigmentos carotenoides	41
2.5.1. Estrutura dos carotenoides	41
2.5.2. Funções dos carotenoides	43
2.5.2.1. Carotenoides como antioxidantes	44
2.5.2.2. Carotenoides como fotoprotetores da radiação UV	47
2.5.3. Carotenoides C50	49
2.6. Aplicação biotecnológica de pigmentos produzidos por bactérias psicrófilas 52	
2.6.1. Aplicação biotecnológica de carotenoides	53
2.7. Actinobactérias e seus pigmentos	56
2.8. Estratégia genômica de mineração de genes para produção de pigmentos	57
3. OBJETIVOS	59
3.1. OBJETIVO GERAL	59

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	59
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	59
4.1. Isolados bacterianos	59
4.2. Reativação das bactérias	60
4.3. Avaliação de produção de carotenoides e quantificação.....	61
4.4. Análise dos carotenoides por HPLC-DAD	61
4.5. Análises por HPLC-DAD-MS/MS	62
4.6. Identificação taxonômica pelo gene 16S rRNA.....	63
4.7. Curvas de crescimento dos actinobacterias	64
4.8. Curvas de produção de carotenoides totais.....	64
4.9. Teste qualitativo de resistência a radiação UV-B e UV-C	65
4.10. Sequenciamento do genoma completo e mineração genômica por carotenoides.....	66
4.11. Teste quantitativo da resistência a radiação UV-B e UV-C: curvas de sobrevivência na fase logarítmica e estacionaria	67
4.12. Teste quantitativo da resistência a radiação UV-B e UV-C em comparação com o organismo modelo <i>E.coli</i> K12A15: curvas de sobrevivência na fase estacionaria	69
5. RESULTADOS.....	69
5.1. Reativação das bactérias	69
5.2. Avaliação de produção de carotenoides e quantificação.....	70
5.3. Análise dos carotenoides por HPLC-DAD	71
5.4. Análises por HPLC-DAD-MS/MS	73
5.5. Identificação taxonômica pelo gene 16S rRNA.....	75
5.6. Curvas de crescimento dos actinobactérias	77
5.7. Curvas de produção de carotenoides totais.....	78
5.8. Teste qualitativo de resistência a radiação UV-B e UV-C	79
5.9. Sequenciamento do genoma completo e análise genômica	82

5.10. Teste quantitativo da resistência a radiação UV-B e UV-C: curvas de sobrevivência na fase logarítmica e estacionaria	85
5.11. Teste quantitativo da resistência a radiação UV-B e UV-C em comparação com o organismo modelo: curvas de sobrevivência na fase estacionaria	92
6. DISCUSSÃO	95
6.1. REATIVAÇÃO DAS BACTÉRIAS	95
6.2. PRODUÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES, E IDENTIFICACAO TAXONOMICA DAS BACTÉRIAS SELECIONADAS.....	96
6.3. CURVAS DE CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES	97
6.4. TESTE QUALITATIVO DE IRRADIAÇÃO UV-B, UV-C.....	98
6.5. ANÁLISE GENÔMICA	99
6.6. CURVAS DE SOBREVIVENCIA SOB LUZ UV-B E UV-C	100
7. CONCLUSÕES	104
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105

1. INTRODUÇÃO

Aproximadamente mais de 70% da biosfera terrestre está exposta a baixas temperaturas, abrangendo o Ártico, a Antártica, as montanhas altas e o oceano profundo (MARGESIN; MITEVA, 2011; HAMID et al., 2022). Ainda que sejam considerados ecossistemas inóspitos por serem congelados, esses ambientes apresentam alta diversidade microbiana, pois esses microrganismos desenvolveram mecanismos adaptativos para sobreviver nesses ambientes hostis (DE MAAYER et al., 2014; HAMID et al., 2022); sendo bactérias, arqueias, leveduras, protistas, vírus e microalgas que prevalecem (MARGESIN; COLLINS, 2019; HAMID et al., 2022).

A Antártica apresenta condições ambientais extremas, como nutrientes orgânicos limitados, baixas temperaturas, baixa umidade, ciclos frequentes de congelamento-descongelamento e de umidade-seco, radiação ultravioleta (UV) flutuante e fortes ventos (WYNN-WILLIAMS, 1990a; COWAN; TOW, 2004; LAMBRECHTS et al., 2019). Devido à pressão dessas condições adversas, os microrganismos habitantes da Antártica, ao longo da sua evolução, desenvolveram uma variedade de adaptações e hoje ocupam os mais diversos nichos ambientais (PECK et al., 2006; DOYTCHINOV; DIMOV, 2022). Assim, as comunidades microbianas da Antártica podem se dividir de acordo com o nicho que ocupam, podendo-se citar solos e rochas, águas interiores e glaciais, lagoas de água de degelo, água subglacial, água marinha, esteiras microbianas e sedimentos, buracos de crioconita, gelo glacial (permafrost), neve, e também comunidades de microrganismos transportados pelo ar (DOYTCHINOV; DIMOV, 2022) (Figura 1). No geral, dentro das comunidades microbianas antárticas existe uma grande diversidade de microrganismos e a maioria dos representantes bacterianos pertencem aos filos Pseudomonadota, Bacteroidota, Actinomycetota, Bacillota e Deinococcus-Thermus (WILMOTTE et al., 2010; PEETERS et al., 2012; LO GIUDICE; AZZARO, 2019), sendo o filo Actinomycetota um dos mais abundantes nos solos da Península Antártica (YERGEAU et al., 2007a).

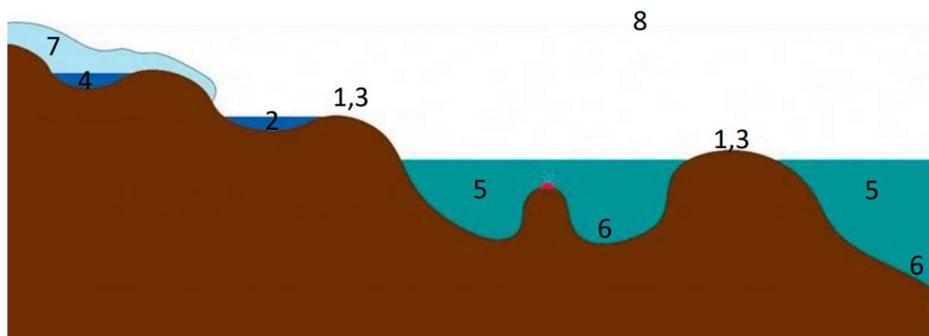
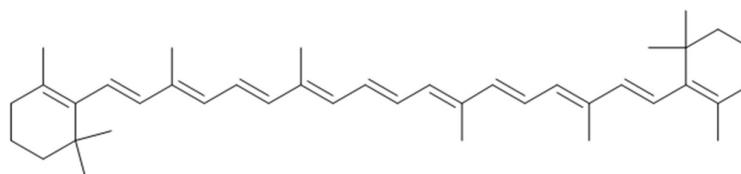


Figura 2: Nichos ecológicos ocupados pelas diferentes comunidades microbianas na Antártica. 1—Solo e comunidades rochosas; 2—Comunidades de águas interiores e glaciais; 3—Comunidades de lagoas de água de degelo; 4—Comunidades de água subglacial; 5—Comunidades de água marinha; 6— Comunidade de esteiras microbianas e sedimentos; 7—Buraco de crioconita, gelo glacial e comunidades de neve; 8—Microrganismos transportados pelo ar. Fonte: adaptação de DOYTCHINOV; DIMOV, 2022.

Sobre a radiação UV, a Antártica apresenta variações na incidência que são influenciadas principalmente por alterações na camada total de ozônio (NEALE et al., 2021). Em geral, a radiação UV pode se tornar desafiante para os microrganismos, entretanto, diversos grupos apresentam estratégias para superar esse fator limitante. Uma das estratégias desenvolvida por microrganismos como arqueias, bactérias e fungos para sobreviver à radiação UV é a produção de carotenoides (Figura 2) que podem oferecer fotoproteção (WYNN-WILLIAMS, 1990b; COCKELL; KNOWLAND, 1999; FRIGAARD et al., 2004; EDWARDS et al., 2006; MOLINÉ et al., 2009, 2010; PEZZONI et al., 2011; COPPOLA et al., 2023). Esses pigmentos possuem a capacidade de proteger proteínas, lipídios e moléculas de DNA dos danos oxidativos causados pela radiação UV (STAHL et al., 1998; ZHANG; OMAYE, 2000; JOHRA et al., 2020).



β -caroteno

Figura 3: Estrutura de carotenoide formada por cadeias de hidrocarbonetos de polieno com ligações simples e duplas alternadas.

O continente Antártico é fonte de bactérias com capacidade de produzir pigmentos carotenoides (VILA et al., 2019; SILVA et al., 2021). Entre elas, bactérias do filo Actinomycetota, como os pertencentes aos gêneros *Arthrobacter*, *Microbacterium*, e *Dermacoccus* mostraram habilidade de produzir carotenoides que conferiram resistência à irradiação UV (DIESER et al., 2010; REIS-MANSUR et al., 2019; SILVA et al., 2019a),

assim como provavelmente os carotenoides das bactérias pigmentadas *Kocuria* sp., *Gordonia* sp., e *Salinibacterium* sp. conferiram a alta resistência a radiação UV. Assim, os carotenoides podem ser essenciais para a sobrevivência das bactérias frente a alta radiação UV na Antártica (COPPOLA et al., 2023).

Os pigmentos naturais vêm ganhando o interesse por parte da indústria uma vez que apresentam diversas vantagens quando comparado aos pigmentos sintéticos (SAJJAD et al., 2020). Os pigmentos microbianos exibem menor toxicidade, são amigáveis ao meio ambiente (CHADNI et al., 2017; SAJJAD et al., 2020), assim como possuem uma melhor solubilidade, estabilidade e facilidade na obtenção a partir do cultivo microbiano (NARSING et al., 2017; SAJJAD et al., 2020). Nesse sentido, além de outras aplicações, os carotenoides microbianos são importantes na indústria cosmética devido a sua atividade fotoprotetora, tendo aplicação industrial, como por exemplo a sarcinaxantina, descrita como componente de filtro solar em uma patente (GOKSØYR, 2010, 2013), e outros com potencial de serem utilizados em formulações cosméticas para a proteção da pele (REIS-MANSUR et al., 2019; MENDES-SILVA et al., 2021; KIKI, 2023).

Uma ferramenta que pode ser útil na bioprospecção de pigmentos carotenoides é a análise genômica que permite procurar genes que estão envolvidos em sua biossíntese de pigmentos para confirmar os que já foram produzidos ou demonstrar a capacidade de sintetizar outros pigmentos não expressos (BALTZ, 2017; VARASTEH et al., 2021). Assim, a mineração genômica é um enfoque muito interessante, pois o sequenciamento e análise genética auxiliam na triagem de metabolitos naturais em genomas microbianos com potencial de aplicação biotecnológica (XU et al., 2023).

Muitos dos microrganismos que habitam a Antártica ainda não foram isolados em condições laboratoriais e taxonomicamente identificados, mas possuem grande potencial para produção de pigmentos (DOYTCHINOV; DIMOV, 2022). Em vista disso, o presente estudo se foca na bioprospecção de pigmentos carotenoides com papel fotoprotetor frente a radiação UV a partir de bactérias do filo Actinomycetota cultivadas de solos da Península Antártica para futura aplicação biotecnológica.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Antártica e condições ambientais

A Antártica possui 90% do gelo do planeta Terra e apenas aproximadamente entre 0,3-0,4% da área do continente gelado é livre de gelo (CONVEY et al., 2008; UGOLINI; BOCKHEIM, 2008; SHORT et al., 2022). As áreas livres de gelo da Antártica podem ser divididas em cinco regiões (Figura 3), que abrangem a Península Antártica, o Oeste Antártico, a Terra da Vitória, o Leste Antártico e as Montanhas Transantárticas (BOTTOS et al., 2014). A Península Antártica tem temperatura média anual de 0 a -12 °C e precipitação média anual de 200-1000 mm; o Oeste Antártico, de temperatura média anual aproximada de -12 °C até -30 °C; a Terra de Vitória apresenta temperatura e precipitação variáveis com representatividade dos Vales Secos de McMurdo que possui uma temperatura média anual de -20 até -35 °C e precipitação de menos de 10 a 100 mm, o Cabo Hallet com uma temperatura média anual de -15,3 °C, e o Monte Erebus com solos geotérmicos de temperaturas que diminuem de 65 a 3 °C. Além disso, o Leste Antártico tem faixa climática similar à Península Antártica e possui influência do mar; e as Montanhas Transantárticas apresentam temperatura média anual de -40 °C (BOCKHEIM, 1990; DAHE et al., 1994; BARRETT et al., 2006; BOCKHEIM; MCLEOD, 2008; SOO et al., 2009; ABAKUMOV, 2010; BALKS et al., 2013; BOTTOS et al., 2014). Em suma, a umidade do ar e a precipitação dependem da proximidade ao oceano Antártico (CAMPBELL; CLARIDGE, 1987; DOYTCHINOV; DIMOV, 2022).



Figura 4: Regiões das áreas livres de gelo da Antártica. Fonte: adaptação de BOTTOS et al., 2014.

Em geral, a Antártica apresenta variações na incidência de radiação UV que são influenciadas principalmente por mudanças na camada total de ozônio (NEALE et al., 2021). De acordo com medições recentes para verificar tendências de radiação UV no continente Antártico e avaliar o sucesso do Protocolo Montreal, no verão houve redução do Índice de Radiação UV (UVI); enquanto na primavera, quando o buraco do ozônio foi mais pronunciado, não houve diminuição significativa do UVI e sim variabilidade em três lugares: South Pole, Arrival Heights e Estação Palmer (BERNHARD; STIERLE, 2020). Assim, a Antártica pode receber altas intensidades de radiação UV devido ao buraco da camada de ozônio frequente no final da primavera, por exemplo índices de UV atingiram picos de 7,5 perto da Estação McMurdo (1998), 14,8 na Estação Palmer (Ilha Anvers, 1998), e 14,3 na Ilha do Rei George (2020) (BERNHARD et al., 2005, 2006; CORDERO et al., 2022). Adicionalmente, a diminuição da camada do ozônio levou ao aumento da proporção do UV-B que alcança a superfície terrestre (DAY; NEALE, 2002; BERNHARD et al., 2022; CORDERO et al., 2022), e no futuro se espera que a radiação UV-C aumente pela redução da camada de ozônio devido a contaminação atmosférica (SOFO et al., 2014).

2.2. Microbiologia de solos da Antártica

Para sobreviver, microrganismos de ecossistemas terrestres da Antártica precisam resistir às condições extremas muito frias (até -60°C), secas (1-10% de umidade), baixa disponibilidade de nutrientes e forte radiação UV (MARGESIN; MITEVA, 2011; STYCZYNSKI et al., 2020). Assim, contrariamente ao que se imaginava devido às condições extremas, os ecossistemas antárticos exibem alta diversidade de microrganismos (NIEDERBERGER et al., 2008; DOYTCHINOV; DIMOV, 2022). Aqueles microrganismos são denominados extremófilos devido a que apresentam crescimento ótimo em condições extremas como radiação, temperatura, e são adaptados em nível molecular e estrutural para poder sobreviver a essas condições (IRWIN; BAIRD, 2004; PÉREZ-LLANO et al., 2020). Sendo que psicrófilos (toleram/necessitam de baixas temperaturas para seu desenvolvimento ótimo) e radorresistentes (adaptados a altas radiações UV) são encontrados na Antártica (MUSILOVA et al., 2015; BENDIA et al., 2018b; COPPOLA et al., 2023; DE LEMOS et al., 2023).

As áreas sem gelo da Antártica compreendem habitats ricos em nutrientes do litoral até solos oligotróficos das montanhas e desertos, e a concentração de sal depende da

proximidade ao oceano (CAMPBELL; CLARIDGE, 1987; BOTTOS et al., 2014; DOYTCHINOV; DIMOV, 2022). Nos solos livre de gelo, as áreas com vegetação incluem plantas nativas *Colobanthus quitensis* e *Deschampsia antarctica* que estão mais presentes na Península Antártica e nas ilhas subantárticas circundantes (SMITH, 1994; BARGAGLI, 2008; CORSOLINI; ADEMOLLO, 2022); e também musgos e líquens apresentam grande distribuição (POBLET et al., 1997; BARGAGLI et al., 1999; HONG et al., 1999; NAYAKA; RAI, 2022). No caso de microrganismos presentes nos solos Antárticos, fototróficos como cianobactérias e algas são comumente reportados (VINCENT, 2000; VAN GOETHEM; COWAN, 2019; CÂMARA et al., 2021), e heterotróficos como invertebrados, protozoários, fungos, arqueias e bactérias estão presentes (HOGG et al., 2006; BARGAGLI, 2020; DOYTCHINOV; DIMOV, 2022).

A vegetação dos solos antárticos pode contribuir com o aumento da matéria orgânica, umidade, nitrogênio e carbono no solo. Adicionalmente, locais de nidificação das aves podem enriquecer o solo com matéria orgânica, contribuindo com cascas de ovos, guano, penas, etc. Sendo importante os nutrientes dos solos para os microrganismos, mas também a cobertura vegetal pode protegê-los do frio e produzir moléculas que cooperam com o estabelecimento e desenvolvimento deles em condições adversas, modulando sua diversidade (HARRIS; TIBBLES, 1997; YERGEAU et al., 2007b; TEIXEIRA et al., 2013; SCHULTZ; ROSADO, 2019; ABAKUMOV et al., 2021)

Em geral, a diversidade bacteriana dos solos das diferentes regiões da Antártica varia em abundância relativa dos filos, mas os frequentemente encontrados são Actinomycetota, Pseudomonadota, Bacteroidota, Acidobacteria, Gemmatimonadetes, Deinococcus-Thermus, Cyanobacteria, e Bacillota, dependendo do microambiente do local e localização geográfica (GANZERT et al., 2011; LEE et al., 2012; PEARCE et al., 2012; YERGEAU et al., 2012; BOTTOS et al., 2014; WANG et al., 2015; PUDASAINI et al., 2017; PREKRASNA et al., 2022). Além disso, fatores edáficos como condutividade, temperatura, metais pesados, pH, nitrogênio, carbono, água, e outros, também podem ter impacto significativo na composição da comunidade microbiana do solo antártico. (CHONG et al., 2012; VAN HORN et al., 2013; VAN HORN et al., 2014; KIM et al., 2015; BENDIA et al., 2018a).

2.2.1. Biodiversidade bacteriana do solo da Antártica marítima

A zona marítima da Antártica tem forte influência do oceano Antártico e inclui várias localizações, entre elas a costa oeste da Península Antártica e as ilhas Shetland do Sul, Orkney do Sul, Sandwich do Sul, Bouvetaya e Peter Ioya. O clima da zona tem característica de frio úmido (desde mais de 0°C no verão até menos de -12°C no inverno), com maior quantidade de precipitação no verão (350-500 mm por ano) e não possui temporada de neve por até vinte semanas por ano (ØVSTEDAL; SMITH, 2001). Nas Ilhas Shetland do Sul, nos últimos anos se registrou temperatura média anual aproximada de -1,7°C (Ilha do Rei George), e na Península, há alto teor de umidade, já que a taxa de precipitação excede à taxa de evaporação, favorecendo as condições de crescimento microbiano (CAMPBELL; CLARIDGE, 1987; PLENZLER et al., 2019). Em geral, na Península Antártica há muitos nutrientes nos solos (BALKS et al., 2013; BOTTOS et al., 2014) e os filos Acidobacteria, Actinomycetota, Bacteroidota, Pseudomonadota, e Verrucomicrobia foram reportados como os mais abundantes (YERGEAU et al., 2007a; BOTTOS et al., 2014).

De solos com vegetação, pode-se encontrar plantas nativas vasculares como *Deschampsia antarctica* e *Colobanthus quitensis* (XIONG; DAY, 2001; CORSOLINI; ADEMOLLO, 2022) que possuem alta diversidade microbiana na rizosfera. Segundo os estudos de (TEIXEIRA et al., 2010, 2013), os filos bacterianos Actinomycetota, Pseudomonadota e Bacillota foram os predominantes na rizosfera dessas plantas da Ilha do Rei George (Ilhas Shetland do Sul), porém no estudo de ZNÓJ et al., (2022), realizados com a rizosfera das mesmas plantas nativas da Ilha Rei George, houve maior abundância de Pseudomonadota, Actinomycetota e Bacteroidota. Também, macrófitas, como musgos e líquens, estão presentes na Península Antártica (CASANOVAS et al., 2013; DYKYY; BEDERNICHEK, 2022; SO et al., 2023) e suas identidades podem ser associadas à abundância microbiana do solo (BENAVENT-GONZÁLEZ et al., 2018; IVANOVA et al., 2021). No caso de solos com presença de musgos, o filo Bacteroidota foi mais abundante naquele tipo de solos do que nos solos sem vegetação (Ilha Livingston) (GANZERT et al., 2011). Assim, ao longo dos anos, houve mais reportes de diversidade bacteriana de solos com vegetação (Tabela 1).

No caso de solos ornitogênicos, em amostras de solos impactados por aves da Ilha Livingston e Rei George, houve maior dominância dos filos Pseudomonadota, Actinomycetota e Bacteroidota (RAMÍREZ-FERNÁNDEZ et al., 2021). Adicionalmente, na Ilha do Rei George, o solo ornitogênico teve abundância de Bacillota, o solo antigo ornitogênico com abundância de Bacteroidota e Pseudomonadotas, e no solo mineral

houve abundância de Pseudomonadota, Actinomycetota e Acidobacteria (KIM et al., 2012). Na Ilha de Seymour, o solo ornitogênico teve dominância bacteriana dos filos Actinomycetota, Pseudomonadota, Bacillota e Bacteroidota, sendo as bactérias do filo Actinomycetota com mais concentração na camada superficial (0-8 cm) do solo em comparação com a camada do médio (20-22 cm) e inferior (35-40 cm) (RAMPELOTTO et al., 2015). Adicionalmente, houve vários reportes de diversas áreas de solos da Antártica marítima (Tabela 1).

Tabela 1: Diversidade bacteriana de solos com vegetação da Antártica marítima.

PREDOMINANCIA DOS FILOS DE SOLOS COM VEGETAÇÃO	LOCAL	FONTE DE AMOSTRA	REFERÊNCIA
Proteobactéria, Bacteroidota, Actinobactéria	Ilhas Galindez e Anvers	Rizosfera de <i>Deschampsia antarctica</i>	PREKRASNA et al., 2022
Actinobactéria	Ilhas Galindez e Anvers	Rizosfera de <i>Colobanthus quitensis</i>	PREKRASNA et al., 2022
Actinomycetota, Chlorofexi, Pseudomonadota	Bahia do Almirantado	Solo rizosférico de <i>Deschampsia antarctica</i>	SILVA et al., 2020
Pseudomonadota e Bacteroidota	Estação Antártica Polaca Henryk Arctowski,	Solo rizosférico de <i>Poa annua</i>	ZNÓJ et al., 2021
Actinomycetota	Ilhas Falkland	Vegetação	YERGEAU et al., 2009
Alphaproteobacteria, Bacteroidota, Bacillota	Fossil Bluff e Coal Nunatk	Solos afetados pelas geadas	YERGEAU et al., 2009
Pseudomonadota, Acidobacteria, Actinomycetota e Chloroflexi	Península Barton	Solo de tundra	KIM et al., 2020
Pseudomonadota Bacteroidota, Acidobacteria, Chloroflexi, Planctomycetes e Actinomycetota	Península Barton	Solo de tundra	OH et al., 2019
PREDOMINANCIA DOS FILOS DE DEMAIS TIPOS DE SOLOS	LOCAL	FONTE DE AMOSTRA	REFERÊNCIA

Bacteroidota, Acidobacteria, Pseudomonadota, Actinomycetota, Bacillota, Gemmatimonadetes	Ilha do Rei George	Sedimentos e solos	FOONG et al., 2010
Bacteroidota, Acidobacteria, Pseudomonadota, Bacillota, Actinomycetota	Ilha Livingston	Solo	GANZERT et al., 2011
Bacteroidota, Acidobacteria, Pseudomonadota, Betaproteobacteria, Actinomycetota	Península Keller	Solo	ROESCH et al., 2012
Bacillota e Acidobacteria	Ilha do Rei George	Ambientes sem vegetação	TEIXEIRA et al., 2013
Bacillota	Ilha Decepção	Solos geotermais	SCHULTZ et al., 2022
Pseudomonadota, Bacteroidota, e Planctomycetes	Ilha Decepção	Solos de geleiras e fumarolas	BENDIA et al., 2018a
Pseudomonadota, Deinococcus- Thermus, Cyanobacteria	Ilha Decepção	Solo de tapete microbiano (em amostras com temperatura quente)	LEZCANO et al., 2019
Cyanobacteria	Ilha Decepção	Solo de tapete microbiano (em amostras com temperatura fria)	LEZCANO et al., 2019
Pseudomonadota, Actinomycetota	Península Fildes	Solo	HAN et al., 2019
Actinomycetota, Pseudomonadota	Penínsulas Barton e Weaver	Solo	KIM et al., 2019
Acidobacteria, Bacteroidota, Gemmatimonadetes, Pseudomonadota, Actinomycetota, Cyanobacteria	Ilha Signy e Alexander	Solo sem vegetação	DENNIS et al., 2019
Pseudomonadota, Bacteroidota, Acidobacteria, Actinomycetota	Solos da Península Fildes	Solo	REGO et al., 2020

Actinomycetota, Pseudomonadota	Geleira Huld da Ilha Livingston	Rocha e solo do campo dianteiro	GARRIDO- BENAVENT et al., 2020
Pseudomonadota, Actinomycetota	Oasis Marte	Solo	WASCHULIN et al., 2022
Pseudomonadota, Planctomycetes, Bacteroidota Actinomycetota	Península Fildes	Tapetes microbianos	ALCÁNTARA- HERNÁNDEZ et al., 2021
Pseudomonadota, Bacteroidota, Actinomycetota, Acidobacteria	Bahia do Almirantado	Solo	BENDIA et al., 2021
Pseudomonadota, Actinomycetota	Glaciar Ecológico, Ilha do Rei George	Solo	KRAUZE et al., 2021
Pseudomonadota, Actinomycetota	Kitezh Lake da Península Fildes	Solo	LI et al., 2022b

2.2.2. Actinobactérias do solo da Antártica marítima

Mesmo, a biodiversidade obtida seja mais significativa e diferente com o emprego de métodos independentes de cultivo em comparação de métodos dependentes, as duas abordagens são utilizadas nos estudos da biodiversidade microbiológica ambiental (TYTGAT et al., 2014; LIU et al., 2022). Assim, estudos microbiológicos dependentes e independentes de cultivo do solo da Antártica Marítima revelaram a presença de microrganismos do filo Actinomycetota, sendo um dos filios mais abundantes nos solos da Península Antártica (YERGEAU et al., 2007a) (Tabela 2).

Tabela 2: Diversidade bacteriana de Actinomycetota obtidos de métodos dependentes e independentes de cultivo de diversos solos da Antártica marítima.

GÊNEROS (MÉTODOS DEPENDENTES E INDEPENDENTES DE CULTIVO)	LOCAL	FONTE DE AMOSTRA	REFERÊNCIAS
<i>Streptomyces</i> , <i>Micromonospora</i> , <i>Umezawaea</i> , <i>Kribbella</i> , <i>Micrococcus</i>	Ilha Galindez	Rizosfera de solo de <i>Deschampsia</i> <i>antarctica</i>	TISTECHOK et al., 2021
<i>Micromonospora</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Kocuria</i> ,	Ilha Greenwich	Solo	TOMOVA et al., 2015; CHU et al., 2017

<i>Dermacoccus,</i> <i>Brachybacterium,</i> <i>Brevibacterium,</i> <i>Rhodococcus,</i> <i>Microbacterium, Rothia,</i> <i>Streptomyces</i>			
<i>Microbacterium</i>	Ilha do Rei George	Solo	REIS-MANSUR et al., 2019
<i>Streptomyces</i>	Baía Fildes	Solo	SILVA et al., 2019b
<i>Arthrobacter</i>	Ilha Decepção	Solo	TOMOVA et al., 2015
<i>Arthrobacter</i>	Ilha Rei George	Solo	LEE et al., 2018; VILA et al., 2019; SANTA-CRUZ et al., 2021
<i>Arthrobacter</i>	Ilhas Shetland do Sul	Solo	LIU et al., 2021
<i>Arthrobacter</i>	Península Fildes	Solo	CONG et al., 2020
<i>Arthrobacter</i>	Península Fildes	Solo	XIAO et al., 2007
<i>Actinoplanes, Arthrobacter,</i> <i>Kribbella, Mycobacterium,</i> <i>Nocardia, Pilimelia,</i> <i>Pseudarthrobacter,</i> <i>Rhodococcus,</i> <i>Streptacidiphilus,</i> <i>Streptomyces, Tsukamurella</i>	Baia do Almirantado	Solo rizosférico de <i>Deschampsia</i> <i>antarctica</i>	SILVA et al., 2020
<i>Streptomyces,</i> <i>Micromonospora,</i> <i>Umezawaea, Kribbella,</i> <i>Micrococcus</i>	Ilha Galindez	Solo rizoférico de <i>Deschampsia</i> <i>antarctica</i>	TISTECHOK et al., 2021
<i>Pseudarthrobacter,</i> <i>Paenarthrobacter</i>	Ilha Gallindez e Booth	Solos com vegetação	KOMPLIKEVYCH et al., 2023
<i>Brevibacterium, Gordonia,</i> <i>Micromonospora,</i> <i>Arthrobacter, Demetria,</i> <i>Rhodococcus, Janibacter,</i> <i>Leifsonia, Dermacoccus,</i> <i>Kocuria, Lapillicoccus,</i> <i>Microbacterium,</i> <i>Nocardioides</i>	Ilha Barrientos	Solo	LEE et al., 2012
<i>Micobacteria</i>	Bahia do Almirantado	Solo	DE BARROS et al., 2022

<i>Rhodococcus</i>	Ilha Rei George	Solo de tundra	PARK et al., 2021
GÊNEROS (MÉTODOS INDEPENDENTES DE CULTIVO)	LOCAL	FONTE DE AMOSTRA-MÉTODO	REFERÊNCIAS
<i>Pseudonocardia</i> , <i>Rhodococcus</i> , <i>Friedmanniella</i> , <i>Rubrobacter</i> , <i>Arthrobacter</i>	Ilha Alexander	Solos- Sequenciamento 454	PEARCE et al., 2012
<i>Gaiella</i> <i>Rhodococcus</i>	Região Fildes (Ilha do Rei George)	Solos de diferentes tipos- Sequenciamento 454	WANG et al., 2015
<i>Gaiella</i>	Penínsulas Barton e Weaver	Solos- Sequenciamento 454	KIM et al., 2019
Microbactetiaceae	Costa ocidental da Ilha Bay (Ilha Rei George)	Rizosfera de <i>Poa</i> <i>annua</i> - Sequenciamento Illumina	ZNÓJ et al., 2021
<i>Arthrobacter</i>	Península Barton e no Oasis Marte	Tundra- Sequenciamento Illumina	NEWSHAM et al., 2019; KIM et al., 2020
<i>Streptomyces</i> , <i>Streptosporangium</i> ,	Península Barton	Solo rico em matéria orgânica- Sequenciamento Pac Bio	OH et al., 2019
<i>Streptomyces</i> , <i>Pseudonocardia</i> , Acidimicrobia (<i>Illumatobacter</i> , <i>Microthrix</i>), Thermoleophilia (<i>Solirubrobacter</i> , <i>Patulibacter</i>),	Oasis Marte	Solos- Sequenciamento Oxford Nanopore e Illumina	WASCHULIN et al., 2020
<i>Actinobacterium</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Leifsonia</i> , <i>Frankineae</i> , <i>Rhodococcus</i> , <i>Mycobacterium</i>	Ilha Barrientos	Solos-Eletroforese em gel gradiente desnaturante (DGGE) por PCR.	LEARN-HAN et al., 2012

2.3. Radiação UV

2.3.1. Radiação ultravioleta

A maioria da energia radiante emitida pelo sol é composta por comprimentos de onda Ultravioleta (UV) (~5%), infravermelho (~52%) e visível (~43%) (JIANG et al., 2021). A radiação UV da luz solar está dividida em UV-A (comprimento de onda de 315-400nm), UV-B (280-315nm) e UV-C (100-280nm) (WILMOUTH et al., 2018; RANA; CAMPBELL, 2021).

A radiação UV-A produz danos aos lipídios, proteínas e DNA por processo oxidativo, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (interação indireta com as moléculas). Aquela estresse oxidativo pode danificar irreversivelmente as proteínas que são importantes nas funções celulares, como respiração, transcrição e tradução; além de gerar instabilidade genômica e morte celular pela quebra de fitas, e lesões de base e açúcar, e nas ligações cruzadas de DNA-proteína (CHAMBERLAIN; MOSS, 1987; HU; TAPPEL, 1992; DIZDAROGLU et al., 2002; BOSSHARD et al., 2010a; GIRARD et al., 2011; NEGRE-SALVAYRE; SALVAYRE, 2022).

As radiações UV-B e UV-C geram danos pela interação direta com o DNA, como dímeros de pirimidina ciclobutano (CPD) e fotoprodutos (6,4)-pirimidina-pirimidona, que bloqueiam a transcrição do RNA e a duplicação do DNA (PFEIFER, 1997; WIDEL et al., 2014; PALMA et al., 2022). Mas, dependendo do comprimento de onda da faixa UV-B, seus efeitos são similares aos do UV-A (indiretos por processo oxidativo). Assim, UV-C e comprimentos de onda mais curtos do UV-B caracterizam-se pela indução de danos de forma direta ao DNA, enquanto os comprimentos de onda mais longos do UV-B e UV-A podem causar danos oxidativos (QIU et al., 2005). Assim, a ação do UV-B nas células ocorre de forma híbrida, ou seja, envolve danos do tipo UV-C (diretos) e UV-A (indiretos) (PALMA et al., 2022; TAN et al., 2023).

Pelo visto a radiação UV tem potencial letal nos seres vivos, mas o ozônio (O₃) presente na estratosfera absorve a maior fração de radiação ultravioleta emitida pelo sol, sendo que a UV-C é totalmente absorvida, enquanto uma pequena fração do UV-B (5-10%) e maior porcentagem do UV-A (90-95%) chegam à superfície da Terra (Figura 4). Assim, o ozônio oferece proteção aos seres vivos contra a radiação UV. Entretanto, devido às emissões de halons e clorofluorcarbonetos (CFCs) na atmosfera, houve aumento de cloro e bromo na estratosfera, que participam na destruição da camada de ozônio. Por isso,

acordos internacionais como o Protocolo de Montreal foram implementados para proteger a camada do ozônio, e deter a produção de CFCs e outras substâncias que danificam ao ozônio. Entretanto, a recuperação total do O₃ estratosférico ainda vai levar décadas (FARMAN et al., 1985; MATSUMI; KAWASAKI, 2003; WMO, 2014; WILMOUTH et al., 2018; BERNHARD et al., 2023) mas por enquanto, a determinação do índice de radiação UV (UVI) ajuda a prever os níveis de radiação na escala de 1-11+, fornecendo prognóstico diário do risco esperado da sobre-exposição ao sol e ajudando para que a população tenha comportamentos apropriados de proteção solar (EPA, 2022).

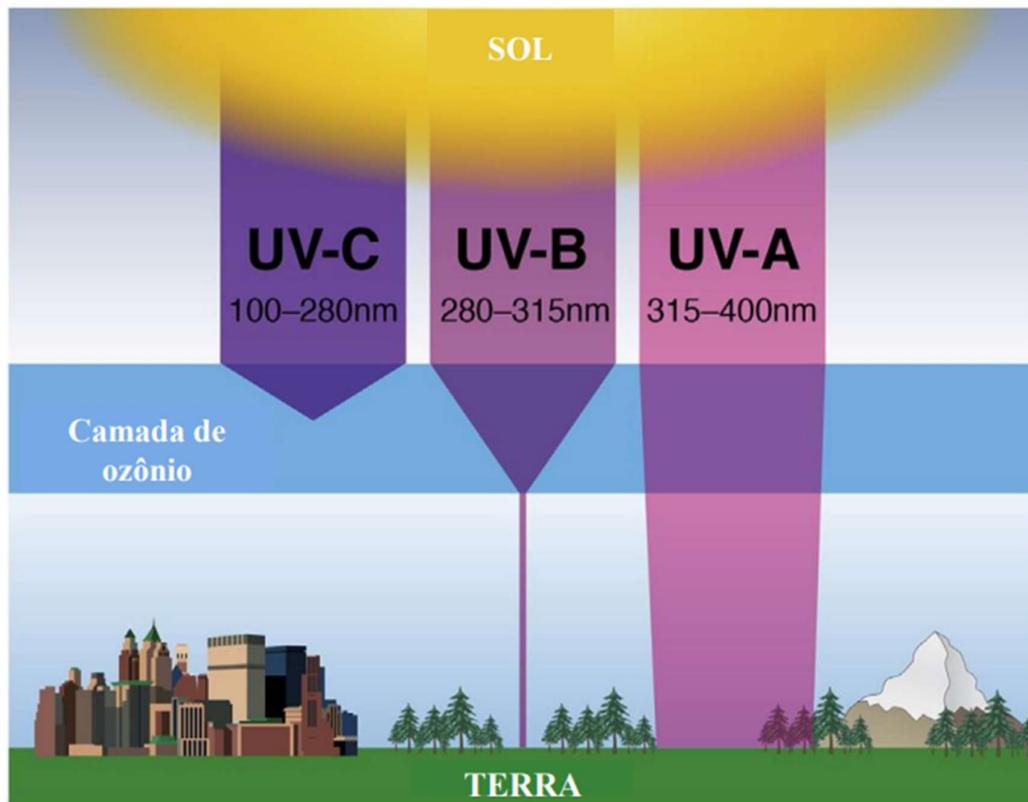


Figura 5: Radiação ultravioleta absorvida pela camada de ozônio. Maior e menor fração de UV-A e UV-B, respectivamente, que alcançam a Terra. Fonte: adaptação de WILMOUTH et al., 2018.

2.3.2. Efeitos da radiação ultravioleta nas bactérias

Microrganismos têm sido alvo de estudos em relação ao efeito da radiação UV, uma vez que apresentam sensibilidade mensurável e imediata, logo após a incidência da luz UV (CASTENHOLZ, 2004; MINH TRAN et al., 2022). Em um estudo de radorresistência, avaliaram-se os efeitos dos diferentes comprimentos de onda da radiação UV (UV-A, UV-B e UV-C) sobre bactérias como: *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Brevibacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Paracoccus* sp., *Pseudomonas* sp., *Psycrobacter* sp.,

Sphingomonas sp., e *Staphylococcus* sp. (SANTOS et al., 2013). Observou-se que a sobrevivência, atividade biológica, geração de ERO (espécies reativas de oxigênio), e oxidação de proteínas e lipídios foram menores em bactérias irradiadas pelo UV-C e mais altas nas irradiadas pelo UV-A; porém, quebras de fita dupla resultante da interação direta do UV com o DNA foi maior pelo UV-C, sendo os efeitos do UV-B no nível intermediário entre os efeitos do UV-A e do UV-C (SANTOS et al., 2013). Mas no geral, só radiação UV-C é classificada como germicida (KING et al., 2011; CHOURABI et al., 2017; SOUSA et al., 2023).

Na inativação bacteriana pela luz solar, diferentes mecanismos de dano podem se apresentar conjuntamente. Por um lado, um dos mecanismos endógenos é a fotoinativação direta que pode ser causada pelo UV-B e modifica a estrutura química de cromóforos como ácidos nucleicos e proteínas pela absorção de um fóton; resultando em que o cromóforo troca de estrutura química. Por outro lado, a fotoinativação indireta ocorre por meio da exposição à UV-A e também à UV-B, via produção de intermediários reativos (PPRI) como ERO [(oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$)]. Assim, cromóforos endógenos como riboflavina, porfirinas, clorofilas e outras absorvem um fóton, de forma que é promovido a um estado de singlete excitado e retorna à situação inicial, ou passa para um estado triplete excitado e age como oxidantes ou sensibilizadores para produzir PPRI, além disso existem fotosensibilizadores extracelulares (matéria orgânica) que ajudam na geração de ERO (BLOUGH; ZEPP, 1995; EDGE et al., 1997; KLÁN; WIRZ, 2009; VIONE et al., 2014; NELSON et al., 2018; NEALE et al., 2023a). Sendo que, por exemplo, o oxigênio singlete pode ser gerado por transferência de energia de um cromóforo em estado triplete excitado ao oxigênio (EDGE et al., 1997).

Em resumo, as possíveis vias do dano endógeno de bactérias causado pela luz solar são (Figura 5) (THOMAS; FAVRE, 1975; MACKAY et al., 1976; JAGGER, 1985; HOERTER et al., 1996; FRIDOVICH, 1998; IMLAY, 2003; IMLAY, 2009; BOSSHARD et al., 2010b; FISHER; NELSON, 2014; CASTRO-ALFÉREZ et al., 2017; PROBST-RÜD et al., 2017; NELSON et al., 2018):

- A. Dano direto a proteínas e DNA gerado pelo UV-B.
- B. Produção de ERO pelos cromóforos endógenos.
- C. Incremento da geração de ERO pelos danos à cadeia transportadora de elétrons, aumentando produção do radical superóxido.
- D. Fotólise direta das enzimas como catalase que eliminam ERO.

- E. Liberação do Fe do sideróforo enterobactina.
- F. Acúmulo de equivalentes de redução, após a cadeia respiratória ser danificada, ajuda no aumento da taxa de redução de Fe (III) para Fe (II). Acelerando assim danos pela reação de Fenton que abrange a produção de radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$) através do H_2O_2 e Fe (+2), e tem a característica de ser um radical muito reativo porque reage com biomoléculas como ácidos nucleicos e proteínas nos sítios ricos em elétrons e causa lesões.
- G. Dano à cadeia de transporte de elétrons, há menos energia para o processo de reparo de DNA e proteínas.
- H. Dano direto aos RNA de transferência (tRNA) causado pelo UV-A.

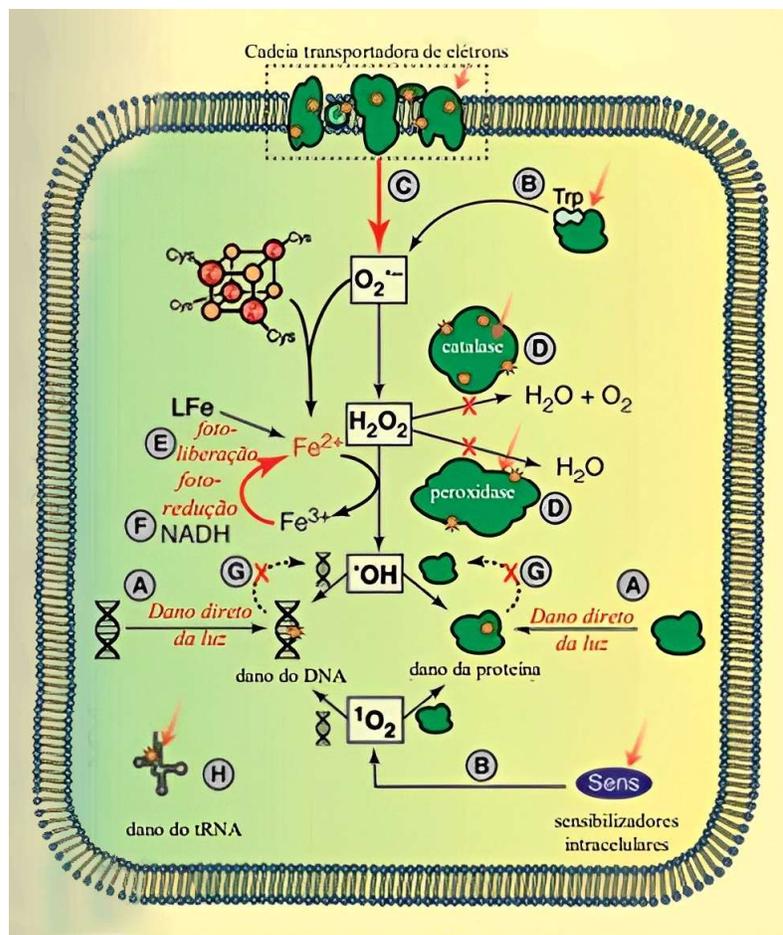


Figura 6: Dano causado pela luz solar (A-H); e respostas para minimizar as lesões (I, II, III). Fonte: adaptação de NELSON et al., 2018.

2.3.3. Mecanismos de resistência bacteriana à radiação UV

A luz UV é um fator ameaçador desde o início da vida na Terra, devido aos possíveis prejuízos aos seres vivos. Entretanto, bactérias possuem um arsenal metabólico como estratégia para reparar danos causados pela radiação UV e para remover ERO (MARKILLIE et al., 1999; GOOSEN; MOOLENAAR, 2008; NELSON et al., 2018). Alguns estudos mostraram correlação entre a alta radiação solar no ambiente e a incidência de bactérias resistentes a luz UV, porém, tal correlação não foi observada em outros reportes (ARRIETA et al., 2000; FERNÁNDEZ-ZENOFF et al., 2006; GLADKA et al., 2021). Mesmo assim vários microrganismos radorresistentes foram isolados de habitats naturais diversos, indicando sua alta resistência à luz UV (MATALLANA-SURGET et al., 2012; GLADKA et al., 2021).

Em geral, os processos de defesa utilizados pelas bactérias para resistir ao estresse oxidativo abrangem superóxido dismutases (SOD), peroxidases e catalases para diminuir as quantidades de ERO (superóxidos, peróxido de hidrogênio) (I), níveis de Fe intracelular controlados por proteínas DPS (Proteínas de ligação a DNA de células em carência nutricional) e ferritinas (II), e mecanismos de reparo do DNA e proteínas (III) (NELSON et al., 2018) (Figura 5). Algumas dessas respostas são reguladas pelo sistema de proteínas OxyR, que aumenta a produção de catalase e alquil hidroperoxidase, e a captura do Fe pelas DPS, assim como o sistema SoxRS que eleva os níveis de superóxido dismutases (NELSON et al., 2018).

Entre outros mecanismos, no estudo de proteômica de *Rhodobacter* sp., sugeriu-se que os osmólitos também eliminam espécies reativas de oxigênio devido à alta produção de proteínas que sintetizam e transportam glicina-betaína e inositol em condições de radiação UV-B natural em comparação com UV-B artificial (PÉREZ et al., 2017). Ademais, no estudo proteômico da resposta de *Sphingopyxis alaskensis* à radiação solar, observou-se respostas de adaptação como detoxificação de glioxal e ERO, sequestro do ferro para minimizar o dano oxidativo, proteínas de união ao DNA que minimizam o dano a ele, chaperonas para o redobrimento das proteínas; e alterações nos processos translacionais e transcricionais, e mudanças no metabolismo do nitrogênio (MATALLANA-SURGET et al., 2009). Adicionalmente, a produção deficiente de LPS de alguns isolados gram-negativos aumenta a sensibilidade ao oxigênio singlete exógeno (DAHL et al., 1987), a acumulação do poli-hidroxi-butirato (PHB) em *Pseudomonas extremaustralis* revelou ter um papel fundamental na resistência ao UV-A (TRIBELLI et al., 2020), triacilgliceróis foram descritos como importantes na resistência à luz UV-B (BEQUER et al., 2013) e foi reportada a existência de outro tipo de polihidroxialcanoato

(PHBHHx composto de 3-hidroxiбутирато e 3-hidroxihexanoato) envolvido na sobrevivência ao UV-C que forneceu tolerância ao estresse oxidativo (ZHAO et al., 2007).

2.3.3.1. Mecanismos de reparo do DNA

No reparo do DNA danificado pela radiação UV há participação de fotolases pela fotorreativação (RAMÍREZ-GAMBOA et al., 2022), aquelas dos tipos CPD e (6,4) PP são ativadas pela luz na região próxima a luz UV/ azul para liberar a ligação covalente dos dímeros de pirimidina [lesões CPD e fotoprodutos (6,4)], e a SP liase monomeriza a lesão do DNA (5-timinil-5,6-dihidrotimina) causada nos esporos. De forma interessante, as fotolases encontram-se ausentes em várias espécies que estão em lugares sem luz e em outras bactérias endossimbióticas (FAJARDO-CAVAZOS et al., 1993; SANCAR, 2000; GOOSEN; MOOLENAAR, 2008).

Também, a enzima UV-endonuclease (UVDE) reconhece as lesões CPD e fotoprodutos (6,4) e as corta na região 5' (BOWMAN et al., 1994; TAKAO et al., 1996, GOOSEN; MOOLENAAR, 2008). Outro mecanismo é o reparo por excisão de bases (BER) que é iniciado por uma DNA glicosilase que remove a base danificada, eliminando a ligação glicosil entre a base e a desoxirribose e é funcional no escuro. Após a remoção da base, o sítio abásico é processado por uma AP endonuclease que gera uma incisão na cadeia fosfodiéster e a desoxirribose é removida. Essa lacuna de uma base faltante é preenchida por uma DNA polimerase de reparo e o novo nucleotídeo incorporado é ligado à cadeia por uma DNA ligase (BOWMAN et al., 1994; TAKAO et al., 1996; GOOSEN; MOOLENAAR, 2008).

Adicionalmente, as bactérias contam com um sistema de reparo de danos gerais no DNA, o mecanismo de Reparo por Excisão de Nucleotídeos (NER). Suas proteínas UvrA, UvrB, UvrC, UvrD eliminam trechos curtos de DNA que contém o dano. O sistema pode atuar independentemente de luz em bactérias e esporos (PETTIJOHN; HANAWALT, 1964; VAN HOUTEN et al., 2005; GOOSEN, MOOLENAR, 2008). Por último, o sistema SOS em *Escherichia coli*, que precisa da ativação da proteína RecA, pode ser utilizado como última opção para as bactérias se manterem vivas em condições extremas de UV; desviando as lesões, aumentando as mutações pela duplicação do DNA mediada pela DNA Mut polimerase V ativada (UmuD₂C-RecA-ATP), e sendo genes umuCD parte do sistema SOS (WALKER, 1984; SMITH; WALKER, 1998; BUTALA et al., 2008; JIANG et al., 2009; PODLESEK; ŽGUR BERTOK, 2020).

Entre outros mecanismos de reparo de DNA, o sistema de reparo de erros de emparelhamento (MMR) se ativa no momento que o dano do DNA é causado por mutação por erro na replicação, sendo importantes os genes MutL, MutS e MutH e a presença de helicase, exoexonucleases VII, SSB, DpoIII e Lig. Além disso, a recombinação homóloga é o sistema comum para a manutenção e reparação do DNA, sendo RecFOR e RecBCD as vias principais vias, além de RecA que também forma parte do sistema (ARANDA et al., 2011; PAUDEL et al., 2023).

2.3.3.2. Pigmentos fotoprotetores

Outra estratégia de microrganismos para a resistência aos efeitos da luz UV são os pigmentos. Entre eles estão os carotenoides que podem oferecer proteção contra danos foto-oxidativos (ARMSTRONG, 1997; SILVA et al., 2019a; COPPOLA et al., 2023), entretanto há outros pigmentos bacterianos como violaceínas, ficoeritrinas, indigoínas e quinonas que possuem potencial antioxidante (KONZEN et al., 2006; PATEL et al., 2007, 2018; CUDE et al., 2012; CARREÑO-LÓPEZ et al., 2019). Também, prodigiosinas (BORIĆ et al., 2011; CEDIEL et al., 2022), melaninas (RUAN et al., 2004; SEELAM et al., 2021) e scitoneminas (DILLON; CASTENHOLZ, 1999; GAO et al., 2021), biopterina e ficocianobilina (MATSUNAGA et al., 1993; HAMED, 2016; NOWRUZI et al., 2020) possuem propriedade fotoprotetora. Pigmentos microbianos podem oferecer fotoproteção (KIKI, 2023), de maneira que foi postulado que a maioria dos pigmentos evoluiu como um mecanismo para combater as ERO do ambiente (LIU; NIZET, 2009).

2.3.4. Bactérias radiorresistentes

É de conhecimento que a radiação UV pode ter efeito negativo sobre a atividade dos microrganismos (BALLARÉ et al., 2011; MINH TRAN et al., 2022), porém há microrganismos radiorresistentes que possuem alta resistência à luz UV (HORNECK et al., 2012) como *Deinococcus radiodurans* (CHEN et al., 2023) e *Bacillus subtilis* (CORTESÃO et al., 2019).

Bactérias do gênero *Bacillus* possuem mecanismos que evitam o dano do DNA e reparam o dano causado nos esporos (NICHOLSON et al., 2005; CORTESÃO et al., 2019). Adicionalmente, a espécie *Deinococcus radiodurans* é conhecida por suportar altas doses de irradiação UV-C como até 1000 J/m² sem ter perda de viabilidade (KRISKO; RADMAN, 2010; FARCI et al., 2016; CHEN et al., 2023). Em geral, *Deinococcus*

radiodurans possui mecanismo eficiente de reparo de DNA, enzimas como catalases, superóxido dismutases e peroxidases e proteínas Dps que protegem ao DNA do dano oxidativo. Sua radiorresistência também está baseada na proteção do dano oxidativo das proteínas devido à acumulação intracelular do Mn, que está majoritariamente em pequenos complexos com peptídeos e ortofosfato que ajudam a eliminar ERO. Adicionalmente, seu pigmento carotenoide deinoxantina oferece um forte efeito antioxidante. Esse carotenoide junto com a proteína principal da camada S DR_2577 forma um complexo que exhibe propriedades espectrais que contribuem para a resistência à radiação UV (DALY et al., 2007, 2010; SLADE; RADMAN, 2011; FARCI et al., 2018). Além dos mecanismos de reparo do DNA e o sistema de defesa antioxidante de alta eficiência, as características da radiorresistência de *Deinococcus* também são devidas a alguns aspectos como a parede celular, composição do genoma (dois cromossomos circulares e dois plasmídeos), lipídeos polares e fatores únicos de regulação global (LIU et al., 2023). Adicionalmente, *Hymenobacter* sp. e *Geodermatophilus* sp. foram reportadas com perfil de sobrevivência mais alto sob UV-C do que *Deinococcus radiodurans*, os quais tiveram a capacidade de acumular uma alta relação Mn/Fe (PAULINO-LIMA et al., 2016).

2.4. Fotoproteção na indústria: potencial de aplicação biotecnológica

As exposições crônicas repetidas à radiação solar são a principal causa de tumores cutâneos benignos e malignos, incluindo melanoma maligno na pele humana (ICHIHASHI et al., 2003; NEALE et al., 2023b), também a exposição ao sol pode causar pigmentação, fotoenvelhecimento e imunossupressão (SCHWARZ, 2005; TRAN et al., 2008; BATTIE et al., 2014; CHEN et al., 2021; SALMINEN et al., 2022). A radiação UV-A pode causar mutagênese em células eucarióticas e fotoenvelhecimento. No entanto os raios UV-B são os principais responsáveis pelo câncer de pele e queimaduras (RAI et al., 2022; SAGE et al., 2012; SARKAR; GADDAMEEDHI, 2018).

Frente aos danos da radiação solar, uma alternativa é o uso diário de protetores solares para prevenir o fotoenvelhecimento e o desenvolvimento do câncer de pele (ICHIHASHI et al., 2003; REIS-MANSUR et al., 2023a) mas é importante procurar ingredientes de protetores solares que diminuam o risco de toxicidade e perigo ambiental (CASAS-BELTRAN et al., 2020; LOZANO et al., 2020; FIVENSON et al., 2021; PATKI et al., 2021). Além disso, os produtos sintéticos de fotoprotetores podem causar efeitos colaterais adversos, como acne, coceira, ardor, vermelhidão da pele, etc., também a

fotodegradação das substâncias sintéticas pode originar produtos com potencial tóxico (BUTT; CHRISTENSEN, 2000; MOSLEY et al., 2007; GINZBURG et al., 2021; SHARMA; SHARMA, 2023). Por esse motivo, se tem crescente conscientização e demanda de protetores solares naturais (GOSWAMI et al., 2013; MOROCHO-JÁCOME et al., 2021), e o interesse por procurar componentes naturais que sejam resistentes ao UV e amigáveis com o meio ambiente para uso em cosméticos (DING et al., 2022). Além disso, bloqueadores solares de origem sintética absorvem luz UV e não protegem totalmente a pele devido a geração de ERO pela radiação UV-A, sendo necessário adicionar antioxidantes nos protetores solares para minimizar os danos da luz UV na pele (FREITAS et al., 2015; JESUS et al., 2023). Também, se tem interesse no desenvolvimento de novos protetores solares com amplos espectros de absorção de UV-A, UV-B e UV-C para ter o benefício de prevenir o dano do DNA direto e indireto (SUOZZI et al., 2020).

Para o uso em formulações fotoprotetoras, se considera fundamental avaliar algumas propriedades como a estabilidade, fototoxicidade e citotoxicidade para determinar se os ingredientes tem uso seguro como aditivos em formulações de protetores solares e demais cosméticos, sendo que a fototoxicidade é característica de determinadas substâncias que podem aumentar ou induzir algum efeito tóxico na exposição à luz solar; e a citotoxicidade, de compostos que causam efeito tóxico em células (ONOUÉ et al., 2013; CHIARI et al., 2014; REIS-MANSUR et al., 2019; REIS-MANSUR et al., 2023b). Também, é relevante considerar o uso de produtos fotoprotetores com FPS (fator de proteção solar) maior de 15 porque são considerados de amplo espectro e podem proteger contra radiação UV-A e UV-B, reduzindo assim o risco de envelhecimento precoce e câncer de pele (FDA, 2022), sendo importante considerar que o cálculo do fator (FPS) involucra o aparecimento do eritema na pele que é consequente da exposição à radiação UV-B (ANVISA, 2002).

Na indústria pode-se procurar aumentar o FPS de formulações fotoprotetoras com produtos naturais que possuem atividade antioxidante e fotoprotetora como o óleo de café verde, óleo de buriti, pigmentos, e também diminuir a concentração de compostos sintéticos das formulações ou substituí-los (CHIARI et al., 2014; HEIDER et al., 2014a; MANSUR et al., 2020). Assim, se tem interesse por utilizar produtos naturais como potenciais compostos em formulações fotoprotetoras (MOROCHO-JÁCOME et al., 2021), entre algumas alternativas encontra-se reportes de própolis (GREGORIS et al., 2011; VALVERDE et al., 2023), extratos de plantas (VELASCO et al., 2008; LI et al., 2022a), extrato de chá verde (ELMETS et al., 2001; PUTRI; SAILAH, 2022), isoflavonas (LIN et

al., 2008; MAHARINI, 2019), aminoácidos semelhantes a micosporina (DE LA COBA et al., 2019; ROSIC et al., 2023), scitoneminas (FUENTES-TRISTAN et al., 2019; SHEIBANI MADRAHI; NAEIMPOOR, 2023), ectoína (SAJJAD et al., 2018; DUTEIL et al., 2022), compostos fenólicos (BEDOUX et al., 2014; MARTÍNEZ-INDA et al., 2023), esferoforina, panarina (RUSSO et al., 2008), melanina (SOLANO, 2020; SEELAM et al., 2021), violaceína, prodigiosina (CEDIEL et al., 2022; SURYAWANSHI et al., 2015), biopterina, ficocianobilina, ficoeritrobilina (HAMED, 2016; MATSUNAGA et al., 1993; NOWRUZI et al., 2020) e fibobiliproteína (CHANDRA et al., 2017; ASHKENAZI et al., 2022), polifenóis (NICHOLS; KATIYAR, 2010; WANG et al., 2022a), fucoxantina (HEO; JEON, 2009; TAVARES et al., 2020).

Outra alternativa natural de fotoproteção, inclui os carotenoides produzidos por microrganismos. Esses pigmentos microbianos foram estudados pela sua atividade antioxidante e fotoprotetora, e potencial de aplicação como componentes de formulações fotoprotetoras (SAMYUKTHA; MAHAJAN, 2016; REIS-MANSUR et al., 2019; MANSUR et al., 2020; KUSMITA et al., 2021; MENDES-SILVA et al., 2021). Assim, carotenoides de microrganismos são atrativos para aplicar em formulações de protetores solares não só pelas propriedades antioxidantes, mas também pela solubilidade e estabilidade em emulsões de óleo, sendo interessante isolar carotenoides com ótimas propriedades, tendo em conta que são atrativos por terem aplicações patenteáveis (GOKSØYR, 2010, 2013; NETZER et al., 2010; JOHNSEN, 2014; TIAN, 2022). Entre alguns dos carotenoides bacterianos testados para potencial uso como compostos de formulações fotoprotetoras compreendem extrato de carotenoides com existência de neurosporeno, α -caroteno, equinonona, cantaxantina e astaxantina da bactéria *Microbacterium* sp. (REIS-MANSUR et al., 2019), provável caroteno extraído de *Brevibacterium* sp. (PATKI et al., 2021), sarcinaxantina patenteada como composto de formulações fotoprotetoras (GOKSØYR, 2010, 2013), diadinoxantina, diatoxantina, fucoxantina como composto de protetores (JOHNSEN, 2014), e uso de formulação de origem vegetal que contém carotenoide e outros compostos em fotoprotetor solar para aplicação (TIAN, 2022).

2.5. Pigmentos carotenoides

2.5.1. Estrutura dos carotenoides

Os pigmentos carotenoides são moléculas hidrofóbicas relacionadas a membranas, ou unidas não covalentemente a algumas proteínas, produzidas por bactérias fotossintéticas e algumas espécies não fotossintéticas. Também são biossintetizados por fungos, algas e plantas e pertencem à subfamília dos terpenoides (ARMSTRONG, 1997; HEIDER et al., 2014b; JOSHI et al., 2023). Há relatos na literatura de mais de 1200 carotenoides naturais (YABUZAKI, 2017; FREITAS et al., 2021), e existem principalmente na forma *todo-trans*, forma mais estável, mas existem pequenas quantidades de isômeros *cis* (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007; WANG et al., 2022b).

A estrutura dos carotenoides é formada por cadeias de hidrocarbonetos de polieno, que podem terminar em anéis com ou sem átomos adicionais de oxigênio (SAJJAD et al., 2020). Essas cadeias contêm ligações simples e duplas alternadas (LIU; NIZET, 2009; ZIA-UL-HAQ, 2021). Os carotenoides podem ser divididos em carotenos (só hidrocarbonetos), como por exemplo toruleno, licopeno, alfa até epsilon caroteno; e xantofilas (possuem oxigênio) tais como luteína, zeaxantina, torularodina, neoxantina, violaxantina, alfa e beta criptoxantina, astaxantina que podem possuir grupos ceto, aldeído, epóxi, hidroxila e/ou carboxila (BRITTON, 1995a; KÖCHER; MÜLLER, 2011; SAJJAD et al., 2020) (Figura 6). Além disso, os carotenoides podem ser acíclicos, monocíclicos ou bicíclicos, de acordo a estrutura das extremidades da cadeia do hidrocarboneto, com diferentes substituições incluindo unidades de açúcares e ácidos graxos (ARMSTRONG, 1997; SANDMANN, 2019). Também, os carotenoides podem ser classificados de acordo com o comprimento da cadeia de carbono: C30, C40 (maioria) e C50 (BOHN, 2019).

Os carotenoides são biossintetizados a partir do precursor comum isopentenil pirofosfato (IPP) (C5) e seu isômero dimetilalil difosfato (DMAPP) (CUNNINGHAM; GANTT, 1998; RODRÍGUEZ-VILLALÓN et al., 2008; HEIDER et al., 2014a, 2014b; MORELLI; RODRIGUEZ-CONCEPCION, 2022). Para formar os diferentes tipos de carotenoides, a cadeia principal sofre reações químicas como ciclização, hidrogenação, migração de ligações, quebra ou ligação de cadeias de hidrocarbonetos e oxigenação ou metilação (BRITTON, 1995a; MADHAVAN et al., 2022).

A cor dos carotenoides pode variar de amarela, laranja a vermelha, dependendo do número de ligações duplas conjugadas na cadeia do hidrocarboneto e com aumento na intensidade da cor de amarelo para vermelho ao aumentar o número de ligações conjugadas (ARMSTRONG, 1997; AL-BABILI; BOUWMEESTER, 2015; SHILPA et al., 2020). Também, o número de ligações duplas conjugadas no cromóforo influencia nos picos

máximos de absorção (λ max) dos carotenoides, sendo que a maioria destes pigmentos absorve a luz na faixa de 400-600 nm (DAVIES, 1976; BRITTON, 1995b; ECHAVARRI-ERASUN; JOHNSON, 2002; PERRETT et al., 2020). No entanto carotenoides são sensíveis à isomerização, oxidação, ácidos, bases alcalinas, luz e calor; assim para purificá-los é necessário ter cuidados por ser compostos delicados com susceptibilidade a degradação (BHOSALE et al., 2003; KIRTI et al., 2014; XIAO et al., 2018; LU et al., 2020; MAGHSOUDI et al., 2022).

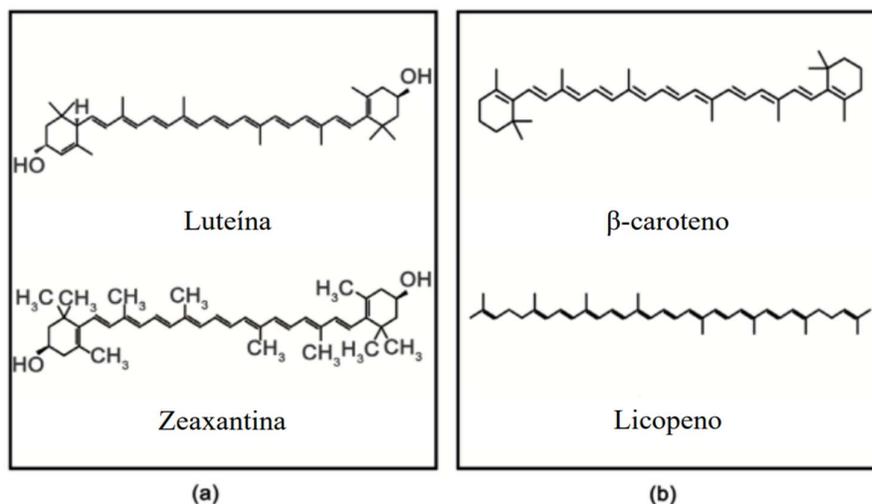


Figura 7: Estrutura dos carotenoides xantofilas (a) e carotenos (b). Fonte: adaptação de (VALDUGA et al., 2009; MENDES-SILVA et al., 2020).

2.5.2. Funções dos carotenoides

Os carotenoides que formam parte de fotossistemas são denominados primários e os que não pertencem a tais sistemas são denominados secundários (MULDERS et al., 2014, 2015; CEZARE-GOMES et al., 2019; LIAQAT et al., 2023). Em geral, as principais funções dos carotenoides estão relacionadas à absorção de luz, transferência de energia e proteção contra foto-oxidação em sistemas fotossintéticos, mas também está envolvida na formação de vitamina A e supressão de espécies reativas de oxigênio (ERO) em sistemas não fotossintéticos, atuando como antioxidantes (HORTON et al., 1999; HASHIMOTO et al., 2016; SANDMANN, 2022; LIAQAT et al., 2023). No caso de sistemas fotossintéticos, os carotenoides podem captar a energia da luz e passá-la para a clorofila, também podendo ajudar na regulação de energia quando há captação de luz fotossintética em excesso, suprimindo o estado triplo de energia da clorofila e assim evitando a formação de oxigênio singlete. Assim, carotenoides também podem desativar cromóforos que estão eletronicamente excitados e participam da geração de radicais e oxigênio (ERO)

(SIEFERMANN-HARMS, 1987; TRUSCOTT, 1990; HOLT et al., 2005; DAVINELLI et al. 2018; LIAQAT et al., 2023).

2.5.2.1. Carotenoides como antioxidantes

Carotenoides são inibidores de reações de radicais livres e podem oferecer proteção contra danos foto-oxidativos (KRINSKY, 1979; ARMSTRONG, 1997; SILVA et al., 2019a; COPPOLA et al., 2023). Os mecanismos gerais de como os carotenoides (Crt) suprimem os radicais livres (R) compreendem transferência de elétrons entre o radical livre e o carotenoide, formando ânion radical de carotenoide $\text{Crt}^{\bullet-}$ ou cátion radical de carotenoide $\text{Crt}^{\bullet+}$; formação de adutos R-Crt^{\bullet} pela adição do radical à cadeia de polieno do carotenoide; transferência de hidrogênio que leva a formação de um radical neutro do carotenoide (Figura 7) (BRITTON, 1995a; LIEBLER; MCCLURE, 1996; MORTENSEN; SKIBSTED, 1996; EDGE et al., 1997; WOODALL et al., 1997; JOSHI et al., 2023). Em geral, os carotenoides protegem contra o dano oxidativo ao DNA, proteínas e lipídios das membranas (STAHL et al., 1998; ZHANG; OMAYE, 2000; SHEIKH et al., 2023), suprimindo os fotossensibilizadores excitados (cromóforos) e oxigênio singlete, bem como eliminando radicais (SANDMANN, 2019).

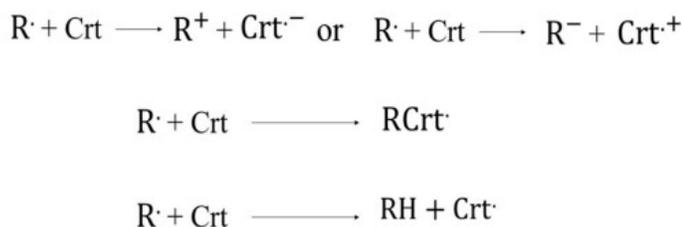


Figura 8: Mecanismos de supressão dos radicais livres por carotenoides. Fonte: adaptação de JOSHI et al., 2023.

É importante levar em consideração em conta sobre a concentração de carotenoides, oxigênio e a natureza do ambiente na avaliação das propriedades antioxidantes destes metabólitos (EDGE et al., 1997). A supressão de ERO pode aumentar quanto o número de ligações duplas conjugadas aumenta, mas também pode variar conforme a presença de grupos funcionais e a estrutura da cadeia, sendo que carotenoides acíclicos podem ter mais efetividade na supressão do que os carotenoides cíclicos, e a presença de um anel de ciclopentano e grupos cetônicos conjugados pode conferir efeitos maiores do que a presença de grupos metoxi, epoxi e hidroxil (HIRAYAMA et al., 1994; EDGE et al., 1997; KIM et al., 2016; EDGE; TRUSCOTT, 2018; SIZIYA et al., 2022).

Adicionalmente, a eliminação de ERO aumenta de acordo a extensão da cadeia conjugada e a sobreposição máxima dos orbitais moleculares conjugados de dupla ligação (MILLER et al., 1996; ALBRECHT et al., 2000). Adicionalmente, segundo alguns estudos, carotenoides monos e bicíclicos com grupos cetônicos em C-4/C-4' (Figura 8) e a estrutura de polieno mais longa podem agir melhor na supressão de oxigênio singlete e eliminação de radicais. Ademais, outros fatores como a glicosilação de grupos hidroxila em uma extremidade acíclica (SANDMANN, 2019), unidades polares de açúcar ou grupos carboxílicos na extremidade da molécula, e a presença de anel aromático podem aumentar a atividade do carotenoide (OSAWA et al., 2011; SANDMANN, 2019).

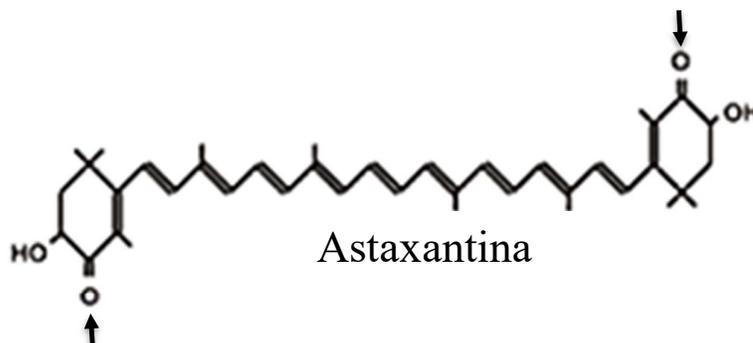


Figura 9: Exemplo de estrutura de carotenoide com grupos cetônicos em C-4/C-4'.

Entre os principais carotenoides conhecidos, β -caroteno e licopeno são conhecidos por serem ótimos supressores de oxigênio singlete. O mecanismo proposto para isso foi o seguinte: o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) passa energia ao pigmento, a ERO volta a seu estado inicial ($^3\text{O}_2$) e o carotenoide passa ao estado triplete mas volta ao estado inicial liberando a energia. Assim, o carotenoide atua como um catalisador que desativa o ERO e é antioxidante porque previne reações de oxidação (FOOTE, 1968; FOOTE; DENNY, 1968; KRINSKY, 1979; EDGE et al., 1997; WENLI; YAPING, 2005; TAMURA; ISHIKITA, 2020; MUROTOMI et al., 2023). Dentre os relatos de carotenoides com atividade antioxidante, licopeno e astaxantina tiveram mais efeito antioxidante do que β -caroteno (DI MASCIO et al., 1989; TERAQ, 1989; HERNÁNDEZ-ALMANZA et al., 2016; FANG et al., 2019; YAMASHITA, 2021; JING et al., 2022); fucoxantina, luteína e zeaxantina (carotenoides portadores de grupos hidroxila) mostraram-se potentes eliminadores de ERO, com maior atividade que o β -caroteno (GRUSZECKI, 2009; RODRIGUES et al., 2012; KOO et al., 2016; ZHANG et al., 2022). Também, a rodoxantina com 14 ligações duplas conjugadas exibiu maior proteção, seguida pela cantaxantina, astaxantina, licopeno e β -caroteno (BEUTNER et al., 2001).

Entre reportes de bactérias produtoras de carotenoides, observou-se mais resistência de bactérias aeróbicas pigmentadas (amarelo, vermelho e laranja) ao peróxido de hidrogênio em comparação com as sem cor e microaerófilas (ARRAGE et al., 1993). Adicionalmente, as bactérias *Sarcina lutea* e *Staphylococcus aureus* com pigmentos carotenoides foram resistentes ao dano do oxigênio singlete em comparação com as mutantes sem pigmento (DAHL et al., 1989). Também, outras bactérias do gênero *Staphylococcus aureus* e *Lysobacter enzymogenes* com pigmentos carotenoides tiveram mais resistência ao dano por ERO em comparação com as mesmas cepas mutantes sem pigmento (LIU et al., 2005; CLAUDITZ et al., 2006; WANG et al., 2013).

Sobre comparações de atividade antioxidante entre os vários tipos de carotenoides, os carotenoides de bactérias fotossintéticas, espiriloxantina e rodopina, foram reportados por apresentar maior eficácia como supressores de oxigênio singlete em comparação com neurosporeno, esferoideno, esferoidenona e anidrorodovibrina (HIRAYAMA et al., 1994). Mas no caso de bactérias heterotróficas, a deinoxantina, produzida por *Deinococcus radiodurans*, teve mais fortes propriedades antioxidantes contra oxigênio singlete e peróxido de hidrogênio do que licopeno (11 ligações duplas), zeaxantina (11 ligações duplas), β -caroteno (11 ligações duplas) e luteína (10 ligações duplas); sendo que o efeito da deinoxantina pode ser atribuído ao comprimento do sistema conjugado de dupla ligação (12 ligações duplas) e à presença de grupos funcionais como a hidroxila (TIAN et al., 2007). Também, isorenierateno e dihidroxiisorenierateno (C40) de *Brevibacterium linens* mostraram habilidade antioxidante maior do que o β -caroteno (C40) (WAGENER et al., 2012); sarcinaxantina e seus glicosídeos (C50) de *Micrococcus yunnanensis* foram reportados por apresentar maior atividade de supressão de oxigênio singlete do que o β -caroteno (C40) (OSAWA et al., 2010); a atividade antioxidante do carotenoide sapiroxantina (C40) de bactérias da família Flavobacteriaceae foi maior do que a zeaxantina (C40) e o caroteno (C40) (SHINDO et al., 2007), e entre outros carotenoides de bactérias que foram reportados por ter atividade antioxidante (Tabela 3).

Tabela 3: Carotenoides bacterianos reportados com atividade antioxidante.

TIPO DE CAROTENOIDE	MICROORGANISMO	REFERENCIAS
Astaxantina	<i>Micrococcus lylae</i>	MIRZAIE et al., 2015
Sarcinaxantina	<i>Micrococcus yunnanensis</i> <i>Micrococcus luteus</i>	GOKSØYR, 2010, 2013 OSAWA et al., 2010
Deinoxantina	<i>Deinococcus radiodurans</i>	TIAN et al., 2007
β -criptoxantina	<i>Kocuria marina</i>	KUMAR et al., 2016
Xantomonadina	<i>Xanthomonas oryzae pv. oryzae</i>	RAJAGOPAL et al., 1997

Zeaxantina e isómeros	<i>Muricauda Cellulophaga fucicola</i>	PRABHU et al., 2013 SILVA et al., 2019c
Decaprenoxantina e seus derivados	<i>A. psychrochitiniphilus</i>	SILVA et al., 2019a
Bacterioruberina e derivados	<i>Arthrobacter agilis</i>	SILVA et al., 2019a
Artroxantina	<i>Arthrobacter sp</i>	YU et al., 2022
Isorenierateno e dihidroxiisorenierateno	<i>Brevibacterium linens</i>	WAGENER et al., 2012
Extrato de carotenoide que incluiu β -caroteno, zeaxantina e isorenierateno	<i>Rhodococcus aetherivorans</i>	JIANG et al., 2023
4 ,4'-diapolycopene-4,4'- ácido dioico	<i>Methylobacterium</i>	OSAWA et al., 2015
Saproxantina e o mixol	Família Flavobacteriaceae	SHINDO et al., 2007
Extrato de carotenoides com bisanhydrobacterioruberina, trisanhydrobacterioruberina e tetrahydrospirilloxantina (C42)	<i>Kocuria sp.</i>	METWALLY et al., 2022
Xantomonadina	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	WANG et al., 2013
Neurosporeno	<i>Staphylococcus aureus</i>	LIU et al., 2005
Estafiloxantina	<i>Staphylococcus aureus</i>	CLAUDITZ et al., 2006
Cantaxantina	<i>Bradyrhizobium spp., Lactobacillus pluvialis</i>	SEN et al., 2019
β -caroteno	<i>Rhodococcus maris, Rhodococcus ruber</i>	CAPPELLETTI et al., 2020

Adicionalmente, há relatos de que carotenoides de procariontes halofílicos *Halococcus morrhuae*, *Halobacterium salinarium* (bacterioruberina (C50), bisanidrobacterioruberina, trisanidrobacterioruberina e seus derivados) apresentaram maior capacidade antioxidante do que carotenoides sintetizados pelo microrganismo termófilo *Thermus filiformis* (todo-*trans*-zeaxantina, zeaxantina (C40) monoglicosídeo, termozeaxantinas e termobiszeaxantinas), sendo que essa diferença pode estar relacionada à presença estruturas acíclicas com maior número de ligações duplas conjugadas e presença de mais grupos hidroxila nos carotenoides (todo-*trans*-bacterioruberina) dos halofílicos (MANDELLI et al., 2012). Além disso, bacterioruberina (C50) e derivados de haloarqueias tiveram atividade oxidante maior do que o β -caroteno (C40) (HOU; CUI, 2018).

2.5.2.2. Carotenoides como fotoprotetores da radiação UV

De reportes antigos, evidenciou-se a proteção de carotenoides de bactérias fotossintéticas contra a foto-oxidação de alvos celulares (SISTROM et al., 1956), e a fotoinativação de bactérias não fotossintéticas foi prevenida graças aos carotenoides (MATHEWS; SISTROM, 1960). Assim, visando avaliar a capacidade fotoprotetora dos carotenoides, análises mostraram que bactérias heterotróficas pigmentadas com carotenoides resistiram mais ao aumento da exposição à radiação solar simulada do que as

bactérias sem pigmento, apresentando uma gama de respostas que sugeriram que os carotenoides funcionariam de formas diferentes e a proteção oferecida seria dependente da localização do pigmento na membrana, da sua concentração e da sua estrutura (DIESER; et al., 2010). Também, enterococos pigmentados com carotenoides amarelos resistiram mais ao dano da luz solar simulada do que os não pigmentados (MARACCINI et al., 2012). Entretanto, os efeitos fotoprotetores de carotenoides não se confirmaram em outros estudos: bactérias marinhas pigmentadas não foram mais resistentes do que as bactérias não pigmentadas frente a radiação solar (AGOGUÉ et al., 2005).

Entre alguns estudos envolvendo radiação UV, *Flavobacterium* sp. e *Brevibacterium* sp. do solo de mangue e seus pigmentos conferiram maior resistência ao UV-A e ao UV-B do que ao UV-C, e o pigmento laranja (possível caroteno) da última bactéria teve maior atividade antioxidante do que o amarelo (possível xantofila) (PATKI et al., 2021). Também, foi reportado que esporos de *Bacillus atrophaeus* DSM 675 com pigmentação vermelho escuro foram mais resistentes à radiação UV-A do que esporos de dois isolados de *Bacillus* com pigmentação cinza escuro e claro, mas não houve diferença entre as resistências à luz UV-B e UV-C (MOELLER et al., 2005). Adicionalmente, bactérias pigmentadas dos gêneros *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Kocuria*., *Gordonia*, e *Salinibacterium* isoladas da Antártica foram resistentes a radiação UV-C, provavelmente com produção de carotenoides segundo reportes prévios de bactérias do mesmo gênero (COPPOLA et al., 2023).

Em alguns estudos de irradiação UV com identificação de carotenoides, uma mistura de carotenoides de *Pedobacter terrae* com identificação provável de violaxantina, fucoxantina, pirroxantina e nostoxantina mostrou capacidade antioxidante maior do que o β -caroteno, e a mistura desses pigmentos conferiu resistência à radiação UV-B e diminuiu a peroxidação lipídica (CORREA-LLANTÉN et al., 2012). Relatou-se também que o ceto carotenoide astaxantina do *Deinococcus* sp., que foi altamente resistente a UV-B, tem potencial de proteção de proteínas e DNA contra danos oxidativos (SAJJAD et al., 2017). Em outro estudo, *A. psychrochitiniphilus* produtor de decaprenoxantina e derivados, e *Arthrobacter agilis*, que produz bacterioruberina e derivados, foram resistentes a UV-B, entretanto, somente *Arthrobacter agilis* foi ligeiramente resistente a UV-C (SILVA et al., 2019a). A bactéria *Cellulophaga fucicola* com produção de carotenoides zeaxantina e isômeros, β -criptoxantina e β -caroteno, resistiu a UV-B e não a UV-C (SILVA et al., 2019c). Por último, *Arthrobacter* sp. NamB2 produtora de bacterioruberina teve

sobrevivência maior do que a estirpe não pigmentada sob irradiação UV-A e UV-B (VASEY, 2022).

No caso só da radiação UV-C, ligeira diferença foi observada entre a resistência de *Deinococcus radiodurans* produtora de deinoxantina e a sua cepa mutante incolora (TIAN et al., 2007). *Rhodobacter sphaeroides* crtD mutante para a produção de carotenoides foi mais resistente à luz UV-C do que o isolado original pigmentado (GASCÓN et al., 1995). Em outro experimento se comparou a cepa selvagem e a cepa que é incapaz de biossintetizar deinoxantina, sendo a última mais sensível a radiação UV-C (ZHOU et al., 2015). *Micrococcus lylae*, que produz astaxantina, foi resistente a UV-C (MIRZAIE et al., 2015), *Hymenobacter* sp. que produz pigmento vermelho (cantaxantina) foi mais resistente à UV-C do que *Chryseobacterium* sp. com produção de pigmento amarelo (luteína e/ou zeaxatina) (ÓRDENES-AENISHANSLINS et al., 2016). Ainda, pigmentos vermelhos e amarelos de *Micrococcus roseus* e *Micrococcus luteus*, respectivamente, demonstraram propriedade fotoprotetora contra UV-C (MOHANA et al., 2013). A bactéria *Lysobacter enzymogenes* com carotenoides semelhantes a xantomonadina foi mais resistente a UV-C do que a cepa mutante branca (WANG et al., 2013). No entanto, em outro estudo, não se observou correlação entre a produção de carotenoides em esporos de *Bacillus* e a resistência à UV-C: foram observados casos de esporos pigmentados resistentes e não resistentes, sendo o mesmo padrão para esporos não pigmentados (KHANEJA et al., 2010). Adicionalmente, *Arthrobacter* sp. NamB2 produtora de bacterioruberina teve perda de proteção contra a luz UV-C (VASEY et al., 2022).

2.5.3. Carotenoides C50

A maioria dos carotenoides descobertos na natureza tem 40 átomos de carbono (C40), mas uma pequena quantidade tem 30 (C30) e 50 (C50) átomos. Os carotenoides C50 têm múltiplas ligações duplas conjugadas e contêm pelo menos um grupo hidroxila; tendo fortes propriedades antioxidantes, e são produzidos por microrganismos como bactérias (GIUFFRIDA et al., 2016; FLEGLER; LIPSKI, 2022) e arqueias (GIANI et al., 2019; MA et al., 2023a). Três vias biossintéticas de carotenoides C50 foram descritas: a via β -cíclica do C.p. 450 em *Dietzia* sp, a via γ -cíclica da sarcinaxantina em *Micrococcus luteus* e via ϵ -cíclica da decaprenoxantina na *Corynebacterium glutamicum* (KRUBASIK et al., 2001a; TAO et al., 2007; NETZER et al., 2010; HEIDER et al., 2012). Adicionalmente, a síntese de bacterioruberina foi descrita da arqueia halofílica *Haloarcula*

japônica (YANG et al., 2015). No caso do *Corynebacterium glutamicum*, o precursor carotenoide GGPP (Geranylgeranyl pirofosfato) é convertido para a decaprenoxantina devido a genes organizados em um único operon (crtE, cg0722, crtB, crtI, crtYe, crtYf, crtEb) (HEIDER et al., 2012; HENKE et al., 2020).

A biossíntese dos carotenoides C50 ocorre a partir do licopeno (C40 acíclico) (HEIDER et al., 2014a, 2014b; HWANG et al., 2022) com a ação de licopeno elongase codificada pelo gene CrtEb e CrtE2 para a síntese de decaprenoxantina e sarcixantina, respectivamente, formando a flavuxantina (C50 acíclico). Depois, a flavuxantina é alvo de ciclases para continuar a síntese dos carotenoides C50. A diferenças entre os carotenoides C50 se devem aos anéis de ionona cuja formação é catalisado por ciclases heterodiméricas codificada pelos genes CrtYx/CrtYx. Então, há formação de um anel de ϵ -ionona encontrada na decaprenoxantina (genes crtYe/crtYf) e um anel de γ -ionona em sarcinaxantina (genes crtYg/crtYh). No caso da síntese do carotenoide C.p. 450, genes lbtA e lbtBC codificam para enlongases e ciclases que atuam na formação do carotenoide e do anel de β -ionona presente. Alguns carotenoides C50 são glicosilados, sendo que a formação da ligação glicosídica com grupos hidroxila é catalisada pela glucosiltransferase codificada do gene crtX (KRUBASIK et al., 2001a, 2001b; TAO et al., 2007; NETZER et al., 2010; HEIDER et al., 2014a, 2014b; HENKE et al., 2017b). No caso da síntese da bacterioruberina, lyeJ codifica a licopeno elongase e hidratase, CrtD codifica a uma desaturase, e CruF codifica a uma hidratase (YANG et al., 2015, HENKE et al., 2017b) (Figura 9).

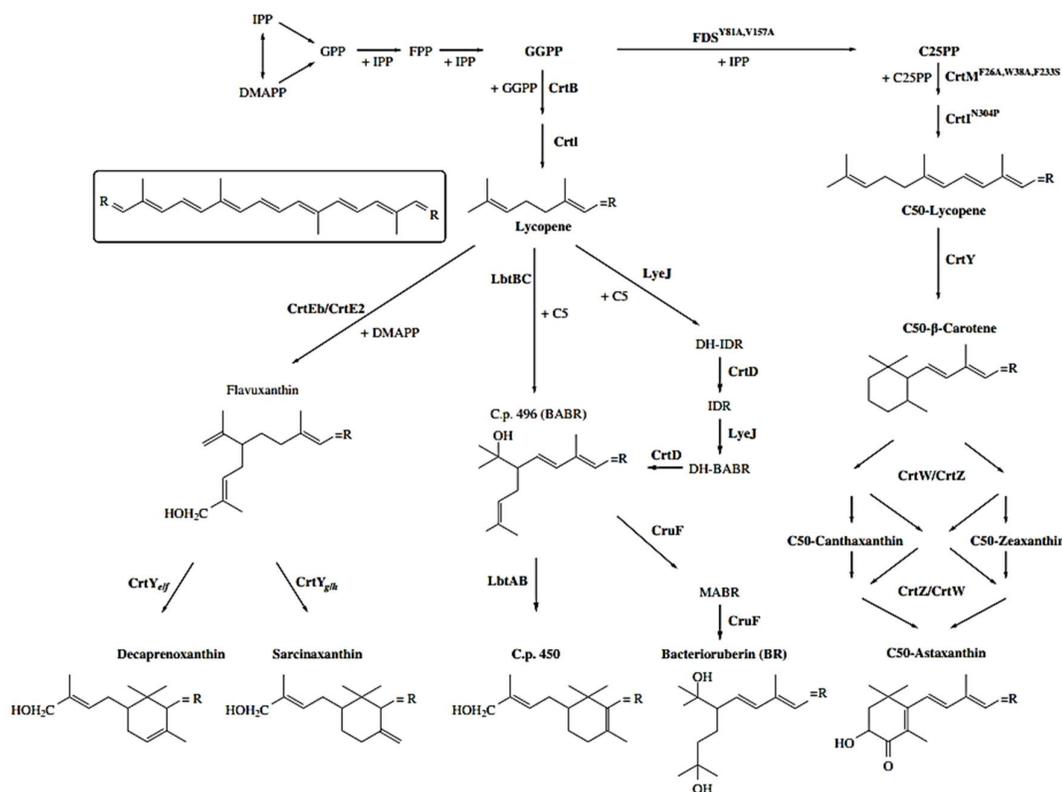


Figura 10: Biossíntese de carotenoides C50. Fonte: adaptação de HENKE et al., 2017b.

Foram reportados que carotenoides C50 como sarcinaxantina e decaprenoxantina são sintetizados por *Halococcus*, *Halobacteria*, *Actinomycetales*, *Flavobacterium dehydrogenans*, *Arthrobacter*, *Micrococcus luteus*, *Dietzia* sp., *Corynebacterium poinsettiae*, *Corynebacterium glutamicum*, *Pseudomonas* e *Agromyces mediolanus* (TAO et al., 2007; HEIDER et al., 2014a; DUFOSSÉ, 2016; LINDEN et al., 2023). A bacterioruberina e derivados foram reportados de *Haloarcula japonica*, *Halorubrum* sp. (NAZIRI et al., 2014; ZHOU et al., 2014; MA et al., 2023b), *Arthrobacter* (FONG et al., 2001; FLEGLER; LIPSKI, 2022), *Rubrobacter radiotolerans* (SAITO et al., 1994; RADDADI et al., 2015; MESBAH, 2022), *Haloferax volcanii* (RONNEKLEIV, 1995; GIANI et al., 2022), *Halobacterium salinarium* (OSAWA et al., 2010; RADDADI et al., 2015; MESBAH, 2022), *Salinicoccus roseus* (KESBIÇ; GÜLTEPE, 2023), *Micrococcus roseus*, *Azospirillum brasiliense*, *Arthrobacter agilis*, *Kocuria rosea*, *Thermus filiformis* (MANDELLI et al., 2012; CALEGARI-SANTOS et al., 2016; FLEGLER; LIPSKI, 2022). A produção do carotenoide C.p. 450 foi descrita em *Cryobacterium* sp., *Salinibacterium* sp., e *Planococcus* sp., *Corynebacterium glutamicum* (VILA et al., 2019; SCHMITT et al., 2023); e o carotenoide arthroaxantina, do gênero *Arthrobacter* (YU et al., 2022).

Carotenoides C50 apresentam boas propriedades antioxidantes. Por exemplo, a bacterioruberina e sarcinaxantina tiveram propriedade antioxidante, em alguns casos até maior do que o β -caroteno. Adicionalmente, decaprenoxantina e arthroxantina apresentaram atividade antioxidante (MENDES-SILVA et al., 2021; MA et al., 2023b). Além disso, as aplicações comerciais desses carotenoides estão sendo descobertas, como por exemplo, sarcixantina e derivados produzidos por *Micrococcus luteus* foram testados e estão disponíveis em patente como componentes de formulações fotoprotetoras (GOKSØYR, 2010, 2013), decaprenoxantina e bacterioruberina e derivados, e arthroxantina têm potencial de ser aplicados como componentes naturais de formulações fotoprotetoras (SILVA et al., 2019a; MA et al., 2023b; YU et al., 2022). Ademais, relata-se que carotenoides C50 são adequados para ser utilizados em cosméticos pela solubilidade e estabilidade em emulsificações oleosas (HENKE et al., 2017b). Entretanto, o potencial dos carotenoides C50 pode ser mais aproveitado combinando o conhecimento bioquímico sobre sua biossíntese com o sequenciamento do genoma (HAN et al., 2016; HENKE et al., 2020). No entanto, a produção microbiana fermentativa dos carotenoides C50 ainda está sendo explorada e há alguns relatos de superprodução em cepas modificadas como *E. coli* e *C. glutamicum* graças à engenharia metabólica pelo uso de ferramentas genéticas bem desenvolvidas (HENKE et al., 2017a; HENKE et al., 2018; AGARWAL et al., 2023; MA et al., 2023a).

2.6. Aplicação biotecnológica de pigmentos produzidos por bactérias psicrófilas

Os microrganismos que vivem no continente Antártico precisam ser capazes de suportar as extremas características ambientais, como alta incidência de radiação ultravioleta, flutuações de temperatura e ciclos frequentes de congelamento-descongelamento (UCHINO et al., 1999; MARGESIN et al., 2008; MARGESIN; MITEVA, 2011; SILVA et al., 2021). Assim, bactérias de regiões frias tem como estratégia a produção de pigmentos que cumprem funções de fotoprotetores, crioprotetores e antioxidantes (DIESER et al., 2010; SAJJAD et al., 2020). Resultando que o continente Antártico é propício para o desenvolvimento de bactérias com capacidade de produzir pigmentos carotenoides (VILA et al., 2019; WASCHULIN et al., 2022), violaceínas (MOJIB et al., 2013; SEDLÁČEK et al., 2022), melaninas (KIMURA et al., 2015; SILVA et al., 2019b). Além dos pigmentos mencionados, as bactérias psicrófilas também podem produzir prodigiosinas, indigoínas e scitoneminas; sendo que aqueles pigmentos têm

potencial de aplicação biotecnológica e são de interesse na indústria farmacêutica, alimentícia e têxtil, devido a demanda por pigmentos naturais que sejam a melhor alternativa em comparação aos pigmentos sintéticos que possuem efeitos nocivos ao ambiente e à saúde (SAJJAD et al., 2020).

No geral, os pigmentos microbianos são ideais pela sua solubilidade, estabilidade, facilidade no cultivo de microrganismos cultivo (NARSING et al., 2017; SAJJAD et al., 2020), são ecologicamente corretos (CHADNI et al., 2017; SAJJAD et al., 2020) e podem ser obtidos em curto prazo sob condições controladas não dependendo do clima, estação ou composição do solo (VALDUGA et al., 2009). Adicionalmente, os processos de extração são mais fáceis do que os empregados para as plantas e o produto final é biodegradável (RAM et al., 2020). Além disso, o interesse da ciência pela produção de carotenoides bacterianos aumentou devido à sustentabilidade econômica e custo-efetividade, e porque os carotenoides derivados de plantas têm um custo mais caro em comparação com os carotenoides sintéticos (RAM et al., 2020). Mas também, o uso das bactérias é vantajoso em comparação a fungos pela facilidade para modificação genética e o ciclo de vida mais curto (VENIL et al., 2013; SUTTHIWONG et al., 2014a; VENIL et al., 2014; CELEDÓN; DÍAZ, 2021; KIKI, 2023).

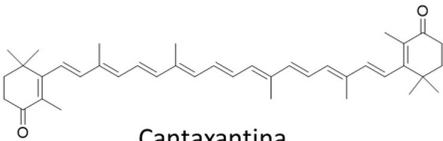
2.6.1. Aplicação biotecnológica de carotenoides

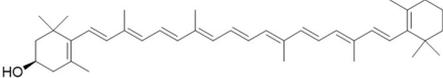
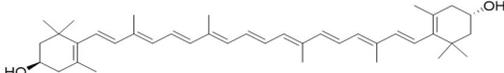
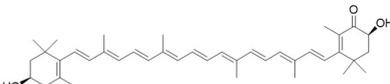
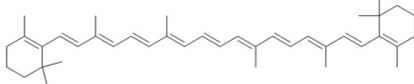
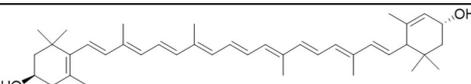
Os carotenoides são um dos grupos de pigmentos mais estudados na resistência de bactérias à radiação UV e a baixas temperaturas (DIESER et al., 2010; SINGH et al., 2017; SAJJAD et al., 2020; COPPOLA et al., 2023); podendo ser produzidos em maior quantidade em temperaturas baixas (CHATTOPADHYAY et al., 1997; DIESER et al., 2010; CORREA-LLANTÉN et al., 2012; SINGH et al., 2017; FLEGLER; LIPSKI, 2022) e sob exposição à luz UV (TRIPATHI et al., 2001; FATIMA et al., 2017; KANG et al., 2020). Algumas das potenciais aplicações dos carotenoides de bactérias estão na indústria alimentícia como provitaminas, agentes de coloração e protetores de alimentos da luz intensa (NELIS; DE LEENHEER, 1991; CHATTOPADHYAY et al., 2008; NABI et al., 2023). Na indústria farmacêutica, podem ser aplicados para coloração em cosméticos e como compostos antioxidantes (TULI et al., 2015; ASHOKKUMAR et al., 2023), promotores da atividade anticancerígena em linhas celulares (AFRA et al., 2017; REZAEYAN et al., 2017; SHAHBAZI et al., 2023) e uso em protetores solares (PATKI et al., 2021). Também, como alternativa de energia, os carotenoides bacterianos podem ser

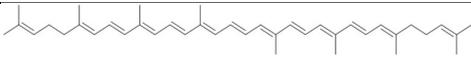
fonte de elétrons para o desenvolvimento de células solares sensibilizadas por corante (DSSC) (ÓRDENES-AENISHANSLINS et al., 2016; MONTAGNI et al., 2018). Adicionalmente, devido à atividade antioxidante dos carotenoides, eles podem ser incorporados na dieta por ser associados ao aprimoramento do sistema imunológico, à redução do risco de acidentes vasculares cerebrais, doenças degenerativas como câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular, cataratas, osteoporose; além e agir contra o retardo do desenvolvimento dentário ou ósseo, e pele escamosa áspera (JACQUES; CHYLACK, 1991; SCHALCH; WEBER, 1994; SEDDON et al., 1994; PREOBRAZHENSKIĬ et al., 1997; FAURE et al., 1999; AGARWAL; RAO, 2000; VALDUGA et al., 2009; JASWIR et al., 2011; ROJAS-GARBANZO et al., 2017; EGGERSDORFER; WYSS, 2018; CRUPI et al., 2023).

Dentre os carotenoides de alto valor e importantes na indústria estão criptoxantina, luteína, violaxantina, neoxantina, zeaxantina, riboflavina, β -caroteno, licopeno, astaxantina e cantaxantina (ZEB; MEHMOOD, 2004; CHATTOPADHYAY et al., 2008; RYMBAI et al., 2011; NIGAM; LUKE, 2016; BBC RESEARCH, 2022). Assim, devido a variedade de aplicações, o mercado de carotenoides foi estimado em U\$ 2,0 bilhões em 2022, e em 2027 se espera que alcance U\$ 2,7 bilhões (BBC RESEARCH, 2022). No entanto, mesmo que vários carotenoides bacterianos tenham sido estudados (Tabela 4), poucos são produzidos em escala industrial. Entretanto, essa realidade pode mudar devido ao aumento do interesse na produção sustentável de carotenoides por microrganismos (LEE; SCHMIDT-DANNERT, 2002; DAS et al., 2007; HARADA; MISAWA, 2009; CUTZU et al., 2013; RAM et al., 2020; ASTUDILLO et al., 2023).

Tabela 4: Relação de bactérias que foram reportadas e produziram carotenoides de alto valor. Fonte: adaptação de BHOSALE; BERNSTEIN, 2004; SILVA et al., 2004; DUFOSSÉ, 2006; ASKER et al., 2012; SASIDHARAN et al., 2013; MIRZAIE et al., 2015; GALASSO et al., 2017; PRADEL et al., 2021; AGARWAL et al., 2023; JOSHI et al., 2023.

BACTÉRIAS	CAROTENOIDES PRINCIPAIS E SUAS ESTRUTURAS MOLECULARES
<p><i>Micrococcus roseus</i></p> <p><i>Gordonia jacobaea</i></p> <p><i>Bradyrhizobium</i> sp.</p> <p><i>Lactobacillus pluvialis</i></p> <p><i>Halobacterium</i> sp.</p> <p><i>Dietzia natronolimnaea</i></p> <p><i>Paracoccus carotinifaciens</i></p>	 <p>Cantaxantina</p>

<p><i>Brevibacterium linens</i></p>	 <p>β-Criptoxantina</p>
<p><i>Flavobacterium</i> sp. <i>Mesoflavibacter zeaxanthinifaciens</i> <i>Zeaxanthinibacter enoshimensis</i> <i>Rubritalea squalenifaciens</i> <i>Hanstruepera neustonica</i> <i>Sphingobacterium multivorum</i> <i>Synechocystis</i> sp. <i>Erwinia herbicola</i> <i>Paracoccus zeaxanthinifaciens</i> <i>Sphingobacterium multivorum</i> <i>staphylococcus aureus</i>, <i>Vibrio</i> <i>psychroerythrus</i>, <i>Paracoccus</i> <i>xanthinifaciens</i> <i>hanstruepera neustonica</i> <i>Zeaxanthinibacter enoshimensis</i></p>	 <p>Zeaxantina</p>
<p><i>Brevundimonas</i> sp. <i>Paracoccus bogoriensis</i> <i>Paracoccus</i> sp. <i>Paracoccus bogoriensi</i> <i>Paracoccus carotinifaciens</i> <i>Exiguobacterium</i> sp. <i>Agrobacterium aurantiacum h</i> <i>Agrobacterium aurantiacum</i> <i>Paracoccus carotinifaciens</i> <i>Halobacterium salinarium</i> <i>Micrococcus lylae</i> <i>Sphingomonas</i> sp.</p>	 <p>Astaxantina</p>
<p><i>Flavobacterium multivorum</i> <i>Sphingomonas</i> sp. <i>Rhodococcus ruber</i> <i>Rhodococcus maris</i></p>	 <p>β-caroteno</p>
<p><i>Flavobacterium</i> sp.</p>	 <p>Luteína</p>

<i>Rhodospirillum rubrum</i>	 Lycopeno
------------------------------	--

Microrganismos que vivem em ambientes extremos são potenciais fontes de moléculas de interesse biotecnológico, podendo acumular carotenoides para sobreviver. Por isso, as regiões extremas são consideradas para exploração e pesquisa de microrganismos com produção de carotenoides (FONG et al., 2001; JOSHI et al., 2023). Nesse sentido não apenas é importante investigar a biodiversidade bacteriana do continente Antártico, mas avaliar o potencial de aplicação desses microrganismos para diferentes vertentes da biotecnologia, uma vez que eles estão adaptados às condições ambientais extremas e possuem um arcabouço genético e metabólico com potencial biotecnológico único. Assim, a Ilha Rei George é sede de várias expedições de investigação (MARCZAK et al., 2016) e pode ser local propício ao desenvolvimento de bactérias com capacidade de produzir carotenoides com potencial aplicação biotecnológica (VILA et al., 2019).

2.7. Actinobactérias e seus pigmentos

O filo Actinomycetota constitui um dos mais diversos grupos microbianos. Os microrganismos desse grupo têm alto conteúdo de guanina e citosina no DNA, são Gram-positivos e manifestam morfologias como cocos, cocobacilos e formas filamentosas (ATLAS, 1997; VENTURA et al., 2007; MUAZI et al., 2023). As actinobactérias habitam diferentes ambientes terrestres e aquáticos, podendo também ser simbioses, patógenos ou comensais de animais ou plantas. Representantes das actinobactérias possuem um alto potencial metabólico para produzir compostos naturais, como antibióticos, compostos anticancerígenos, antioxidantes, imunossuppressores, anti-helmínticos, antivirais, herbicidas e antifúngicos. Assim, insumos produzidos por bactérias deste filo são importantes na biotecnologia, medicina e agricultura (VENTURA et al., 2007; BARKA et al., 2016; VAN BERGEIJK et al., 2020; MUAZI et al., 2023).

Nas actinobactérias, os pigmentos mais frequentemente encontrados são a melanina de cor preta, marrom ou azeitona; assim como carotenoides de cor amarela, vermelha, rosa, e actinorodinas de cor azul (NARSING et al., 2017; KIKI, 2023). No caso dos carotenoides, como abordado nos pontos anteriores, podem ajudar na resistência à luz UV. Entre alguns reportes de actinobactérias da Antártica que produzem carotenoides e tiveram resistência a radiação UV, *Arthrobacter agilis* da Ilha do Rei George (Antártica),

produtora de bacterioruberina (C50) e suas variações (cor vermelho), foi resistente ao UV-B (SILVA et al., 2019a). Também, *Microbacterium* sp. LEMMJ01 isolada do solo da Ilha do Rei George (Antártica), com pigmentos neurosporeno, α -caroteno, equinenona, cantaxantina e astaxantina (cor laranja), teve resistência apreciável contra altas doses de UV-B (REIS-MANSUR et al., 2019). Ademais, *Arthrobacter agilis* MB8-13 com carotenoides (cor rosa escura), isolada de um sistema aquático da Antártica, teve mais resistência à radiação solar simulada do que isolados não pigmentados (DIESER et al., 2010), *Dermaococcus profundus* U9, com possível carotenoide (cor laranja) da Ilha Galindez (Antártica), foi resistente à luz UV-C (VASILEVA-TONKOVA et al., 2014). Adicionalmente, em outros isolados da Antártica, provavelmente os carotenoides das bactérias pigmentadas dos gêneros *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Kocuria*., *Gordonia*, e *Salinibacterium* conferiram a estes organismos alta resistência à radiação UV (COPPOLA et al., 2023).

Em resumo, existem grupos de actinobactérias da Antártica que sintetizam carotenoides, podendo ter habilidade de sobrevivência à luz UV e potencial de aplicação biotecnológica. Além disso, as actinobactérias principais produtoras de pigmentos que são isoladas do continente frio pertencem aos gêneros *Arthrobacter*, *Citricoccus* e *Microbacterium* (SILVA et al., 2021).

2.8. Estratégia genômica de mineração de genes para produção de pigmentos

Os dados genômicos são fontes importantes de informação bruta de biossíntese de produtos naturais. Entre esses, os metabólitos secundários de bactérias têm importância na indústria, agricultura e biomedicina (IGLESIAS et al., 2020; XU et al., 2023). Assim, para a mineração de genes de interesse, a era do sequenciamento genético permitiu fazer a triagem de produtos naturais em genomas de isolados microbianos cultiváveis ou não cultiváveis (XU et al., 2023); identificando vários grupos de genes biossintéticos (BGCs) em determinadas posições no genoma bacteriano e assim detectando as vias biossintéticas dos produtos de interesse (MEDEMA et al., 2011; CHANG; BRADY, 2013; KANG; BRADY, 2014; PAUDEL et al., 2023). Portanto, várias abordagens foram desenvolvidas para prever os grupos de genes biossintéticos que codificam metabólitos novos (CHANG; BRADY, 2013; KANG; BRADY, 2014; NAWAZ et al., 2023). Também, para a mineração de genes de interesse, são importantes as curadorias de base de dados de grupos de genes biossintéticos e o desenvolvimento de algoritmos novos de aprendizagem

profunda (deep learning) e de aprendizado de máquina (machine learning) (XU et al., 2023).

As ferramentas bioinformáticas que usam o genoma como entrada são usadas para minerar genes de bactérias, e abrangem o ClustScan (STARCEVIC et al., 2008), NP.searcher (LI et al., 2009), NRPSpredictor2 (RÖTTIG et al., 2011), NapDos (ZIEMERT et al., 2012), ClusterFinder (CIMERMANCIC et al., 2014), antiSMASH 6.0 (BLIN et al., 2021), PRISM 4 (SKINNIDER et al., 2017), BAGEL 4 (VAN HEEL et al., 2018), RODEO2 (TIETZ et al., 2017), RIPPMiner (AGRAWAL et al., 2017), e RAST (OVERBEEK et al., 2014). Estas ferramentas empregam algoritmos como o BLAST (ferramenta de alinhamento local), que faz alinhamento local e está baseado na homologia, o Modelo oculto de Markov (pHMM) que se baseia na probabilidade, e/ou no aprendizado de máquina; sendo o antiSMASH (Programa de Análise de Antibióticos e Metabólitos Secundários) que identifica de maneira exata os grupos de genes biossintéticos de metabólitos de várias classes químicas conhecidas (KLOOSTERMAN et al., 2020; BLIN et al., 2021).

No caso das bases de dados disponíveis para bactérias, o maior banco de dados é o IMG-ABC (Atlas Integrado de Genomas Microbianos de Grupos de Genes Biossintéticos) que combina grupos previstos com outros verificados experimentalmente (PALANIAPPAN et al., 2020), e o MIBiG (Informações Mínimas para Grupos de Genes Biossintéticos) que fornece robustez para anotações e metadados em grupos, e seus produtos (KAUTSAR et al., 2020; TERLOUW et al., 2023).

Segundo métodos previamente descritos, a sequência do genoma completo de bactéria pode também ser utilizada para realizar atribuições funcionais; utilizando softwares para anotação funcional e predizer genes e proteínas (WANG et al., 2016; KIM et al., 2017; GALLARDO-BENAVENTE et al., 2021). Também, é possível realizar análise de genômica comparativa entre as espécies alvo, a fim de comparar filogeneticamente, bem como o perfil metabólico de estirpes do mesmo gênero. Adicionalmente, houve reportes sobre a procura de grupos de genes biossintéticos de metabólitos secundários como os pigmentos utilizando o programa antiSMASH (LIAO et al., 2019; PAUDEL et al., 2023). Assim, com a análise genômica é possível procurar grupos de genes que estão envolvidos na síntese de pigmentos; demonstrando a capacidade dos isolados de produzir esses metabólitos mesmo se alguns não foram expressos nas condições de cultivo, e confirmando a identificação de pigmentos já produzidos (BALTZ, 2017; VARASTEY et al., 2021). Também, o conhecimento do genoma completo pode ajudar na identificação de vias

biossintéticas que podem ser modificadas para ter superexpressão de algum pigmento específico (TANIGUCHI et al., 2017; HENKE et al., 2017b; RAM et al., 2020; QU et al., 2021).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial de actinobactérias isoladas da Ilha do Rei George na produção de altas concentrações de pigmentos carotenoides, e investigar sua ação fotoprotetora na resistência à radiação UV-B e UV-C.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selecionar actinobactérias isoladas de solos da Península Antártica capazes de produzir pigmentos;
- Avaliar a produção de carotenoides das estirpes selecionadas, quantificando e caracterizando parcialmente os carotenoides;
- Determinar as curvas de crescimento dos isolados e as de produção de carotenoides das estirpes;
- Determinar a resistência qualitativa e quantitativa dos isolados expostos a diferentes doses de UV-B e UV-C, nas fases de crescimento logarítmico e estacionário; e
- Analisar o genoma completo dos isolados produtores de pigmentos para identificação taxonômica, e minerar genes envolvidos na produção de pigmentos carotenoides.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Isolados bacterianos

As bactérias selecionadas para o presente estudo fazem parte da Coleção Antártica do Laboratório de Ecologia Microbiana Molecular (LEMM), da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Todas haviam sido previamente identificadas, com base no gene

RNAr 16S, como pertencentes ao filo Actinomycetota. Todas as estirpes foram isoladas a partir de solos de diferentes ambientes da Baía do Almirantado, na Ilha do Rei George, localizada na Península Antártica, com o apoio do Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR). Os isolados foram obtidos de amostras de 0-10 cm de profundidade de solo ornitogênico, de solo amarelo (visivelmente amarelo, similar a solo com características sulfato-ácidas), da rizosfera de musgo, e da rizosfera das plantas nativas da Antártica (*Colobanthus quitensis* e *Deschampsia antarctica*). Detalhes de isolamento e cultivo podem ser conferidos no estudo desenvolvido por DA SILVA et al., (2017).

4.2. Reativação das bactérias

Para o estudo, 21 isolados actinobacterianos (Tabela 5) foram reativados da Coleção Antártica do LEMM-UFRJ. Primeiramente, alíquotas de 50 µL foram transferidas para 5 ml de meio líquido lisogênico (BERTANI, 1951), meio líquido Marinho Zobell (ZOBELL, 1941) e meio líquido R2A (REASONER; GELDREICH, 1985). Os isolados foram cultivados em meio líquido a 120 rpm na temperatura de 25 °C e 4 °C (Incubadora de Bancada Refrigerada, CT-712R, CIENTEC) até obter crescimento. Após o crescimento, com o auxílio de uma alça estéril e pela técnica de esgotamento, os isolados foram transferidos para os respectivos meios sólidos e foram incubados a 25 °C e a 4 °C até observar o crescimento de colônias puras. Finalmente, os isolados puros foram armazenados em criotubos a -20 °C para fins de estoque, e também para serem utilizados nos processos seguintes.

Tabela 5: Códigos dos isolados de bactérias da Coleção de Bactérias Antárticas do LEMM utilizadas neste estudo.

CÓDIGOS DOS ISOLADOS	LOCAL DE ISOLAMENTO
5, 35, 59, 65, 68, 70	Solo ornitogênico
78, 80, 107, 173	Rizosfera de musgo
85, 90	Solo amarelo
111, 166, 215, 314, 319, 320	Rizosfera de <i>Colobanthus quitensis</i>
122, 123, 300	Rizosfera de <i>Deschampsia antarctica</i>

4.3. Avaliação de produção de carotenoides e quantificação

Para fazer a bioprospecção dos isolados em relação de produção de carotenoides, foi realizada a dosagem dos carotenoides totais. Primeiramente, os isolados foram cultivados em Erlenmeyer com 50 ml de meio líquido a 120 rpm por 7 dias, na temperatura e meio ótimos selecionados do item 4.2 (Incubadora refrigerada com agitação, TECNAL, TE-421). Os cultivos foram centrifugados em tubos Falcon a 5000 rpm, por 20 min a 4 °C (Thermo Scientific, SORVALL, ST 16R). Após isso, se utilizou DMSO para extrair carotenoides (LIBKIND et al., 2004). Então, adicionou-se o solvente de acordo com a quantidade da biomassa (5 µL de DMSO por mg de biomassa úmida) e as amostras foram incubadas em Banho-Maria a 50 °C por 5 min. A mistura foi homogeneizada em vórtex antes e depois do aquecimento em Banho-Maria. A seguir, as amostras foram centrifugadas a 6000 rpm por 15 min, à temperatura ambiente (CIENTEC, CT 5000R) e o sobrenadante foi reservado em outro tubo falcon. O procedimento foi repetido três vezes para esgotamento de carotenoides na biomassa e obtenção do extrato final. As amostras foram protegidas de ser expostas diretamente à luz. Os procedimentos para extrair os carotenoides foram adaptados e modificados de métodos descritos previamente por LIBKIND et al., (2004) e KHODAIYAN et al., (2008).

Para a quantificação de carotenoides totais nos extratos, a leitura de absorvância foi realizada no comprimento de onda de 450 nm (GUYOMARC'H et al., 2000) e utilizou-se um método espectrofotométrico em microplacas de 96 poços com fundo chato (KASVI K12-096), empregando o equipamento SpectraMax® i3x (MOLECULAR DEVICES). Transferiram-se 200 µL de cada amostra para os poços, em triplicata. A quantificação baseou-se em uma curva analítica de β-caroteno (100 - 1000 µg/ml). Finalmente, foram selecionados os isolados com maior produção de carotenoides totais.

4.4. Análise dos carotenoides por HPLC-DAD

A análise foi feita a partir dos extratos brutos dos isolados produtores de alta concentração de carotenoides totais. Para caracterizar carotenoides presentes obtidos do item 4.3, foram realizadas análises por HPLC-DAD (cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjos de diodos) em cromatógrafo Agilent 1260 Infinity II. Dos extratos obtidos, aos poucos evaporou-se o DMSO com adição de água a 50 °C e liofilizou-se duas vezes no liofilizador SL-404, logo as amostras foram ressuspensas em

uma mistura de 400 μL de água MiliQ, 550 μL de acetonitrila e 150 μL de isopropanol, e depois foram filtradas em filtros de poliamida (NY 13mm, 0,22 μm) (Unifil) para posterior uso nas análises cromatográficas.

Para a corrida cromatográfica, foi utilizada uma coluna RP-18 (25 cm, 4,6 mm e partícula de 5 μM , KROMASIL) mantida a 30 °C, fluxo de 1ml/min, e foram injetadas 50 μL das amostras. Utilizou-se um gradiente de água MiliQ com 0.1% ácido fórmico (solvente A) e acetonitrila: isopropanol (7:3) com 0,1% de ácido fórmico (solvente B), nas seguintes proporções: 0-5 min (5-50%B), 5-20 min (50-100%B), 20-45 min(100%B), 50-55 min (100-5%B). A detecção foi feita em $\lambda = 450$ nm e a identificação das substâncias presentes nos extratos foi feita de acordo aos espectros de absorção no UV/VIS (200-640 nm).

4.5. Análises por HPLC-DAD-MS/MS

As análises foram feitas com os mesmos extratos obtidos a partir dos isolados produtores de alta concentração de carotenoides e utilizados no item 4,4, sendo dos isolados produtores de alta concentração de carotenoides totais. Para as análises por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjos de diodos acoplados à espectrometria de massas sequencial (HPLC-DAD-MS/MS), as amostras foram solubilizadas em 1 mL de acetona e, então, diluídas para a concentração de 10 mg/mL.

Utilizou-se um sistema de cromatografia líquida Nexera X2 (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massas Maxis Impact (Bruker), com fonte de íons APCI (Ionização química a pressão atmosférica) e analisador Q-TOF. As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna Hypersil C18 (150x1 mm, 3 μm - Thermo) mantida à temperatura de 25 °C. A fase móvel foi composta por água miliQ (solvente A) e acetona (solvente B), a um fluxo de 0,2 mL por min, utilizando o seguinte gradiente: 0-8 min (75-95% B), 8-14 min (95% B), 14-16 min (95-100% B), 16-24 min (100% B), 24-24,1 min (75% B), 24,1-25 min (75% B). O volume de injeção utilizado foi 10 μL e as análises foram monitoradas entre 330 e 700 nm. Os espectros de massas foram obtidos com nitrogênio como gás de colisão e como gás auxiliar na fonte. Para APCI no modo de íon positivo, os seguintes parâmetros foram utilizados: temperatura capilar: 200 °C, fluxo de gás auxiliar: 4 L/min, temperatura de vaporização 400 °C, corrente corona 8000 V. A faixa de massas analisada foi de m/z 50 a 1200. Para a calibração interna utilizou-se formiato de

sódio 100 uM em água/acetonitrila (1:1). Finalmente, foi realizada aquisição dependente de dados (DDA/AutoMS) com isolamento/fragmentação de 3 precursores por ciclo.

4.6. Identificação taxonômica pelo gene 16S rRNA

As bactérias foram selecionadas de acordo com a maior produção de carotenoides totais e submetidas a nova identificação taxonômica. Os isolados foram cultivados no meio LB a 120 rpm na temperatura de 25 °C por 3 a 7 dias, e posteriormente seu DNA foi extraído com o “Wizard® *Genomic DNA Purification Kit* (Promega, #A1125)” seguindo as recomendações do fabricante. Após a extração do DNA genômico, foi feita uma eletroforese em gel de agarose 1,5 % com corante Neotaq (NEOBIO) durante 1h em tampão TBE 1X (Tris 89 mM; EDTA 2,5 mM; H₃BO₃ 89 mM) à 100V. A visualização do gel foi feita no transiluminador UV. Finalmente, o DNA foi quantificado com um fluorímetro através do kit “Qubit® dsDNA HS Assay Kit” (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific). As amostras de DNA foram concentradas utilizando o Speed Vac Concentrator Plus (Eppendorf), e foram enviadas para a amplificação e o sequenciamento do gene do RNAr 16S pelo método de Sanger com uso dos iniciadores 27F (5’AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3’) (LANE, 1991) e 1492R (5’GGTTACCTTGTTACG ACTT 3’) (TURNER et al., 1999).

A amplificação e sequenciamento do gene RNAr 16S foi feito pelo colaborador na Universidade de Nova Gales do Sul (Austrália). A PCR foi realizada com uma mistura para cada isolado: 12,5 µL do 2X Master Mix (EconoTaq® Plus Green #30033-2), 9 µL de água Milli-Q estéril e 1,5 µL do DNA genômico. No termociclador, foi realizada uma etapa de 2 minutos a 94 °C (desnaturação inicial), 35 ciclos de 30 segundos a 94 °C (desnaturação), 30 segundos a 55 °C (anelamento) e 40 segundos a 72 °C (extensão). Após os 35 ciclos, a etapa final foi de 7 minutos a 72 °C (extensão final). Foi feita a verificação da amplificação através de eletroforese em gel de agarose (1,2%) com uso do padrão de massa molecular de 1 kb. Foi feita a purificação dos produtos de PCR a partir do gel utilizando o kit illustra GFX PCR DNA e Gel Band Purification Kit (GE Healthcare).

A trimagem dos dados recebidos do sequenciamento foi feita no programa RDP (*Ribosomal Database Project*) (<http://rdp.cme.msu.edu/>) (COLE et al., 2009), de acordo a parâmetros padrão, e os contigs foram montados no programa Bioedit (versão 7.2). A partir dos contigs, foram encontradas sequências similares utilizando o banco de dados do RDP e o BLASTn, para inferência da taxonomia dos isolados bacterianos. Os contigs e as

sequências próximas obtidas de cada base de dados foram alinhadas online no programa MAFFT (versão 7) (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>). Depois do alinhamento, foi utilizada a opção “find best DNA model” do MEGA11 (<https://www.megasoftware.net/>) (TAMURA et al., 2021) para obter o modelo evolutivo adequado para as reconstruções filogenéticas. As árvores foram feitas no MEGA 11 utilizando o método de máxima verossimilhança (*Maximum likelihood* – ML) (JUKES; CANTOR, 1969), adotando o algoritmo heurístico NNI (Nearest Neighbor Interchange) e o valor de bootstrap de 1000 réplicas. Também, para os grupos das sequências próximas do RDP e do NCBI foi utilizado o modelo de Tamura-Nei. Adicionalmente, uma sequência de RNAr 16S da actinobactéria *Acidimicrobium ferroxidans* da classe Acidimicrobiia foi selecionada como grupo externo.

4.7. Curvas de crescimento dos actinobactérias

A determinação da curva de crescimento das melhores bactérias produtoras de carotenoides totais foi feita em microplacas de 96 poços com fundo chato (KASVI K12-096) por meio da análise da densidade óptica (D.O), empregando o equipamento SpectraMax® i3x (MOLECULAR DEVICES) no comprimento de onda (λ) de 630 nm. Primeiramente, se prepararam e padronizaram os inóculos com solução salina (0,85%), obtendo suspensões bacterianas de placas com crescimento. As suspensões bacterianas foram quantificadas pela D.O no comprimento de onda de 630 nm, obtendo densidade óptica de 0,1 (MOSTACHIO, 2010; BONVICINI et al., 2019; HAQ et al., 2020). Logo, as suspensões bacterianas (1,5 ml) foram inoculadas a Erlenmeyers com 75 ml de meio líquido a 120 rpm, no meio e temperatura determinados do item 4.2 (Incubadora refrigerada com agitação, TECNAL, TE-421). Foram feitos 3 cultivos de cada isolado, os cultivos foram incubados por aproximadamente 7 dias, e em cada tempo foram coletadas alíquotas para quantificar a D.O. Além disso, utilizou-se o meio líquido sem cultivo como branco. Adicionaram-se 200 μ L de cada amostra em poços separados de microplacas de 96 poços com fundo chato (KASVI K12-096), em triplicata para fazer a leitura de D.O. Assim, todos os isolados foram cultivados em triplicata a partir de um inóculo inicial com $D.O_{630} \sim 0,1$. Foram realizadas 15 coletas em diferentes tempos: T0=0h, T1=4h, T2=16h, T3=28h, T4=40h, T5=52h, T6=64h, T7=76h, T8=88h, T9=100h, T10=112h, T11=124h, T12=136h, T13=148h, T14=160h e T15=172h.

4.8. Curvas de produção de carotenoides totais

Para determinar em que fase do crescimento ocorreu a produção dos carotenoides das melhores bactérias produtoras, os inóculos foram preparados com solução salina (0,85%) a partir de placas com crescimento. As suspensões foram quantificadas em microplacas de 96 poços com fundo chato (KASVI K12-096) pela densidade óptica (D.O) no comprimento de onda de 630 nm que correspondeu a 0,1 ($\sim 1,5 \times 10^8$ UFC/mL equivalente a escala 0.5 de McFarland); utilizando o equipamento SpectraMax® i3x (MOLECULAR DEVICES) (MOSTACHIO, 2010; BONVICINI et al., 2019; HAQ et al., 2020). As suspensões de bactérias foram inoculadas a Erlenmeyers com 75 ml de meio líquido a 120 rpm, no meio e temperatura determinados do item 4.2 (Incubadora refrigerada com agitação, TECNAL, TE-421). Os isolados foram cultivados em triplicata durante 7 dias e alíquotas foram coletadas em diferentes tempos: T0=0h, T1=4h, T2=16h, T3=28h, T4=40h, T5=52h, T6=64h, T7=76h, T8=88h, T9=100h, T10=112h, T11=124h, T12=136h, T13=148h, T14=160h e T15=172h.

A extração de carotenoides e quantificação dos extratos foi feita adaptando e modificando dos procedimentos do tópico 4.3. Logo, as alíquotas foram centrifugadas em eppendorf de 2 ml a 14000 xg a 4 °C por 5 min (Centrifuge 5430, Eppendorf) e foi adicionado 600 µL de DMSO a cada amostra. As amostras foram incubadas em Banho-Maria a 50°C por 5 min. A mistura foi homogeneizada em vórtex antes e depois do aquecimento em banho-maria. A seguir, as amostras foram centrifugadas a 14000 xg a 4 °C por 5 min e o sobrenadante foi reservado em criotubos. O procedimento foi repetido três vezes para esgotamento de carotenoides do *pellet* e obtenção do extrato final. Para quantificar os carotenoides totais nos extratos, empregou-se o método espectrofotométrico em microplaca com o uso do equipamento SpectraMax® i3x (MOLECULAR DEVICES). Adicionaram-se 200 µL de cada amostra em poços separados de microplacas de 96 poços com fundo chato (KASVI K12-096), em duplicata, e a leitura de absorbância foi realizada no comprimento de onda de 450 nm. Finalmente, para fazer a quantificação se tomou em conta a curva analítica de β-caroteno (100 - 1000 µg/ml).

4.9. Teste qualitativo de resistência a radiação UV-B e UV-C

Os ensaios para determinar de forma rápida e qualitativa a resistência das bactérias às diferentes doses de irradiação UV-B e UV-C foram realizados em meio sólido conforme descrito no item 4.2. Os isolados bacterianos foram cultivados separadamente

em meio líquido a 120 rpm, no meio e temperatura determinados do item 4.2, até chegar à fase logarítmica média e estacionária inicial; sendo os cultivos realizados separadamente. Após o crescimento, 10 ml de cada cultivo bacteriano foi lavado duas vezes em solução salina (0,85%) e centrifugado a 8000 rpm por 5 min para eliminar qualquer resíduo do meio de cultivo. Em seguida, o *pellet* foi ressuscitado em 10 ml de solução salina e agitado em vórtex. Depois, as suspensões foram ajustadas até chegar a entre D.O₆₃₀ ~0,4 e 0,6. Logo, 5 µL de cada suspensão foram adicionados a placas de Petri de poliestireno em várias colunas (uma gota no lugar projetado na grade), contendo o meio sólido LB e só na irradiação UV-B as placas foram cobertas com as suas respectivas tampas para bloquear os restos de raios UV-C. Mas na irradiação UV-C, as placas permaneceram sem tampas.

Seções das placas foram irradiadas em um fluxo de UV-B (14 J/m²/s) e de UV-C (1 J/m²/s), por separado, para dar exposições cumulativas de doses de UV a cada coluna da placa (doses de 0, 4, 8, 12, 16, 20 kJ/s de UV-B; e doses de 0, 60, 120, 180, 240, 300, 500, 1000, 1500 J/s de UV-C). As doses de UV foram calculadas multiplicando a intensidade medida pelo tempo de irradiação (segundos). Para a fonte de UV-B foi utilizada uma lâmpada ultravioleta com comprimento de onda com pico em 312 nm, 15W com filtro - modelo VL-215 LM (Vilber Loumart, França); e a fonte de UV-C foi uma lâmpada germicida com comprimento de onda com pico em 254 nm, G15T8 15W (Sankyo Denky). Na determinação das doses totais de UV-B e UV-C foi utilizado um dosímetro modelo VLX-3W (Vilber Lourmat, França) acoplado a uma fotocélula para 312 nm (série 21-216) e outra fotocélula para 254 nm (série 11-102202), respectivamente.

Finalmente, as placas foram incubadas no escuro para evitar fotorreativações por 2-5 dias, de acordo com o tempo de crescimento de cada bactéria e na temperatura determinada do tópico 4.2. Os crescimentos foram registrados com os sinais +++, ++, + e - de acordo com crescimento qualitativamente observado, considerando +++ se o crescimento fosse similar ao do observado na dose 0. O experimento foi realizado em triplicata e o teste qualitativo foi adaptado de acordo com métodos previamente descritos (KNUDSON, 1985, 1986; HUANG et al., 1993; ORDOÑEZ et al., 2009; VIANA et al., 2013; PAULINO-LIMA et al., 2016; MARIZCURRENA et al., 2017; PORTERO et al., 2019).

4.10. Sequenciamento do genoma completo e mineração genômica por carotenoides

O DNA genômico dos isolados que apresentaram ser mais resistentes a UV no teste qualitativo foi enviado para a Macrogen (Macrogen, Seoul, Korea) para o sequenciamento do genoma completo. O preparo de bibliotecas foi realizado com TruSeq DNA Nano 350bp kit e o sequenciamento foi realizado na plataforma Illumina NovaSeq em modo pareado de 150 pb de acordo com as instruções do fabricante. A qualidade dos fragmentos de sequenciamento foi verificada usando o software FastQC v.0.11.5 (ANDREWS, 2010) e Trimmomatic v.0.39 (BOLGER et al., 2014) foi empregado para remover adaptadores e bases de baixa qualidade. As reads sem adaptadores e com boa qualidade foram utilizadas para a montagem dos genomas utilizando o montador Unicycler v.0.5.0 (WICK et al., 2017). Posteriormente, a qualidade da montagem do genoma foi acessada usando o software Quast v.5.2.0 (MIKHEENKO et al., 2018), e o genoma foi anotado funcionalmente usando Prokka v.1.14.6 (SEEMANN, 2014) e AntiSMASH (BLIN et al., 2023).

BUSCO v.5.4.5 (SIMÃO et al., 2015) foi utilizado para acessar a completude de ortólogos de cópia única. Além disso, cálculos de identidade média de nucleotídeos (ANI) (JAIN et al., 2018), e hibridização digital DNA-DNA (MEIER-KOLTHOFF; GÖKER, 2019) foram realizados para determinar a taxonomia das cepas. A hibridização digital DNA-DNA foi realizada usando uma data base de estirpes tipo (*Type Strain Genome Server*).

4.11. Teste quantitativo da resistência a radiação UV-B e UV-C: curvas de sobrevivência na fase logarítmica e estacionaria

Os isolados que apresentaram resultados qualitativos mais significativos de tolerância frente à irradiação UV-B e UV-C foram selecionados para avaliar a curva de sobrevivência em diferentes fases de crescimento sob diferentes intensidades de irradiação. Os isolados bacterianos foram cultivados em 75 ml do meio líquido a 120 rpm, no meio e temperatura determinados do item 4.2, até chegar à fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo os cultivos realizados separadamente. Após o crescimento, 20 ml de cada cultivo bacteriano foi lavado duas vezes em solução salina (0,85%) e centrifugado a 8000 rpm por 5 min para eliminar qualquer resíduo do meio de cultivo. Em seguida, o *pellet* foi ressuspendido em 20 ml de solução salina e agitado em vórtex. Depois, foi ajustado até chegar a $D_{630} \sim 0,6$, usando solução salina (0,85%), e a suspensão foi adicionada a duas placas Petri de vidro estéreis (5 cm de diâmetro para UV-B e 9 cm para UV-C).

As suspensões bacterianas de cada isolado foram expostas às doses de 0, 4, 8 e 16 kJ/m² de irradiação UV-B e doses de 0, 50, 100, 200 e 300 J/m² de irradiação UV-C, sob uma lâmpada ultravioleta com comprimento de onda com pico em 312 nm, 15W com filtro - modelo VL-215 LM (Vilber Loumart), e uma lâmpada germicida com comprimento de onda com pico em 254 nm, G15T8 15W (Sankyo Denky). A dose total de UV-B e UV-C foram determinadas utilizando um dosímetro modelo VLX-3W (Vilber Lourmat, França) acoplado a uma fotocélula para 312 nm (série 21-216) e outra fotocélula para 254 nm (série 11-102202), respectivamente. A dose total por segundo foi determinada em um ponto específico e naquele ponto as placas com as suspensões bacterianas foram posicionadas. No caso da irradiação UV-B, as placas foram cobertas com tampas de placa de Petri de poliestireno para bloquear os restos de raios UV-C. No momento da irradiação UV-C, as placas sem tampa foram agitadas para evitar sobrevivência de células devido ao sombreamento no momento da exposição, tendo 10ml de suspensão na placa (9 cm de diâmetro) para garantir uma monocamada de bactérias.

A taxa de dose de UV-B no tratamento foi de 15 J/m²/s e a taxa de UV-C foi de 2 J/m²/s. As doses de UV foram calculadas multiplicando a intensidade medida pelo tempo de irradiação (segundos). Após a exposição das bactérias à luz UV, foi avaliado seu crescimento em meio sólido para determinar o isolado foi resistente à luz UV. O experimento foi realizado com três réplicas biológicas de cada isolado, com diferentes diluições e cada isolado teve um controle que não foi exposto à luz UV (N0). As amostras irradiadas foram imediatamente colocadas a 4 °C para evitar o reparo até o processamento adicional. Todas as amostras, incluindo o N0, foram diluídas de 10⁻¹ a 10⁻⁷, e 10 µL de cada diluição foram adicionados a placas de Petri contendo meio sólido determinado do item 4.2 (uma gota no lugar projetado na grade), em triplicata.

Finalmente, as placas foram incubadas no escuro para evitar fotorreativações por 2-5 dias, na temperatura determinada do tópico 4.2 e de acordo com o tempo de crescimento de cada bactéria. A partir do crescimento, foram estimadas as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de cada diluição (N) e dividiram-se entre o número de colônias da mistura não irradiada do isolado (N0); assim se determinou a fração de sobrevivência dos microrganismos após irradiação UV. Os resultados foram mostrados em gráficos com as diferentes frações de sobrevivência (N/N0), e os valores foram representados pela média e seu desvio padrão. Em geral, os procedimentos foram adaptados de métodos previamente descritos (HUANG et al., 1993; SANTOS et al., 2013; PAULINO-LIMA et al., 2016; MARIZCURRENA et al., 2017; PORTERO et al., 2019;

REIS-MANSUR et al., 2019; BALASUBRAMANIAM et al., 2020; MUKHIA et al., 2021). Para avaliar se os resultados tiveram significância estatística, utilizou-se o teste de Man-Whiney (onetail).

4.12. Teste quantitativo da resistência a radiação UV-B e UV-C em comparação com o organismo modelo *E.coli* K12A15: curvas de sobrevivência na fase estacionaria

Os isolados que apresentaram resultados mais significativos de curva de sobrevivência na irradiação UV-B e UV-C foram selecionados para comparar a sobrevivência em comparação com o organismo modelo. Os isolados bacterianos foram cultivados em 75 ml do meio líquido a 120 rpm, no meio e temperatura determinados do tópico 4.2, até chegar à fase estacionaria inicial. Após o crescimento, 20 ml de cada cultivo bacteriano foram lavados duas vezes em solução salina (0,85%) e centrifugados a 8000 rpm por 5 min para eliminar qualquer resíduo do meio de cultivo. Em seguida, o *pellet* foi ressuspendido em 20 ml de solução salina e agitado em vórtex. Depois, as suspensões bacterianas foram ajustadas até chegar a D.O₆₃₀ ~0,6, usando solução salina (0,85%). e foram adicionadas a duas placas de Petri de vidro estéreis (5 cm de diâmetro para UV-B e 9 cm para UV-C).

Os demais procedimentos foram feitos de acordo ao item 4.11, mas foi utilizado o organismo modelo *Escherichia coli* K12A15, com mecanismos descritos para reparo de DNA danificado por UV, nos experimentos. Os resultados foram mostrados em um gráfico com as diferentes frações de sobrevivência (N/N₀), e os valores foram representados pela média e seu desvio padrão. Em geral, os procedimentos foram adaptados de métodos previamente descritos (HUANG et al., 1993; JACOBS et al., 2005; SANTOS et al., 2013; PAULINO-LIMA et al., 2016; MARIZCURRENA et al., 2017; PORTERO et al., 2019; REIS-MANSUR et al., 2019; BALASUBRAMANIAM et al., 2020; MUKHIA et al., 2021). Para avaliar se os resultados tiveram significância estatística, utilizou-se o teste de Man-Whiney (onetail).

5. RESULTADOS

5.1. Reativação das bactérias

A partir da Coleção de Bactérias Antárticas do LEMM, foram reativados 21 isolados de actinobactérias previamente isoladas de solos antárticos. Dentro destes, 13

isolados cresceram e apresentaram ótimo crescimento e melhor pigmentação no meio sólido LB a 25 °C, apresentando diferentes tonalidades de amarelo e laranja e foram selecionadas para a sequência desse trabalho.

5.2. Avaliação de produção de carotenoides e quantificação

Para realizar a bioprospecção dos isolados em relação a produção de carotenoides totais por meio de dosagem no espectrofotômetro, os isolados foram cultivados no meio sólido LB a 25 °C. Após, realizou-se a extração dos carotenoides com DMSO (Figura 10). De acordo com os resultados, demonstrou-se que o DMSO foi eficiente para extrair os carotenoides da biomassa do *pellet* de cada isolado. Na Tabela 6, observa-se o valor aproximado calculado de carotenoides totais presentes em cada extrato bruto.

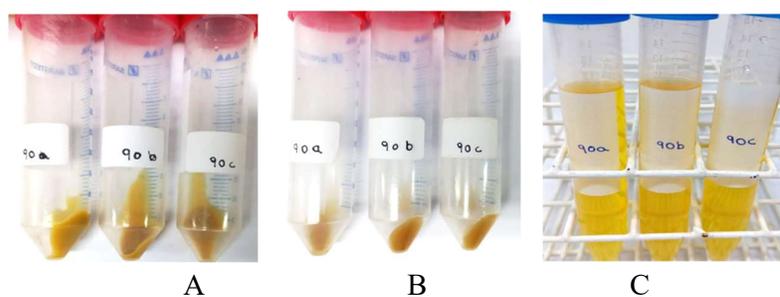


Figura 11: Fotografia de *pellets* antes (A) e depois (B) de serem extraídos com DMSO para obtenção de carotenoides em Falcon de 15 ml (C).

Tabela 6: Resultado da quantificação dos carotenoides totais dos isolados.

EXTRATO DO ISOLADO	CONCENTRAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS NA BIOMASSA ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	DESVIO PADRÃO
5	4,19	0,25
80	10,28	0,25
90	8,32	0,66
107	10,38	0,59
111	1,23	0,46
122	3,76	0,35
166	2,72	0,25
173	3,12	0,20
215	1,90	0,06
300	1,44	0,35
314	2,31	0,38
319	1,95	0,20
320	1,76	0,21

Os isolados que tiveram maior concentração de carotenoides totais na biomassa foram 5, 80, 90, 107 e 122 (Figura 11). Eles foram selecionados para ser utilizados nos procedimentos seguintes.

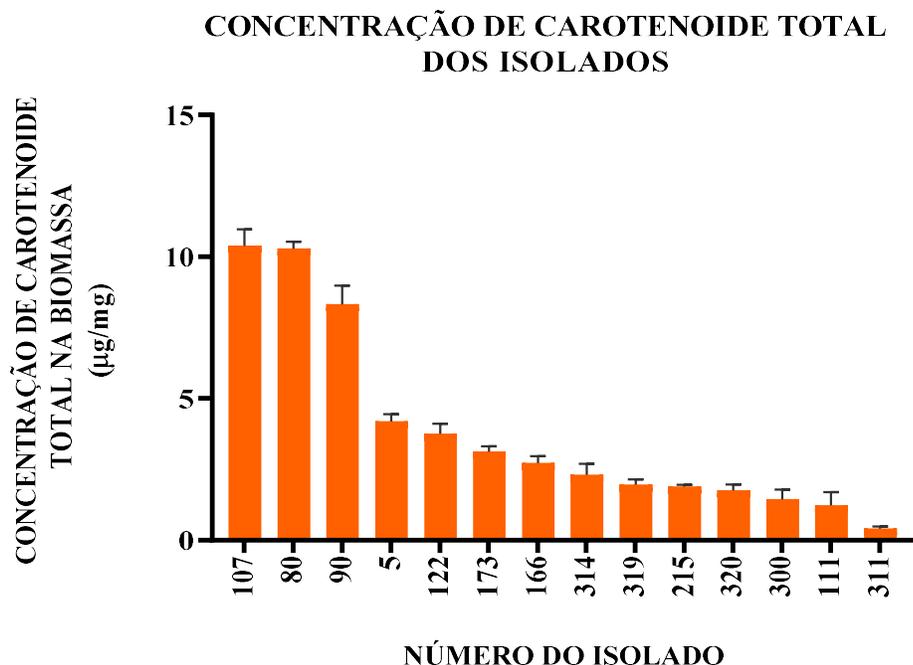


Figura 12: Concentração de carotenoides totais na biomassa dos isolados bacterianos.

5.3. Análise dos carotenoides por HPLC-DAD

A análise foi feita dos 5 melhores isolados produtores de alta concentração de carotenoides totais. A detecção de carotenoides nas amostras de extrato bruto foi feita em $\lambda = 450$ nm, comprimento de onda característico de absorção desses pigmentos. A identificação das substâncias presentes nos extratos foi feita de acordo aos espectros de absorção no UV/VIS (200-640 nm).

Na Tabela 7 são apresentados os dados cromatográficos das amostras. Os cromatogramas são mostrados na Figura 12. Nesses, foram observados onze picos em diferentes tempos de retenção para o isolado 5, oito picos para os isolados 80 e 90, e nove picos para o isolado 107. O isolado 5 teve nove picos com espectros no UV/VIS característicos de carotenoides; e os isolados 80, 90 e 107 apresentaram seis picos

característicos de carotenoides. A amostra 122 não foi analisada devido á degradação do extrato total de carotenoides que ocorreu nos procedimentos de preparação de amostras.

A sobreposição dos cromatogramas das amostras 5, 80, 90 e 107 (Figura 12) evidenciou similaridade de tempos de retenção. Tal semelhança, também observada quanto aos espectros no UV/VISÍVEL dos principais picos, evidenciou que tais amostras apresentaram composição semelhante quanto aos carotenoides.

Tabela 7: Dados cromatográficos das amostras analisadas por HPLC-DAD

Tr (min)	λ_{max} (nm)	Proposta estrutural
<i>Amostra 5</i>		
22,38	416	Não identificado
22,74	420	Não identificado
24,33	416,440,468	Carotenoide
24,75	418,442,470	Carotenoide
25,16	420,442,472	Carotenoide
26,11	416,440,470	Carotenoide
26,75	416,440,470	Carotenoide
27,44	416,442,472	Carotenoide
27,705	412,436,466	Carotenoide
28,123	412,436,466	Carotenoide
28,63	412,434,466	Carotenoide
<i>Amostra 80</i>		
22,38	416	Não identificado
22,71	422	Não identificado
26,12	416,440,470	Carotenoide
26,78	416,440,470	Carotenoide
27,50	418,442,470	Carotenoide
27,70	414,436,466	Carotenoide
28,14	412,426,464	Carotenoide
28,65	412,434,462	Carotenoide
<i>Amostra 90</i>		
22,45	411	Não identificado
22,79	411	Não identificado
26,32	416,440,479	Carotenoide
27,01	416,440,470	Carotenoide
27,76	418,442,470	Carotenoide
28,02	412,436,466	Carotenoide
28,48	412,436,464	Carotenoide
29,01	410,426,464	Carotenoide
<i>Amostra 107</i>		
22,42	416	Não identificado
22,75	416	Não identificado
26,24	416,440,470	Carotenoide
26,92	416,440,470	Carotenoide
27,65	416,442,468	Carotenoide
27,92	412,436,466	Carotenoide
28,34	412,436,464	Carotenoide
28,85	412,434,470	Carotenoide

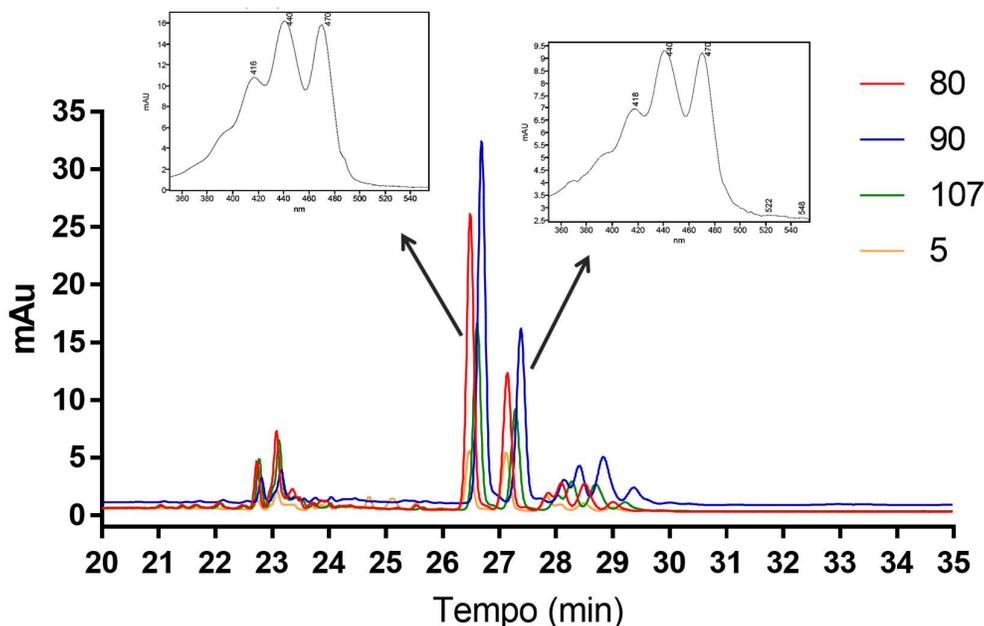


Figura 13: Sobreposição dos cromatogramas a 450 nm (HPLC-DAD) dos extratos dos isolados 5, 80, 90 e 107.

5.4. Análises por HPLC-DAD-MS/MS

Para a identificação parcial dos carotenoides dos 5 melhores isolados produtores de alta concentração de carotenoides totais, as amostras preparadas foram submetidas a análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjos de diodos acoplados a espectrometria de massas sequencial (HPLC-DAD-MS/MS).

Essas análises evidenciaram a presença de diversas substâncias nas amostras. Foram considerados para o presente estudo os íons presentes na região entre 8 e 11 minutos, onde se encontram os picos de absorção em 450 nm (Figura 13). Nesse intervalo, destacaram-se o íons de m/z 705,5649 $[M+H]^+$, abundantes nessa região e ausentes em outros tempos de retenção (Figura 14), cuja fórmula molecular mais provável é $C_{50}H_{73}O_2$ (massa calculada 705,5611; erro: 5,45 ppm). A fragmentação desse íon resulta em múltiplos picos, entre os quais 687 $[M+H-18]$ e 669 $[M+H-18-18]$, referentes a perda de moléculas de água; assim como 595 $[M+H-18-92]$, correspondente à eliminação de água e de uma unidade de tolueno. Esses dados evidenciam a provável presença de carotenoides isoméricos com 50 carbonos nas amostras sob estudo. As análises por HPLC-DAD evidenciaram que os carotenoides presentes nessas amostras apresentam espectros de UV-VIS semelhantes, com picos de absorção em torno de 415, 440 e 470 nm. Portanto, tais carotenoides apresentam, provavelmente, o mesmo cromóforo.

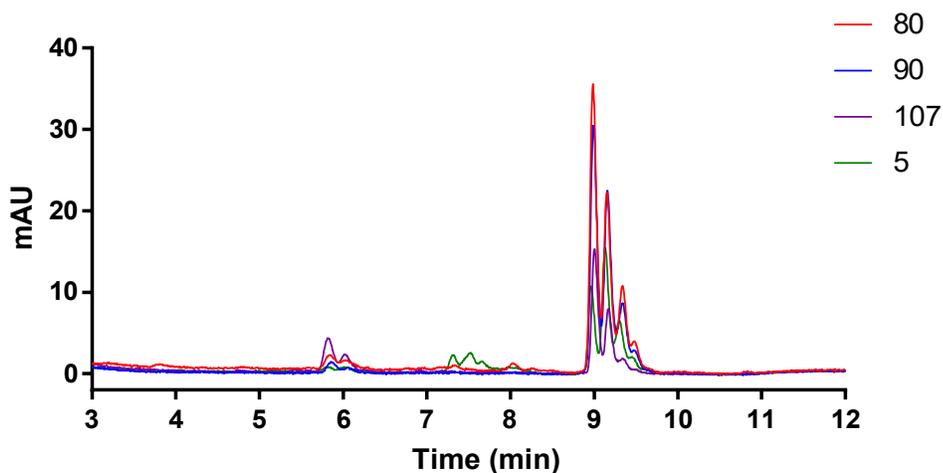


Figura 14: Cromatogramas obtidos nas análises por HPLC-DAD-MS/MS em 450 nm.

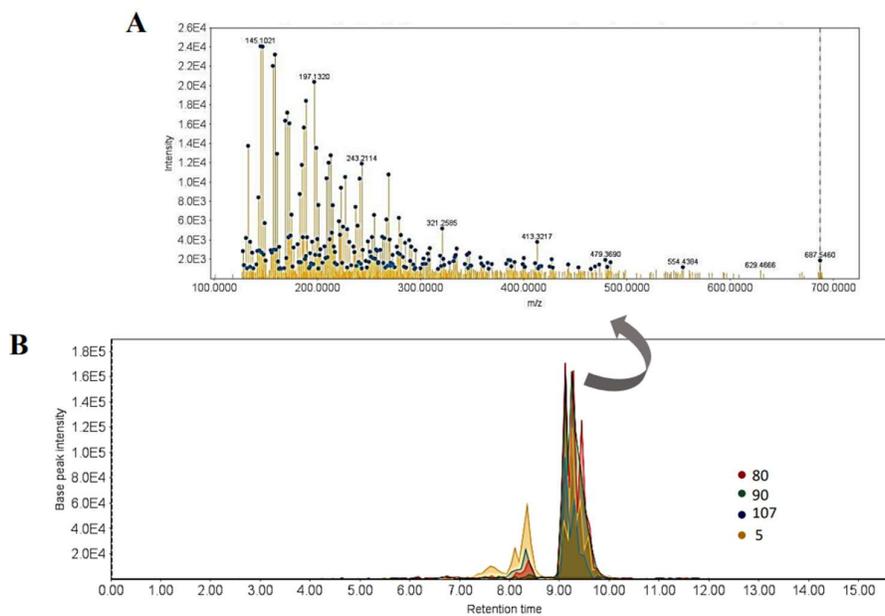


Figura 15: Cromatograma extraído do íon de m/z 705.5649 (A) a partir dos dados de MS full scan. Espectro MS/MS (MS2) do referido íon ($Tr = 9,5$ min) (B).

Comparando os resultados como a literatura da base de dados de carotenoides (YABUZAKI, 2017), decaprenoxantina e sarcinaxantina apresentaram fórmula molecular compatível ($C_{50}H_{72}O_2$) e também tiveram picos de absorção semelhantes (WEEKS et al., 1980; GIUFFRIDA et al., 2016; VILA et al., 2019); sendo produzidas por actinobactérias (Figura 15).

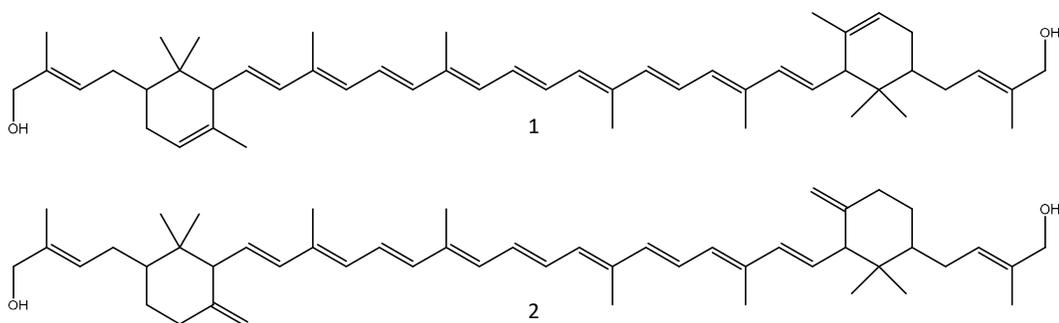


Figura 16. Estruturas dos carotenoides decaprenoxantina (1) e sarcinaxantina (2). Fonte: adaptação de WEEKS et al., 1980; GIUFFRIDA et al., 2016; VILA et al., 2019).

5.5. Identificação taxonômica pelo gene 16S rRNA

Os 5 isolados com elevada concentração de carotenoides totais foram identificados taxonomicamente utilizando o sequenciamento do gene que codifica a região do RNAr 16S (Tabela 8).

Tabela 8: Identificação taxonômica dos isolados de bactérias obtida do sequenciamento do gene 16S rRNA e comparação das sequências similares obtidas no RDP, e no GenBank através do BLASTn.

ISOLADO	IDENTIFICAÇÃO (RDP)	PONTUAÇÃO S_ab	OLIGÔMEROS COMUNS ÚNICOS	IDENTIFICAÇÃO (GENBANK)	IDENTIDADE	NÚMERO DE BASES ANALISADAS
5	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> (T); JCM 13874; AB588633	0,978	1365	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> strain NJ-QEDFT-6-B	99,14%	1472
80	<i>Arthrobacter</i> sp. KOPRI 25481; GU062483	0,950	1313	<i>Arthrobacter</i> sp. strain E3-12	98,85%	1406
90	<i>Arthrobacter</i> sp. TSBY-58; DQ173016	0,910	1335	<i>Arthrobacter</i> sp. strain E3-12	96,90%	1406
107	<i>Arthrobacter</i> sp. KOPRI 25481; GU062483	0,915	1313	<i>Arthrobacter</i> sp. strain E3-12	98,06%	1406
122	<i>Rhodococcus</i> sp. Ama25; JQ977388	0,944	1377	<i>Rhodococcus</i> sp. Ama25	97,56%	1434

Também se realizaram árvores filogenéticas do gene RNAr 16S incluindo os contigs obtidos e as sequências próximas geradas pelo RDP e GenBank através do BLASTn (Figura 16 e 17). Os isolados 5, 80, 90, 107 ficaram no clado monofilético do gênero *Arthrobacter*, e o isolado 122 ficou no clado do gênero *Rhodococcus*.

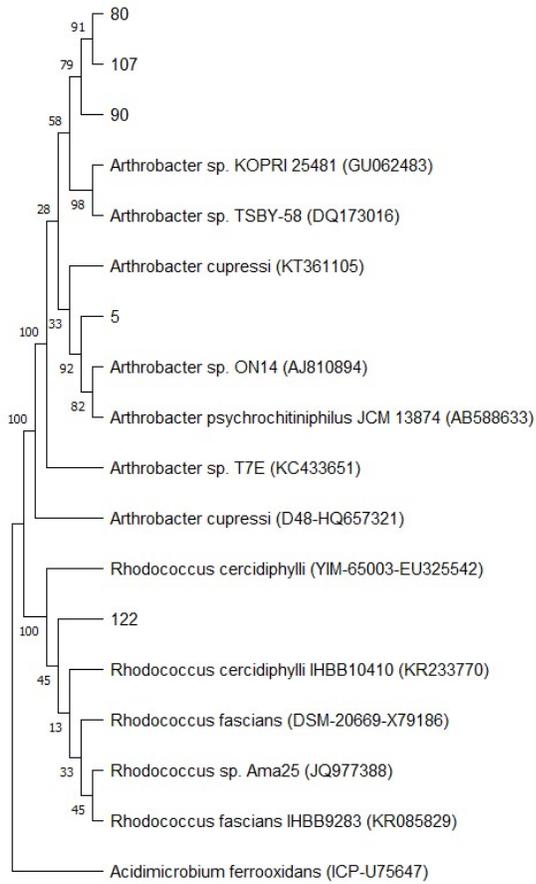


Figura 17: Árvore filogenética consenso 16S dos isolados de bactérias e sequências similares do RDP gerada no MEGAX pelo método de máxima verossimilhança e o modelo Tamura-Nei.

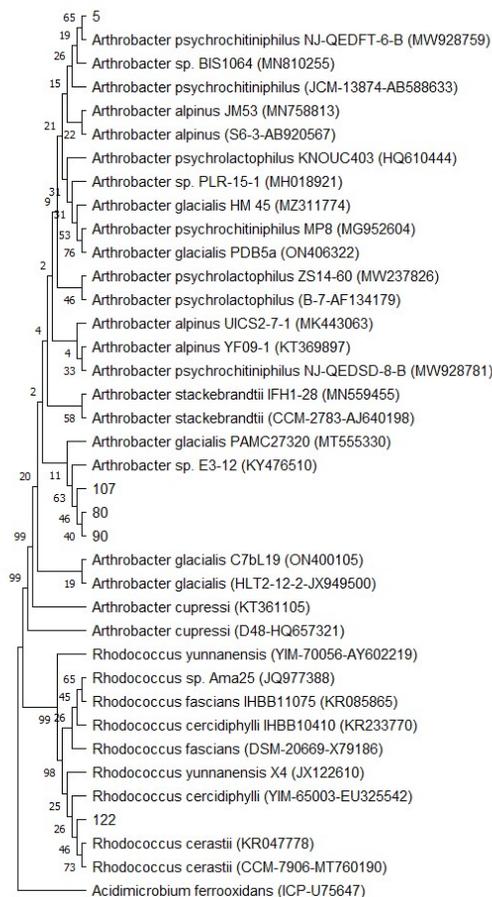


Figura 18: Árvore filogenética consenso 16S dos isolados de bactérias e sequências similares do GenBank gerada no MEGAX pelo método de máxima verossimilhança e o modelo Tamura-Nei.

5.6. Curvas de crescimento dos actinobactérias

Determinou-se a curva de crescimento das 5 melhores bactérias produtoras de alta concentração de carotenoides totais. Foi feito em cada tempo de coleta em microplacas de 96 poços com fundo chato (KASVI K12-096) por meio da leitura da densidade óptica (D.O) no comprimento de onda (λ) = 630 nm. A maioria das bactérias alcança valores densidade óptica de 1,0, exceto o isolado 122 que apresentou menor densidade óptica do que os demais isolados. Na determinação das curvas de crescimento, os isolados actinobacterianos 5, 80, 90, 107 e 122 começaram o crescimento logarítmico entre os tempos 2 (16h) e 3 (28h) e chegaram à fase estacionária entre os tempos 7 (76h) e 11 (124h) (Figura 18).

Os pontos dos gráficos representam a média de 3 experiências, com leituras de DO em triplicata.

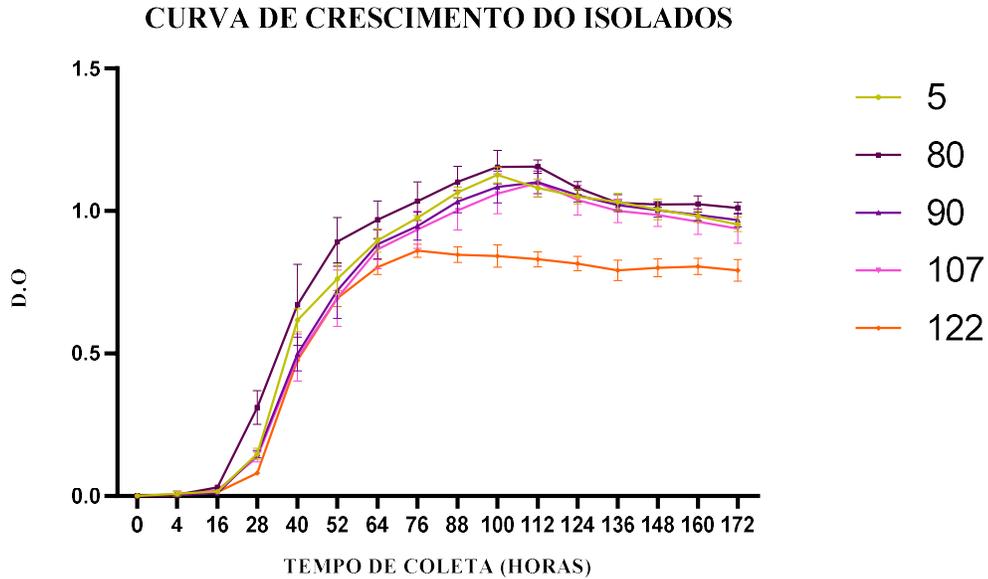


Figura 19: Curva de crescimento dos isolados pigmentados, baseado na D.O. As barras de erro representam o desvio padrão de 3 experiências independentes.

5.7. Curvas de produção de carotenoides totais

Se determinou em que fase do crescimento ocorreu a produção dos carotenoides totais. Quantificaram-se os carotenoides totais dos extratos obtidos dos *pellets* correspondentes a cada tempo de coleta. Os isolados 80, 90 e 107 foram os maiores produtores de carotenoides, enquanto os isolados 5 e 122 produziram menor quantidade de carotenoides totais. A síntese de carotenoides parece estar intimamente relacionada com o crescimento celular (Figura 19), pois observou-se o começo de produção de carotenoides entre os tempos 3 (28h) e 4 (40h) (fase logarítmica média), e maior produção entre os tempos 7 (76h) e 11 (124h) (fase estacionaria inicial). Os pontos dos gráficos representam a média de 3 experiências válidas, realizadas em duplicata.

PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS DOS ISOLADOS

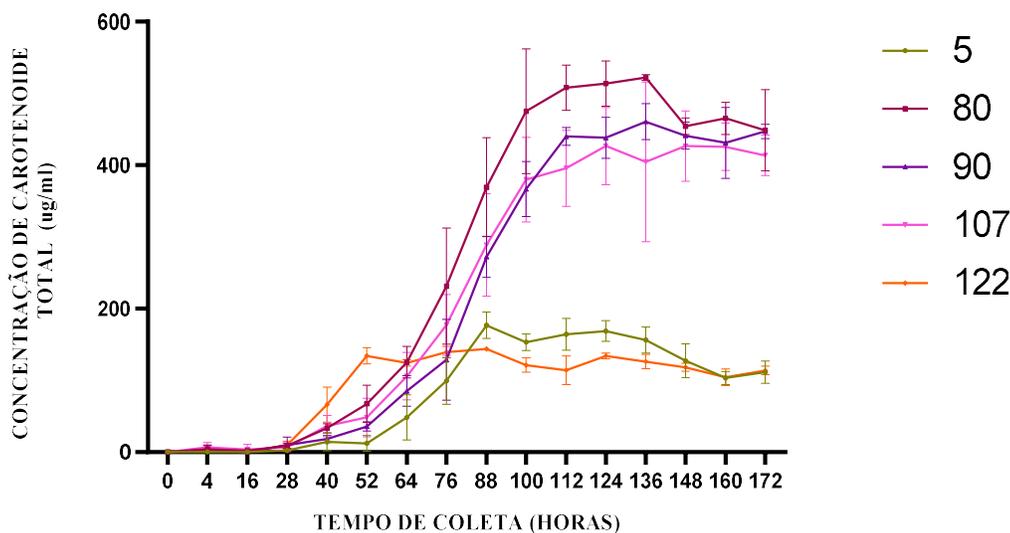


Figura 20: Curva de produção de carotenoides totais ($\mu\text{g/ml}$) dos isolados. As barras de erro representam o desvio padrão de 3 experiências independentes.

5.8. Teste qualitativo de resistência a radiação UV-B e UV-C

Para avaliar a resistência dos isolados à irradiação por diferentes doses de UV, foram escolhidos dois tempos de coleta para cada cultivo: um ponto com pouca produção de pigmento (fase logarítmica média) e outro ponto com alta produção de pigmento (fase estacionária inicial). Assim, do isolado 5 escolheram-se pontos dos tempos 4 (40h) e 8,5 (94h); do isolado 80, pontos dos tempos 3,5 (34h) e tempo 10 (112h); do isolado 90, pontos dos tempos 4 (40h) e 11 (124h); do isolado 107, pontos dos tempos 4 (40h) e 10 (112h); do isolado 122, pontos os tempos 3,5 (34h) e 7 (76h), sendo os pontos menores correspondentes à fase logarítmica média e os pontos maioritários à fase estacionária inicial.

Foi utilizado um teste qualitativo rápido para ver o perfil de resistência dos isolados frente às diferentes doses das irradiações UV-B e UV-C, em duas fases de crescimento. Os cultivos dos isolados foram colocados em gota (5 μL) por triplicata em várias colunas em placas de Petri com meio sólido LB e cada coluna foi exposta a diferentes doses de UV, obtidas de forma acumulativa. A Tabela 9 e Figura 20 mostram que o isolado 107 foi a cepa menos tolerante à radiação UV-B, chegando até um crescimento moderado (++) na dose 4 kJ/m^2 na fase logarítmica média, e até pouco crescimento (+) na dose 8 kJ/m^2 na fase estacionária inicial. Quanto à radiação UV-C, a Tabela 10 e Figura 21

mostram que o isolado 107 na fase logarítmica média foi o menos tolerante e chegou até um crescimento moderado (++) na dose 120 J/m², mas o isolado 80 na fase estacionaria foi o menos tolerante e chegou até um crescimento moderado (++) na dose 180 J/m². Portanto, o isolado 107, sendo o menos resistente, foi descartado para os seguintes experimentos.

Tabela 9: Registro dos resultados observados do crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo gotas de 5 µL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-B.

ISOLADO	Dose (UV-B - kJ/m ²)					
	0	4	8	12	16	20
5 log.	+++	+++	++	+	+	+
5 est.	+++	+++	++	+	+	-
80 log.	+++	+++	+	+	+	+
80 est.	+++	+++	+++	+	-	-
90 log.	+++	+++	-	-	-	-
90 est.	+++	+++	+	+	+	+
107 log.	+++	++	-	-	-	-
107 est.	+++	+++	+	-	-	-
122 log.	+++	+++	+++	+	+	+
122 est.	+++	+++	++	+	-	-

Tabela 10: Registro dos resultados observados do crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo gotas de 5 µL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-C.

ISOLADO	Dose (UVC - J/m ²)								
	0	60	120	180	240	300	500	1000	1500
5 log.	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	-
5 est.	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-
80 log.	+++	+++	++	++	++	++	+	-	-
80 est.	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	-
90 log.	+++	+++	++	++	+	+	+	+	-
90 est.	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+
107 log.	+++	++	++	-	-	-	-	-	-
107 est.	+++	+++	++	+	+	+	+	+	-
122 log.	+++	+++	+++	++	++	++	+	-	-
122 est.	+++	+++	++	++	++	++	++	+	+

ISOLADO	DOSE (UV-B - kJ/m ²)	
	FASE LOGARÍTMICA	FASE ESTACIONARIA INICIAL
5	<p>0 4 8 12 16 20</p>	<p>0 4 8 12 16 20</p>
80	<p>0 4 8 12 16 20</p>	<p>0 4 8 12 16 20</p>
90	<p>0 4 8 12 16 20</p>	<p>0 4 8 12 16 20</p>
107	<p>0 4 8 12 16 20</p>	<p>0 4 8 12 16 20</p>
122	<p>0 4 8 12 16 20</p>	<p>0 4 8 12 16 20</p>

Figura 21: Crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionaria inicial, sendo gotas de 5 μ L depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-B.

Legenda: +++ (crescimento similar ao da bactéria sem irradiar), ++ (crescimento moderado), + (pouco crescimento).

ISOLADO	DOSE (UVC - J/m ²)	
	FASE LOGARÍTMICA MÉDIA	FASE ESTACIONARIA INICIAL
5	<p>0 60 120 180 240 300</p> <p>500 1000 1500</p>	<p>0 60 120 180 240 300</p> <p>500 1000 1500</p>
80	<p>0 60 120 180 240 300</p>	<p>0 60 120 180 240 300</p>

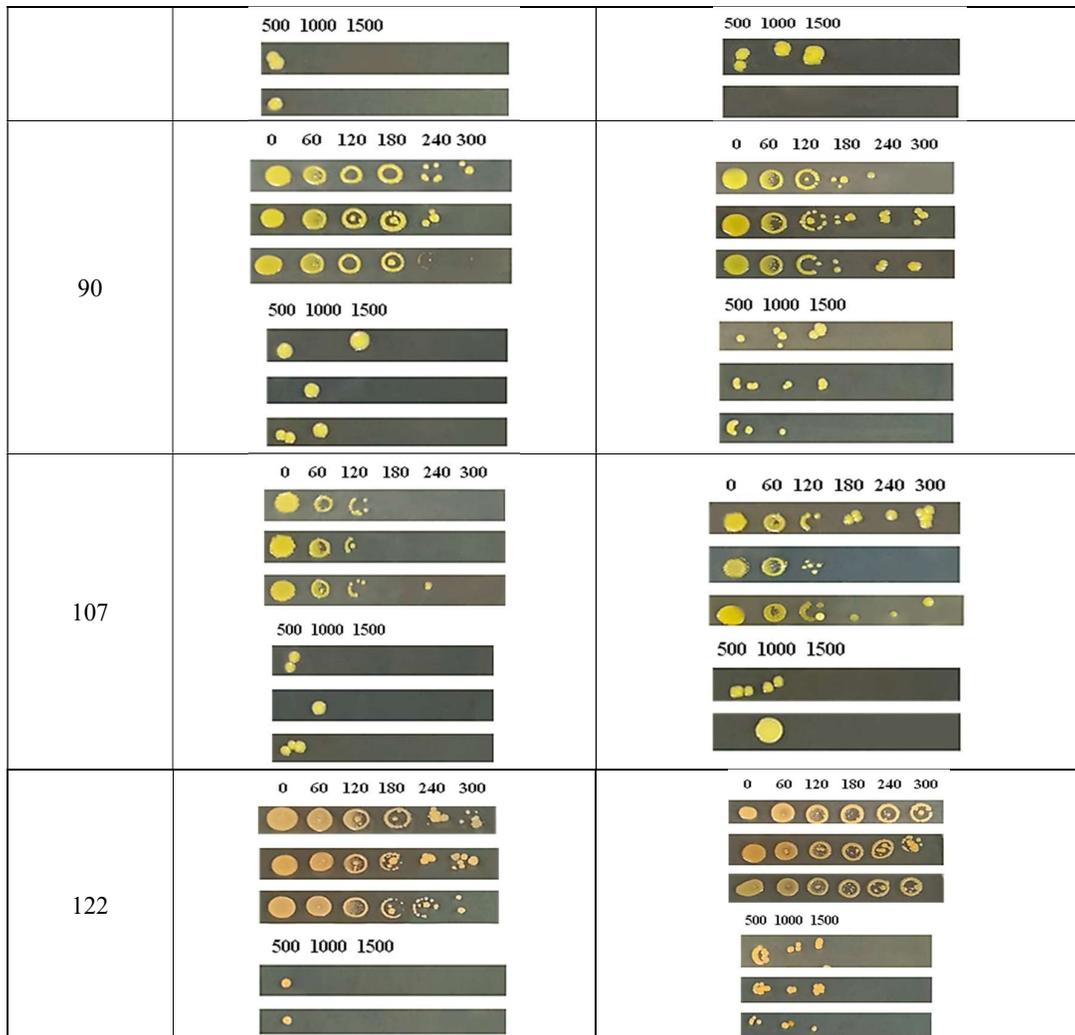


Figura 22: Crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionária inicial, sendo gotas de 5 µL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-C.

Legenda: +++ (crescimento similar ao da bactéria sem irradiar), ++ (crescimento moderado), + (pouco crescimento).

5.9. Sequenciamento do genoma completo e análise genômica

O DNA genômico dos 4 melhores isolados resistentes a UV no teste qualitativo foi analisado. O tamanho total do genoma dos isolados varia entre 3948892 e 5241899 pb, o número de contigs varia entre 34 e 103, genes anotados dos isolado varia entre 3663 e 5024, e o número de sequencias codificantes varia entre 3603 e 4971 (Tabela 11).

Baseando-se na identificação taxonômica, o isolado 5 foi filogeneticamente próximo a *Arthrobacter psychrochitiniphilus* (valor dDDH, ~88.6% e valor ANIb, ~98.64%), o isolado 80 foi filogenomicamente próximo de *Arthrobacter stackebrandtii* (valor dDDH, ~23,1% e valor ANIb, ~81,92%), o isolado 90 foi filogeneticamente

próximo de *Arthrobacter stackebrandtii* (valor dDDH value, ~23,1%) e de *Arthrobacter sp* (valor ANIb, ~81,92%), e o isolado 122 foi filogenomicamente perto de *Rhodococcus fascians* (valor dDDH, ~26,1% e valor ANIb, ~86,44%).

Algumas enzimas que são codificadas por genes foram identificadas na via de síntese de carotenoides utilizando a anotação Prokka. As enzimas envolvidas na via de carotegenese são 4,4'-diapophytoene desaturase (símbolo crtN) que está presente no genoma da estirpe 5; 4,4'-diapophytoene desaturase (símbolo crtN), no genoma da estirpe 80; 4,4'-diapofitoene desaturase (símbolo crtN), no genoma da estirpe 90; licopeno beta ciclase (símbolo crtL), 4,4'-diapolicopeno oxigenase (símbolo crtNb), 15-cis-fitoeno sintase (símbolo crtB) no genoma da estirpe 122 (Tabela 11).

Tabela 11: Resumo dos parâmetros da montagem do genoma e de anotação de Prokka (carotenoides) dos isolado 5, 80, 90, 122.

PARAMETROS	Isolado 122	Isolado 5	Isolado 80	Isolado 90
Tamanho total (pb)	5241899	3948892	4034042	4066178
Número de contigs	94	34	68	103
N50 (bp)	253346	434939	202837	114286
Sequências codificantes	4971	3603	3699	3734
Número de genes	5024	3663	3758	3794
Completo de genes (BUSCO)	100%	99.2%	97.6%	97.6%
Enzimas envolvidas na via de produção de carotenoides (Prokka)	lycopene beta cyclase 4,4'-diapolycopene oxygenase 15-cis-phytoene synthase	4,4'-diapophytoene desaturase	4'-diapophytoene desaturase	4'-diapophytoene desaturase
Identificação mais próxima	<i>Rhodococcus sp.</i>	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i>	<i>Arthrobacter sp.</i>	<i>Arthrobacter sp.</i>
Fonte de isolamento	<i>Rizosfera de Deschampsia antarctica</i>	Solo ornitogênico	Rizosfera de musgo	Solo amarelo

Utilizando o AntiSMASH, foram previstos grupos de genes biossintéticos relacionados com a produção de carotenoides no genoma do isolado 5 (50% de similaridade com o banco de dados do AntiSMASH), 80 (21% de similaridade com o banco de dados do AntiSMASH), 90 (21% de similaridade com o banco de dados do AntiSMASH) e 122 (37% de similaridade com o banco de dados do AntiSMASH). Os grupos de genes biossintéticos dos isolados compartilharam alguma semelhança com outros grupos de genes de outras bactérias que codificam enzimas de carotenoides. No caso dos isolados 80 e 90, genes anotados compartilharam semelhança com os que codificam a enzima licopeno elongase. No entanto, a anotação do isolado 5 compartilhou semelhança

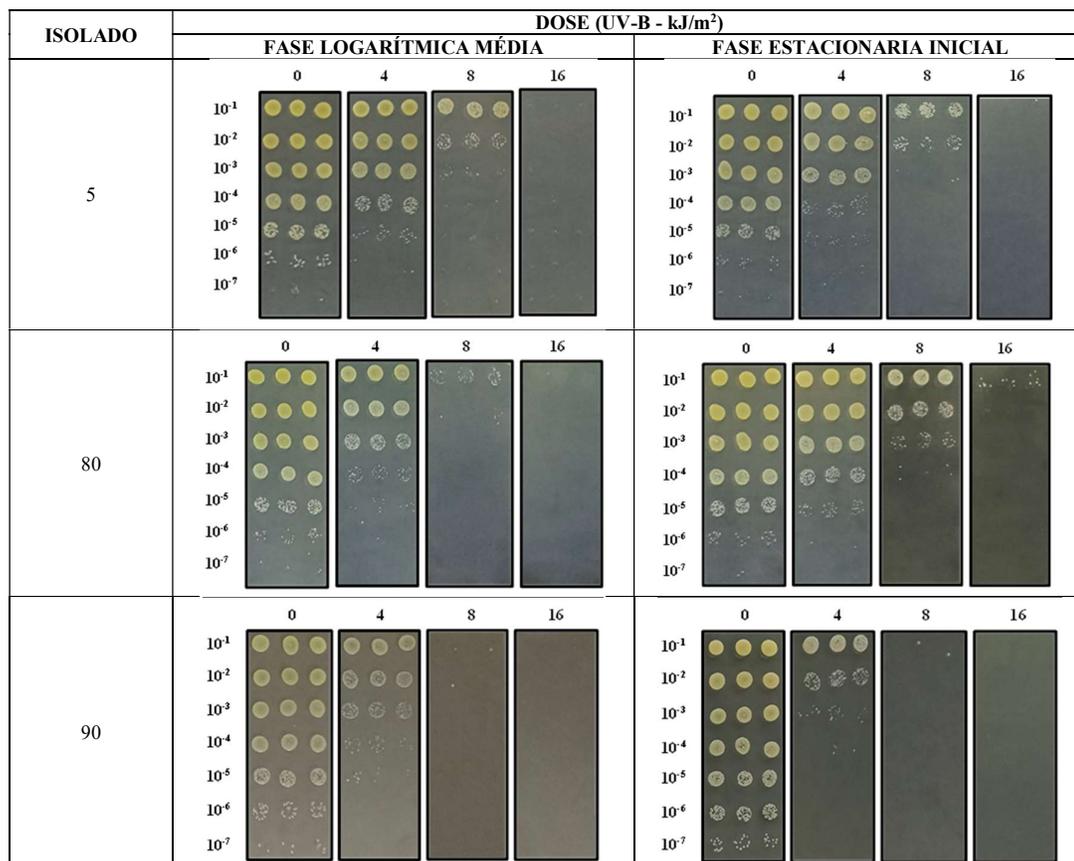
com genes que codificam licopeno elongase e épsilon ciclase. No caso da anotação do isolado 122, compartilhou semelhança com genes que codificam enzimas fitoeno/squalene sintase, fitoeno desaturase, geranilgeranil pirofosfato sintase, e fitoeno desidrogenase (Tabela 12).

Tabela 12: Resumo da anotação do AntiSMASH para carotenoides, anotação de enzimas encontradas da comparação dos grupos de genes biossintéticos dos isolados com similares agrupamentos genéticos biossintéticos de carotenoides conhecidos do MIBiG 3.1 (TERLOUW et al., 2023).

ISOLADO	ANOTAÇÃO	IDENTIDADE - MICRORGANISMO
5	Licopeno elongase	49%- <i>Corynebacterium glutamicum</i> 49%, 54%- <i>Dietzia</i> sp. <i>CQ4</i>
	Epsilon ciclase C50 carotenoide	51%- <i>Corynebacterium glutamicum</i>
	Fitoeno desaturase	49%- <i>Corynebacterium glutamicum</i> 50%- <i>Brevibacterium linens</i> 52%- <i>Dietzia</i> sp. <i>CQ4</i>
80	Fitoeno sintase	46%- <i>Brevibacterium linens</i>
	Fitoeno desaturase	52%- <i>Brevibacterium linens</i> 55%- <i>Dietzia</i> sp. <i>CQ4</i> 51%- <i>Corynebacterium glutamicum</i>
	Licopeno elongase	53%, 58%- <i>Dietzia</i> sp. <i>CQ4</i> 50%- <i>Corynebacterium glutamicum</i>
90	Fitoeno sintase	46%- <i>Brevibacterium linens</i>
	Fitoeno desaturase	52%- <i>Brevibacterium linens</i> 55%- <i>Dietzia</i> sp. <i>CQ4</i> 51%- <i>Corynebacterium glutamicum</i>
	Licopeno elongase	53%- <i>Dietzia</i> sp. <i>CQ4</i> 50%- <i>Corynebacterium glutamicum</i>
122	Fitoeno/ squalene synthase	53%- <i>Streptomyces argillaceus</i> 52%- <i>Streptomyces griseus</i> subsp. <i>griseus</i> NBRC 13350
	Fitoeno desaturase	52%- <i>Streptomyces argillaceus</i>
	Geranilgeranil pirofosfato sintase	48%- <i>Streptomyces argillaceus</i>
	Fitoeno desidrogenase	50%- <i>Streptomyces griseus</i> subsp. <i>griseus</i> NBRC 13350

5.10. Teste quantitativo da resistência a radiação UV-B e UV-C: curvas de sobrevivência na fase logarítmica e estacionária

Investigou-se a resistência bacteriana das fases logarítmica média (produção de pouco pigmento) e estacionária inicial (pico de produção do pigmento) dos isolados pigmentados sob diferentes doses de radiação UV-B e UV-C. A irradiação UV-B (312 nm) teve taxa de dose de 15 J/m²/s e a irradiação UV-C teve 2 J/m²/s. Alíquotas foram retiradas das placas irradiadas, diluídas e finalmente uma gota (10 µL) das diluições foram colocadas nas placas nos lugares projetados das grades, em triplicata, para determinar a sobrevivência. As curvas de sobrevivência foram determinadas calculando as frações de sobrevivência (N/N₀) (Figuras 24 a 31), a partir do crescimento contando Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de cada diluição (Figuras 22 e 23).



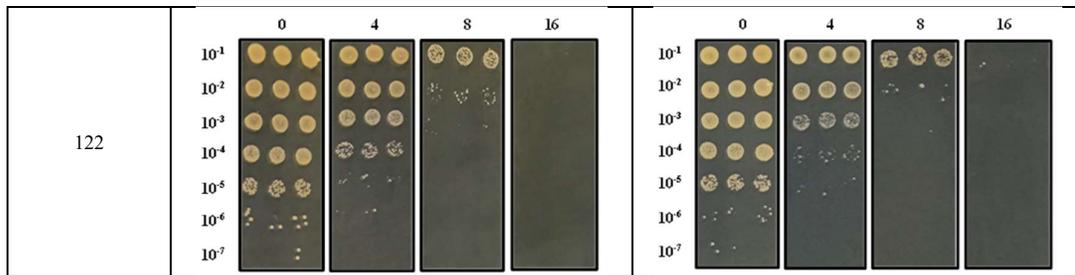


Figura 23: Crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionária inicial, sendo gotas de 10 μ L depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-B, foram feitas várias diluições.

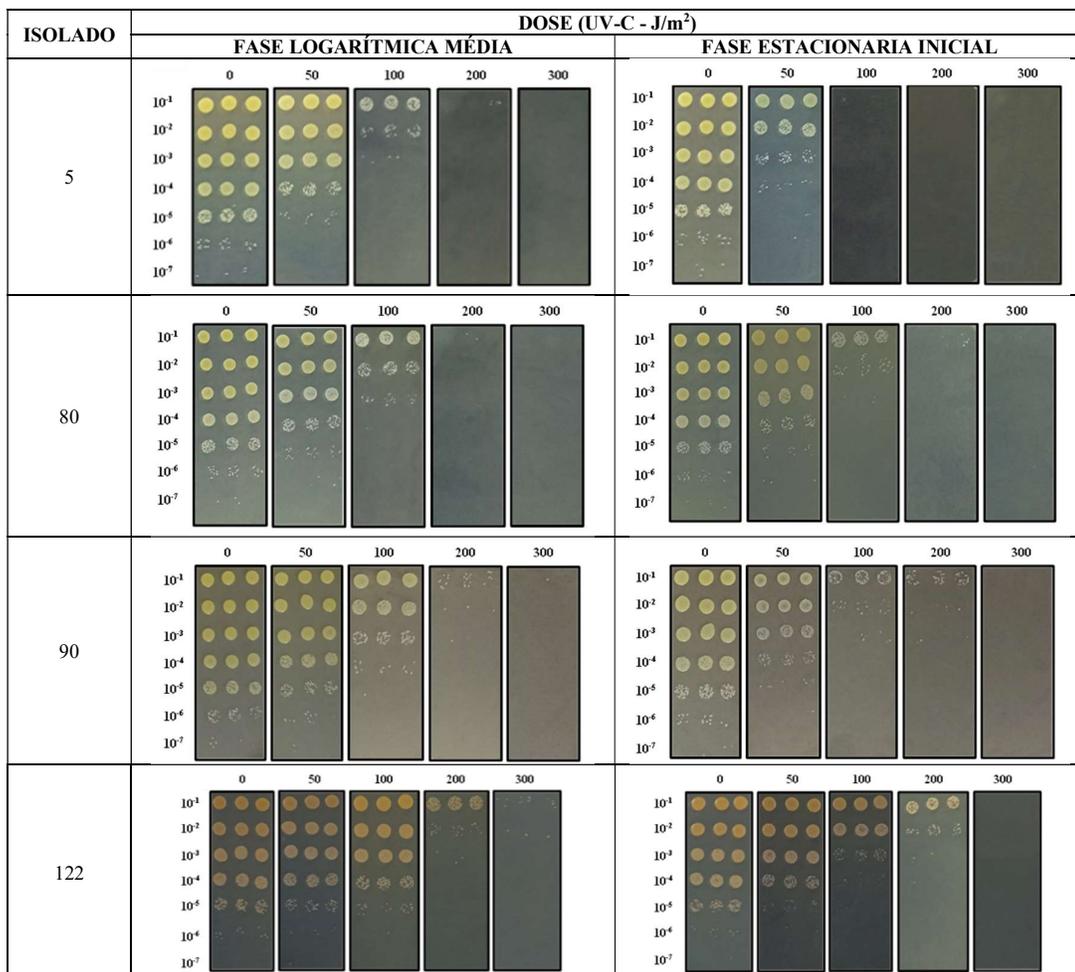


Figura 24: Crescimento dos isolados em fase logarítmica média e estacionária inicial, sendo gotas de 10 μ L depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-C, foram feitas várias diluições.

Nas Figuras 24 a 27 referentes à irradiação UV-B, observa-se que a resistência do isolado 5 não difere muito nas duas fases de crescimento, o isolado 80 teve mais resistência na fase estacionária inicial (pico de produção de pigmento) do que a fase logarítmica média (pouca produção de pigmento), enquanto os isolados 90 e 122 resistiram mais na fase

logarítmica média do que a fase estacionaria inicial. Porém, o isolado 80 foi a única cepa pigmentada que teve mais resistência na fase com maior produção de pigmento (estacionaria inicial) do que na fase com pouca produção de pigmento (logarítmica média), mostrando diferença significativa e tendo provavelmente algum pigmento fotoprotetor.

5

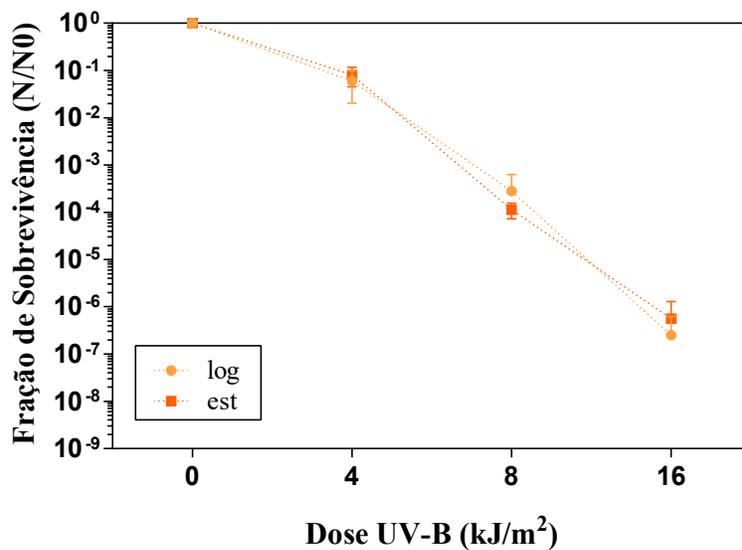


Figura 25: Fração de sobrevivência da bactéria 5 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.

80

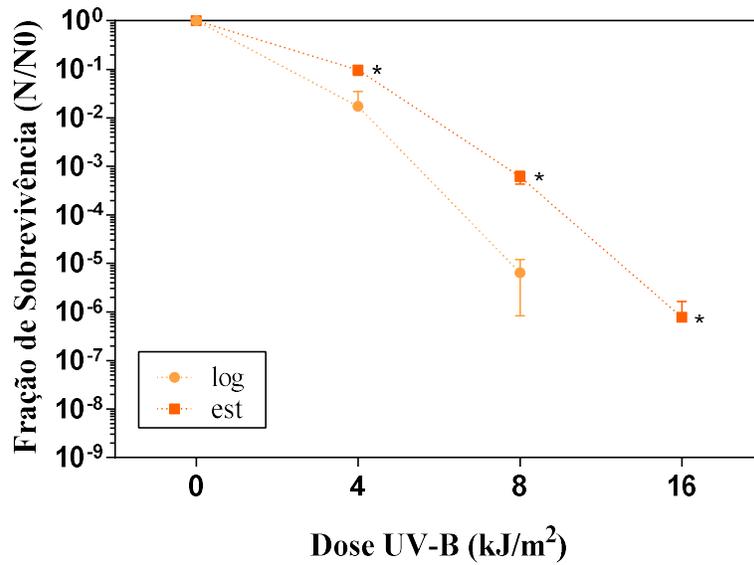


Figura 26: Fração de sobrevivência da bactéria 80 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas (asterisco indica $p < 0,05$ no teste de significância pelo teste de Man-Whitney, onetail).

90

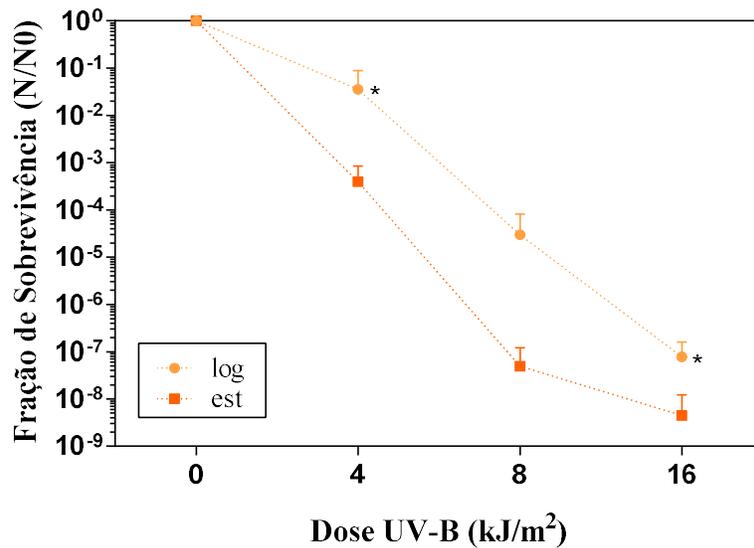


Figura 27: Fração de sobrevivência da bactéria 90 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas (asterisco indica $p < 0,05$ no teste de significância pelo teste de Man-Whitney, onetail).

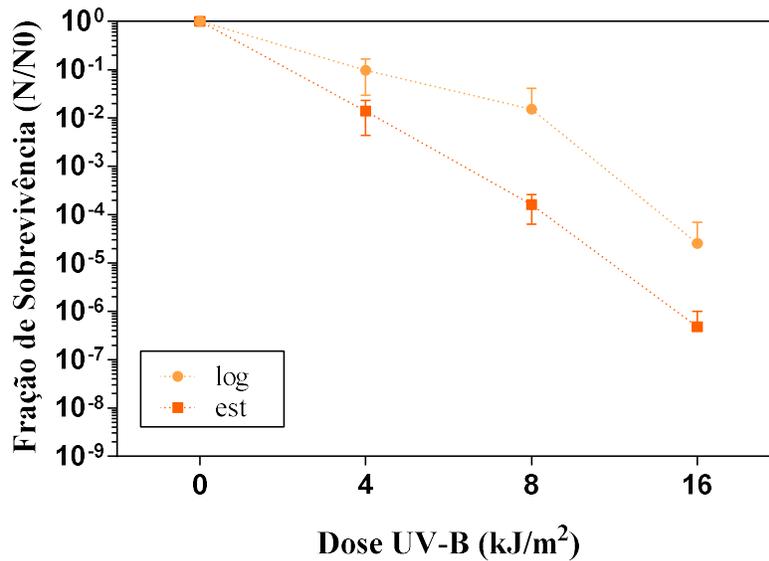


Figura 28: Fração de sobrevivência da bactéria 122 na fase logarítmica média (●) e estacionária inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.

Nas Figuras 28 a 31, referentes à irradiação UV-C, observa-se que a resistência dos isolados pigmentados 5, 80, e 90 não difere muito nas duas fases de crescimento. O isolado 122 foi a única estirpe pigmentada que teve mais resistência na fase com menor produção de pigmento (logarítmica média) do que na fase com maior produção de pigmento (estacionária inicial), tendo provavelmente algum mecanismo de resistência que predomina. Apesar das tendências mencionadas não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre esses experimentos. Finalmente, com base nos resultados das experiências, os isolados 80 e 122 foram escolhidos para avaliar suas sobrevivências nas radiações UV-B e UV-C em comparação com o organismo modelo *E. coli* K12A15.

5

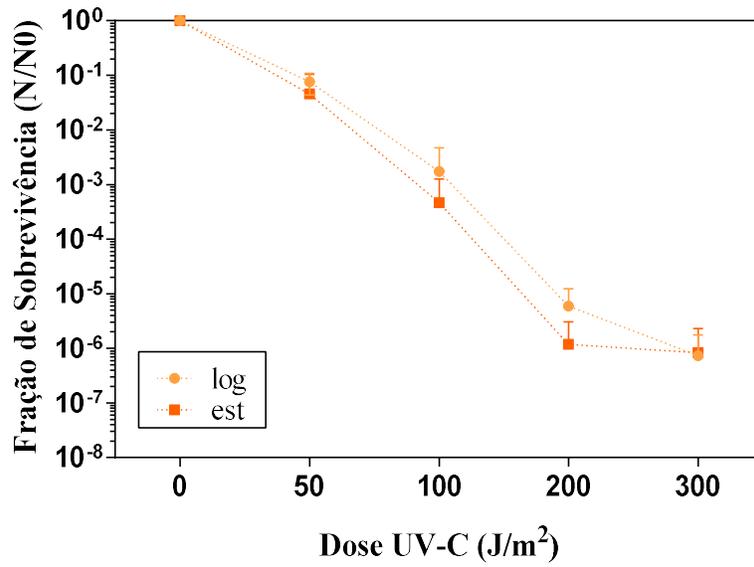


Figura 29: Fração de sobrevivência da bactéria 5 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.

80

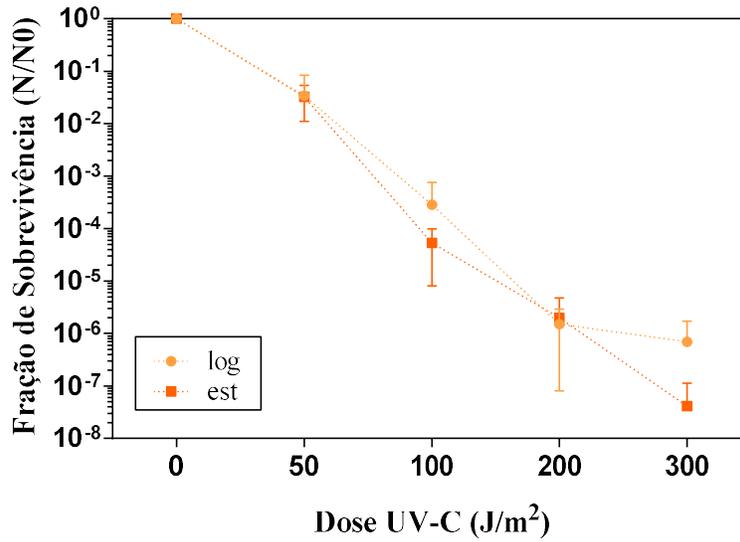


Figura 30: Fração de sobrevivência da bactéria 80 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.

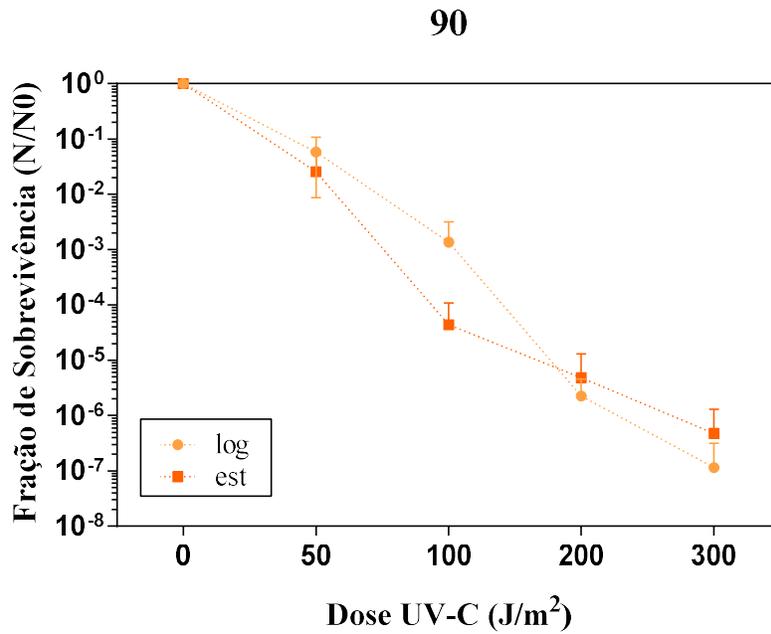


Figura 31: Fração de sobrevivência da bactéria 90 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.

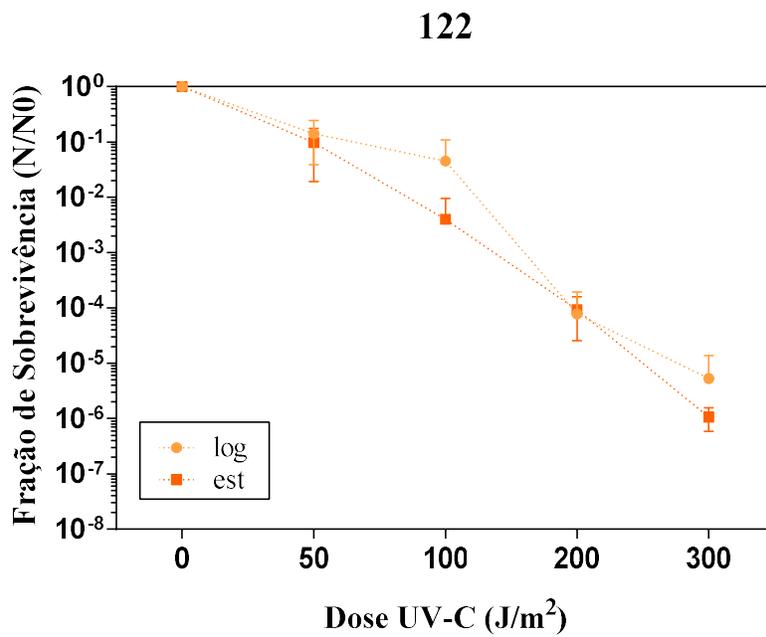


Figura 32: Fração de sobrevivência da bactéria 122 na fase logarítmica média (●) e estacionaria inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas.

5.11. Teste quantitativo da resistência a radiação UV-B e UV-C em comparação com o organismo modelo: curvas de sobrevivência na fase estacionária

Comparou-se a resistência bacteriana na fase estacionária inicial (maior produção do pigmento) dos isolados pigmentados 80 (possível pigmento fotoprotetor), 122 e o organismo modelo *E. coli* K12A15 sob diferentes doses de radiação UV-B e UV-C. A irradiação UV-B (312 nm) teve taxa de dose de 15 J/m²/s e a irradiação UV-C, de 2 J/m²/s. Aliquotas foram retiradas das placas irradiadas, diluídas e finalmente uma gota (10 µL) das diluições foram colocadas nas placas nos lugares projetados das grades, em triplicata, para determinar a sobrevivência. Como mostrado nos gráficos 47 e 48, na irradiação UV-B observou-se que o isolado 80 apresentou uma tendência de maior valor do que o controle, sem significância estatística (Figuras 32 e 33). No caso da irradiação UV-C, a resistência do isolado 122 foi maior, em comparação com o organismo modelo que teve diferença significativa com o controle até chegar à dose 200 J/m² (Figuras 34 e 35).

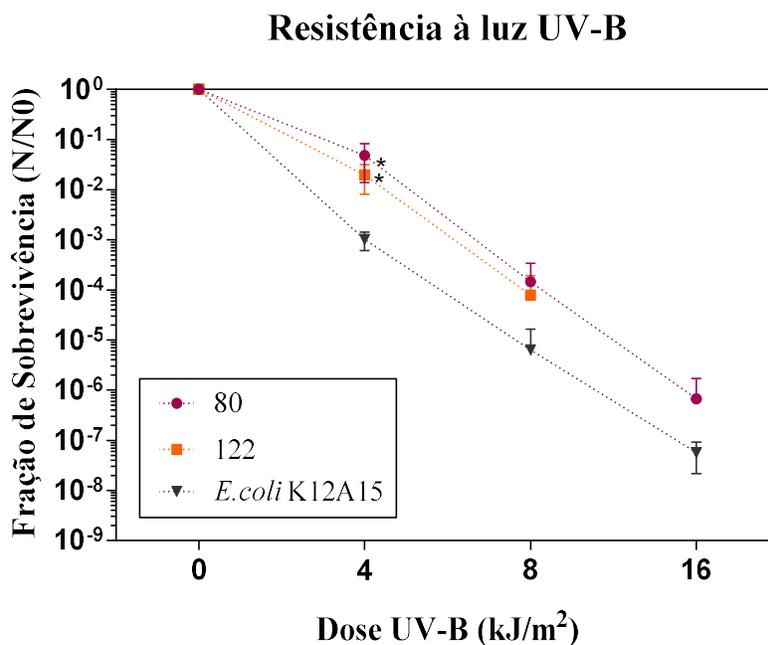


Figura 33: Fração de sobrevivência das bactérias 80 (●), 122 (■) e *E. coli* K12A15 (▼) na fase estacionária inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-B (312 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos experiências independentes com as réplicas biológicas. O asterisco indica $p < 0,05$ no teste de significância pelo teste de Man-Whiney, onetail, comparando os resultados das actinobactérias com os da *E. coli* K12A15.

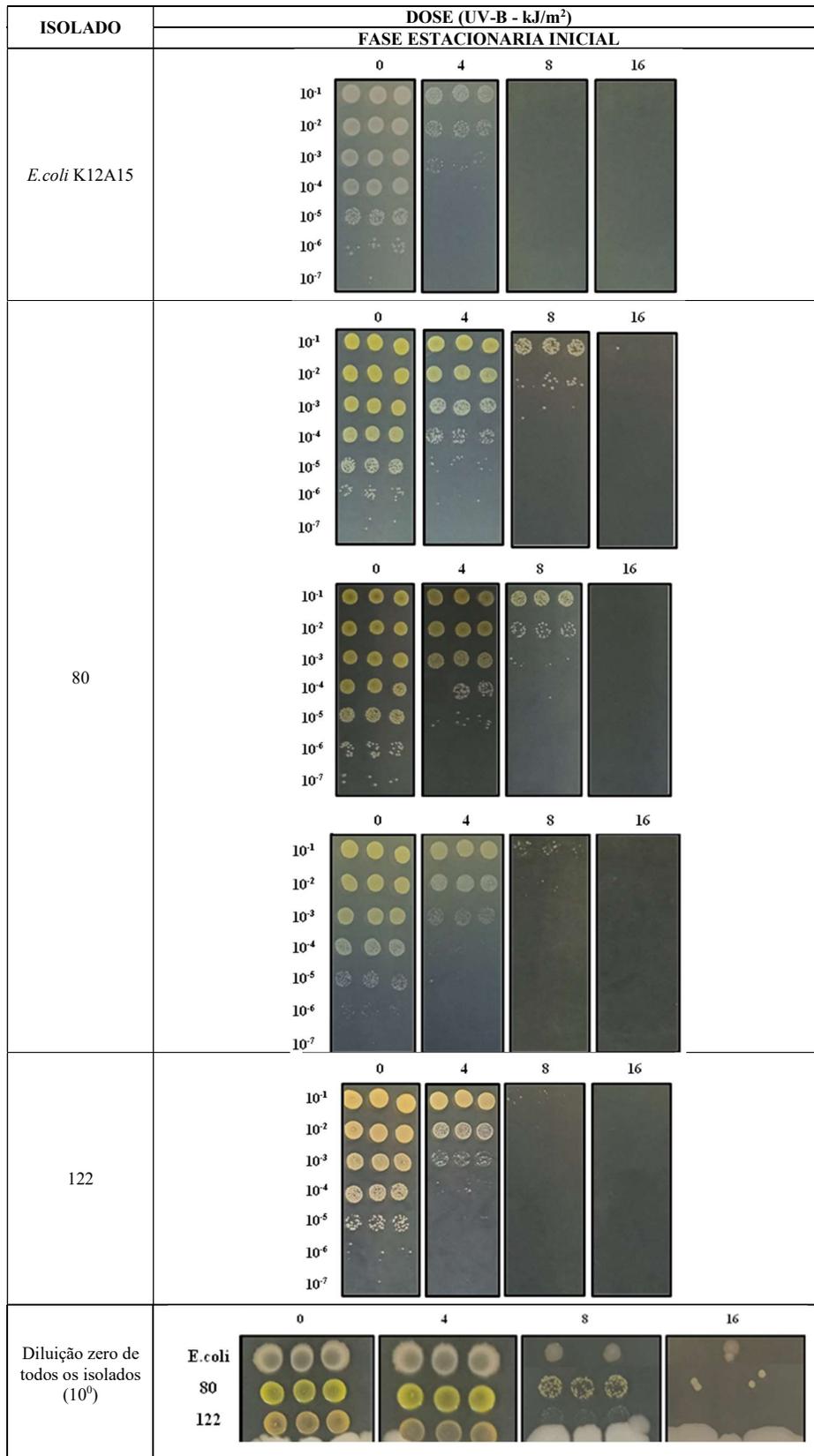


Figura 34: Crescimento dos isolados em fase estacionaria inicial, sendo gotas de 10 µL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-B, foram feitas várias diluições.

Resistência à luz UV-C

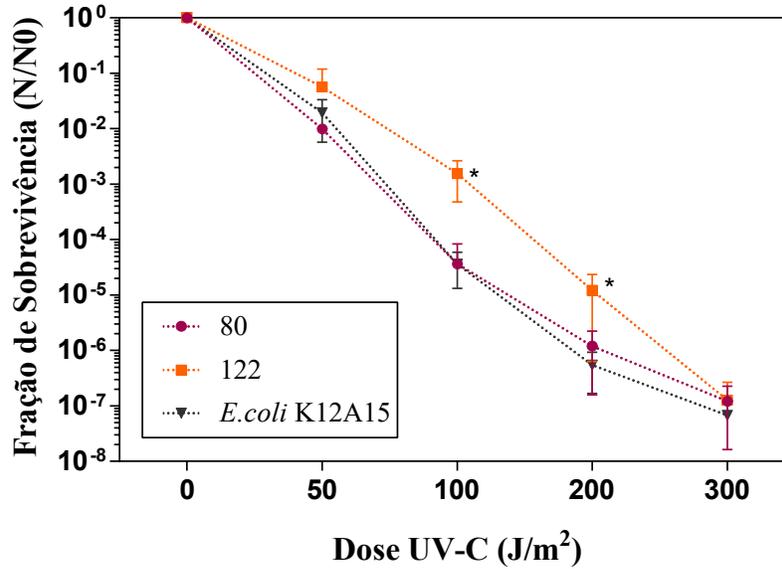


Figura 35: Fração de sobrevivência das bactérias 80 (●), 122 (■) e *E. coli* K12A15 (▼) na fase estacionária inicial (■) após doses crescentes de radiação UV-C (254 nm). Barras de erros representam o desvio padrão de pelo menos 3 experiências independentes com as réplicas biológicas. O asterisco indica $p < 0,05$ no teste de significância pelo teste de Man-Whitney, onetail, comparando os resultados das actinobactérias com os da *E. coli* K12A15.

ISOLADO	DOSE (UV-C - J/m ²)				
	FASE ESTACIONARIA INICIAL				
	0	50	100	200	300
<i>E. coli</i> K12A15					
80					
122					

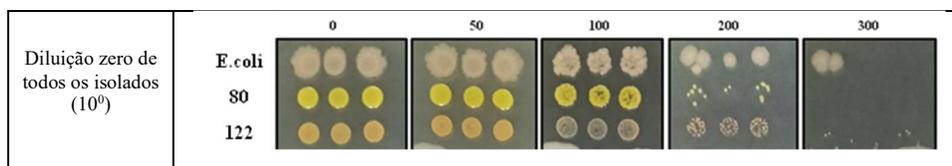


Figura 36: Crescimento dos isolados em fase estacionaria inicial, sendo gotas de 10 µL depositadas em várias colunas nas placas com meio de cultivo sólido LB e expostos a diferentes doses de irradiação UV-C, foram feitas várias diluições.

6. DISCUSSÃO

O aumento da incidência da luz UV-B na Terra é causado pela diminuição da camada do ozônio (DAY; NEALE, 2002; BERNHARD et al., 2022; CORDERO et al., 2022), e, devido a contaminação da atmosfera, espera-se no futuro que a radiação UV-C aumente pelo decréscimo da camada de ozônio (SOFO et al., 2014). Dentre os habitats com aumento de luz UV se encontra a Antártica que recebe altas intensidades de radiação UV devido ao buraco da camada de ozônio (BERNHARD et al., 2006; CORDERO et al., 2022), mesmo assim no continente da Antártica existe diversidade de bactérias de diferentes filos (WILMOTTE et al., 2010; PEETERS et al., 2012; LO GIUDICE; AZZARO, 2019). Porém, a luz UV pode causar possíveis prejuízos aos seres vivos, sendo que bactérias possuem estratégias de sobrevivência para remover ERO, reparar danos causados pela radiação UV (MARKILLIE et al., 1999; GOOSEN; MOOLENAAR, 2008; NELSON et al., 2018) e produzir metabolitos secundários como carotenoides que podem oferecer fotoproteção (WYNN-WILLIAMS, 1990b; COCKELL; KNOWLAND, 1999; FRIGAARD et al., 2004; EDWARDS et al., 2006; MOLINÉ et al., 2009, 2010; PEZZONI et al., 2011; COPPOLA et al., 2023). Assim, no presente estudo se pretendeu avaliar as resistências dos isolados bacterianos da Antártica sob faixas de irradiação UV-B, UV-C, e o papel fotoprotetor dos carotenoides produzidos.

6.1. REATIVAÇÃO DAS BACTÉRIAS

Em comparação com o meio R2A e o meio Marinho, só o meio para lisogenia (LB) ajudou na reativação da maioria dos isolados. Assim, o meio LB ofereceu os nutrientes necessários para as actinobactérias terem melhor crescimento e pigmentação, sendo esse meio também utilizado nos testes de irradiação UV-B e UV-C do presente estudo. O meio LB também foi utilizado para reativação, ensaios de produção de pigmento e resistência à luz UV-A, UV-B e UV-C da actinobactéria *Microbacterium* sp., isolada solo

da Ilha do Rei George (REIS-MANSUR et al., 2019). No entanto, o meio Marinho e o meio R2A foram muito utilizados para isolar e realizar estudos de resistência à radiação UV-C de bactérias de diversos ambientes aquáticos da Antártica (COPPOLA et al., 2023). Adicionalmente, os meios LB, Marinho e R2A foram utilizados para isolar e fazer estudos de sobrevivência à radiação UV-C de bactérias de ambientes desérticos (PAULINO-LIMA et al., 2016).

6.2. PRODUÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES, E IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DAS BACTÉRIAS SELECIONADAS

Cinco isolados (5, 80, 90, 107 e 122) apresentaram maior concentração de carotenoides totais (Tabela 6) cinco isolados e a taxonomia deles mostrou coincidência com os gêneros *Arthrobacter* e *Rhodococcus*, segundo identificação taxonômica do RNAr 16S (Tabela 8). Esses gêneros são comumente reportados nos solos da Antártica Marítima (XIAO et al., 2007; LEE et al., 2012, 2018; TOMOVA et al., 2015; CHU et al., 2017; VILA et al., 2019; CONG et al., 2020; SILVA et al., 2020; LIU et al., 2021; PARK et al., 2021; SANTA-CRUZ et al., 2021). Adicionalmente, refere-se que o gênero *Arthrobacter* é comum nos sedimentos e solos da Antártica (REDDY et al., 2003; DSOUZA et al., 2015; LAMILLA et al., 2017). Escolheram-se esses cinco isolados tendo em conta que a maior concentração de carotenoides poderia contribuir para a sobrevivência a danos oxidativos, assim como foi reportado em estudos in vitro nos quais foi avaliado a atividade antioxidante de carotenoides, resultando maior atividade conforme o aumento da concentração de carotenoides (SHINDO et al., 2007; TIAN et al., 2007; MANDELLI et al., 2012; PRABHU et al., 2013; KUMAR et al., 2016; HOU et al., 2018; METWALLY et al., 2022; YU et al., 2022; JIANG et al., 2023). Por consequente os isolados selecionados com maior concentração de carotenoides poderiam ter mais resistência aos efeitos foto-oxidativos causados pela radiação UV.

De acordo aos resultados das análises por HPLC-DAD (Figura 12), observou-se que há probabilidade de que os isolados 5, 80, 90 e 107 produzam os mesmos carotenoides principais. Isso pode ser devido a pertencerem ao mesmo gênero de *Arthrobacter*. Porém, não foi possível analisar o extrato do isolado 122, cujos carotenoides provavelmente se degradaram, já que esses pigmentos são sensíveis a oxidação, luz e calor (KIRTI et al., 2014; XIAO et al., 2018; MAGHSOUDI et al., 2022).

Com base nos resultados das análises por HPLC-DAD-MS/MS (Figuras 13, 14 e 15), além de decaprenoxantina e sarcinaxantina, a okadaxantina (MIKI et al., 1994) com fórmula molecular ($C_{50}H_{72}O_2$) e pico de absorção semelhante (UV/Visível) foi encontrada na base de dados de carotenoides (YABUZAKI, 2017). A okadaxantina (MIKI et al., 1994) foi isolada de uma espécie do gênero *Pseudomonas*, e decaprenoxantina e sarcinaxantina (WEEKS et al., 1980; GIUFFRIDA et al., 2016; VILA et al., 2019) foram encontrados em bactérias do gênero *Arthrobacter*. Assim, é provável que decaprenoxantina e/ou sarcinaxantina estejam entre os carotenoides majoritários dos isolados deste estudo, uma vez que aqueles isolados pertencem ao gênero *Arthrobacter*. Adicionalmente, nos resultados de HPLC-DAD-MS/MS foram observados diferentes picos com massa 705. Pode-se inferir que outros isômeros estejam presentes. Também, é igualmente possível que carotenoides de estruturas nunca antes descritas estejam presentes. A identificação de carotenoides minoritários nessas amostras, bem como a confirmação das estruturas sugeridas requerem o cultivo em maior escala para purificação das substâncias e realização de análises mais detalhadas. Além disso, teria que se repetir os ensaios com o extrato de carotenoide do isolado 122 identificado como *Rhodococcus*, segundo RNAr 16S (Tabela 8).

Contrastando com carotenoides que foram produzidos por bactérias do gênero *Arthrobacter*, reportou-se que *Arthrobacter glacialis* biossintetiza carotenoides C50: decaprenoxantina, bisanhidrobacterioruberina, e Ag470 (ARPIN et al., 1975); *Arthrobacter* sp. e *A. psychrochitiniphilus*, decaprenoxantina e seus derivados (ARPIN et al., 1972; SILVA et al., 2019a; VILA et al., 2019); *Arthrobacter arilaitensis*, decaprenoxantina e derivados, e sarcinaxantina e derivados (GIUFFRIDA et al., 2016); *Arthrobacter agilis*, *Arthrobacter* sp., *Arthrobacter bussei*, os carotenoides bacterioruberina e derivados (FONG et al., 2001; SILVA et al., 2019a; FLEGLER et al., 2020; VASEY, 2022); e *Arthrobacter* sp., o carotenoide artroxantina (vermelho) (YU et al., 2022).

6.3. CURVAS DE CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES

A comparação das curvas de crescimento (Figura 18) das bactérias com as curvas de produção de carotenoides (Figura 19), pode indicar que a síntese de carotenoides está relacionada com o crescimento celular; iniciando-se na fase logarítmica e com maior acúmulo na fase estacionária. Resultado similar foi reportado de *Arthrobacter arilaitensis*

aonde a síntese de carotenoides parece estar relacionada com o crescimento, começando a fase logarítmica entre os tempos de 0 a 48h e a fase estacionária perto das 144h. (SUTTHIWONG; DUFOSSÉ, 2014). Adicionalmente, os resultados têm contraste com outros relatos de bactérias em que a produção de carotenoides começa na fase logarítmica, tornando-se evidente após a fase logarítmica média e com maior concentração chegando à fase estacionária (XIONG et al., 1993; GUYOMARC'H et al., 2000; SHATILA et al., 2013; LEE et al., 2014; IWASAKA et al., 2018; HAGAGGI; ABDUL-RAOUF, 2023). Também, o padrão de produção de carotenoides dos isolados actinobacterianos do presente estudo é quase aproximado ao padrão de outra Actinomycetota, *Dietzia natronolimnaea*, que começou a produção de carotenoides entre as 24h e 48h, e teve a maior produção entre as 120h e 144h (GHARIBZAHEDI et al., 2014). No caso de crescimento celular similar, reportou-se *Rhodococcus aetherivorans* com início da fase logarítmica entre 0 e 48h e início da fase estacionária aproximadamente nas 144h (JIANG et al., 2023). Mas, recomenda-se avaliar paralelamente a leitura da D.O e a contagem das células viáveis. Talvez também, adicionar mais tempos para determinar a fase de morte e o tempo de decréscimo da produção de carotenoides.

6.4. TESTE QUALITATIVO DE IRRADIAÇÃO UV-B, UV-C

Do teste qualitativo de irradiação UV-B e UV-C (Tabelas 9, 10 e Figuras 20, 21), a baixa resistência do isolado 107 não era esperada porque esta apresenta maior produção de carotenoides do que os isolados 5 e 122 (Figura 11). Adicionalmente, se os isolados 5 e 107 provavelmente produzem os mesmos carotenoides (decaprenoxantina e/ou sarcinaxantina), talvez os carotenoides minoritários do isolado 5 tenham contribuído para resistência aos danos foto-oxidativos, além dos mecanismos de reparo de DNA e de resposta ao estresse oxidativo próprios da bactéria. É importante ressaltar que os cultivos no meio sólido foram feitos no escuro para evitar fotorreativações depois da exposição à radiação UV porque alguns isolados pigmentados podem ser afetados pela luz, de forma positiva, negativa ou neutra (SUTTHIWONG et al., 2014b; VASEY, 2022). Vale ressaltar que os testes qualitativos foram feitos para ter uma ideia geral sobre a resistência das bactérias nas diferentes doses, sendo que a maioria dos isolados resistiram até a dose 8 kJ/m² de UV-B e 180 J/m² de UV-C, e poucos sobreviveram às doses superiores. Para ter maior reprodutibilidade, o teste poderia ser feito com leitura da D.O e da contagem de células viáveis em paralelo. Porém, foi necessário realizar posteriores testes quantitativos

para ter em conta as Unidades Formadoras de Colonias (UFC) e determinar as curvas de sobrevivência dos isolados.

6.5. ANÁLISE GENÔMICA

Dos resultados de análise genômica dos 4 isolados resistentes no teste qualitativo de irradiação UV (Tabela 11), só os valores de ANIb (limite aceitável para espécie, 95-96%) e DDH in-sílico (corte para delimitar espécies 70%) do isolado 5 estiveram altos, confirmando a identificação de *Arthrobacter psychrochitiniphilus*. No caso dos valores de DDH in-sílico e ANIb dos isolados 80, 90 e 122, eles foram inferiores ao limite, sendo que podem ser considerados como novas espécies dos gêneros *Arthrobacter* e *Rhodococcus*.

Segundo a anotação feita pelo programam Prokka, apenas a enzima 4,4'-diapophytoene desaturase foi encontrada na anotação dos genomas dos isolados *Arthrobacter* (5, 80, 90), faltando utilizar mais bases de dados porque para produzir os possíveis carotenoides identificados como decaprenoxantina e/ou sarcinaxantina, o ideal seria encontrar no mínimo enzimas licopeno elongase e ciclases heterodiméricas que são indispensáveis para a síntese desses tipos de carotenoides C50 (KRUBASIK et al., 2001a, 2001b; TAO et al., 2007; NETZER et al., 2010; HEIDER et al., 2014a, 2014b; HENKE et al., 2017b). Mas na anotação do *Rhodococcus* (122), foram encontradas as enzimas licopeno beta ciclase, 4,4'-diapolicopeno oxigenase e 15-cis-fitoeno sintase que podem indicar que o isolado produz algum carotenoide derivado de licopeno, mesmo que não foi possível fazer as análises de HPLC-DAD e HPLC-DAD-MS/S.

Segundo o AntiSMASH, os isolados 80 e 90 compartilharam semelhança com a enzima licopeno elongase que indica que podem sintetizar carotenoides C50. Mas, a anotação do isolado 5 teve semelhança com licopeno elongase e com épsilon ciclase que indica que pode sintetizar especificamente decaprenoxantina. No caso do isolado 122, a anotação compartilhou semelhança com enzimas para a síntese do carotenoide C40 isorenierateno.

O isolado 122 teve similaridade de presença de grupos de genes com *Rhodococcus* sp. de solos contaminados com petróleo da estação Arctowski (Antártica) e *Rhodococcus aetherivorans* da região Xinjiang Uygur, China (JIANG et al., 2023). Esses grupos de genes similares codificam enzimas como licopeno ciclase, diapolicopeno oxigenase, fitoeno sintase, geranilgeranil difosfato sintase e fitoeno desidrogenase. Essas enzimas participam na formação de β -caroteno que é o precursor do isorenierateno (STYCZYNSKI

et al., 2020), sendo que esse último carotenoide demonstrou ter atividade protetora contra radiação UV-B e foi isolado de *Rhodococcus* sp. do Oceano Ártico (CHEN et al., 2019).

6.6. CURVAS DE SOBREVIVENCIA SOB LUZ UV-B E UV-C

De acordo com as curvas de sobrevivência a luz UV-B entre as fases logarítmica e estacionária (Figuras 22, 24 a 27), a alta resistência do isolado 80 (*Arthrobacter* sp.) na fase estacionária inicial (maior quantidade de pigmento) em relação à fase logarítmica média (baixa produção de pigmento), coincide com a hipótese de que a maior concentração de carotenoides confere maior capacidade de proteção frente ao dano oxidativo (SHINDO et al., 2007; TIAN et al., 2007; MANDELLI et al., 2012; PRABHU et al., 2013; KUMAR et al., 2016; HOU; CUI, 2018; METWALLY et al., 2022; YU et al., 2022; JIANG et al., 2023). Neste caso, refere-se ao dano oxidativo que poderia causar a luz UV-B. Segundo SANTOS et al., (2013), a radiação UV-B pode causar foto-oxidação pela geração de ERO, e oxidação de proteínas e lipídeos. Também, esses danos oxidativos seriam menores do que os efeitos que causaria sob exposição a luz UV-A e maiores do que os efeitos sob exposição a luz UV-C (SANTOS et al., 2013). Assim, pode-se supor que o extrato carotenoide (decaprenoxantina e/ou sarcinaxantina) de *Arthrobacter* sp. (estirpe 80) que foi isolado da rizosfera de musgo poderia ter propriedade fotoprotetora frente ao dano oxidativo da luz UV-B, além dos mecanismos de reparo de DNA e resposta ao estresse oxidativo próprio da estirpe. Aquilo tem contraste com o fato de que carotenoides C50 possuem potenciais aplicações comerciais: sarcixantina e derivados estão disponíveis em pedidos de patente como componentes de formulações fotoprotetoras (GOKSØYR, 2010, 2013), e decaprenoxantina e bacterioruberina e derivados tem potencial de aplicação como componentes naturais de fotoprotetores (SILVA et al., 2019a; MA et al., 2023b).

Resultados similares aos de *Arthrobacter* sp. (estirpe 80) foram reportados em estudos com radiação UV-A, nos quais os pigmentos carotenoides de *Pantoea stewartii* são sugeridos como fatores de proteção contra os efeitos da radiação UV-A na fase estacionária, porque a cepa selvagem e a cepa mutante incolor foram igualmente susceptíveis na fase logarítmica média, mas a cepa selvagem foi mais resistente do que a mutante na fase estacionária (MOHAMMADI et al., 2012). Adicionalmente, em outro estudo da exposição à radiação UV-B, *Salmonella typhimurium* amarela de água de mar da Baía Ressurreição (Seward, Alaska) teve maior sobrevivência de células da fase estacionária em comparação com as da fase logarítmica (JOUX et al., 1999).

De acordo com as curvas de sobrevivência a luz UV-C entre as fases logarítmica e estacionária (Figuras 23, 28 a 31), a alta resistência de *Rhodococcus* (122) sob luz UV-C na fase logarítmica média (baixa produção de pigmento) pode ser pelo mecanismo de resistência que possui como o reparo de DNA e resposta ao estresse oxidativo característico do gênero. Esses resultados contrastam porque o dano foto-oxidativo que poderia causar a luz UV-C é menor do que os efeitos foto-oxidativos causados pela luz UV-B e UV-A (SANTOS et al., 2013), sendo que a luz UV-C pode causar mais quebras de fita dupla, resultante da interação direta com o DNA, em comparação com UV-A e UV-B. Assim, os carotenoides desses isolados não ajudariam muito na sobrevivência, pelo provável pouco dano oxidativo causado pela luz UV-C. Além, disso se encontraram resultados similares aonde *Moraxella* sp. foi mais sensível a UV-C na fase estacionária do que na fase logarítmica (KELLER; MAXCY, 1984). Em contraste com os isolados de *Arthrobacter* (5,80, e 90) que não foram resistentes a UV-C, houve um estudo similar que reportou isolados de *Arthrobacter* sp. de Sikkin Himalaya que se mostraram tolerantes (*Arthrobacter aplanus* e *Arthrobacter glacialis*) e não tolerantes a UV-C (*Arthrobacter scleromae*, *Arthrobacter ginsengisoli*) (MUKHIA et al., 2021).

Sobre resultados similares de curvas de sobrevivência a luz UV-B e UV-C nos quais o carotenoide parece ter um papel ativo sob UV-B, *Flavobacterium* sp. e *Brevibacterium* sp. do solo de mangue e seus pigmentos conferiram maior resistência ao UVA-B do que ao UV-C (PATKI et al., 2021), uma mistura de carotenoides de *Pedobacter terrae* com provável de violaxantina, fucoxantina, pirroxantina e nostoxantina conferiu resistência à radiação UV-B (CORREA-LLANTÉN et al., 2012), *Deinococcus* sp. que produz astaxantina foi altamente resistente a UV-B (SAJJAD et al., 2017), *Arthrobacter psychrochitiniphilus* que produz a decaprenoxantina e derivados, foi resistente a UV-B (SILVA et al., 2019a), e a bactéria *Cellulophaga fucicola* com produção de carotenoides zeaxantina e isômeros, b-criptoxantina e b-caroteno, resistiu a UV-B e não a UV-C (SILVA et al., 2019c), e ligeira diferença observada entre a resistência a UV-C de *Deinococcus radiodurans* produtora de deinoxantina e a sua cepa mutante incolor (TIAN et al., 2007).

Também, resultados quase similares ao isolado 80 (*Arthrobacter*) foram obtidos para uma *Arthrobacter* isolada do Deserto Namib: células pigmentadas (possível bacterioruberina) tiveram sobrevivência maior do que as células não pigmentadas sob irradiação UV-A e UV-B, mas com perda de proteção sob luz UV-C, contribuindo a pigmentação na tolerância a radiação UV (VASEY, 2022). Assim como, *Arthrobacter agilis* MB8-13 com carotenoides de cor rosa escura, isolada de um sistema aquático da

Antártica, teve mais resistência à radiação solar simulada do que isolados não pigmentados (DIESER et al., 2010). Em outro relato, *Arthrobacter psychrochitiniphilus* produtor de decaprenoxantina e derivados, e *Arthrobacter agilis*, que produz bacterioruberina e derivados, foram resistentes a UV-B, mas só *Arthrobacter agilis* foi ligeiramente resistente a UV-C (SILVA et al., 2019a).

Porém, o contrário é relatado em outros estudos em que carotenoides são relacionados com a radiação UV-C, *Deinococcus radiodurans* produtora de deinoxantina foi mais resistente do que sua cepa mutante incolora a UV-C (ZHANG et al., 2007; ZHOU et al., 2015), *Micrococcus lylae*, que produz astaxantina foi resistente a UV-C (MIRZAIE et al., 2015), *Hymenobacter* sp. que teve produção do possível pigmento cantaxantina foi mais resistente a UV-C (ÓRDENES-AENISHANSLINS et al., 2016) pigmentos vermelhos e amarelos de *Micrococcus roseus* e *Micrococcus luteus*, respectivamente, demonstraram atividade fotoprotetora contra luz UV-C (MOHANA et al., 2013), e *Lysobacter enzymogenes* com carotenoides semelhantes a xantomonadina foi mais resistente a UV-C do que a cepa mutante branca (WANG et al., 2013).

As curvas de sobrevivência na fase estacionaria foram comparadas com a cepa de referência *E.coli* K12A15, proficiente em sistemas de reparação/tolerância a danos do DNA (NGHIEM et al., 1988) (Figuras 32 a 35). Comparando com outro relato de fotoproteção frente a luz UV-B e utilizando o mesmo organismo modelo *E. coli* K12A15, o isolado 80 tem resistência média com 4 logs de morte, em comparação com a *Microbacterium* sp. LEMMJ01, isolada de solo ornitogênico da Ilha Rei George, que teve perto de 1 log de morte (REIS-MANSUR et al., 2019), todos na dose perto da dose 8 kJ/m². Mas comparando com o mesmo relato frente a radiação UV-C, o *Rhodococcus* (122) teve resistência média com 3 logs de morte, em comparação com a *Microbacterium* sp. LEMMJ01, que teve perto de 1log de morte (REIS-MANSUR et al., 2019) entre as doses 100 e 120 kJ/m². Os isolados mais resistentes à radiação tiveram essa característica, provavelmente pela sua adaptação a incidência de UV da Antártica.

No caso de relatos de resistência sob UV-B comparados com as da *Arthrobacter* (80), e *Rhodococcus* (122) do presente estudo, se reportou que *Arthrobacter agilis* das águas costeiras do Mar Mediterrâneo teve mediana resistência a radiação solar simulada (UV-A, UV-B e radiação fotosinteticamente ativa - PAR) (AGOGUÉ et al., 2005). Do relato dos lagos Andinos de Alta altitude, actinobactérias do gênero *Rhodococcus* e *Arthrobacter* foram reportados por ser altamente resistentes a radiação UV-B (RASUK et al., 2017). Um isolado de *Arthrobacter* da Enseada Poter (Ilha do Rei George) foi mais

resistente a luz solar do que o grupo Flexibacter-Cythophaga-Bacteroides (HERNÁNDEZ et al., 2004). Da laguna Azul, *Arthrobacter johnsonii* A2 e *Rhodococcus* sp. A5 mostraram alta resistência a UV-B no seu ambiente natural (FERNÁNDEZ-ZENOFF et al., 2014). Em outro reporte, *Rhodococcus* e sua mutante (lagos andinos de alta altitude de Argentina) tiveram similar sobrevivência, indicando que a perda de pigmento não afetou a resistência a UVR (BEQUER et al., 2013), assim como o presente estudo aonde o provável carotenoide do isolado 122 não influenciou na resistência a UV-B.

No caso de reportes de resistência sob UV-C comparados com as de *Rhodococcus* (122) e *Arthrobacter* (80) do presente estudo, se reportou que *Rhodococcus* do lago Baikal (Russia), Antártica, e ambientes hipersalinos da Crimeia e do Mar Morto, foi resistente a UV-C (GLADKA et al., 2021), os autores referem-se que houve correlação entre a resistência à irradiação UV e a posição taxonômica, o que permitiria considerar resistência aos raios UV como característica diagnóstica em nível de gênero. Mas mesmo sendo bactérias do mesmo gênero, pode haver diferenças de resistências à radiação UV-C entre elas, assim como as bactérias do gênero *Kocuria* que foram isoladas de águas de nascentes radioativas em Jachymov, República Checa (TIMKINA et al., 2022). Contrariamente ao encontrado no estudo atual, de isolados de verniz de rocha na montanha Whipple (Canada), *Arthrobacter* foi reportado como resistente a UV-C (KUHLMAN et al., 2005). Também, o isolado pigmentado *Arthrobacter mysorens* da Floresta Nacional Allegheny, Pennsylvania foi resistente a UV-C (GABANI et al., 2014). Adicionalmente, isolados do gênero *Arthrobacter* de ambientes limpos da NASA, mostraram resistência a UV-C (LA DUC et al., 2007; OSMAN et al., 2008). Por último, isolados da Antártica com produção provável de carotenoides foram identificados pertencentes aos gêneros *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, e apresentaram resistência a radiação UV-C (COPPOLA et al., 2023).

Em geral, mesmo com elevada incidência de luz solar na Antártica, o presente estudo teve presença de bactérias resistentes e não resistentes a radiação UV. Isso também é corroborado por alguns estudos que encontraram ou não correlação entre a alta radiação solar dos ambientes e a resistência das bactérias à luz UV (ARRIETA et al., 2000; FERNÁNDEZ-ZENOFF et al., 2006; GLADKA et al., 2021). Igualmente, vários microrganismos foram isolados de habitats naturais; indicando sua alta resistência à luz UV (MATALLANA-SURGET et al., 2012; GLADKA et al., 2021).

Os isolados 5 (*Arthrobacter psychrochitiniphilus*), 90 (*Arthrobacter* sp.) e 107 (*Arthrobacter* sp), apesar de terem semelhante composição de carotenoides majoritários em relação a estirpe 80 (*Arthrobacter* sp.), não apresentaram similar perfil resistência a

UV-B na fase estacionária inicial (maior concentração de carotenoides) em comparação à fase logarítmica (baixa concentração de carotenoides). Aquilo pode ser devido a diferenças entre as respostas dos microrganismos pigmentados sob UV além que a estrutura dos pigmentos, a localização na membrana e a concentração também podem influenciar (DIESER et al., 2010). É possível que a proteção contra radiação nessas bactérias seja dependente de outros fatores de maquinaria celular como reparo de DNA e resposta ao estresse oxidativo, ou ainda que há substâncias minoritárias presentes nos extratos da estirpe 80 (maior sobrevivência na fase estacionaria inicial), mas ausentes nas demais estirpes, que sejam responsáveis pela maior proteção apresentada por esse isolado.

Os pigmentos do extrato de carotenoides do *Arthrobacter* isolado de musgo (estirpe 80) poderiam estar envolvidos na proteção contra radiação UV-B, mas faltariam realizar mais testes para confirmar a fotoproteção do extrato como misturá-lo com a cultura sem pigmento da cepa modelo *E. coli* K12A15 para verificar quanto de proteção conferem os carotenoides presentes. Sendo potencialmente promissor porque a fotoproteção de metabolitos contra UV-B é um fator interessante, já que os raios UV-B são os principais responsáveis pelo câncer de pele e queimaduras solares (SAGE et al., 2012; SARKAR; GADDAMEEDHI, 2018; RAI et al., 2022). Além, disso baseados na diversidade das respostas fotobiológicas dos isolados sob luz UV, pode haver uma abordagem integrada de aspectos moleculares, fisiológicos e/ou produção de metabolitos secundários que ajudem a entender a sobrevivência dos isolados das amostras de solo da Antártida Marítima frente a radiação UV.

7. CONCLUSÕES

Objetivou-se com a proposta do presente trabalho avaliar o potencial das actinobactérias da Antártica na produção de elevadas concentrações de carotenoides, e na influência dos pigmentos na resistência sob radiação UV-B e UV-C. Para atingir o objetivo, primeiramente as bactérias foram submetidas a bioprospecção, a determinação das curvas de produção de carotenoides, e testes qualitativos e quantitativos de irradiação UV.

As condições de alta radiação UV na Antártica podem influenciar no estabelecimento de microrganismos que resistem à radiação UV, sendo uma fonte rica de bactérias pigmentadas. A maioria das actinobactérias reativadas da Coleção de Bactérias Antárticas do LEMM foram identificadas e caracterizadas como produtoras

de pigmentos carotenoides, mas a maior produção dos pigmentos foi encontrada em *Arthrobacter psychrochitiniphilus* (5), mais três espécies não identificadas do gênero *Arthrobacter* (80, 90, 107), e juntamente com outra do gênero *Rhodococcus* (122). Este estudo identificou parcialmente carotenoides raros C50 (decaprenoxantina ou sarcinaxantina) do gênero *Arthrobacter*, confirmado por a presença de enzimas da via metabólica desses carotenoides na anotação genômica das estirpes de *Arthrobacter*. Por outro lado, além de mecanismos de resposta ao estresse oxidativo e de reparo de DNA, a presença da maior concentração de carotenoides na fase estacionária do *Arthrobacter* sp. (80), coletado de rizosfera de musgo, provavelmente influenciou na maior resistência a radiação UV-B. Assim como, a maior resistência a radiação UV-C foi característica do isolado *Rhodococcus* sp. (122) na fase logarítmica com baixa produção de carotenoides, sendo a resistência mais relacionada a mecanismos de reparo de DNA e de resposta ao estresse oxidativo.

Este trabalho contribui no entendimento do possível efeito fotoprotetor dos carotenoides raros C50 (decaprenoxantina ou sarcinaxantina), principalmente em possíveis novas espécies bacterianas da Antártica como a *Arthrobacter* sp. (80) de rizosfera de musgo da Ilha do Rei George, Península Antártica. Estas são informações iniciais e relevantes visando a exploração da fotoproteção de bactérias rizosféricas, produtoras de carotenoides raros C50 da Península Antártica. Este trabalho é precursor na exploração do potencial de novas espécies bacterianas de solos rizosféricos da Ilha Rei George para produção de carotenoides C50 fotoprotetores e espera-se a continuidade e aprofundamento do estudo, visando a aplicação como compostos em cosméticos com foco no efeito fotoprotetor.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAKUMOV, E. V. Particle-size distribution in soils of West Antarctica. **Eurasian Soil Science**, v. 43, n. 3, p. 297–304, 2010.

ABAKUMOV, E. V. et al. Ornithogenic factor of soil formation in Antarctica: a review. **Eurasian Soil Science**, v. 54, n. 4, p. 528–540, 2021.

AFRA, S. et al. A novel red pigment from marine *Arthrobacter* sp. G20 with specific anticancer activity. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 5, p. 1228–1236, 2017.

AGARWAL, H. et al. Bacterial Pigments and Their Multifaceted Roles in Contemporary Biotechnology and Pharmacological Applications. **Microorganisms**, v. 11, n. 3, p. 614, 2023.

- AGARWAL, S.; RAO, A. V. Carotenoids and chronic diseases. **Drug Metabolism and Drug Interactions**, v. 17, n. 1–4, 2000.
- AGOGUÉ, H. et al. Resistance of marine bacterioneuston to solar radiation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 5282–5289, 2005.
- AGRAWAL, P. et al. RiPPMiner: a bioinformatics resource for deciphering chemical structures of RiPPs based on prediction of cleavage and cross-links. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. W1, p. W80–W88, 2017.
- AL-BABILI, S.; BOUWMEESTER, H. J. Strigolactones, a novel carotenoid-derived plant hormone. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, n. 1, p. 161–186, 2015.
- ALBRECHT, M. et al. Novel hydroxycarotenoids with improved antioxidative properties produced by gene combination in *Escherichia coli*. **Nature Biotechnology**, v. 18, n. 8, p. 843–846, 2000.
- ALCÁNTARA-HERNÁNDEZ, R. J. et al. Antarctic Bacteria in Microbial Mats From King George Island, Maritime Antarctica. *In*: PANDEY, A.; SHARMA, A. (Ed.). **Extreme Environments: Unique Ecosystems -- Amazing Microbes**. CRC Press, 2021, p. 171-183.
- ANDREWS, S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Babraham Bioinformatics, Babraham Institute, Cambridge, United Kingdom, 2010.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução – RDC nº 237 de 22 de agosto de 2002. Regulamento técnico sobre protetores solares. **Diário Oficial da União**, Brasília.
- ARANDA, J. et al. *Acinetobacter baumannii* RecA protein in repair of DNA damage, antimicrobial resistance, general stress response, and virulence. **Journal of Bacteriology**, v. 193, n. 15, p. 3740–3747, 2011.
- ARMSTRONG, G. A. Genetics of eubacterial carotenoid biosynthesis: a colorful tale. **Annual Review of Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 629–659, 1997.
- ARPIN, N. et al. Bacterial carotenoids, XXXVIII C50-Carotenoid 9. Isolation of decaprenoxanthin mono- and di-glucoside from an *Arthrobacter sp.* **Acta Chemica Scandinavica**, v. 26, n. 6, p. 2524-2526, 1972.
- ARPIN, N. et al. Bacterial carotenoids. XLVI. C50-Carotenoids. 14. C50-Carotenoids from *Arthrobacter glacialis*. **Acta Chemica Scandinavica. Series B: Organic Chemistry and Biochemistry** v. 29b, p. 921–926, 1975.
- ARRAGE, A. A. et al. Survival of subsurface microorganisms exposed to UV radiation and hydrogen peroxide. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 11, p. 3545–3550, 1993.
- ARRIETA, J. M. et al. Interspecific variability in sensitivity to UV radiation and subsequent recovery in selected isolates of marine bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 4, p. 1468–1473, 2000.

- ASHKENAZI, D. Y. et al. Enhancing Bioproducts in Seaweeds via Sustainable Aquaculture: Antioxidant and Sun-Protection Compounds. **Marine Drugs**, v. 20, n. 12, p. 767, 2022.
- ASHOKKUMAR, V. et al. Technological advances in the production of carotenoids and their applications– A critical review. **Bioresource Technology**, v. 367, p. 128215, 2023.
- ASKER, D.; AWAD, T. S.; BEPPU, T.; UEDA, K. Isolation, characterization, and diversity of novel radiotolerant carotenoid-producing bacteria. *In*: BARREDO, J.-L. (Ed.). **Microbial Carotenoids from Bacteria and Microalgae, Methods in Molecular Biology**. Humana Press, Totowa NJ, 2012, v. 892. p. 21–60.
- ASTUDILLO, Á. et al. Advances in Agroindustrial Waste as a Substrate for Obtaining Eco-Friendly Microbial Products. **Sustainability**, v. 15, n. 4, p. 3467, 2023.
- ATLAS, R. M. Principles of microbiology. Wm. C. **C Brown Publiser USA**, 1997.
- BALASUBRAMANIAM, A. et al. Skin bacteria mediate glycerol fermentation to produce electricity and resist UV-B. **Microorganisms**, v. 8, n. 7, p. 1092, 2020.
- BALKS, M. R. et al. Windows on Antarctic soil–landscape relationships: comparison across selected regions of Antarctica. **Geological Society, London, Special Publications**, v. 381, n. 1, p. 397–410, 2013.
- BALLARÉ, C. L. et al. Effects of solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. Patterns, mechanisms, and interactions with climate change. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 10, n. 2, p. 226–241, 2011.
- BALTZ, R. H. Gifted microbes for genome mining and natural product discovery. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 44, n. 4–5, p. 573–588, 2017.
- BARGAGLI, R. Environmental contamination in Antarctic ecosystems. **Science of The Total Environment**, v. 400, n. 1–3, p. 212–226, 2008.
- BARGAGLI, R. et al. Baseline concentrations of elements in the Antarctic macrolichen *Umbilicaria decussata*. **Chemosphere**, v. 38, n. 3, p. 475–487, 1999.
- BARGAGLI, R. Terrestrial ecosystems of the Antarctic Peninsula and their responses to climate change and anthropogenic impacts. **Ukrainian Antarctic Journal**, n. 2, p. 84–97, 2020.
- BARKA, E. A. et al. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 1, p. 1–43, 2016.
- BARRETT, J. E. et al. Terrestrial ecosystem processes of Victoria Land, Antarctica. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 10, p. 3019–3034, 2006.
- BATTIE, C. et al. New insights in photoaging, UVA induced damage and skin types. **Experimental Dermatology**, v. 23, p. 7–12, 2014.

BBC RESEARCH. The Global Market of Carotenoids, 2022. Disponível em: <https://www.bccresearch.com/market-research/food-and-beverage/the-global-market-for-carotenoids.html> (acesso 08.03.2023).

BEDOUX, G. et al. Bioactive components from seaweeds: Cosmetic applications and future development. In: BOURGOUGNON, N. (Ed.) **Advances in Botanical Research**. Academic Press, 2014. v. 71, p. 345–378.

BENAVENT-GONZÁLEZ, A. et al. Identity of plant, lichen and moss species connects with microbial abundance and soil functioning in maritime Antarctica. **Plant and Soil**, v. 429, n. 1–2, p. 35–52, 2018.

BENDIA, A. G. et al. A mosaic of geothermal and marine features shapes microbial community structure on Deception Island Volcano, Antarctica. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 899, 2018a.

BENDIA, A. G. et al. Surviving in hot and cold: psychrophiles and thermophiles from Deception Island volcano, Antarctica. **Extremophiles**, v. 22, n. 6, p. 917–929, nov. 2018b.

BENDIA, A. G. et al. Diversity of free-living prokaryotes on terrestrial and marine Antarctic habitats. **bioRxiv**, p. 2021-2024, 2021.

BEQUER, S. et al. Lipid storage in high-altitude Andean Lakes extremophiles and its mobilization under stress conditions in *Rhodococcus* sp. A5, a UV-resistant actinobacterium. **Extremophiles**, v. 17, n. 2, p. 217–227, 2013.

BERNHARD, G. et al. UV climatology at McMurdo station, Antarctica, based on version 2 data of the National Science Foundation's ultraviolet radiation monitoring network. **Journal of Geophysical Research**, v. 111, n. D11, p. D11201, 2006.

BERNHARD, G. et al. UV climatology at Palmer Station, Antarctica, based on version 2 NSF network data. In: Bernhard, G. et al., (Eds.) **Ultraviolet ground-and space-based measurements, models, and effects**. SPIE, 2005, v. 5886, p. 51-62.

BERNHARD, G. H. et al. Updated analysis of data from Palmer Station, Antarctica (64° S), and San Diego, California (32° N), confirms large effect of the Antarctic ozone hole on UV radiation. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 21, n. 3, p. 373–384, 2022.

BERNHARD, G. H. et al. Stratospheric ozone, UV radiation, and climate interactions. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 22, p. 937-989, 2023.

BERNHARD, G.; STIERLE, S. Trends of UV Radiation in Antarctica. **Atmosphere**, v. 11, n. 8, p. 795, 2020.

BERTANI, G. Studies on lysogenesis I: the mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**, v. 62, n. 3, p. 293–300, 1951.

BEUTNER, S. et al. Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of β -carotene in antioxidant functions: Antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 6, p. 559–568, 2001.

- BHOSALE, P.; BERNSTEIN, P. S. β -Carotene production by *Flavobacterium multivorum* in the presence of inorganic salts and urea. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 31, n. 12, p. 565–571, 2004.
- BHOSALE, P. et al. Stability of β -Carotene in spray dried preparation of *Rhodotorula glutinis* mutant 32. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, n. 3, p. 584–590, 2003.
- BLIN, K. et al. The AntiSMASH database version 3: increased taxonomic coverage and new query features for modular enzymes. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D639–D643, 2021.
- BLIN, K. et al. AntiSMASH 7.0: New and Improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. **Nucleic Acids Research**, p. gkad344, 2023.
- BLOUGH, N. V.; ZEPP, R. G. Reactive Oxygen Species in Natural Waters. In: Foote, C.S. et al. (Eds.) **Active Oxygen in Chemistry. Structure Energetics and Reactivity in Chemistry Series (SEARCH Series)**. Chapman and Hall, New York, 1995, v. 2, p. 280–333.
- BOCKHEIM, J. G. Soil development rates in the transantarctic mountains. **Geoderma**, v. 47, n. 1–2, p. 59–77, 1990.
- BOCKHEIM, J. G.; MCLEOD, M. Soil distribution in the McMurdo dry valleys, Antarctica. **Geoderma**. v. 144, n. 1, p. 43–49, 2008.
- BOHN. Carotenoids and markers of oxidative stress in human observational studies and intervention trials: Implications for chronic diseases. **Antioxidants**, v. 8, n. 6, p. 179, 2019.
- BOLGER, A. M. et al. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, 2014.
- BONVICINI, F. et al. Targeting the bacterial membrane with a new polycyclic privileged structure: A powerful tool to face *Staphylococcus aureus* infections. **ACS Infectious Diseases**, v. 5, n. 9, p. 1524–1534, 2019.
- BORIĆ, M. et al. Prodigiosin from vibrio Sp. DSM 14379; a new UV-protective pigment. **Microbial Ecology**, v. 62, n. 3, p. 528–536, 2011.
- BOSSHARD, F. et al. Protein oxidation and aggregation in UVA-irradiated *Escherichia coli* cells as signs of accelerated cellular senescence. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 11, p. 2931–2945, 2010a.
- BOSSHARD, F. et al. The respiratory chain is the cell's Achilles' heel during UVA inactivation in *Escherichia coli*. **Microbiology**, v. 156, n. 7, p. 2006–2015, 2010b.
- BOTTOS, E. M. et al. Bacterial community structures of Antarctic soils. In: COWAN, D. A. (Ed.). **Antarctic Terrestrial Microbiology: Physical and Biological Properties of Antarctic Soils**. Springer, Berlin, 2014, p. 9-33.
- BOWMAN, K. K. et al. A new ATP-independent DNA endonuclease from *Schizosaccharomyces pombe* that recognizes cyclobutane pyrimidine dimers and 6–4 photoproducts. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 15, p. 3026–3032, 1994.

- BRITTON, G. Structure and Properties of Carotenoids in Relation to Function. **The FASEB Journal**, v. 9, n. 15, p. 1551–1558, 1995a.
- BRITTON, G. UV/visible spectroscopy. In: BRITTON, G. et al. (Eds.). **Carotenoids. Vol. 1B: Spectroscopy**. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland, 1995b, p. 13-62.
- BUTALA, M. et al. The bacterial LexA transcriptional repressor. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 66, n. 1, p. 82, 2008.
- BUTT, S. T.; CHRISTENSEN, T. Toxicity and phototoxicity of chemical sun filters. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 91, n. 1–3, p. 283–286, 2000.
- CALEGARI-SANTOS, R. et al. Carotenoid production by halophilic archaea under different culture conditions. **Current Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 641–651, 2016.
- CÂMARA, P. E. A. S. et al. Diversity and ecology of Chlorophyta (Viridiplantae) assemblages in protected and non-protected sites in Deception Island (Antarctica, South Shetland Islands) assessed using an NGS approach. **Microbial Ecology**, v. 81, n. 2, p. 323–334, 2021.
- CAMPBELL, I. B.; CLARIDGE, G. G. C. **Antarctica: soils, weathering processes and environment**. Elsevier, Amsterdam, 1987.
- CAPPELLETTI, M. et al. Biotechnology of *Rhodococcus* for the production of valuable compounds. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 20, p. 8567–8594, 2020.
- CARREÑO-LÓPEZ, R. et al. Pyrroloquinoline quinone (PQQ): Role in Plant-Microbe Interactions. In: SINGH, H. B. et al. (Eds.). **Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms: Discovery and Applications**. Springer, Singapore, 2019, p. 169–184.
- CASANOVAS, P. et al. Multi-scale patterns of moss and lichen richness on the Antarctic Peninsula. **Ecography**, v. 36, n. 2, p. 209–219, 2013.
- CASAS-BELTRAN, D. A. et al. Estimation of the discharge of sunscreens in aquatic environments of the Mexican Caribbean. **Environments**, v. 7, n. 2, p. 15, 2020.
- CASTENHOLZ, R. W. Phototrophic Bacteria Under UV Stress. In: SECKBACH, J. (Ed.). **Origins. Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology**. Springer, Dordrecht, 2004, p. 445–461.
- CASTRO-ALFÉREZ, M. et al. Mechanistic model of the *Escherichia coli* inactivation by solar disinfection based on the photo-generation of internal ROS and the photo-inactivation of enzymes: CAT and SOD. **Chemical Engineering Journal**, v. 318, p. 214–223, 2017.
- CEDIEL, J. D. D. et al. Prodigiosin production and photoprotective/antigenotoxic properties in *Serratia marcescens* indigenous strains from eastern cordillera of Colombia. **Photochemistry and Photobiology**, v. 98, n. 1, p. 254–261, 2022.
- CELEDÓN, R. S.; DÍAZ, L. B. Natural pigments of bacterial origin and their possible biomedical applications. **Microorganisms**, v. 9, n. 4, p. 739, 2021.

- CEZARE-GOMES, E. A. et al. Potential of microalgae carotenoids for industrial application. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 188, n. 3, p. 602–634, 2019.
- CHADNI, Z. et al. Extraction and optimisation of red pigment production as secondary metabolites from *Talaromyces verruculosus* and its potential use in textile industries. **Mycology**, v. 8, n. 1, p. 48–57, 2017.
- CHAMBERLAIN, J.; MOSS, S. H. Lipid peroxidation and other membrane damage produced in *Escherichia coli* K1060 by near-UV radiation and deuterium oxide. **Photochemistry and Photobiology**, v. 45, n. 5, p. 625-630, 1987
- CHANDRA, R. et al. Phycobiliproteins: a novel green tool from marine origin blue-green algae and red algae. **Protein and peptide letters**, v. 24, n. 2, p. 118-125.
- CHANG, F.-Y.; BRADY, S. F. Discovery of indolotryptoline antiproliferative agents by homology-guided metagenomic screening. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 7, p. 2478–2483, 2013.
- CHATTOPADHYAY, M. K. et al. Carotenoid pigments of an Antarctic psychrotrophic bacterium *Micrococcus roseus*: temperature dependent biosynthesis, structure, and interaction with synthetic membranes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 239, n. 1, p. 85-90, 1997.
- CHATTOPADHYAY, P. et al. Biotechnological potential of natural food grade biocolorants. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 17, 2008.
- CHEN, J. et al. Oxidative stress in the skin: Impact and related protection. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 43, n. 5, p. 495–509, 2021.
- CHEN, Y. et al. Potential TSPO ligand and photooxidation quencher isorenieratene from Arctic Ocean *Rhodococcus* sp. B7740. **Marine drugs**, v. 17, n. 6, p. 316, 2019.
- CHEN, Y. et al. Memory Effect on the Survival of *Deinococcus radiodurans* after Exposure in Near Space. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 2, p. e03474-22, 2023.
- CHIARI, B. G. et al. Synergistic effect of green coffee oil and synthetic sunscreen for health care application. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 389–393, 2014.
- CHONG, C. W. et al. Patterns in the distribution of soil bacterial 16S rRNA gene sequences from different regions of antarctica. **Geoderma** 2012, v. 181–182, p. 45–55, 2012.
- CHOURABI, K. et al. UV-C adaptation of Shigella: morphological, outer membrane proteins, secreted proteins, and lipopolysaccharides effects. **Current Microbiology**, v. 74, n. 11, p. 1261-1269, 2017.
- CHU, P. L. et al. Actinobacteria from Greenwich Island and Dee Island: isolation, diversity and distribution. **Life Sciences, Medicine and Biomedicine**, v. 1, p. 1, 2017.
- CIMERMANCIC, P. et al. . Insights into secondary metabolism from a global analysis of prokaryotic biosynthetic gene clusters. **Cell**, v. 158, n. 2, p. 412-421, 2014.

- CLAUDITZ, A. et al. Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 8, p. 4950-4953, 2006.
- COCKELL, C. S.; KNOWLAND, J. Ultraviolet radiation screening compounds. **Biological Reviews**, v. 74, n. 3, p. 311-345, 1999.
- COLE, J. R. et al. The Ribosomal. The Ribosomal Database Project: improved alignments and new tools for rRNA analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 37, n. 1, p. D141–D145, 2009.
- MARGESIN, R.; COLLINS, T. Microbial ecology of the cryosphere (glacial and permafrost habitats): current knowledge. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 6, p. 2537-2549, 2019.
- CONG, B. et al. Diversity of cultivable microbes from soil of the Fildes Peninsula, Antarctica, and their potential application. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020.
- CONVEY, P. et al. Antarctic terrestrial life—challenging the history of the frozen continent. **BIOLOGICAL REVIEWS**, v. 83, n. 2, p. 103–117, 2008.
- COPPOLA, D. et al. Biodiversity of UV-Resistant Bacteria in Antarctic Aquatic Environments. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 11, n. 5, p. 968, 2023.
- CORDERO, R. R. et al. Persistent extreme ultraviolet irradiance in Antarctica despite the ozone recovery onset. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2022.
- CORREA-LLANTÉN, D. N. Antioxidant capacity of novel pigments from an Antarctic bacterium. **Journal of Microbiology**, v. 50, n. 3, p. 374-379, 2012.
- CORSOLINI, S.; ADEMOLLO, N. POPs in Antarctic ecosystems: is climate change affecting their temporal trends? **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 24, n. 10, p. 1631–1642, 2022.
- CORTESÃO, M. et al. *Bacillus subtilis* Spore Resistance to Simulated Mars Surface Conditions. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, p. 333, 2019.
- COWAN, D. A.; TOW, L. A. Endangered Antarctic environments. **Annual Review of Microbiology**, v. 58, n. 1, p. 649–690, 2004.
- CRUPI, P. et al. Overview of the Potential Beneficial Effects of Carotenoids on Consumer Health and Well-Being. **Antioxidants**, v. 12, n. 5, p. 1069, 2023.
- CUDE, W. N. et al. Production of the antimicrobial secondary metabolite indigoidine contributes to competitive surface colonization by the marine roseobacter *Phaeobacter* sp. strain Y4I. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 14, p. 4771–4780, 2012.
- CUNNINGHAM, F. X.; GANTT, E. Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 49, n. 1, p. 557–583, 1998.

- CUTZU, R. et al. From crude glycerol to carotenoids by using a *Rhodotorula glutinis* mutant. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 6, p. 1009–1017, 2013.
- DA SILVA, A. C. et al. Predicting the biotechnological potential of bacteria isolated from Antarctic soils, including the rhizosphere of vascular plants. **Polar Biology**, v. 40, n. 7, p. 1393–1407, 2017. 40:1393-1407.
- DAHE, Q. et al. Distribution of stable isotopes in surface snow along the route of the 1990 International Trans-Antarctica Expedition. **Journal of Glaciology**, v. 40, n. 134, p. 107-118, 1994.
- DAHL, T. A. et al. Comparison of killing of gram-negative and gram-positive bacteria by pure singlet oxygen. **Journal of bacteriology**, v. 171, n. 4, p. 2188-2194, 1989.
- DAHL, T. A. et al. Pure singlet oxygen cytotoxicity for bacteria. **Photochemistry and Photobiology**, v. 46, n. 3, p. 345-352, 1987.
- DALY, M. J. et al. Protein oxidation implicated as the primary determinant of bacterial radioresistance. **PLoS Biology**, v. 5, n. 4, p. e92, 2007.
- DALY, M. J. et al. Small-molecule antioxidant proteome-shields in *Deinococcus radiodurans*. **PLOS ONE**, V. 5, n. 9, p. e12570, 2010
- DAS, A. et al. An update on microbial carotenoid production: application of recent metabolic engineering tools. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 77, n. 3, p. 505–512, 2007.
- DAVIES, B. H. Carotenoids In: Goodwin, T. W (Ed.). **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. Academic Press, London, England, 1976, p. 38-165.
- DAVINELLI, S. et al. Astaxanthin in skin health, repair, and disease: A comprehensive review **Nutrients**, v. 10, n. 4, p. 522, 2018.
- DAY, T. A.; NEALE, P. J. Effects of UV-B radiation on terrestrial and aquatic primary producers. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 33, n. 1, p. 371-396, 2002.
- DE BARROS, C. R. et al. Mycobacterial diversity in soil samples from King George Island, Antarctica. **Polar Science**, v. 34, p. 100890, 2022.
- DE LA COBA, F. et al. UVA and UVB photoprotective capabilities of topical formulations containing mycosporine-like amino acids (MAAs) through different biological effective protection factors (BEPFs). **Marine Drugs**, v. 17, n. 1, p. 55, 2019.
- DE LEMOS, E. A. et al. The role and potential biotechnological applications of biosurfactants and bioemulsifiers produced by psychrophilic/psychrotolerant bacteria. **Polar Biology**, v. 46, n. 5, p. 397–407, 2023.
- DE MAAYER, P. et al. Some like it cold: understanding the survival strategies of psychrophiles. **EMBO reports**, v. 15, n. 5, p. 508–517, 2014.

- DENNIS, P. G. et al. Soil bacterial diversity is positively associated with air temperature in the maritime Antarctic. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 2686, 2019.
- DI MASCIO, P. et al. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 274, n. 2, p. 532–538, 1989.
- DIESER, M. et al. Carotenoid pigmentation in Antarctic heterotrophic bacteria as a strategy to withstand environmental stresses. **Arctic, Antarctic, and Alpine Research**, v. 42, n. 4, p. 396-405, 2010.
- DILLON, J. G.; CASTENHOLZ, R. W. Scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment, protects against UVC radiation: implications for early photosynthetic life. **Journal of Phycology**, v. 35, n. 4, p. 673-681, 1999.
- DING, J. et al. Application of marine microbial natural products in cosmetics. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 892505, 2022.
- DIZDAROGLU, M. et al. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 32, n. 11, p. 1102-1115, 2002.
- DOYTCHINOV, V. V.; DIMOV, S. G. Microbial community composition of the Antarctic ecosystems: Review of the bacteria, fungi, and archaea identified through an NGS-based metagenomics approach. **Life**, v. 12, n. 6, p. 916, 2022.
- DSOUZA, M. et al. Genomic and phenotypic insights into the ecology of *Arthrobacter* from Antarctic soils. **BMC genomics**, v. 16, n. 1, p. 1-18, 2015.
- DUTEIL, L. et al. Prevention of Polymorphic Light Eruption Afforded by a Very High Broad-Spectrum Protection Sunscreen Containing Ectoin. **Dermatology and Therapy**, v. 12, n. 7, p. 1603–1613, 2022.
- DUFOSSÉ, L. Microbial production of food grade pigments. **Food Technology and Biotechnology**, v. 44, n. 3, 2006.
- DUFOSSÉ, L. Current and Potential Natural Pigments from Microorganisms (Bacteria, Yeasts, Fungi, Microalgae). In: CARLE, R., SCHWEIGGERT, R.M.(Eds.) **Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages**. Elsevier Ltd., Cambridge, UK, 2016, p. 337–354.
- DYKYY, I.; BEDERNICHEK, T. Gentoo Penguins (*Pygoscelis papua*) started using mosses as nesting material in the southernmost colony on the Antarctic Peninsula (Cape Tuxen, Graham Land). **Polar Biology**, v. 45, n. 1, p. 149–152, 2022.
- ECHAVARRI-ERASUN, C., JOHNSON, E. A. Fungal carotenoids. In: KHACHATOURIANS, G. G.; ARORA, D. K. (Eds.) **Applied mycology and biotechnology**. Elsevier, 2002, v.2, p. 45-85.
- EDGE, R. et al. The carotenoids as anti-oxidants—a re]view. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 41, n. 3, p. 189-200, 1997.

- EDGE, R.; TRUSCOTT, T. Singlet oxygen and free radical reactions of retinoids and carotenoids—A review. **Antioxidants**, v. 7, n. 1, p. 5, 2018.
- EDWARDS, H. G. M. et al. Raman spectroscopic study of the photoprotection of extremophilic microbes against ultraviolet radiation. **International Journal of Astrobiology**, v. 5, n. 4, p. 313-318, 2006.
- EGGERSDORFER, M.; WYSS, A. Carotenoids in human nutrition and health. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 652, p. 18–26, 2018.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. UV Index Overview, US, 2022. Disponível em: <https://www.epa.gov/enviro/uv-index-overview> (acesso 08.03.2023).
- ELMETS, C. A. et al. Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 44, n. 3, p. 425–432, 2001.
- FAJARDO-CAVAZOS, P. et al. Molecular cloning and characterization of the *Bacillus subtilis* spore photoproduct lyase (spl) gene, which is involved in repair of UV radiation-induced DNA damage during spore germination. **Journal of Bacteriology**, v. 175, n. 6, p. 1735-1744, 1993.
- FANG, N. et al. De novo synthesis of astaxanthin: From organisms to genes. **Trends in Food Science & Technology**, v. 92, p. 162–171, 2019.
- FARCI, D. et al. The S-layer protein DR_2577 binds deinoxanthin and under desiccation conditions protects against UV-radiation in *Deinococcus radiodurans*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 155, 2016.
- FARCI, D. et al. Coexisting properties of thermostability and ultraviolet radiation resistance in the main S-layer complex of *Deinococcus radiodurans*. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 17, n. 1, p. 81–88, 2018.
- FARMAN, J. C. et al. Large Losses of Total Ozone in Antarctica Reveal Seasonal ClOx/NOx Interaction. **Nature**, v. 315, n. 6016, p. 207–210, 1985.
- FATIMA, N. et al. Alterations in the antibacterial potential of *Synechococcus* spp. PCC7942 under the influence of UV-B radiations on skin pathogens. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 7, p. 1657–1662, 2017.
- FAURE, H. et al. Carotenoids: 2. Diseases and supplementations studies. **Annales De Biologie Clinique**, v. 57, n. 3, p. 273-82, 1999.
- FERNÁNDEZ ZENOFF, V. et al. Diverse responses to UV-B radiation and repair mechanisms of bacteria isolated from high-altitude aquatic environments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 12, p. 7857-7863, 2006.
- FERNÁNDEZ-ZENOFF, M. V. et al. Diurnal variation in bacterioplankton composition and DNA damage in the microbial community from an Andean oligotrophic lake. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 46, n. 4, p. 358–362, 2014.

- FISHER, M. B.; NELSON, K. L. Inactivation of *Escherichia coli* by polychromatic simulated sunlight: evidence for and implications of a fenton mechanism involving iron, hydrogen peroxide, and superoxide. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 3, p. 935-942, 2014.
- FIVENSON, D. et al. Sunscreens: UV filters to protect us: Part 2-Increasing awareness of UV filters and their potential toxicities to us and our environment. **International Journal of Women's Dermatology**, v. 7, n. 1, p. 45–69, 2021
- FLEGLER, A. et al. *Arthrobacter bussei* sp. nov., a pink-coloured organism isolated from cheese made of cow's milk. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 5, p. 3027–3036, 2020.
- FLEGLER, A.; LIPSKI, A. The C50 carotenoid bacterioruberin regulates membrane fluidity in pink-pigmented *Arthrobacter* species. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 1, p. 70, 2022.
- FONG, N. et al. Carotenoid accumulation in the psychrotrophic bacterium *Arthrobacter agilis* in response to thermal and salt stress. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 5, p. 750–756, 2001.
- FOONG, C. P. et al. Metagenomic analyses of the dominant bacterial community in the Fildes Peninsula, King George Island (South Shetland Islands). **Polar Science**, v. 4, n. 2, p. 263–273, 2010.
- FOOTE, C. S. Mechanisms of photosensitized oxidation: there are several different types of photosensitized oxidation which may be important in biological systems. **Science**, v. 162, n. 3857, p. 963-970, 1968.
- FOOTE, C. S.; DENNY, R. W. . Chemistry of singlet oxygen. VII. Quenching by beta-carotene. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 22, p. 6233-6235, 1968.
- FREITAS, J. V. et al. Photostability evaluation of five UV-filters, trans-resveratrol and beta-carotene in sunscreens. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 78, p. 79–89, 2015.
- FREITAS, M. V. et al. Red Seaweed Pigments from a Biotechnological Perspective. **Phycology**, v. 2, n. 1, p. 1–29, 2021.
- FRIDOVICH, I. Oxygen toxicity: a radical explanation. **Journal of Experimental Biology**, v. 201, n. 8, p. 1203-1209, 1998.
- FRIGAARD, N.-U. et al. Genetic manipulation of carotenoid biosynthesis in the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 16, p. 5210-5220, 2004.
- FUENTES-TRISTAN, S. et al. Bioinspired biomolecules: Mycosporine-like amino acids and scytonemin from *Lyngbya* sp. with UV-protection potentialities. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 201, p. 111684, 2019.

- GABANI, P. et al. Bio-signature of ultraviolet-radiation-resistant extremophiles from elevated land. **American Journal of Microbiological Research**, v. 2, n. 3, p. 94–104, 2014.
- GALASSO, C. et al. Carotenoids from marine organisms: Biological functions and industrial applications. **Antioxidants**, v. 6, n. 4, p. 96, 2017.
- GALLARDO-BENAVENTE, C. et al. Genomics Insights into *Pseudomonas* sp. CG01: An Antarctic Cadmium-Resistant Strain Capable of Biosynthesizing CdS Nanoparticles Using Methionine as S-Source. **Genes**, v. 12, n. 2, p. 187, 2021.
- GANZERT, L. et al. The impact of different soil parameters on the community structure of dominant bacteria from nine different soils located on Livingston Island, South Shetland Archipelago, Antarctica. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 76, n. 3, p. 476-491, 2011.
- GAO, X. et al. Biotechnological production of the sunscreen pigment scytonemin in cyanobacteria: Progress and strategy. **Marine Drugs**, v. 19, n. 3, p. 129, 2021.
- GARRIDO-BENAVENT, I. et al. Differential colonization and succession of microbial communities in rock and soil substrates on a maritime Antarctic glacier forefield. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020.
- GASCÓN, J. et al. Sensitivity of selected bacterial species to UV radiation. **Current Microbiology**, v. 30, n. 3, p. 177-182, 1995.
- GHARIBZAHEDI, S. M. T. et al. Carotenoid production from hydrolyzed molasses by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 using batch, fed-batch and continuous culture. **Annals of Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 945–953, 2014.
- GIANI, M. et al. Haloarchaeal carotenoids: healthy novel compounds from extreme environments. **Marine Drugs**, v. 17, n. 9, p. 524, 2019.
- GIANI, M. et al. Carbon source influences antioxidant, antiglycemic, and antilipidemic activities of *Haloferax mediterranei* carotenoid extracts. **Marine Drugs**, v. 20, n. 11, p. 659, 2022.
- GINZBURG, A. L. et al. Zinc oxide-induced changes to sunscreen ingredient efficacy and toxicity under UV irradiation. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 20, n. 10, p. 1273–1285, 2021.
- GIRARD, P. M. et al. UVA-induced damage to DNA and proteins: direct *versus* indirect photochemical processes. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 261, p. 012002, 2011.
- GIRARD, P. M.; FRANCESCONI, S.; POZZEBON, M.; GRAINDORGE, D.; ROCHETTE, P.; DROUIN, R.; SAGE, E. UVA-induced damage to DNA and proteins: direct versus indirect photochemical processes. **Journal of Physics: Conference Series (IOP Publishing)**, v. 261, n.1, p. 012002, 2011.
- GIUFFRIDA, D. et al. Characterization of the C50 carotenoids produced by strains of the cheese-ripening bacterium *Arthrobacter arilaitensis*. **International Dairy Journal**, v. 55, p. 10–16, 2016.

- GLADKA, G. et al. Correlation Between Resistance to UV Irradiation and the Taxonomic Position of Microorganisms. **Environmental Research, Engineering and Management**, v. 77, n. 1, p. 67–75, 2021.
- GOKSØYR, A. U.S. Patent Application No. WO 2011/151426 A2. 2010.
- GOKSØYR, A. U.S. Patent Application No. 13/701,249. 2013.
- GOOSEN, N.; MOOLENAAR, G. F. Repair of UV damage in bacteria. **DNA Repair**, v. 7, n. 3, p. 353–379, 2008.
- GOSWAMI, P. K. et al. Natural sunscreen agents: A review. **Scholars Academic Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 6, p. 458–463, 2013.
- GREGORIS, E. et al. Propolis as potential cosmeceutical sunscreen agent for its combined photoprotective and antioxidant properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 405, n. 1, p. 97–101, 2011.
- GRUSZECKI, W. I. Carotenoids in Lipid Membranes. In: Landrum, J.T. (Ed.) **Carotenoids: Physical, Chemical, and Biological Functions and Properties**. CRC Press, New York, 2009, p. 19–30.
- GUYOMARC'H, F. et al. Production of carotenoids by *Brevibacterium linens*: variation among strains, kinetic aspects and HPLC profiles. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.24, n.1, p.64-70, 2000.
- HAGAGGI, N. Sh. A.; ABDUL-RAOUF, U. M. Production of bioactive β -carotene by the endophytic bacterium *Citricoccus parietis* AUCs with multiple in vitro biological potentials. **Microbial Cell Factories**, v. 22, n. 1, p. 90, 2023.
- HAMED, I. The evolution and versatility of microalgal biotechnology: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 6, p. 1104–1123, 2016
- HAMID, B. et al. Cold-active enzymes and their potential industrial applications—A Review. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 5885, 2022.
- HAN, S.-R. et al. Complete genome sequence of carotenoid-producing *Microbacterium* sp. strain PAMC28756 isolated from an Antarctic lichen. **Journal of Biotechnology**, v. 226, p. 18–19, 2016.
- HAN, W. et al. The Effect of Organic Carbon on Soil Bacterial Diversity in an Antarctic Lake Region. **Journal of Ocean University of China**, v. 18, n. 6, p. 1402–1410, 2019.
- HAQ, A. et al. Screening of lipase-producing bacteria and optimization of lipase-mediated biodiesel production from *Jatropha curcas* seed oil using whole cell approach. **BioEnergy Research**, v. 13, n. 4, p. 1280–1296, 2020.

HARADA, H.; MISAWA, N. Novel approaches and achievements in biosynthesis of functional isoprenoids in *Escherichia coli*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, n. 6, p. 1021–1031, 2009.

HARRIS, J. M.; TIBBLES, B. J. Factors affecting bacterial productivity in soils on isolated inland nunataks in continental Antarctica. **Microbial Ecology**, v. 33, n. 2, p. 106–123, 1997.

HASHIMOTO, H. et al. Carotenoids and Photosynthesis. In: STANGE, C. (Ed.). **Carotenoids in Nature. Subcellular Biochemistry**. Springer, 2016, v. 79, p. 111–139.

HEIDER, S. A. E. et al. Production and glucosylation of C 50 and C 40 carotenoids by metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 3, p. 1223–1235, 2014a.

HEIDER, S. A. E. et al. Metabolic engineering for the microbial production of carotenoids and related products with a focus on the rare C50 carotenoids. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 10, p. 4355–4368, 2014b.

HEIDER, S. A. E. et al. . Carotenoid biosynthesis and overproduction in *Corynebacterium glutamicum*, **BMC Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 198, 2012.

HENKE, N. A. et al. Isoprenoid pyrophosphate-dependent transcriptional regulation of carotenogenesis in *Corynebacterium glutamicum*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017a.

HENKE, N. A. et al. C50 carotenoids: occurrence, biosynthesis, glycosylation, and metabolic engineering for their overproduction. In: SINGH, O. V. **Bio-pigmentation and Biotechnological Implementations**. John Wiley & Sons, Ltd, 2017b. p. 107–126.

HENKE, N. A. et al. Coproduction of cell-bound and secreted value-added compounds: simultaneous production of carotenoids and amino acids by *Corynebacterium glutamicum*. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 744–752, 2018.

HENKE, N. A. et al. *Corynebacterium glutamicum* CrtR and its orthologs in actinobacteria: Conserved function and application as genetically encoded biosensor for detection of geranylgeranyl pyrophosphate. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 15, p. 5482, 2020.

HEO, S.-J.; JEON, Y.-J. Protective effect of fucoxanthin isolated from *Sargassum siliquastrum* on UV-B induced cell damage. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 95, n. 2, p. 101–107, 2009.

HERNÁNDEZ, E. A. et al. Effect of solar radiation and the subsequent dark periods on two newly isolated and characterized Antarctic marine bacteria. **Polar Research**, v. 23, n. 1, p. 67–77, 2004

HERNÁNDEZ-ALMANZA, A. et al. Lycopene: Progress in microbial production. **Trends in Food Science & Technology**, v. 56, p. 142–148, 2016. '

HIRAYAMA, O. et al. Singlet oxygen quenching ability of naturally occurring carotenoids. **Lipids**, v. 29, n. 2, p. 149–150, 1994.

- HOERTER, J. et al. A. Role of Enterobactin and Intracellular Iron in Cell Lethality During Near-UV Irradiation in *Escherichia coli*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 64, n. 3, p. 537-541, 1996.
- HOGG, I. D. et al. Biotic interactions in Antarctic terrestrial ecosystems: are they a factor? **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 10, p. 3035-3040, 2006.
- HOLT, N.E. et al. Carotenoid cation formation and the regulation of photosynthetic light harvesting. **Science**, v.307, n. 5708, pp.433-436, 2005.
- HONG, S. et al. Lichen biomonitoring for the detection of local heavy metal pollution around King Sejong Station, King George Island, Antarctica. **Korean Journal of Polar Research**, v.10, n.1, p. 17–24, 1999.
- HORNECK, G. et al. Resistance of bacterial endospores to outer space for planetary protection purposes—experiment PROTECT of the EXPOSE-E mission. **Astrobiology**, v. 12, n. 5, p. 445-456, 2012.
- HORTON, P. et al. Regulation of the structure and function of the light harvesting complexes of photosystem II by the xanthophyll cycle. **The photochemistry of carotenoids**, p. 271–291, 1999.
- HOU, J.; CUI, H.-L. In vitro antioxidant, antihemolytic, and anticancer activity of the carotenoids from halophilic archaea. **Current Microbiology**, v. 75, n. 3, p. 266–271, 2018.
- HU, M. L.; TAPPEL, A. L. Potentiation of oxidative damage to proteins by ultraviolet-A and protection by antioxidants. **Photochemistry and Photobiology**, v. 56, n. 3, p. 357-363, 1992.
- HUANG, X.-D. et al. Impacts of UV radiation and photomodification on the toxicity of pahs to the higher plant *Lemna gibba*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, n. 6, p. 1067–1077, 1993.
- HWANG, C. Y. et al. Genomic and physiological analysis of C50 carotenoid-producing novel *Halorubrum ruber* sp. nov. **Journal of Microbiology**, v. 60, n. 10, p. 1007–1020, 2022.
- ICHIHASHI, M. et al. UV-induced skin damage. **Toxicology**, v. 189, n. 1, p. 21–39, 2003.
- IGLESIAS, A. et al. Out of the abyss: Genome and metagenome mining reveals unexpected environmental distribution of abyssomicins. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 645, 2020.
- IMLAY, J. A. Pathways of Oxidative Damage. *Annual Review of Microbiology*, v. 57, n. 1, p. 395–418, 2003.
- IMLAY, J. A. Oxidative stress. **EcoSal Plus**, v. 3, n. 2, 2009.
- IRWIN, J. A.; BAIRD, A. W. Extremophiles and their application to veterinary medicine. **Irish Veterinary Journal**, v. 57, n. 6, p. 1-7, 2004.

IVANOVA, E. A. et al. The structure of the prokaryotic communities of the initial stages of soil formation in Antarctic Peninsula. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 862, n. 1, p. 012056, 2021.

IWASAKA, H. et al. A possible trifunctional β -carotene synthase gene identified in the draft genome of *Aurantiochytrium* sp. strain KH105. **Genes**, v. 9, n. 4, p. 200, 2018.

JACOBS, J. L. et al. The role of pigmentation, ultraviolet radiation tolerance, and leaf colonization strategies in the epiphytic survival of phyllosphere bacteria. **Microbial Ecology**, v. 49, n. 1, p. 104–113, 2005.

JACQUES, P. F.; CHYLACK, L. T., Jr. Epidemiologic evidence of a role for the antioxidant vitamins and carotenoids in cataract prevention. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 1, p. 352S-355S, 1991.

JAGGER, J. Solar-UV actions on living cells. Praeger Publishers, New York, 1985.

JAIN, C. et al. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 5114, 2018.

JASWIR, I. et al. Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 33, p. 7119-7131, 2011.

JESUS, A. et al. Antioxidants in sunscreens: which and what for? **Antioxidants**, v. 12, n. 1, p. 138, 2023.

JIANG, Q. et al. The active form of DNA polymerase V is UmuD' 2 C-RecA-ATP. **Nature**, v. 460, n. 7253, p. 359-363, 2009.

JIANG, L. et al. Strategies to extend near-infrared light harvest of polymer carbon nitride photocatalysts. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 439, p. 213947, 2021.

JIANG, W. et al. Carotenoids production and genome analysis of a novel carotenoid producing *Rhodococcus aetherivorans* N1. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 164, p. 110190, 2023

JING, Y. et al. Advances in the synthesis of three typical tetraterpenoids including β -carotene, lycopene and astaxanthin. **Biotechnology Advances**, v. 61, p. 108033, 2022.

JOHRA, F. T. et al. A mechanistic review of β -carotene, lutein, and zeaxanthin in eye health and disease. **Antioxidants**, v. 9, n. 11, p. 1046, 2020.

JOHNSEN, G. U.S. Patent Application No. **US8834855B2**. 2014.

JOSHI, K. et al. Microbial carotenoid production and their potential applications as antioxidants: A current update. **Process Biochemistry**, v. 128, p. 190–205, 2023.

JOUX, F. et al. Marine bacterial isolates display diverse responses to UV-B radiation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 9, p. 3820–3827, 1999.

JUKES, T. H.; CANTOR, C. R. Evolution of protein molecules. **Mammalian protein metabolism**, v. 3, p. 21–132, 1969.

KANG, C. K. et al. Enhanced lycopene production by UV-C irradiation in radiation-resistant *Deinococcus radiodurans* R1. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 12, p.1937, 2020.

KANG, H. S.; BRADY, S. F. Mining soil metagenomes to better understand the evolution of natural product structural diversity: pentangular polyphenols as a case study. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 52, p. 18111-18119, 2014.

KAUTSAR, S. A. et al. MIBiG 2.0: a repository for biosynthetic gene clusters of known function. **Nucleic Acids Research**, v. 48, n. D1, p. D454-D458, 2020.

KELLER, L. C.; MAXCY, R. B. Effect of physiological age on radiation resistance of some bacteria that are highly radiation resistant. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 47, n. 5, p. 915–918, 1984.

KESBIÇ, F. I.; GÜLTEPE, N. Bioactive components, sun protective properties, and total phenolic contents of halobacterial extracts. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 108, p. 104647, 2023.

KHANEJA, R. et al. Carotenoids found in *Bacillus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, n. 6, p. 1889–1902, 2010.

KHODAIYAN, F. et al. Optimization of canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 from cheese whey using statistical experimental methods. **Biochemical Engineering Journal**, v. 40, n. 3, p. 415–422, 2008.

KIKI, M. J. Biopigments of Microbial Origin and Their Application in the Cosmetic Industry. **Cosmetics**, v. 10, n. 2, p. 47, 2023.

KIM, D. et al. Soil water content as a critical factor for stable bacterial community structure and degradative activity in maritime Antarctic soil. **Journal of Microbiology**, v. 58, n. 12, p. 1010–1017, 2020.

KIM, M. et al. Highly heterogeneous soil bacterial communities around Terra Nova Bay of northern Victoria Land, Antarctica. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0119966, 2015.

KIM, M. et al. Local-scale variation of soil bacterial communities in ice-free regions of maritime Antarctica. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 133, p. 165–173, 2019.

KIM, O.-S. et al. . Bacterial diversity in ornithogenic soils compared to mineral soils on King George Island, Antarctica. **Journal of Microbiology**, v. 50, n. 6, p. 1081–1085, 2012.

KIM, S. H. et al. Generation of structurally novel short carotenoids and study of their biological activity. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 21987, 2016.

KIM, S. et al. Genomic analysis of a freshwater actinobacterium, “*Candidatus Limnosphaera aquatica*” strain IMCC26207, isolated from Lake Soyang. **J Microbiol Biotechnol**, v. 27, n. 4, p. 825–833, 2017.

- KIMURA, T. et al. Characterization of water-soluble dark-brown pigment from Antarctic bacterium, *Lysobacter oligotrophicus*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 120, n. 1, p. 58-61, 2015.
- KING, B. et al. Germicidal UV sensitivity of bacteria in aerosols and on contaminated surfaces. **Aerosol Science and Technology**, v. 45, n. 5, p. 645-653, 2011.
- KIRTI, K. et al. Colorful world of microbes: carotenoids and their applications. **Advances in Biology**, v. 2014, p. 1–13, 2014.
- KLÁN, P.; WIRZ, J. Photochemistry of organic compounds: from concepts to practice. John Wiley & Sons, 2009.
- KLOOSTERMAN, A. M. et al. Expansion of RiPP biosynthetic space through integration of pan-genomics and machine learning uncovers a novel class of lanthipeptides. **PLoS Biology**, v. 18, n. 12, p. e3001026, 2020.
- KNUDSON, G. B. Photoreactivation of UV-irradiated *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 49, n. 4, p. 975–980, 1985.
- KNUDSON, G. B. Photoreactivation of ultraviolet-irradiated, plasmid-bearing, and plasmid-free strains of *Bacillus anthracis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 444–449, 1986.
- KÖCHER, S.; MÜLLER, V. The nature and function of carotenoids in the moderately halophilic bacterium *Halobacillus halophilus*. In: VENTOSA, A. et al. (Eds.). **Halophiles and Hypersaline Environments**. Springer, Berlin, 2011, p. 303–317.
- KOMPLIKEVYCH, S. et al. Culturable microorganisms of substrates of terrestrial plant communities of the maritime Antarctic (Galindez Island, Booth Island). **Polar Biology**, v. 46, n. 1, p. 1–19, 2023.
- KONZEN, M. et al. Antioxidant properties of violacein: possible relation on its biological function. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 24, p. 8307-8313, 2006.
- KOO, S. Y. et al. Preparation of fucoxanthin-loaded nanoparticles composed of casein and chitosan with improved fucoxanthin bioavailability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 49, p. 9428–9435, 2016.
- KRAUZE, P. et al. Influence of prokaryotic microorganisms on initial soil formation along a glacier forefield on King George Island, maritime Antarctica. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 13135, 2021.
- KRINSKY, N. I. Carotenoid protection against oxidation. In: GOODWIN, T. W. (Ed.). **Carotenoids**°C5. Pergamon, 1979, p. 649–660.
- KRISKO, A.; RADMAN, M. Protein damage and death by radiation in *Escherichia coli* and *Deinococcus radiodurans*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 32, p. 14373–14377, 2010.

- KRUBASIK, P. et al. Detailed biosynthetic pathway to decaprenoxanthin diglucoside in *Corynebacterium glutamicum* and identification of novel intermediates. **Archives of Microbiology**, v. 176, n. 3, p. 217–223, 2001a.
- KRUBASIK, P. et al. Expression and functional analysis of a gene cluster involved in the synthesis of decaprenoxanthin reveals the mechanisms for C50 carotenoid formation. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, n. 13, p. 3702–3708, 2001b.
- KUHLMAN, K. R. et al. Enumeration, isolation, and characterization of ultraviolet (UV-C) resistant bacteria from rock varnish in the Whipple Mountains, California. **Icarus**, Mars Polar Science III. v. 174, n. 2, p. 585–595, 2005.
- KUMAR, S. A. et al. Antioxidant efficacy of carotenoid extract from bacterial strain *Kocuria marina* DAGII. **Materials Today: Proceedings**, v. 3, n. 10, p. 3427–3433, 2016.
- KUSMITA, L. et al. Characteristic Evaluation of Various Formulations of Anti-Aging Cream from Carotenoid Extract of Bacterial Symbiont *Virgibacillus salarius* Strain 19. PP. Sc1. 6. **Cosmetics**, v. 8, n. 4, p. 120, 2021.
- LA DUC, M. T. et al. Isolation and characterization of bacteria capable of tolerating the extreme conditions of clean room environments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 8, p. 2600–2611, 2007.
- LAMBRECHTS, S. et al. Uncovering the uncultivated majority in Antarctic soils: toward a synergistic approach. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019.
- LAMILLA, C. et al. Bioprospecting for extracellular enzymes from culturable Actinobacteria from the South Shetland Islands, Antarctica. **Polar Biology**, v. 40, n. 3, p. 719–726, 2017.
- LANE, D. J. 16S/23S rRNA sequencing. In: STACKEBRANDT, E.; GOODFELLOW, M. (Eds.). **Nucleic acid techniques in bacterial systematics**. John Wiley & Sons, United Kingdom, 1991, p. 115-175.
- LEARN-HAN, L. et al. Identification of actinomycete communities in Antarctic soil from Barrientos Island using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 1, p. 277–291, 2012.
- LEE, C. K. et al. The inter-valley soil comparative survey: the ecology of Dry Valley edaphic microbial communities. **The ISME Journal**, v. 6, n. 5, p. 1046–1057, 2012.
- LEE, G. L. Y. et al. Biodegradation of phenol by cold-adapted bacteria from Antarctic soils. **Polar Biology**, v. 41, n. 3, p. 553–562, 2018.
- LEE, J. J. L. et al. Metabolomic profiling of *Rhodospiridium toruloides* grown on glycerol for carotenoid production during different growth phases. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 41, p. 10203–10209, 2014.
- LEE, P.; SCHMIDT-DANNERT, C. Metabolic engineering towards biotechnological production of carotenoids in microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 60, n. 1, p. 1–11, 2002.

LEZCANO, M. Á. et al. Biomarker profiling of microbial mats in the geothermal band of Cerro Caliente, Deception Island (Antarctica): life at the edge of heat and cold. **Astrobiology**, v. 19, n. 12, p. 1490–1504, 2019.

LI, L. et al. Natural products and extracts from plants as natural UV filters for sunscreens: A review. **Animal Models and Experimental Medicine**, v. 6, n. 3, p. 183–195, 2022a.

LI, M. H. et al. Automated genome mining for natural products. **BMC bioinformatics**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2009.

LI, Q. et al. Soil Geochemical Properties Influencing the Diversity of Bacteria and Archaea in Soils of the Kitezh Lake Area, Antarctica. **Biology**, v. 11, n. 12, p. 1855, 2022b.

LIAO, L. et al. Biosynthetic potential of a novel Antarctic Actinobacterium *Marisediminicola antarctica* ZS314T revealed by genomic data mining and pigment characterization. **Marine drugs**, v. 17, n. 7, p. 388, 2019.

LIAQAT, F. et al. Mixotrophic cultivation of microalgae for carotenoid production. **Reviews in Aquaculture**, v. 15, n. 1, p. 35–61, 2023.

LIBKIND, D. et al. Constitutive and UV-inducible synthesis of photoprotective compounds (carotenoids and mycosporines) by freshwater yeasts. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 3, n. 3, p. 281–286, 2004.

LIEBLER, D. C.; MCCLURE, T. D. Antioxidant reactions of β -carotene: identification of carotenoid– radical adducts. **Chemical Research in Toxicology**, v. 9, n. 1, p. 8–11, 1996.

LIN, J.-Y. et al. Topical isoflavones provide effective photoprotection to skin. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v. 24, n. 2, p. 61–66, 2008.

LINDEN, M. et al. Effects of flavonoids on membrane adaptation of food-associated bacteria. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1865, n. 4, p. 184137, 2023.

LIU, F. et al. The radioresistant and survival mechanisms of *Deinococcus radiodurans*. **Radiation Medicine and Protection**, v. 4, n. 2, 2023.

LIU, G. Y. et al. *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. **Journal of Experimental Medicine**, v. 202, n. 2, p. 209–215, 2005

LIU, G. Y.; NIZET, V. Color me bad: microbial pigments as virulence factors. **Trends in Microbiology**, v. 17, n. 9, p. 406–413, 2009.

LIU, J. et al. Diversity of protease-producing bacteria in the soils of the South Shetland Islands, Antarctica. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 114, n. 4, p. 457–464, 2021.

LIU, S. et al. Opportunities and challenges of using metagenomic data to bring uncultured microbes into cultivation. **Microbiome**, v. 10, n. 1, p. 76, 2022.

NELSON, K. et al. Sunlight-mediated inactivation of health-relevant microorganisms in water: a review of mechanisms and modeling approaches. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 20, n. 8, p. 1089–1122, 2018.

LO GIUDICE, A.; AZZARO, M. Diversity and ecological roles of prokaryotes in the changing Antarctic marine environment. In: CASTRO-SOWINSKI, S. (Ed.). **The Ecological Role of Micro-organisms in the Antarctic Environment**. Springer, 2019, p. 109–131.

LOZANO, C. et al. Toxicity of UV filters on marine bacteria: Combined effects with damaging solar radiation. **Science of The Total Environment**, v. 722, p. 137803, 2020.

LU, W. et al. Carotenoids degradation and precautions during processing. In: GALANAKIS, C. M. (Ed.) **Carotenoids: Properties, Processing and Applications**. Academic Press, 2020, p. 223–258.

MA, Y.-C. et al. Optimization of C50 Carotenoids Production by Open Fermentation of *Halorubrum* sp. HRM-150. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, p. 1-13, 2023a.

MA, Y.-C. et al. Optimization of extraction procedure and antioxidant activity of C50 carotenoids from *Halorubrum* sp. HRM-150. **Process Biochemistry**, p. 577-583, 2023b.

MACKAY, D.; EISENSTARK, A.; WEBB, R.; BROWN, M. Action spectra for lethality in recombination-less strains of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 24, n. 4, p. 337-343, 1976.

MADHAVAN, A. et al. Microbial production of nutraceuticals: Metabolic engineering interventions in phenolic compounds, poly unsaturated fatty acids and carotenoids synthesis. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 8, p.2092-2104, 2023.

MAGHSOUDI, S. et al. The colorful world of carotenoids: A profound insight on therapeutics and recent trends in nano delivery systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 13, p. 3658–3697, 2022.

MAHARINI, I. In Vitro Determination of SunProtective Factor (SPF) of Dadap Serep (*Erythrina Subumbrans* (Haks.) Merr.) Leaf Extract Using Spectrophotometric Method. **Journal of Chemical Natural Resources**, v. 1, n. 1, p. 64–67, 2019.

MANDELLI, F. et al. Identification of carotenoids with high antioxidant capacity produced by extremophile microorganisms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1781–1790, 2012.

MANSUR, M. C. P. P. R. et al. Photoprotective nanoemulsions containing microbial carotenoids and buriti oil: Efficacy and safety study. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 6741–6752, 2020.

MARACCINI, P. A. et al. Diurnal variation in Enterococcus species composition in polluted ocean water and a potential role for the enterococcal carotenoid in protection against photoinactivation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 2, p. 305–310, 2012.

MARCZAK, S. et al. The concept of geographic information system for King George Island. **International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM**, v. 3, p. 495-502, 2016.

MARGESIN, R. et al. **Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology**. Springer, Berlin, 2008.

MARGESIN, R.; MITEVA, V. Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms. **Research in Microbiology**, v. 162, n. 3, p. 346–361, 2011.

MARIZCURRENA, J. J. et al. Searching for novel photolyases in UVC-resistant Antarctic bacteria. **Extremophiles**, v. 21, n. 2, p. 409–418, 2017.

MARKILLIE, L. M. et al. Targeted mutagenesis by duplication insertion in the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*: radiation sensitivities of catalase (katA) and superoxide dismutase (sodA) mutants. **Journal of Bacteriology**, v. 181, n. 2, p. 666-669, 1999.

MARTÍNEZ-INDA, B. et al. Valorization of agri-food waste through the extraction of bioactive molecules. Prediction of their sunscreen action. **Journal of Environmental Management**, v. 325, p. 116460, 2023.

MATALLANA-SURGET, S. et al. The response of the marine bacterium *Sphingopyxis alaskensis* to solar radiation assessed by quantitative proteomics. **Environmental Microbiology**, v. 11, n. 10, p. 2660-2675, 2009.

MATALLANA-SURGET, S. et al. Response to UVB radiation and oxidative stress of marine bacteria isolated from South Pacific Ocean and Mediterranean Sea. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 117, p. 254-261, 2012.

MATHEWS, M. M.; SISTROM, W. R. The function of the carotenoid pigments of *Sarcina lutea*. **Archiv für Mikrobiologie**, v. 35, n. 2, p. 139–146, 1960.

MATSUMI, Y.; KAWASAKI, M. Photolysis of atmospheric ozone in the ultraviolet region. **Chemical Reviews**, v. 103, n. 12, p. 4767-4782, 2003.

MATSUNAGA, T. et al. An ultraviolet (UV-A) absorbing biopterin glucoside from the marine planktonic cyanobacterium *Oscillatoria* sp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 2, p. 250–253, 1993.

MEDEMA, M. H. et al. AntiSMASH: rapid identification, annotation, and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. **Nucleic Acids Research**, v. 39, n.2, p. W339-W346, 2011.

MEIER-KOLTHOFF, J. P.; GÖKER, M. TYGS TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 2182, 2019.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. et al. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 1145–1150, 2007.

MENDES-SILVA, T. de C. D. et al. Biotechnological potential of carotenoids produced by extremophilic microorganisms and application prospects for the cosmetics industry. **Advances in Microbiology**, v. 10, n. 8, p. 397–410, 2020.

MENDES-SILVA, T. de C. D. et al. Production of carotenoid sarcinaxanthin by *Kocuria palustris* isolated from Northeastern Brazil Caatinga soil and their antioxidant and photoprotective activities. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 53, p. 44–53, 2021.

MESBAH, N. M. Industrial biotechnology based on enzymes from extreme environments. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 870083, 2022.

METWALLY, R. A. et al. Optimization and multiple in vitro activity potentials of carotenoids from marine *Kocuria sp.* RAM1. ", **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 18203, 2022

MIKHEENKO, A. et al. Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. **Bioinformatics**, v.34, n. 13, p. i142–i150, 2018.

MIKI, W. et al. Okadaxanthin, a novel C50-carotenoid from a bacterium, *Pseudomonas sp.* KK10206C associated with marine sponge, *Halichondria okadai*. **Experientia**, v. 50, n. 7, p. 684–686, 1994.

MILLER, N. J. et al. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. **FEBS Letters**, v. 384, n. 3, p. 240–242, 22 abr. 1996.

MINH TRAN, H. D. et al. Potential of UV-B and UV-C irradiation in disinfecting microorganisms and removing N-nitrosodimethylamine and 1, 4-dioxane for potable water reuse: A review. **Chemosphere**, v. 286, p. 131682, 2022.

MIRZAIE, A. et al. Isolation and characterization of a new gamma and UV radiation resistant bacterium from soil samples of an iranian radioactive site and analysis of its pigment. **Microbiology**, v. 84, n. 3, p. 449–452, 2015.

MOELLER, R. et al. Role of pigmentation in protecting *Bacillus sp.* endospores against environmental UV radiation. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 51, n. 2, p. 231–236, 2005.

MOHAMMADI, M. et al. Biological role of pigment production for the bacterial phytopathogen *Pantoea stewartii subsp. stewartii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 19, p. 6859–6865, 2012.

MOHANA, D. C. et al. Antioxidant, antibacterial, and ultraviolet-protective properties of carotenoids isolated from *Micrococcus spp.* **Radiation Protection and Environment**, v. 36, n. 4, p. 168, 2013.

MOJIB, N. et al. UV and cold tolerance of a pigment-producing Antarctic *Janthinobacterium sp.* Ant5-2. **Extremophiles**, v. 17, n. 3, p. 367-378, 2013.

MOLINÉ, M. et al. Photoprotective role of carotenoids in yeasts: response to UV-B of pigmented and naturally-occurring albino strains. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 95, n. 3, p. 156–161, 2009.

MOLINÉ, M. et al. Photoprotection by carotenoid pigments in the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: the role of torularhodin. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 9, n. 8, p. 1145–1151, 2010.

MONTAGNI, T. et al. Dye sensitized solar cells based on Antarctic *Hymenobacter sp.* UV11 dx. **Environmental Sustainability**, v. 1, n. 1, p. 89-97, 2018.

MORELLI, L; RODRIGUEZ-CONCEPCION, M. Chapter Ten - A fast and simplified method to estimate bioaccessibility of carotenoids from plant tissues. In: WURTZEL, E. T. (Ed.). **Methods in Enzymology**. Academic Press, 2022, v. 674, p. 329–341.

MOROCHO-JÁCOME, A. L. et al. In vivo SPF from multifunctional sunscreen systems developed with natural compounds—A review. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 20, n. 3, p. 729–737, 2021.

MORTENSEN, A.; SKIBSTED, L. H. Kinetics of photobleaching of β -carotene in chloroform and formation of transient carotenoid species absorbing in the near infrared. **Free Radical Research**, v. 25, n. 4, p. 355–368, 1996.

MOSLEY, C. N. et al. Light-induced cytotoxicity and genotoxicity of a sunscreen agent, 2-phenylbenzimidazole in *Salmonella typhimurium* TA 102 and HaCaT keratinocytes. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 4, n. 2, p. 126–131, 2007.

MOSTACHIO, A. K. Q. Caracterização de carbapenemases e proteínas de membrana externa de *Acinetobacter spp.* resistentes aos carbapenêmicos isolados de sangue. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MUAZI A. A. et al. A review on Actinomycetes distribution, isolation, and their medical applications. **Novel Research in Microbiology Journal**, v. 7, n. 2, p. 1918–1931, 2023.

MUKHIA, S. et al. Comparative genomics and molecular adaptational analysis of *Arthrobacter* from Sikkim Himalaya provided insights into its survivability under multiple high-altitude stress. **Genomics**, v. 113, n. 1, p. 151-158, 2021.

MULDERS, K. J. M. et al. Phototrophic pigment production with microalgae: biological constraints and opportunities. **Journal of Phycology**, v. 50, n. 2, p. 229–242, 2014.

MULDERS, K. J. M. et al. Nitrogen-depleted *Chlorella zofingiensis* produces astaxanthin, ketolutein and their fatty acid esters: a carotenoid metabolism study. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 1, p. 125–140, 2015.

MULDERS, K. J. M.; WEESEPOEL, Y.; BODENES, P.; LAMERS, P. P.; VINCKEN, J.-P.; MARTENS, D. E.; GRUPPEN, H.; WIJFFELS, R. H. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 1, p. 125–140, 2015.

MUROTOMI, K. et al. Significance of singlet oxygen molecule in pathologies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2739, 2023.

- MUSILOVA, M. et al. Isolation of radiation-resistant bacteria from Mars analog Antarctic Dry Valleys by preselection, and the correlation between radiation and desiccation resistance. **Astrobiology**, v. 15, n. 12, p. 1076-1090, 2015.
- NABI, B. G. et al. Natural pigments: Anthocyanins, carotenoids, chlorophylls, and betalains as food colorants in food products. **Food Bioscience**, v. 52, p. 102403, 2023.
- NARSING, R. M. P. et al. Fungal and bacterial pigments: secondary metabolites with wide applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1113, 2017.
- NAWAZ, M. Z. et al. Genomic insights into the metabolic potential of a novel lignin-degrading and polyhydroxyalkanoates producing bacterium *Pseudomonas* sp. Hu109A. **Chemosphere**, v. 310, p. 136754, 2023.
- NAYAKA, S.; RAI, H. Antarctic Lichen Response to Climate Change: Evidence from Natural Gradients and Temperature Enchantment Experiments. In: KHARE, N. (Ed.). **Assessing the Antarctic Environment from a Climate Change Perspective**. Springer, 2022, p. 235–253.
- NAZIRI, D. et al. Analysis of carotenoid production by *Halorubrum* sp. TBZ126; an extremely halophilic archeon from Urmia Lake. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 4, n. 1, p. 61–67, 2014.
- NEALE, P. J. et al. The response of aquatic ecosystems to the interactive effects of stratospheric ozone depletion, UV radiation, and climate change. **Photochemical & Photobiological Sciences**, p. 1-35, 2023a.
- NEALE, R. E. et al. Environmental effects of stratospheric ozone depletion, UV radiation, and interactions with climate change: UNEP Environmental Effects Assessment Panel, Update 2020. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 20, n. 1, p. 1-67, 2021.
- NEALE, R. E. et al. The effects of exposure to solar radiation on human health. **Photochemical & Photobiological Sciences**, p. 1-37, 2023b.
- NEGRE-SALVAYRE, A.; SALVAYRE, R. Post-Translational Modifications Evoked by Reactive Carbonyl Species in Ultraviolet-A-Exposed Skin: Implication in Fibroblast Senescence and Skin Photoaging. **Antioxidants**, v. 11, n. 11, p. 2281, 2022.
- NELIS, H. J.; DE LEENHEER, A. P. Microbial sources of carotenoid pigments used in foods and feeds. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 70, n.3, p. 181-191, 1991.
- NETZER, R. et al. Biosynthetic pathway for γ -cyclic sarcinaxanthin in *Micrococcus luteus*: Heterologous expression and evidence for diverse and multiple catalytic functions of C50 carotenoid cyclases. **Journal of Bacteriology**, v. 192, n. 21, p. 5688–5699, 2010.
- NEWSHAM, K. K. et al. Bacterial community composition and diversity respond to nutrient amendment but not warming in a maritime Antarctic soil. **Microbial Ecology**, v. 78, n. 4, p. 974–984, 2019.

- NGHIEM, Y. et al. The mutY gene: a mutator locus in *Escherichia coli* that generates G.C---T.A transversions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 85, n. 8, p. 2709–2713, 1988.
- NICHOLS, J. A.; KATIYAR, S. K. Skin Photoprotection by Natural Polyphenols: Anti-Inflammatory, Antioxidant and DNA Repair Mechanisms. *Archives of Dermatological Research*, v. 302, n. 2, p. 71–83, 2010.
- NICHOLSON, W. L. et al. The solar UV environment and bacterial spore UV resistance: considerations for Earth-to-Mars transport by natural processes and human spaceflight. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 571, no 1-2, p. 249-264, 2005.
- NIEDERBERGER, T. D. et al. Microbial community composition in soils of Northern Victoria Land, Antarctica. **Environmental Microbiology**, v. 10, n. 7, p. 1713-1724, 2008.
- NIGAM, P. S.; LUKE, J. S. Food additives: production of microbial pigments and their antioxidant properties. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 93–100, 2016.
- NOWRUZI, B. et al. The cosmetic application of cyanobacterial secondary metabolites. **Algal Research**, v. 49, p. 101959, 2020.
- OH, H. N. et al. Antarctic tundra soil metagenome as useful natural resources of cold-active lignocellulolytic enzymes. **Journal of Microbiology**, v. 57, n. 10, p. 865-873, 2019.
- ONOUE, S. et al. Non-animal photosafety assessment approaches for cosmetics based on the photochemical and photobiochemical properties. **Toxicology in Vitro**, v. 27, n. 8, p. 2316–2324, 2013.
- ÓRDENES-AENISHANSLINS, N. et al. Pigments from UV-resistant Antarctic bacteria as photosensitizers in dye sensitized solar cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 162, p. 707–714, 2016.
- ORDOÑEZ, O. F. et al. Extremophile culture collection from Andean lakes: extreme pristine environments that host a wide diversity of microorganisms with tolerance to UV radiation. **Microbial Ecology**, v. 58, n. 3, p. 461-473, 2009.
- OSAWA, A. et al. Characterization and antioxidative activities of rare C50 carotenoids-sarcinaxanthin, sarcinaxanthin monoglucoside, and sarcinaxanthin diglucoside-obtained from *Micrococcus yunnanensis*. **Journal of Oleo Science**, v. 59, n. 12, p. 653–659, 2010.
- OSAWA, A. et al. Isolation of a novel carotenoid, OH-chlorobactene glucoside hexadecanoate, and related rare carotenoids from *Rhodococcus sp.* CIP and their antioxidative activities. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 75, n. 11, p. 2142–2147, 2011.
- OSAWA, A. et al. 4-[2-O-11Z-Octadecenoyl-β-glucopyranosyl]-4, 4'-diapolycopene-4, 4'-dioic acid and 4-[2-O-9Z-hexadecenoyl-β-glucopyranosyl]-4, 4'-diapolycopene-4, 4'-dioic acid: new C30-carotenoids produced by *Methylobacterium*. **Tetrahedron Letters**, v. 56, n. 21, p. 2791–2794, 2015.

- OSMAN, S. et al. Effect of Shadowing on Survival of Bacteria under Conditions Simulating the Martian Atmosphere and UV Radiation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 4, p. 959–970, 2008.
- OVERBEEK, R. et al. . The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. D1, p. D206–D214, 2014.
- ØVSTEDAL, D. O.; SMITH, R. I. L. Lichens of Antarctica, and South Georgia—a guide to their identification and ecology. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2001.
- PALANIAPPAN, K. et al. IMG-ABC v. 5.0: an update to the IMG/Atlas of Biosynthetic Gene Clusters Knowledgebase. **Nucleic acids research**, v. 48, n. D1, p. D422–D430, 2020.
- PALMA, F. et al. Use of eco-friendly UV-C LEDs for indoor environment sanitization: a narrative review. **Atmosphere**, v. 13, n. 9, p. 1411, 2022.
- PARK, H. J. et al Involvement of laccase-like enzymes in humic substance degradation by diverse polar soil bacteria. **Folia Microbiologica**, v. 66, n. 3, p. 331–340, 2021.
- PATEL, K. C. et al. Production of an antioxidant naphthoquinone pigment by *Comamonas testosteroni* during growth on naphthalene. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 66, p. 605-610, 2007.
- PATEL, S. N. et al. Antioxidant activity and associated structural attributes of *Halomicronema phycoerythrin*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 359–369, 2018.
- PATKI, J. M. et al. Analysis of the applicative potential of pigments extracted from bacterial isolates of mangrove soil as topical UV protectants. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, p. e19127, 2021.
- PAUDEL, L. et al. Complete genome of *Nakamurella* sp. PAMC28650: genomic insights into its environmental adaptation and biotechnological potential. **Functional & Integrative Genomics**, v. 23, n. 1, p. 18, 2023.
- PAULINO-LIMA, I. G. et al. Extremely high UV-C radiation resistant microorganisms from desert environments with different manganese concentrations. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 163, p. 327-336, 2016.
- PEARCE, D. A. et al. Metagenomic analysis of a southern maritime Antarctic soil. **Frontiers in Microbiology**, v.3, p. 403, 2012.
- PECK, L. S. et al. Environmental constraints on life histories in Antarctic ecosystems: tempos, timings, and predictability. **Biological Reviews**, v. 81, n. 1, p. 75–109, 2006.
- PEETERS, K. et al. Heterotrophic bacterial diversity in aquatic microbial mat communities from Antarctica. **Polar Biology**, v. 35, n. 4, p. 543–554, 2012.

- PÉREZ, V. et al. . Bacterial survival under extreme UV radiation: a comparative proteomics study of *Rhodobacter* sp., isolated from high altitude wetlands in Chile. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1173, 2017.
- PÉREZ-LLANO, Y. et al. Laccases from Extremophiles. In: SCHLOSSER, D. (Ed.) **Laccases in Bioremediation and Waste Valorisation**. Springer, Cham, 2020, v. 33, p. 213-238.
- PERRETT, D. I. et al. Skin Color Cues to Human Health: Carotenoids, Aerobic Fitness, and Body Fat. *Frontiers in Psychology*, v. 11, p. 392, 2020.
- PETTIJOHN, D.; HANAWALT, P. Evidence for repair-replication of ultraviolet damaged DNA in bacteria. **Journal of Molecular Biology**, v. 9, n. 2, p. 395-410, 1964.
- PEZZONI, M. et al. The relationship between carotenoids and sunlight response in members of the family Micrococcaceae. **Journal of Basic Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 325-329, 2011
- PFEIFER, G. P. Formation, and processing of UV photoproducts: effects of DNA sequence and chromatin environment. **Photochemistry and Photobiology**, v. 65, n. 2, p. 270-283, 1997.
- PLENZLER, J. et al. Climatic conditions at Arctowski Station (King George Island, West Antarctica) in 2013-2017 against the background of observed regional changes. **Polish Polar Research**, v. 40, n. 1, p. 1-27, 2019.
- POBLET, A. et al. The use of epilithic Antarctic lichens (*Usnea aurantiacoatra* and *U. antarctica*) to determine deposition patterns of heavy metals in the Shetland Islands, Antarctica. **Science of The Total Environment**, v. 207, n. 2, p. 187-194, 1997.
- PODLESEK, Z.; ŽGUR BERTOK, D. The DNA damage inducible SOS response is a key player in the generation of bacterial persister cells and population wide tolerance. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1785, 2020.
- PORTERO, L. R. et al. Photolyases and Cryptochromes in UV-Resistant Bacteria from High-Altitude Andean Lakes. **Photochemistry and Photobiology**, v. 95, n. 1, p. 315-330, 2019.
- PRABHU, S. et al. Zeaxanthin production by novel marine isolates from coastal sand of India and its antioxidant properties. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 171, n. 4, p. 817-831, 2013.
- PRADEL, P. et al. Carotenoid cocktail produced by an Antarctic soil *Flavobacterium* with biotechnological potential. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, p. 2419, 2021.
- PREKRASNA, I. et al. Antarctic hairgrass rhizosphere microbiomes: microscale effects shape diversity, structure, and function. **Microbes and Environments**, v. 37, n. 2, 2022.
- PREOBRAZHENSKIĬ, V. N. et al. Beta-carotenoids and their potential use in diseases of the digestive tract. **Klinicheskaia Meditsina**, v. 75, n. 7, 43-45, 1997.

PROBST-RÜD, S. et al. Thiouridine residues in tRNAs are responsible for a synergistic effect of UVA and UVB light in photoinactivation of *Escherichia coli*. **Environmental Microbiology**, v. 19, n. 2, p. 434-442, 2017.

PUDASAINI, S. et al. Microbial diversity of browning Peninsula, Eastern Antarctica revealed using molecular and cultivation methods. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.

PUTRI, F. R.; SAILAH, I Formulation natural ingredients combination and consumer preference product sunscreen lotion. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 1063, n. 1, p. 012008, 2022.

QIU, X. et al. Comparative analysis of differentially expressed genes in *Shewanella oneidensis* MR-1 following exposure to UVC, UVB, and UVA radiation. **Journal of Bacteriology**, v. 187, n. 10, p. 3556-3564, 2005.

QU, Y. et al. Manipulation of the regulatory genes ppsR and prrA in *Rhodobacter sphaeroides* enhances lycopene production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 14, p. 4134-4143, 2021.

RADDADI, N. et al. Biotechnological applications of extremophiles, extremozymes and extremolytes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 19, p. 7907-7913, 2015.

RAI, K. et al. UV-B: Boon or Curse? In: KATARIA, S.; SINGH, V. P. (Eds.). **UV-B Radiation and Crop Growth. Plant Life and Environment Dynamics**. Springer, 2022. p. 23-54.

RAJAGOPAL, L. et al. The bacterial pigment xanthomonadin offers protection against photodamage. **FEBS Letters**, v. 415, n. 2, p. 125-128, 1997.

RAM, S. et al. Bacteria as an alternate biofactory for carotenoid production: A review of its applications, opportunities, and challenges. **Journal of Functional Foods**, v. 67, p. 103867, 2020.

RAMÍREZ-FERNÁNDEZ, L. et al. Diversity of microbial communities and genes involved in nitrous oxide emissions in Antarctic soils impacted by marine animals as revealed by metagenomics and 100 metagenome-assembled genomes. **Science of The Total Environment**, v. 788, p. 147693, 2021.

RAMÍREZ-GAMBOA, D. et al. Photolyase production and current applications: a review. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 5998, 2022.

RAMPELOTTO, P. H. et al. Distribution and interaction patterns of bacterial communities in an ornithogenic soil of Seymour Island, Antarctica. **Microbial Ecology**, v. 69, n. 3, p. 684-694, 2015.

RANA, Md. S.; CAMPBELL, D. L. M. Application of ultraviolet light for poultry production: a review of impacts on behavior, physiology, and production. **Frontiers in Animal Science**, v. 2, p. 699262, 2021.

- RASUK, M. C. et al. UV-Resistant Actinobacteria from High-Altitude Andean Lakes: Isolation, Characterization and Antagonistic Activities. **Photochemistry and Photobiology**, v. 93, n. 3, p. 865–880, 2017.
- REASONER, D. J.; GELDREICH, E. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 1-7, 1985.
- REDDY, G. S. N. et al. *Kocuria polaris* sp. nov., an orange-pigmented psychrophilic bacterium isolated from an Antarctic cyanobacterial mat sample. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 183–187, 2003.
- REGO, A. et al. Diversity of bacterial biosynthetic genes in maritime antarctica. **Microorganisms**, v. 8, n. 2, p. 279, 2020.
- REIS-MANSUR, M. C. P. P. et al. Carotenoids from UV-resistant Antarctic *Microbacterium* sp. LEMMJ01. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2019.
- REIS-MANSUR, M. C. P. P.; DA LUZ, B. G.; DOS SANTOS, E. P. Consumer Behavior, Skin Phototype, Sunscreens, and Tools for Photoprotection: A Review. **Cosmetics**, v. 10, n. 2, p. 39, 2023a
- REIS-MANSUR, M. C. P. P. et al. Nanotechnology as a Tool for Optimizing Topical Photoprotective Formulations Containing Buriti Oil (*Mauritia flexuosa*) and Dry Aloe Vera Extracts: Stability and Cytotoxicity Evaluations. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 2, p. 292, 2023b.
- REZAEYAN, Z. et al. High carotenoid production by a halotolerant bacterium, *Kocuria* sp. strain QWT-12 and anticancer activity of its carotenoid. **EXCLI Journal**, v. 16, p. 840–851, 2017.
- RODRIGUES, E. et al. Scavenging capacity of marine carotenoids against reactive oxygen and nitrogen species in a membrane-mimicking system. **Marine Drugs**, v. 10, n. 8, p. 1784–1798, 2012.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **HarvestPlus handbook for carotenoid analysis**. International Food Policy Research Institute (IFPRI), Washington, 2004. v. 2
- RODRÍGUEZ-VILLALÓN, A.; PÉREZ-GIL, J.; RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN, M. Carotenoid accumulation in bacteria with enhanced supply of isoprenoid precursors by upregulation of exogenous or endogenous pathways. **Journal of Biotechnology**, v. 135, n. 1, p. 78–84, 2008.
- ROESCH, L. F. W. et al. Soil bacterial community abundance and diversity in ice-free areas of Keller Peninsula, Antarctica. **Applied Soil Ecology**, v. 61, p. 7–15, 1 out. 2012.
- ROJAS-GARBANZO, C. et al. Carotenoid Profile, Antioxidant Capacity, and Chromoplasts of Pink Guava (*Psidium guajava* L. Cv. ‘Criolla’) during Fruit Ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 18, p. 3737–3747, 2017.
- ROJAS-GARBANZO, C.; GLEICHENHAGEN, M.; HELLER, A.; ESQUIVEL, P.; SCHULZE-KAYSERS, N.; SCHIEBER, A. Carotenoid profile, antioxidant capacity, and

chromoplasts of pink guava (*Psidium guajava* L. Cv. 'Criolla') during fruit ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 18, p. 3737–3747, 2017.

RONNEKLEIV, M. Bacterial carotenoids 53* C50-carotenoids 23; carotenoids of *Haloferax volcanii* versus other halophilic bacteria. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 23, n. 6, p. 627–634, 1995.

ROSIC, N. et al. Exploring Mycosporine-like Amino Acid UV-Absorbing Natural Products for a New Generation of Environmentally Friendly Sunscreens. **Marine Drugs**, v. 21, n. 4, p. 253, 2023.

RÖTTIG, M. et al. NRSPredictor2—a web server for predicting NRPS adenylation domain specificity. **Nucleic acids research**, v. 39, n. 2, p. W362–W367, 2011.

RUAN, L. et al. Melanin pigment formation and increased UV resistance in *Bacillus thuringiensis* following high temperature induction. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 27, n. 3, p. 286–289, 2004.

RUSSO, A. et al. Lichen metabolites prevent UV light and nitric oxide-mediated plasmid DNA damage and induce apoptosis in human melanoma cells. **Life Sciences**, v. 83, n. 13, p. 468–474, 2008.

RYMBAI, H. et al. Biocolorants and its implications in health and food industry - a review. **International Journal of Pharmacological Research**, v. 3, n. 4, 2228–2244, 2011.

SAGE, E. et al. Unravelling UVA-induced mutagenesis. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 11, n. 1, p. 74–80, 2012.

SAITO, T. et al. Pigments of *Rubrobacter radiotolerans*. **Archives of Microbiology**, v. 162, n. 6, p. 414–421, 1994.

SAJJAD, W. et al. Radio-protective and antioxidative activities of astaxanthin from newly isolated radio-resistant bacterium *Deinococcus* sp. strain WMA-LM9. **Annals of Microbiology**, v. 67, n. 7, p. 443–455, 2017.

SAJJAD, W. et al. . Ectoine: a compatible solute in radio-halophilic *Stenotrophomonas* sp. WMA-LM19 strain to prevent ultraviolet-induced protein damage. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 2, p. 457–467, 2018.

SAJJAD, W. et al. Pigment production by cold-adapted bacteria and fungi: colorful tale of cryosphere with wide range applications. **Extremophiles**, v. 24, p. 447–473, 2020.

SALMINEN, A. et al. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. **Inflammation Research**, v. 71, n. 7–8, p. 817–831, 2022.

SAMYUKTHA, S.; MAHAJAN, S. N. Isolation and identification of pigment producing bacteria and characterization of extracted pigments. **International Journal of Applied Research**, v. 2, n. 7, p. 657–664, 2016.

- SANDMANN, G. Antioxidant protection from UV-and light-stress related to carotenoid structures. **Antioxidants**, v. 8, n. 7, p. 219, 2019.
- SANCAR, G. B. Enzymatic photoreactivation: 50 years and counting. Mutation Research/Fundamental and **Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 451, n. 1-2, p. 25-37, 2000.
- SANDMANN, G. Carotenoids and Their Biosynthesis in Fungi. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1431, 2022.
- SANTA-CRUZ, Y. M. et al. Cold-adapted chitinases from Antarctic bacteria: taxonomic assessment and enzyme production optimization. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 34, p. 102029, 2021.
- SANTOS, A. L. et al. Wavelength dependence of biological damage induced by UV radiation on bacteria. **Archives of Microbiology**, v. 195, n. 1, p. 63-74, 2013.
- SARKAR, S.; GADDAMEEDHI, S. UV-B-induced erythema in human skin: The circadian clock is ticking. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 138, n. 2, p. 248–251, 2018.
- SASIDHARAN, P. et al. Isolation and characterization of yellow pigment producing *Exiguobacterium* sps. **Journal of Biochemical Technology**, v.4, n. 4, p. 632-635, 2013.
- SCHALCH, W.; WEBER, P. Vitamins and Carotinoids—A Promising Approach to Reducing the Risk of Coronary Heart Disease, Cancer and Eye Diseases. **Free Radicals in Diagnostic Medicine: A Systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy**, p. 335-350, 1994.
- SCHMITT, I. et al. From Aquaculture to Aquaculture: Production of the Fish Feed Additive Astaxanthin by *Corynebacterium glutamicum* Using Aquaculture Sidestream. **Molecules**, v. 28, n. 4, p. 1996, 2023.
- SCHULTZ, J. et al. Unraveling the Genomic Potential of the Thermophilic Bacterium *Anoxybacillus flavithermus* from an Antarctic Geothermal Environment. **Microorganisms**, v. 10, n. 8, p. 1673, 2022.
- SCHULTZ, J.; ROSADO, A. S. Microbial Role in the Ecology of Antarctic Plants. In: CASTRO-SOWINSKI, S. (Ed.). **The Ecological Role of Micro-organisms in the Antarctic Environment**. Springer Polar Sciences, 2019, p. 257–275.
- SCHWARZ, T. Mechanisms of UV-induced immunosuppression. *The Keio Journal of Medicine*, v. 54, n. 4, p. 165–171, 2005.
- SEDDON, J. M. et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. **JAMA**, v. 272, n. 18, p. 1413–1420, 1994.
- SEDLÁČEK, I. et al. Characterization of waterborne psychrophilic *Massilia* isolates with violacein production and description of *Massilia antarctica* sp. nov. **Microorganisms**, v. 10, n. 4, p. 704, 2022.

- SEELAM, S. D. et al. Characterization and photoprotective potentiality of lime dwelling *Pseudomonas* mediated melanin as sunscreen agent against UV-B radiations. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 216, p. 112126, 2021.
- SEEMANN, T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. **Bioinformatics**, v. 30, n. 14, p. 2068–2069, 2014.
- SEN, T. et al. Microbial pigments in the food industry—challenges and the way forward. **Frontiers in Nutrition**, v. 6, p. 7, 2019.
- SHAHBAZI, S. et al. Evaluation of Anti-cancer Effect of Carotenoids Produced by A Halophilic Archaeon, *Haloarcula* sp. Strain A15 Isolated from Saline Environment of Iran on Breast Cancer Cells. **Research Square**, p. 1-20, 2023.
- SHARMA, M.; SHARMA, A. A review on nature based sunscreen agents. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 1110, n. 1, p. 012047, 2023.
- SHATILA, F. et al. Pigment production by *Exiguobacterium aurantiacum* FH, a novel Lebanese strain. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.2, n.12, p. 176-91.
- SHEIBANI MADRAHI, G.; NAEIMPOOR, F. Effect of synchronized abiotic stressors and UV on scytonemin synthesis by marine cyanobacterium *Leptolyngbya mycodia* in sequential two-stage cultivation. **Journal of Applied Phycology**, v. 35, n. 1, p. 43–56, 2023.
- SHEIKH, M. A. et al. Extraction of lycopene from agro-industrial waste. In: BHAWANI, S. et al. (Eds.) **Extraction of Natural Products from Agro-Industrial Wastes**. Elsevier, 2023, p. 179–196.
- SHILPA, S. et al. Factors affecting bioaccessibility and bio-efficacy of carotenoids. In: GALANIS, C. M. (Ed.). **Carotenoids: Properties, Processing and Applications**. Academic Press, 2020, p. 41–73.
- SHINDO, K. et al. Rare carotenoids,(3 R)-saproxanthin and (3 R, 2' S)-myxol, isolated from novel marine bacteria (Flavobacteriaceae) and their antioxidative activities. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, n. 6, p. 1350–1357, 2007.
- SHORT, K. A. et al. An ancient, Antarctic-specific species complex: large divergences between multiple Antarctic lineages of the tardigrade genus *Mesobiotus*. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 170, p. 107429, 2022.
- SIEFERMANN-HARMS, D. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. **Physiologia Plantarum**, v. 69, n. 3, p. 561–568, 1987.
- SILVA, T. R. et al. Chemical characterization and biotechnological applicability of pigments isolated from Antarctic bacteria. **Marine Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 416–429, 2019a.
- SILVA, C. et al. Evaluation of dye sensitized solar cells based on a pigment obtained from Antarctic *Streptomyces fildesensis*. **Solar Energy**, v. 181, p. 379–385, 2019b.

- SILVA, T. R. et al. Pigments in an iridescent bacterium, *Cellulophaga fucicola*, isolated from Antarctica. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 112, n. 3, p. 479–490, 2019c.
- SILVA, C. et al. Isolation of a β -carotene over-producing soil bacterium, *Sphingomonas* sp. **Biotechnology Letters**, v. 26, n. 3, p. 257–262, 2004.
- SILVA, T. R. e et al. Pigments from Antarctic bacteria and their biotechnological applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 41, n. 6, p. 809-826, 2021.
- SILVA, L. J. et al. Actinobacteria from Antarctica as a source for anticancer discovery. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 13870, 2020.
- SIMÃO, F. A. et al. BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs. **Bioinformatics**, v. 31, n. 19, p. 3210–3212, 2015.
- SINGH, A. et al. Lipid membrane modulation and pigmentation: A cryoprotection mechanism in Arctic pigmented bacteria. **Journal of Basic Microbiology**, v. 57, n. 9, p. 770-780, 2017.
- SISTROM, W. R. et al. The biology of a photosynthetic bacterium which lacks colored carotenoids. **Journal of Cellular and Comparative Physiology**, v. 48, n. 3, p. 473-515, 1956.
- SIZIYA, I. N. et al. Antioxidant potential and capacity of microorganism-sourced C30 carotenoids—A review. **Antioxidants**, v. 11, n. 10, p. 1963, 2022.
- SKINNIDER, M. A. et al. PRISM 3: expanded prediction of natural product chemical structures from microbial genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. W1, p. W49-W54, 2017.
- SLADE, D.; RADMAN, M. Oxidative stress resistance in *Deinococcus radiodurans*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 75, n. 1, p. 133-191, 2011.
- SMITH, B. T.; WALKER, G. C. Mutagenesis and more: umuDC and the *Escherichia coli* SOS response. **Genetics**, v. 148, n. 4, p. 1599-1610, 1998.
- SMITH, R. I. L. Vascular plants as bioindicators of regional warming in Antarctica. **Oecologia**, v. 99, n. 3–4, p. 322–328, 1994.
- SO, J. E. et al. The Revision of Lichen Flora Around Maxwell Bay, King George Island, Maritime Antarctic. **Journal of Microbiology**, v. 61, n. 2, p. 159–173, 2023.
- SOFO, A. et al. Growth Patterns of Tomato Plants Subjected to Two Non-conventional Abiotic Stresses: UV-C Irradiations and Electric Fields. In: AHMAD, P.; WANI, M. R. (Eds.). **Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment**. Springer, New York, 2014, v. 2, p. 285–296.
- SOLANO, F. Photoprotection and skin pigmentation: Melanin-related molecules and some other new agents obtained from natural sources. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1537, 2020.

- SOO, R. M. et al. Microbial biodiversity of thermophilic communities in hot mineral soils of Tramway Ridge, Mount Erebus, Antarctica. **Environmental Microbiology**, v. 11, n. 3, p. 715–728, 2009.
- SOUSA, M. et al. Far-UV-C radiation demonstrated germicidal activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus* sp. **Scientific Letters**, v.1, n.1, 2023.
- STAHL, W. et al. Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. **FEBS Letters**, v. 427, n. 2, p. 305-308, 1998.
- STARCEVIC, A. et al. ClustScan: an integrated program package for the semi-automatic annotation of modular biosynthetic gene clusters and in silico prediction of novel chemical structures. **Nucleic Acids Research**, v. 36, n. 21, p. 6882-6892, 2008.
- STYCZYNSKI, M. et al. Genome-based insights into the production of carotenoids by Antarctic bacteria, *Planococcus* sp. ANT_H30 and *Rhodococcus* sp. ANT_H53B. **Molecules**, v. 25, n. 19, p. 4357, 2020.
- SUOZZI, K. et al. Cutaneous Photoprotection: A Review of the Current Status and Evolving Strategies. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 93, n. 1, p. 55–67, 2020.
- SURYAWANSHI, R. K. et al. Towards an understanding of bacterial metabolites prodigiosin and violacein and their potential for use in commercial sunscreens. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 37, n. 1, p. 98–107, 2015.
- SUTTHIWONG, N. et al. Bacteria belonging to the extremely versatile genus *Arthrobacter* as novel source of natural pigments with extended hue range. **Food Research International**, v. 65, p. 156–162, 2014a.
- SUTTHIWONG, N. et al. *Arthrobacter arilaitensis* strains isolated from ripened cheeses: Characterization of their pigmentation using spectrophotometry. **Food Research International**, v. 65, p. 184–192, 2014b.
- SUTTHIWONG, N.; DUFOSSÉ, L. Production of carotenoids by *Arthrobacter arilaitensis* strains isolated from smear-ripened cheeses. **FEMS Microbiology Letters**, v. 360, n. 2, p. 174–181, 2014.
- TAKAO, M. et al. Characterization of a UV endonuclease gene from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* and its bacterial homolog. **Nucleic Acids Research**, v. 24, n. 7, p. 1267-1271, 1996.
- TAMURA, H.; ISHIKITA, H. Quenching of singlet oxygen by carotenoids via ultrafast superexchange dynamics. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 124, n. 25, p. 5081–5088, 2020.
- TAMURA, K. et al. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022–3027, 2021.

- TAN, Y. et al. The role of reactive oxygen species in plant response to radiation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3346, 2023.
- TANIGUCHI, H. et al. Overexpression of the primary sigma factor gene sigA improved carotenoid production by *Corynebacterium glutamicum*: Application to production of β -carotene and the nonnative linear C50 carotenoid bisanhydrobacterioruberin. **Metabolic Engineering Communications**, v. 4, p. 1–11, 2017.
- TAO, L. et al. Genes from a *Dietzia* sp. for synthesis of C40 and C50 β -cyclic carotenoids. **Gene**, v. 386, n. 1, p. 90–97, 2007.
- TAVARES, R. S. N. et al. Fucoxanthin for Topical Administration, a Phototoxic vs. Photoprotective Potential in a Tiered Strategy Assessed by In Vitro Methods. **Antioxidants**, v. 9, n. 4, p. 328, 2020.
- TEIXEIRA, L. C. R. S. et al. Bacterial diversity in rhizosphere soil from Antarctic vascular plants of Admiralty Bay, maritime Antarctica. **The ISME Journal**, v. 4, n. 8, p. 989-1001, 2010.
- TEIXEIRA, L. C. R. S. et al. Plant and bird presence strongly influences the microbial communities in soils of Admiralty Bay. Maritime Antarctica. **PLOS ONE**, v. 8, n. 6, p. e66109, 2013.
- TERAO, J. Antioxidant activity of β -carotene-related carotenoids in solution. **Lipids**, v. 24, n. 7, p. 659–661, 1989.
- TERLOUW, B. R. et al. MIBiG 3.0: a community-driven effort to annotate experimentally validated biosynthetic gene clusters. **Nucleic Acids Research**, v. 51, n. D1, p. D603–D610, 2023.
- THOMAS, G.; FAVRE, A. 4-Thiouridine as the target for near-ultraviolet light induced growth delay in *Escherichia coli*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 66, n. 4, p. 1454–1461, 1975.
- TIAN, B. et al. Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence, and DNA damage analyses. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1770, n. 6, p. 902-911, 2007.
- TIAN, Y. China. Patent Application. No. 202210866273.9. 2022
- TIETZ, J. I. et al. A new genome-mining tool redefines the lasso peptide biosynthetic landscape. **Nature Chemical Biology**, v. 13, n. 5, p. 470-478, 2017.
- TIMKINA, E. et al. *Kocuria* strains from unique radon spring water from Jachymov Spa. **Fermentation**, v. 8, n. 1, p. 35, 2022
- TISTECHOK, S. et al. The diversity and antibacterial activity of culturable actinobacteria isolated from the rhizosphere soil of *Deschampsia antarctica* (Galindez Island, Maritime Antarctic). **Polar Biology**, v. 44, n. 9, p. 1859–1868, 2021.

- TOMOVA, I. et al. Antimicrobial activity and resistance to heavy metals and antibiotics of heterotrophic bacteria isolated from sediment and soil samples collected from two Antarctic islands. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 4, p. 348–357, 2015.
- TRAN, T.-N. T. et al. UV and pigmentation: molecular mechanisms and social controversies. **Pigment Cell & Melanoma Research**, v. 21, n. 5, p. 509–516, 2008.
- TRIBELLI, P. M. et al. Response to lethal UVA radiation in the Antarctic bacterium *Pseudomonas extremaustralis*: polyhydroxybutyrate and cold adaptation as protective factors. **Extremophiles**, v. 24, n. 2, p. 265–275, 2020.
- TRIPATHI, U. et al. Studies on *Haematococcus pluvialis* for improved production of astaxanthin by mutagenesis. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 143-148, 2001.
- TRUSCOTT, T. G. New trends in photobiology: the photophysics and photochemistry of the carotenoids. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 6, n. 4, p. 359–371, 1990
- TULI, H. S. et al. . Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 8, p. 4669-4678, 2015.
- TURNER, S. et al. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 46, n. 4, p. 327–338, 1999.
- TYTGAT, B. et al. Bacterial diversity assessment in Antarctic terrestrial and aquatic microbial mats: a comparison between bidirectional pyrosequencing and cultivation. **PLOS ONE**, v. 9, n. 6, p. e97564, 2014
- UCHINO, O. et al. Essential characteristics of the Antarctic-spring ozone decline: Update to 1998. **Geophysical Research Letters**, v. 26, n. 10, p. 1377-1380, 1999.
- UGOLINI, F. C.; BOCKHEIM, J. G. Antarctic soils and soil formation in a changing environment: a review. **Geoderma**, v. 144, n. 1–2, p. 1–8, 2008.
- VALDUGA, E. et al. Carotenoids production: microorganisms as source of natural dyes. **Química Nova**, v. 32, p. 2429–2436, 2009
- VALVERDE, T. M. et al. Anti-Inflammatory, Antimicrobial, Antioxidant and Photoprotective Investigation of Red Propolis Extract as Sunscreen Formulation in Polawax Cream. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5112, 2023.
- VAN BERGEIJK, D. et al. Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 10, p. 546-558, 2020.
- VAN GOETHEM, M. W.; COWAN, D. A. Role of Cyanobacteria in the Ecology of Polar Environments. In: CASTRO-SOWINSKI, S. (Ed.). **The Ecological Role of Microorganisms in the Antarctic Environment**. Springer Polar Sciences, 2019, p. 3–23.
- VAN HEEL, A. J. et al. BAGEL4: a user-friendly web server to thoroughly mine RiPPs and bacteriocins. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. W1, p. W278-W281, 2018.

- VAN HORN, D. J. et al. Factors controlling soil microbial biomass and bacterial diversity and community composition in a cold desert ecosystem: role of geographic scale. **PLOS ONE**, v. 8, n. 6, p. e66103, 2013.
- VAN HORN, D. J. et al. Soil microbial responses to increased moisture and organic resources along a salinity gradient in a polar desert. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 10, p. 3034–3043, 2014.
- VAN HOUTEN, B. et al. ‘Close-fitting sleeves’: DNA damage recognition by the UvrABC nuclease system. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 577, n. 1-2, p. 92-117, 2005.
- VARASTEH, T. et al. Conserved pigment profiles in phylogenetically diverse symbiotic bacteria associated with the corals *Montastraea cavernosa* and *Mussismilia braziliensis*. **Microbial Ecology**, v. 81, n. 1, p. 267-277, 2021.
- VASEY, J. Characterisation of Pigmentation in a Novel Isolate of Arthrobacter Recovered from Soils of the Namib Desert. Doctoral dissertation, Auckland University of Technology, 2022.
- VASILEVA-TONKOVA, E. et al. Ecophysiological properties of cultivable heterotrophic bacteria and yeasts dominating in phytocenoses of Galindez Island, maritime Antarctica. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n.4, p. 1387-1398, 2014.
- VELASCO, M. V. R. et al. Broad spectrum bioactive sunscreens. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 363, n. 1, p. 50–57, 2008.
- VENIL, C. K. et al. Current perspective on bacterial pigments: emerging sustainable compounds with coloring and biological properties for the industry—an incisive evaluation. **RSC Advances**, v. 4, n. 74, p. 39523–39529, 2014.
- VENIL, C. K. et al. Bacterial pigments and their applications. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 7, p. 1065–1079, 2013.
- VENTURA, M. et al. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 71, n. 3, p. 495-548, 2007.
- VIANA, F. et al. High ultraviolet C resistance of marine Planctomycetes. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 104, n. 4, p. 585–595, 2013.
- VILA, E. et al. Carotenoids from heterotrophic bacteria isolated from Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. **Biotechnology Reports**, v. 21, p. e00306, 2019.
- VINCENT, W. F. Cyanobacterial dominance in the polar regions. In: WHITTON, B. A.; POTTS, M. (Eds.). **The Ecology of Cyanobacteria**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2000, p. 321–340.

- VIONE, D. et al. Indirect photochemistry in sunlit surface waters: photoinduced production of reactive transient species. **Chemistry—A European Journal**, v. 20, n. 34, p. 10590-10606, 2014.
- WAGENER, S. et al. 3, 3'-Dihydroxyisorenieratene and isorenieratene prevent UV-induced DNA damage in human skin fibroblasts. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, n. 3, p. 457-463, 2012.
- WALKER, G. C. Mutagenesis and inducible responses to deoxyribonucleic acid damage in *Escherichia coli*. **Microbiological Reviews**, v. 48, n. 1, p. 60-93, 1984.
- WANG, C. et al. Metagenomic analysis of microbial consortia enriched from compost: new insights into the role of Actinobacteria in lignocellulose decomposition. **Biotechnology for Biofuels**, v. 9, n. 1, p. 22, 2016.
- WANG, N. F. et al. Diversity and structure of soil bacterial communities in the Fildes Region (maritime Antarctica) as revealed by 454 pyrosequencing. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1188, 2015.
- WANG, T. et al. Polyphenolic sunscreens for photoprotection. **Green Chemistry**, v. 24, n. 9, p. 3605-3622, 2022a.
- WANG, Y. et al. Biosynthetic mechanism for sunscreens of the biocontrol agent *Lysobacter enzymogenes*. **PLOS ONE**, v. 8, n. 6, p. e66633, 2013.
- WANG, Y. et al. Carotenoid fates in plant foods: Chemical changes from farm to table and nutrition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-19, 2022b.
- WASCHULIN, V. et al. Metabolic potential of uncultured Antarctic soil bacteria revealed through long-read metagenomic sequencing. **BioRxiv**, 2020.
- WASCHULIN, V. et al. Biosynthetic potential of uncultured Antarctic soil bacteria revealed through long-read metagenomic sequencing. **The ISME Journal**, v. 16, n. 1, p. 101-111, 2022.
- WEEKS, O. B. et al. Structure of the principal carotenoid pigment of *Cellulomonas biazotea*. **Journal of Bacteriology**, v. 141, n. 3, p. 1272-1278, 1980.
- WENLI, Y.; YAPING, Z. Chemiluminescence evaluation of oxidative damage to biomolecules induced by singlet oxygen and the protective effects of antioxidants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1725, n. 1, p. 30-34, 2005.
- WICK, R. R. et al. Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. **PLOS Computational Biology**, v. 13, n. 6, p. e1005595, 2017.
- WIDEL, M. et al. Induction of bystander effects by UVA, UVB, and UVC radiation in human fibroblasts and the implication of reactive oxygen species. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 68, p. 278-287, 2014.

- WILMOTTE, A. et al. Antarctic Microbial Biodiversity: The importance of geographical and ecological factors. **SCIENCE FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT**, 2010.
- WILMOUTH, D. M. et al. Stratospheric ozone depletion and recovery. In: TÖRÖK, B.; DRANSFIELD, T. (Eds.) **Green Chemistry**. Elsevier, 2018. p. 177-209.
- WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION. Scientific assessment of ozone depletion: 2014. **Global Ozone Research and Monitoring Project-Report No. 55**. Geneva, Switzerland, 2014, p. 416.
- WOODALL, A. A. et al. Oxidation of Carotenoids by Free Radicals: Relationship between Structure and Reactivity. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1336, n. 1, p. 33–42, 1997.
- WYNN-WILLIAMS, D. D. Microbial colonization processes in Antarctic fellfield soils-an experimental overview. **Proc. NIPR Symp. Polar Biol.**, 1990a, v.3, p. 164–178.
- WYNN-WILLIAMS, D. D. Ecological aspects of Antarctic microbiology. In: MARSHALL, K. C. (Ed.). **Advances in Microbial Ecology**. Springer, US, 1990b, v. 11, p. 71–146.
- XIAO, X. et al. Bacterial communities inside and in the vicinity of the Chinese Great Wall station, King George Island, Antarctica. **Antarctic Science**, v. 19, n. 1, p. 11–16, 2007.
- XIAO, Y. et al. Thermal degradation kinetics of all-trans and cis-carotenoids in a light-induced model system. **Food Chemistry**, v. 239, p. 360–368, 2018.
- XIONG, F. S.; DAY, T. A. Effect of solar ultraviolet-B radiation during springtime ozone depletion on photosynthesis and biomass production of Antarctic vascular plants. **Plant Physiology**, v. 125, n. 2, p. 738-751, 2001.
- XIONG, Z. et al. Growth cycle-induced changes in sensitivity of *Staphylococcus aureus* to bactericidal lipids from abscesses. **Journal of Medical Microbiology**, v. 39, n. 1, p. 58–63, 1993.
- XU, Z. et al. Advances in mining and expressing microbial biosynthetic gene clusters. **Critical Reviews in Microbiology**, p. 1-20, 2022.
- YABUZAKI, J. Carotenoids Database: Structures, chemical fingerprints and distribution among organisms. **Database**, v. 2017, p. bax004, 2017.
- YAMASHITA, E. Extensive bioactivity of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* in human. . In: MISAWA, N. (Ed.). **Carotenoids: Biosynthetic and Biofunctional Approaches**. Springer, Singapore, 2021, v.1261, p. 249–259.
- YANG, Y. et al. Complete biosynthetic pathway of the C50 carotenoid bacterioruberin from lycopene in the extremely halophilic archaeon *Haloarcula japonica*. **Journal of bacteriology**, v. 197, n. 9, p. 1614–1623, 2015.
- YERGEAU, E. et al. Patterns of bacterial diversity across a range of Antarctic terrestrial habitats. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 11, p. 2670–2682, 2007a.

- YERGEAU, E. et al. Size and structure of bacterial, fungal, and nematode communities along an Antarctic environmental gradient. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 59, n. 2, p. 436–451, 2007b.
- YERGEAU, E. et al. Environmental microarray analyses of Antarctic soil microbial communities. **The ISME Journal**, v. 3, n. 3, p. 340–351, 2009.
- YERGEAU, E. et al. Shifts in soil microorganisms in response to warming are consistent across a range of Antarctic environments. **The ISME Journal**, v. 6, n. 3, p. 692–702, 2012.
- YU, X. et al. Purification, Identification, and Properties of a Novel Carotenoid Produced by *Arthrobacter sp.* QL17 Isolated from Mount Qomolangma. **Antioxidants**, v. 11, n. 8, p. 1493, ago. 2022.
- ZEB, A.; MEHMOOD, S. Carotenoids contents from various sources and their potential health applications. Pakistan Journal of Nutrition. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 3, n. 3, p. 199–204, 2004.
- ZHANG, L. et al. Knockout of crtB or crtI gene blocks the carotenoid biosynthetic pathway in *Deinococcus radiodurans* R1 and influences its resistance to oxidative DNA-damaging agents due to change of free radicals scavenging ability. **Archives of Microbiology**, v. 188, n. 4, p. 411–419, 2007
- ZHANG, P.; OMAYE, S. T. β -Carotene and protein oxidation: effects of ascorbic acid and α -tocopherol. **Toxicology**, v. 146, n. 1, p. 37-47, 2000.
- ZHANG, Z. et al. Delivery systems for fucoxanthin: Research progress, applications and future prospects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–17, 2022.
- Zhang, Z., Wei, Z. and Xue, C., 2022. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp.1-17.
- ZHAO, Y. H. et al. Disruption of the polyhydroxyalkanoate synthase gene in *Aeromonas hydrophila* reduces its survival ability under stress conditions. **FEMS Microbiology Letters**, v. 276, n. 1, p. 34-41, 2007.
- ZHOU, Q. et al. Biomass and carotenoid production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: effects of light intensity, **Bioresource Technology**, v. 171, p. 330–335, 2014.
- ZHOU, Z. et al. CYP287A1 is a carotenoid 2- β -hydroxylase required for deinoxanthin biosynthesis in *Deinococcus radiodurans* R1. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 24, p. 10539–10546, 2015.
- ZIA-UL-HAQ, M. Historical and Introductory Aspects of Carotenoids. In: ZIA-UL-HAQ, M. et al. (Eds.). **Carotenoids: Structure and Function in the Human Body**. Springer International Publishing, 2021. p. 1–42.
- ZIEMERT, N. et al. The natural product domain seeker NaPDoS: a phylogeny based bioinformatic tool to classify secondary metabolite gene diversity. **PLoS one**, v.7, n. 3, p. e34064, 2012.

ZNÓJ, A. et al. Bacterial Communities Associated with *Poa annua* Roots in Central European (Poland) and Antarctic Settings (King George Island). **Microorganisms**, v. 9, n. 4, p. 811, 2021.

ZNÓJ, A. et al. Root-associated bacteria community characteristics of Antarctic plants: *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis*—A comparison. **Microbial Ecology**, v. 84, n. 3, p. 808–820, 2022.

ZOBELL, C. Studies on marine bacteria. I. The cultural requirements of heterotrophic aerobes. **Journal of Marine Research**, v. 4, n.1, p. 41-75, 1941.