



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
**INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL E DOS RECURSOS HÍDRICOS**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**DIELSON MÁRCIO FONSECA MAUÉS**

**POTENCIAL GENÔMICO PARA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS**  
**SECUNDÁRIOS DE *Tremella mesenterica* POR MEIO DE**  
**FERRAMENTAS IN SILICO**

**BELÉM/PA**

**2024**

**DIELSON MÁRCIO FONSECA MAUÉS**

**POTENCIAL GENÔMICO PARA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS  
SECUNDÁRIOS DE *Tremella mesenterica* POR MEIO DE  
FERRAMENTAS IN SILICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), como parte do requisito para obtenção do título de Graduado.

**Orientadora:** Dra. Hellen Kempfer Philippsen  
**Coorientador:** Dr. Leonardo Castelo Branco Carvalho

**BELÉM/PA  
2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia  
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M447p Maués, Dielson Márcio Fonseca

Potencial genômico para produção de metabólitos secundários de *Tremella mesenterica* por meio de ferramentas *in silico* / Dielson Márcio Fonseca Maués. - 2024.

39 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas (Bacharelado), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2024.

Orientador: Profa. Dra. Hellen Kempfer Philippsen

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Castelo Branco Carvalho.

1. Bioinformática. 2. Genoma. 3. Metabólitos Secundários. I. Philippsen, Hellen Kempfer, *orient.* II. Título

---

CDD 572.86

**DIELSON MÁRCIO FONSECA MAUÉS**

**POTENCIAL GENÔMICO PARA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS  
SECUNDÁRIOS DE *Tremella mesenterica* POR MEIO DE FERRAMENTAS  
IN SILICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), como parte dos requisitos para obtenção do título de Graduado.

**Orientadora:** Profa. Dra. Hellen Kempfer Philippsen.

**Coorientador:** Prof. Dr. Leonardo Castelo Branco Carvalho.

**Aprovado em: 30 de Outubro de 2024.**

**Banca Examinadora:**

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Hellen Kempfer Philippsen**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia**

---

**Prof Dr Leonardo Castelo Branco**  
**Carvalho**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia**

---

**Prof Dr Renan Silva Campos**  
**Universidade Federal do Pará**

Aos meus pais e avós, por todo amor, apoio, incentivo e educação na minha jornada acadêmica, e aos meus orientadores, pela missão e trabalho honroso, conhecimento e experiências destinadas, dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por estar deste o início da minha caminhada acadêmica, pelas bênçãos, pelas oportunidades de experiências importantes para o meu crescimento emocional e profissional e, por permitir conhecer pessoas maravilhosas na minha vida.

A minha família, em especial meus pais, Edilene Carvalho Fonseca e Márcio Antônio Costa Maués. Minha querida avó e meu querido avô, Lucinila Maués e Teodolino Maués, minhas queridas tias Marilucia Maués e Márcia maués. Grato todas e todos pelo apoio físico, mental e financeiro.

Ao corpo docente do curso, por todo conhecimento, experiências, dedicação e energia compartilhada para o crescimento profissional dos alunos dedicados. Em especial, meus orientadores Dra. Hellen Kempfer e Dr. Leonardo Carvalho. Também ao meu maravilhoso professor e amigo, Antônio Luz, do Estado de Brasília, por dedicar seu trabalho no desenvolvimento da minha experiência em comunicação estrangeira inglesa, a qual serviu e servirá ao meu seguimento profissional, acadêmico e científico. Ao meu amigo e mentor Leonardo Amaral, do Estado de Minas Gerais, pelos conhecimentos e treinamentos trabalhados para evolução da minha comunicação e expressão. Ao meu professor Pedro Calabrez, do Estado de São Paulo, pelas pesquisas e sabedoria compartilhadas, o qual foi fundamental para meu autoconhecimento nas áreas profissional e pessoal.

A todos meus verdadeiros amigos, de dentro e fora da faculdade, das cidades de Abaetetuba, Belém e todo Brasil, por todo apoio, incentivo, convites, viagens, lembranças e experiências marcantes e necessárias.

“O maior inimigo do cérebro ativo é a acomodação.”  
(Pedro Calabrez, 2017)

## RESUMO

A ascensão da tecnologia e avanço do poder computacional permitiu o desenvolvimento da bioinformática, principalmente, no que diz respeito as ciências ômicas. Com tais recursos aplicados é possível que institutos de ciência e pesquisa otimizem resultados e facilita a gestão de dados biológicos com mais eficiência. A biotecnologia, ao desfrutar de artifícios da bioinformática, promove alcançar meios viáveis e inovadores para determinar estratégias de exploração de recursos genéticos e bioativos de modo sustentável, diminuindo os custos laboratoriais em experimentação primaria. Nessa perspectiva, este trabalho teve o objetivo de explorar o perfil para a produção de metabólitos secundários a partir da análise genômica de *Tremella mesenterica*. As ferramentas de bioinformática utilizada foi o genbank (NCBI) para a obtenção do genoma do organismo; o Antismash para predição e similaridade genética; o programa KEGG para descrição das vias biossintéticas dos metabólitos secundários; banco de dados auxiliares como MIBiG e Pfam para determinação as funções biológicas dos bioativos. Para sustentar o embasamento das substancias preditas foram realizados buscas no ambiente Pubchem e revisão de literaturas para a averiguar suas propriedades químicas e efeitos biológicos em testes laboratoriais. Os resultados constataram que este fungo apresenta potencial para síntese de esqualestatina (ou ácido zaragózico) e ácido clavárico, com capacidades antimaláricos, inibição da síntese de colesterol e, efeitos antitumorais e anti- inflamatório, respectivamente. As características genômicas para produção de bioativos da espécie demonstrou similaridade dos clusters de genes biossintéticos, sobretudo, com as espécies *Kwoniella shandongensis* e *Cryptococcus gattii*. Após as resultantes, conclui- se que as ferramentas in sílico são fundamentais na análise genômica associado a investigação preditiva de recursos genéticos e moleculares de organismos e que pesquisas futuras in vitro com o fungo *T. mesenterica* para produção de ácido zaragózico e ácido clavárico.

Palavras-chave: bioinformática; genômica; metabólitos secundários; predição; *Tremella mesenterica*.

## ABSTRACT

The rise of technology and advancement of computing power has allowed the development of bioinformatics, especially with regard to omics sciences. With such resources applied, it is possible for science and research institutes to optimize results and facilitate the management of biological data more efficiently. Biotechnology, by leveraging bioinformatics tools, biotechnology promotes the achievement of viable and innovative means to determine strategies for exploiting genetic and bioactive resources in a sustainable manner, reducing laboratory costs in primary experimentation. From this perspective, this work aimed to explore the profile for the production of secondary metabolites from the genomic analysis of *Tremella mesenterica*. The bioinformatics tools used were the genbank (NCBI) to obtain the organism's genome; Antismash for prediction and genetic similarity; the KEGG program for describing the biosynthetic pathways of secondary metabolites; and auxiliary databases such as MIBiG and Pfam to determine the biological functions of bioactives. To support the basis of the predicted substances, research was carried out in the Pubchem environment and literature reviews were carried out to ascertain their chemical properties and biological effects in laboratory tests. The results showed that this fungus has the potential to synthesize squalestatin and clavatic acid, with antimalarial capabilities, inhibition of cholesterol synthesis, and antitumor and anti-inflammatory effects, respectively, according to the literature. The genomic characteristics for the production of bioactives of the species demonstrated similarity of the biosynthetic gene clusters, especially with the species *Kwoniella shandongensis* and *Cryptococcus gattii*. After the results, it is concluded that in silico tools are fundamental in genomic analysis associated with the predictive investigation of genetic and molecular resources of organisms and that future in vitro research with the fungus *T. mesenterica* for the production of zaragozic acid and clavatic acid.

Keywords: bioinformatics; genomics; secondary metabolites; prediction; *Tremella mesenterica*.

## **LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

N – Nitrogênio

C – Carbono

H – Hidrogênio

OH – Hidroxila

NCBI – National Center for Biotechnology Information

NAR – Nucleic Acids Research

MMDB – Molecular Modeling Database

AntiSMASH – Antibiotics and Secondary Metabolites Analysis Shell

BGCs – Biosynthetic Gene Clusters

Pfam – Protein Families Database

MIBiG – Minimum Information about a Biosynthetic Gene cluster

KEGG – Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

KO – KEGG Orthology

MS – Metabólicos Secundários

AZ – Ácido Zaragózico

AC – Ácido Clavárico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Características e diversidade de fungos.....</b>	<b>13</b>
3.1.1 Gênero <i>Tremella</i> e a espécie <i>Tremella mesenterica</i> .....	13
<b>3.2 Metabólitos secundários de fungos e sua importância biotecnológica .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3 Banco de dados biológicos e ferramentas de bioinformática.....</b>	<b>16</b>
2.3.1 Banco de dados biológicos.....	16
2.3.2 Antismash .....	17
2.3.3 KEGG .....	17
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>19</b>
<b>4.1 Busca do genoma.....</b>	<b>19</b>
<b>4.2 Predição dos metabólitos secundários.....</b>	<b>19</b>
<b>4.3 Predição das rotas bioquímicas dos compostos.....</b>	<b>19</b>
<b>4.4 Potencial biotecnológico com base nas literaturas.....</b>	<b>20</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>20</b>
<b>5.1 Os BGCs de <i>T. mesenterica</i> .....</b>	<b>20</b>
<b>5.2 Similaridade dos BGCs .....</b>	<b>22</b>
<b>5.3 Caracterização da rota metabólica dos compostos .....</b>	<b>25</b>
<b>5.4 Potencial biotecnológico .....</b>	<b>28</b>
5.4.1 Ácido Zaragózico .....	28
5.4.2 Ácido Clavárico .....	29
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Com o advento da tecnologia nos últimos séculos, novas ferramentas e recursos, sobretudo, computacionais tornaram mais precisas as análises e pesquisas, seja no campo da saúde, do meio ambiente, da engenharia, da química, até a biotecnologia. Esta ascensão, cada vez mais desenvolvida e aperfeiçoada, faz com que empresas e institutos de científicos lancem alto investimento tecnológico para extrair grandes volumes de dados e tornar seus exames mais finos, estratégicos e inovadores (Amaral et al., 2020). Nesse contexto, o setor biotecnológico, vem sendo bastante favorecido pelas técnicas biocomputacionais, pois tendo em vista a competitividade do mercado, somado às exigências ambientais de desenvolvimento sustentável, tais artifícios permitem a exploração dos recursos naturais e conhecimento da biodiversidade de modo mais eficiente, com potencial de redução de custos, bem como na diminuição de impactos sobre o meio ambiente (De carvalho, 2024). Essa visão é interessante pois, a partir de dados genômicos sequenciados, é possível obter noções de recursos genéticos a investigar, como também estudar elementos genômicos entre organismos que podem oferecer produtos similares para uso humano. O papel da bioinformática é fundamental pois possibilita análises e ensaios *in silico* nas ciências ômicas (genômica, metagenômica e proteômica) como mecanismo de usufruir do poder tecnológico e computacional no desenvolvimento científico e biotecnológico (Matos et al., 2023).

Dentro da infinita biodiversidade mundial, fungos são conhecidos por apresentarem grande volume de excreções metabólicas e variados compostos de diferentes naturezas (Sheldrake, 2021). Alguns grupos como os Basidiomicetos e Ascomicetos, são destacados por possuírem grande arsenal metabólico e boas possibilidades de bioativos de interesse biotecnológico.

Certas espécies do gênero *Tremella* (basidiomicetos) correspondem a organismos de importância ecológica por serem decompositores de matéria orgânica, alimentícia por possuírem propriedades nutricionais que podem ser consumidas, e biotecnológica pela produção de enzimas auxiliaadoras em processos industriais. Entretanto, a espécie *Tremella mesenterica* é, até então, com pouquíssimos trabalhos abordam suas características genéticas e moleculares, revelando a carência de estudos sobre a possibilidade de contribuição deste organismo na biotecnologia. Assim, o alvo do presente estudo é explorar o genoma da espécie *Tremella mesenterica* com propósito de investigar sequências de genes associadas a expressão de metabólitos secundários utilizando ferramentas de bioinformática, a fim de verificar possíveis aplicações biotecnológicas desta espécie.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

- Analisar o genoma do fungo *Tremella mesenterica* para verificação de possível produção de metabólitos secundários de importância biotecnológica a partir das ferramentas de bioinformática.

### **Objetivos específicos**

- Identificar grupos de genes envolvidos na síntese de metabólitos secundários de maior expressividade do fungo *T. mesenterica*;
- Verificar o grau de similaridade dos anotados clusters de genes de biossíntese de metabólitos secundários (ou BGCs) com outros microrganismos;
- Caracterizar a rota bioquímica da natureza dos compostos identificados;
- Analisar a viabilidade dos bioativos em aplicações biotecnológicas já descritas na literatura.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Características e diversidade de fungos

Os fungos são microrganismos eucariotos heterotróficos, definidos pela presença de parede celular quitinosa e organizações celulares que variam desde morfologia unicelular até filamentos sinciciais altamente complexos que podem formar estruturas macroscópicas como os micélios. A distribuição geográfica dos fungos é global, sendo encontrada em diferentes ambientes terrestre, no ar, até na água, sobretudo, em regiões tropicais, devido a disponibilidade de recursos nos substratos, temperatura, umidade, pluviosidade e o clima, bem como podem ser encontrados no interior de outros seres estabelecendo relações ecológicas (Córdoba et al., 2021; Amor, p. 9). As relações dos fungos na natureza vão desde harmônicas, promovendo associações positiva com outros organismos auxiliando na defesa e/ou crescimento, principalmente, dos vegetais (como os fungos endofíticos); ou podem atuar como parasitas, absorvendo a energia vital ou prejudicando o indivíduo por toxicidade inibindo o desenvolvimento do hospedeiro (Santos et al., 2020).

Conforme os dados biomoleculares, a atual taxonomia compreende a diversidade descrita de fungos verdadeiros conhecidos, dividindo-a em nove taxons principais: Opisthosporidia, Chytridiomycota, Neocallimastigomycota, Blastocladiomycota, Zoopagomycota, Mucoromycota, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota. Cada grande grupo destes apresentam peculiaridades associados a critérios genéticos, morfológicos, ecológicos e reprodutivos (Naranjo-ortiz; Gabaldon, 2019). Supõe-se que apenas 3% dos fungos são conhecidos na ciência. Estima-se a existência cerca de 1 a 5 milhões de espécies, porém, somente cerca de 150 mil são catalogadas até hoje (Drechsler-Santos, 2022).

#### 2.1.1 Gênero *Tremella* e a espécie *Tremella mesenterica*

*Tremella* é um gênero de fungo Basidiomycota, pertence à ordem *Tremellales* e à família *Tremellaceae*. As espécies deste táxon são popularmente conhecidos como fungo da neve ou orelha da neve, fungo da orelha prateada, cogumelo gelatinoso branco e auricularia branca, visto que apresentam formato de basidioma ou corpo de frutificação (Zhao et al., 2019). Algumas espécies são usadas na culinária como *Tremella fuciforme*,

outros na natureza, atuam como parasitas de outros fungos ou vegetais como *Tremella sulcariae*, também podem ser endofíticos ou decompositores de matéria orgânica (Xia Ma et al., 2021).

*Tremella mesenterica* Hetz. (1769), é uma espécie de fungo gelatinoso, pigmentado e cosmopolita. Sua reprodução inicia a partir da formação do basidiocarpo gelatinoso ocorre a fusão dos núcleos (zigoto) e desenvolvimento dos basidiósporos. Após liberados no ambiente, os basidiósporos germinam em hifas haploides para posterior fusão compatível dos núcleos das hifas maduras, até o crescimento dos micélios e do corpo gelatinoso. Os basidiocarpos podem surgir de um primórdio localizado abaixo da casca da madeira e, às vezes, mais de um corpo frutífero pode se originar separadamente do mesmo primórdio. (Roberts, 1995). Trata-se de uma espécie, até então, muito pouco explorada no mundo a nível genético e biotecnológico.

Figura 1 - *Tremella mesenterica*



Fonte: Sociedad Micologica Extremenã.

## 2.2 Metabólitos secundários de fungos e sua importância biotecnológica

O dever da biotecnologia está em melhorar a sustentabilidade e a eficiência nos processos de fabricação, utilizado na produção de alimentos, vacinas, cosméticos, transgênicos e biocombustíveis a partir da manipulação de procedimentos e técnicas dos recursos biológicos dos organismos (Sausen et al., 2020; Gomes; Borém, 2013). Trata-se como uma das tecnologias caracterizada pela inovação, impacto e potencial frente as problemáticas globais junto à promessa de desenvolvimento econômico sustentável (Cavalcante, 2023; Abbade, 2014). Na Amazônia, por exemplo, por conter uma das maiores diversidade biológica e maior riqueza florestal do planeta, constitui uma fonte de valor elevado para a busca de novos bioativos a serem explorados para a aplicação biotecnológica, pois oferece riqueza incalculável em biodiversidade, principalmente, de fungos macro e microscópicos, leveduras (Mendoza et al., 2022).

Portanto, a riqueza biótica deste bioma tornou-se alvo de estudo e, assim, passíveis de chegarem ao mercado mundial com novo valor agregado (Barba; Santos, 2020).

Nesse sentido, os fungos são utilizados na produção de alimentos, na indústria farmacêutica, auxiliam no processo de biodegradação e tratamento biológico de efluentes, atuam na atividade enzimática de interesse industrial e na biotransformação; também são de grande importância agrícola e ecológica, pois mantêm o equilíbrio do ambiente, decompondo restos vegetais e degradando substâncias tóxicas (Mendoza et al., 2022). São também muito pesquisados e aplicados na biotecnologia devido produzirem diversos metabólitos secundários.

Os metabólitos secundários são compostos naturais produzidos, principalmente, por plantas e microrganismos a fim de obter, entre outros, proteção contra estresse abiótico e biótico. A produção de metabólitos secundários pode ser influenciada por fatores genéticos, ambientais (temperatura, pH, luminosidade, efeito sazonal) e edáficos (solo). Podem ser caracterizados conforme com a composição química em ácidos orgânicos, seu efeito no meio e/ou em outros organismos e função dentro do agente produtor.

Tabela 1 - Metabolitos secundários produzidos por fungos

<b>Natureza dos Metabólitos Secundários</b>	<b>Efeitos</b>	<b>Aplicações</b>	<b>Referências</b>
Alcalóides	Alucinogênicos; Estimulantes, Inibidores de enzimas;	Corantes; Fungicidas; Bactericidas; Aditivos; Solventes;	BERNARDI, 2023
Fenólicos	Antioxidantes	Fármacos; Cosméticos;	DA LIMA SILVA, 2022
Flavonoides	Pigmentação; Proteção;	Alimentícia Cosméticos	CAMARA, 2023
Policetídeos	Antibióticos; Antitumoral e outros	Fármacos; Cosméticos;	LI et al., 2018
Terpenoides	Sedativo; Ansiolítica; Antinociceptiva; Anticonvulsivante ou Alucinógeno;	Medicina; Fármaco;	MORAES et al., 2020

Em fungos, os metabólitos secundários podem atuar em: combater ataques de patógenos; mediar a comunicação interespecíes, interações simbióticas, aquisição de nutrientes e contra competidores; e estar envolvidos na manutenção de doenças, na interação dos fungos com plantas e animais (Teles et al., 2020).

## 2.3 Banco de dados biológicos e ferramentas de bioinformática

### 2.3.1 Banco de dados biológicos

A partir do século XIX/XX, com o avanço da tecnologia, desenvolvimento computacional e técnicas de biologia molecular, foi possível realizar análises robustas acerca de sequências e dados biológicos dos organismos. Com isso, o ramo científico visou a necessidade de criar banco de dados para armazenar das sequências biológicas. EMBL's European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), National Center for Biotechnology Information (NCBI), Nucleic Acids Research (NAR), Protein Data Bank e Uniprot são exemplares de bancos disponível gratuitamente mais acessados na atualidade (Baxevanis et al., 2020).

O NCBI é um dos bancos de dados biológicos mais completos acerca de sequências de nucleotídeos, proteínas, classificação de táxon, estruturas de peptídeos, bem como possui recursos e filtros para pesquisas detalhadas, relativos comparação de sequências (Blast), MMDB (Molecular Modeling Database) e GenBank. Contam com mais de 3,6 bilhões de registros acumulados, dentre os quais recebe submissões direta de pesquisadores, colaborações ou acordos nacionais e internacionais, com provedores de dados e consórcios de pesquisa, e esforços de curadoria interna (Sayers et al., 2022).

### 2.3.2 Antismash

O AntiSMASH (Antibiotics and Secondary Metabolites Analysis Shell) é um programa de permite identificar, analisar e anotar clusters de genes de biossíntese de metabólitos secundários (ou BGCs) a partir de genoma de fungos, bactérias ou plantas nos formatos EMBL ou FASTA. Trata-se de um pipeline que integra várias plataformas como Pfam, NCBI, MIBiG no qual tais auxiliares possibilitam realizar predição de bioativos de diferentes naturezas do organismo de interesse por meio dos algoritmos e critérios preestabelecidos pelo pesquisador (Blin et al., 2021).

O AntiSMASH possui módulos como *KnownClusterBlast analysis*, o qual os clusters identificados serão pesquisados no repositório MIBiG; o *ClusterBlast analysis*, onde os clusters preditos serão pesquisados em um banco de dados abrangente de

agrupamentos de genes e clusters semelhantes serão identificados; o *Subcluster Blast analysis*, o qual os clusters detectados serão pesquisados em um banco de dados contendo operons envolvidos na biossíntese de blocos de construção de metabólitos secundários comuns; o *smCOG analysis for functional prediction and phylogenetic analysis of genes*, no qual cada gene do cluster é comparado aos banco de dados de clusters de grupos ortólogos de proteínas envolvidas no metabolismo secundário, e suposta função dos produtos genéticos; o *Active site finder*, onde os sítios ativos de diversas enzimas biossintéticas altamente conservadas serão detectados e variações dos sítios ativos são relatadas; o *Cluster PFAM analysis*, no qual cada produto genético codificado nos BGCs detectados é analisado no banco de dados PFAM e; o *Cluster-border prediction based on transcription factor binding sites (CASSIS)*, a exemplo dos fungos é possível prever gens agrupados por meio da identificação de motivos de ligação reguladores altamente conservados nas regiões promotoras dos gens da biossíntese (Blin et al., 2019).

### 2.3.3 KEGG

O Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) é uma plataforma multitarefa para avaliação e visualização de dados biológicos que auxilia no entendimento de funções e sistemas biológicos, a partir de informações moleculares em larga escala gerado por genoma alvo. O sistema também engloba banco de dados e recursos capazes de descobrir funções ocultas, partindo da integração simultânea das interações moleculares, reações e redes entre as categorias de informação do sistema: genes e proteínas de organismos celulares, informação genômica, compostos químicos, reações químicas e vias metabólicas, compilando por similaridade de ortólogos e, por fim, ilustrando por visualização de múltiplas interfaces (Kanehisa et al., 2022).

O sistema apresenta múltiplos módulos específicos, dentro os quais utilizado no presente trabalho: KEGG PATHWAY, responsável por demonstrar mapas de caminhos que representam o conhecimento das redes de interação, reação e relação molecular para metabolismo, processamento de informações genéticas e ambientais, processos celulares, sistemas organismos, doenças humanas e desenvolvimento de medicamentos; KEGG BRITE, responsável pelo sistema de classificação hierárquica que capturam hierarquias funcionais de vários objetos biológicos, especialmente aqueles representados como “objeto KEEG” (ou simplesmente tabela); KEGG MODULE, consiste em módulos KEGG identificados por números M e módulos de reação KEGG identificados por números RM, que são unidades funcionais definidas manualmente de conjuntos de genes e conjuntos de reação, respectivamente; KEGG Orthology (KO), consiste em banco de

dados de funções moleculares representadas em termos de ortólogos funcionais, os quais são definidos a partir de genes e proteínas caracterizados experimentalmente em organismos específicos, que são então generalizados para outros organismos com base na similaridade de sequência; KEGG GENES, engloba em coleção de genes e proteínas em genomas completos de organismos celulares e vírus gerados a partir de recursos disponíveis publicamente, principalmente do NCBI RefSeq e GenBank, e anotados pelo KEGG na forma de atribuição KO; KEGG REACTION, aborda demonstrações de reações químicas, principalmente reações enzimáticas, contendo todas as reações que aparecem nos mapas de vias metabólicas KEGG (Kanehisa et al., 2023).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Busca do genoma

O genoma da espécie *T. mesenterica* foi consultada no banco de dados do Genbank, no ambiente virtual *NCBI (National Center for Biotechnology Information)*, utilizando o filtro Genome e a busca pela sequência FASTA (Rangwala et al., 2021).

Figura 2 - Tabela de dados do genoma

Acesso	Cobertura do genoma	Genes (CDS)	Conteúdo CG	Nível da montagem	Tamanho do genoma
GCA_004117975.1	185,0x	8123	46,5	Andaime	27,1 MB

Fonte: O Autor (2024)

#### 3.2 Predição dos metabólitos secundários

Os clusters gênicos de metabólitos secundários foram identificados através da ferramenta de predição *antiSMASH fungal (Antibiotics and Secondary Metabolite Analysis Shell)*, versão 7.1.0, utilizando os critérios para fungos (Blin et al., 2023). Tendo como *input* o arquivo formato FASTA do genoma, as operações empregadas para a precisão da descoberta dos cluster foi o *relaxed* para maior expressividade de BGCs, com todos os algoritmos extras como *KnownClusterBlast*, *ActiveSiteFinder*, *ClusterBlast*, *Cluster Pfam analysis*, *SubClusterBlast* e *Pfam-based GO term annotation* ofertados pelo *antiSMASH* ativados (Blin et al., 2021). A máquina utilizada para esta análise apresenta as seguintes especificações: 11th Gen Intel(R) Core(TM) i5-11320H de processador e 16.0 GB de RAM.

Esta análise, foram realizadas filtragem e classificação dos agrupamentos a partir do predito pelo *antiSMASH* com a utilização de banco de dados auxiliares como o *MIBiG (Minimum Information about Biosynthetic Gene cluster)*, versão 2.0, compreendido como um repositório de *BGCs (Biosynthetic Gene Clusters)* (Kautsar et al., 2020); e o banco de dados *Pfam* para exame dos genes associados a síntese de produtos naturais e suposições de funções biológicas (El-gebali et al., 2019).

### 3.3 Predição das rotas bioquímicas dos compostos

A caracterização da rota metabólica foi utilizado o programa KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*), versão 111.0, no qual foi usado os arquivos de referência das sequencias genomas e bioativos identificados, conjuntamente. O filtro adotado baseou no módulo pathway kegg relativo à via principal da biossíntese de maior expressão e similaridade predita pelo antiSMASH (Kanehisa; Sato, 2020).

### 3.4 Potencial biotecnológico com base nas literaturas

Os efeitos dos bioativos preditos foram sustentados a partir das revisões no banco de dado PubChem (Kim et al., 2023). Para as buscas funcionais dos compostos, foi usado a nomenclatura dos bioativos como referência (“squakestatin” e “clavaric acid”).

Além disso, para as buscas do potencial dos bioativos a partir das revisões literárias foram acessadas pelas Plataformas do Periódicos Capes, Scopus, Pubmed e Google Acadêmico, utilizando os nomes dos supostos compostos, com filtros para obtenção de artigos, dissertações e teses nas Língua Portuguesa e Inglesa, considerando todo o intervalo de ano desde a primeira publicação. Os estudos selecionados correspondem os de maior sucesso registrado, relativo somente aos elementos preditos pelo presente trabalho.

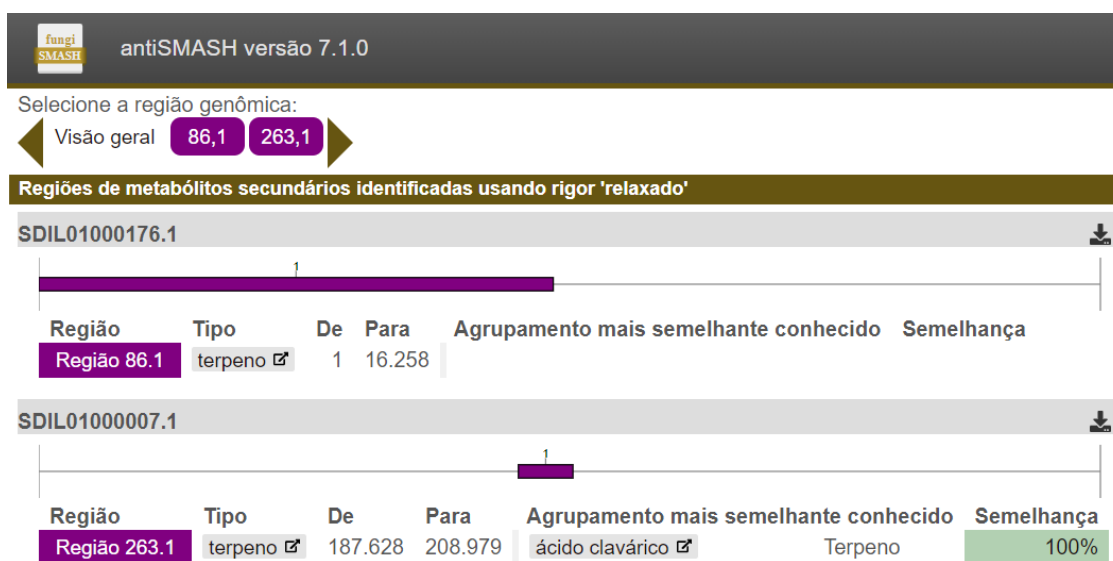
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Os BGCs de *T. mesenterica*

A partir da análise do genoma de *T. mesenterica* utilizando o programa antiSMASH, foi possível constatar 2 regiões de maior expressão associados a clusters biossintéticos, identificados como REGIÃO 86.1 (R1) e REGIÃO 263.1 (R2), ambas contendo agrupamentos para produção de Terpenos. (Figura 2).

Entre as duas regiões, R2 apresenta 100% de similaridade com os BGCs e funções já determinadas no banco de dados do programa, sendo o agrupamento mais semelhante ao composto Ácido Clavárico. Já R1 não apresentou similaridade com nenhum agrupamento semelhante do banco de dados, levando a supor que os BGCs desta região podem estar associadas a vias de biossíntese de novas moléculas ou que pertencem a vias não caracterizadas de moléculas já conhecidas, entretanto, o perfil do BGCs desta região direciona a produção de composto semelhante a esqualostatina.

Figura 2 - Regiões genômicas



Fonte: Output Antismash

Na Região 86.1 determinou-se, especificamente, cinco genes, enquanto na Região 263.1 determinou-se quatro genes, participantes do metabolismo secundário do fungo analisado. Tais genes foram nomeados no ID, no qual cada um dos genes associou a síntese de produtos, do organismo mais semelhante e sua similaridade, descrita no Quadro 1.

Quadro 1 - Descrição das regiões genômicas

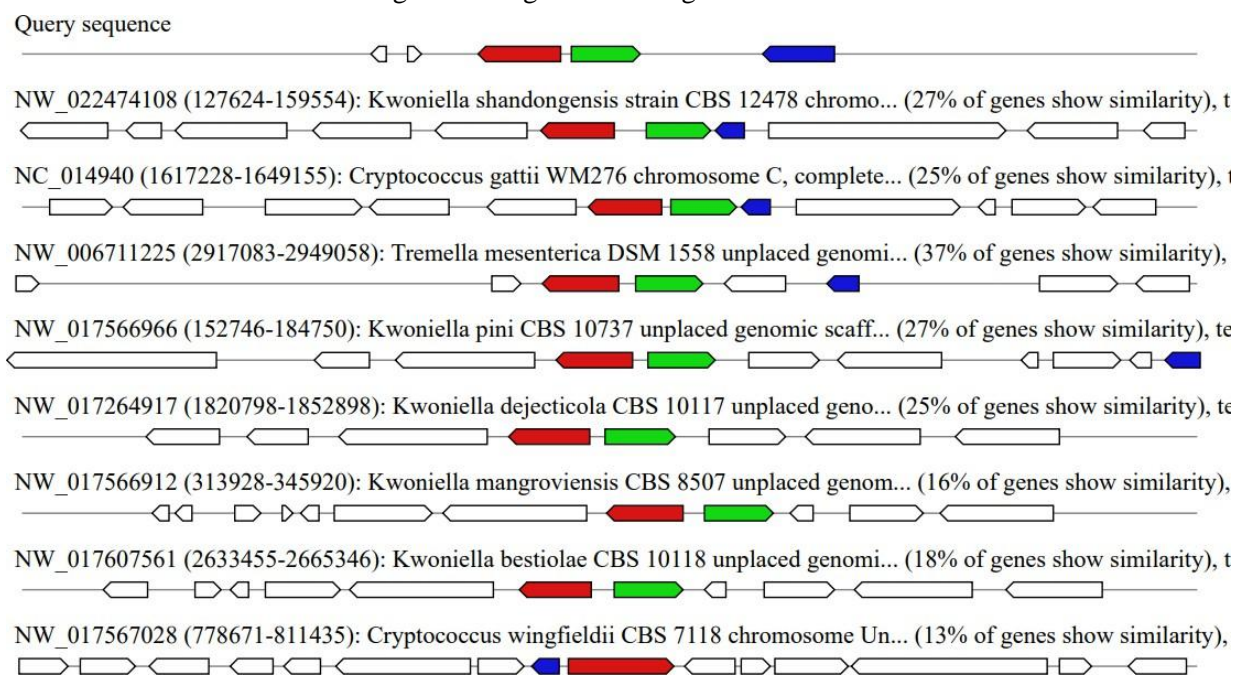
ESPÉCIE	REGIÃO	ID	METABOLITO ASSOCIADO	NT	AA	CATEGORIA	PRODUTO SIMILAR	ORGANISMO SIMILAR	PONTUAÇÃO DE SIMILARIDADE	COMPOSTO BIOATIVO
<i>Tremella mesenterica</i>	R1	caminho.gene1	Terpeno	246	81	outro	Subunidade J da ATPase transportadora de H <sup>+</sup> tipo F	<i>Tremella sp.</i>	0.64	Esqualestatina
		caminho.gene2		240	79		RNA exonulease		1.0	
		caminho.gene3		1.239	412	biossintético	esqualestatina Sintase	<i>Aspergillus sp.</i>	0.36	
		caminho.gene4		1.179	392	outro	farnesil-difosfato farnesiltransferase	<i>Tremella sp.</i>	0.95	
		caminho.gene5		786	261		Não descrito	<i>Saitozyma sp.</i>	0.71	
	R2	caminho.gene37		231	76	-	-	-	-	Ácido Clavárico
		caminho.gene38		381	126	biossintético	lanosterol sintase	<i>Tremella sp.</i>	0.93	
		caminho.gene39		900	299		esqualeno-hopeno ciclase	-	0.19	
		caminho.gene40		3.996	1.331	outro	Não descrito	<i>Tremella sp.</i>	0.86	

Fonte: O Autor (2024). Descrição: a denominação “outro” classifica os gens e sua função como não pertencentes a nenhuma das categorias definidas no banco de dados

## 4.2 Similaridade dos BGCs

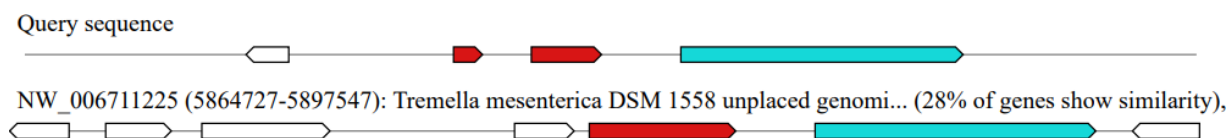
Os BGCs da primeira região associados aos metabólitos secundários preditos no genoma de *T. mesenterica* foi certificado 0.37 pontos de similaridade com outros BGCs correspondente a mesma espécie do banco de dados. Em segunda análise, *Kwoniella shandongensis* e *Kwoniella pini* apresentaram 0.27 de similaridade com os mesmos grupos de genes de *T. mesenterica* e, em terceiro, *Cryptococcus gattii* mostrou 0.25 de semelhança (FIGURA 3). Já o BGCs da região 2 apresentou maior similaridade apenas com o cluster pertencente a mesma espécie do banco de dados, pontuando 0.28 de semelhança (FIGURA 4). Estes dados direcionam a considerar que há diferenças no código genético dos genes dos bioativos e possivelmente também produzem compostos variantes, mesmo que sejam entre organismos de menor nível taxonômico.

Figura 3 - Regiões homólogas de R1



Fonte: Output Antismash

Figura 4 – Regiões homólogas de R2



Fonte: Output Antismash

Filogeneticamente, o gênero *Kwoniella* é considerado o parente mais próximo de *Cryptococcus* (Li et al., 2020), alguns postulados como o de Coelho et al. (2024) demonstrou, ao comparar os genomas em nível de cromossomo de várias linhagens das espécies dos gêneros, a extensão da colinearidade entre os cromossomos de diferentes espécies dos táxons, inferiu variação estrutural, bem como alegou regiões específicas onde a variação ocorre, com alto grau de precisão. Rearranjos cromossômicos, incluindo inversões, translocações, fusões e fissões, fundamentam a extensa variabilidade cariotípica observada em eucariotos. Essas fontes de variação estrutural auxiliam os organismos a se adaptarem a ambientes diversos, impulsionam a evolução de características patogênicas, influenciam no perfil metabólico e síntese de bioativos, e desempenham papéis na especiação (Priest et al., 2020; Wellenreuther et al., 2019). Paralelamente ao presente estudo, o resultado não se trata da comparação cromossômica entre os gêneros, mas sim entre a semelhanças de nucleotídeos entre os BGCs funcionais entre os táxons. Todavia, não deve-se descartar que tal mecanismo cariotípico, revelado pelo postulado, seja determinante para constar similaridade filogenética entre os homólogos dos cluster de genes bioativos dentre *T. mesenterica*, *Kwoniella sp.* e *Cryptococcus sp.*

Uma análise interessante acerca da similaridade entre BGCs, foi um estudo que compilou estratégias para estabelecer a ligação entre grupos de genes biossintéticos e metabólitos secundários via métodos computacionais. Conforme Kjaerbolling et al. (2019), a partir da premissa que os genes responsáveis pela produção dos metabólitos secundários são comumente organizados em cluster no genoma, é possível prever BGCs usando domínios de sequência previstos e algoritmos baseados em conhecimento, a exemplo do antiSMASH, porém, também há BGCs que são difíceis de prever usando tais algoritmos, pois não seguem a conduta primária da biossíntese (Gao et al., 2011; 2010) ou encontram-se silenciados (Ferreira et al., 2022). Nesse sentido, as estratégias in sílico para contornar os impasses da predição se dispõem na busca de homologia, retrobiossíntese e genômica comparativa.

Um cluster de genes biossintéticos que produz uma substância própria, é identificado usando um cluster de genes biossintéticos caracterizado que produz o mesmo composto ou um composto semelhante. Ou seja, o método de busca por homólogos implica nos BGCs conhecidos que são usados como consulta para procurar genes semelhantes no genoma do organismo que produz o composto de interesse selecionado (Theobald et al., 2018). Um exemplar desta estratégia foi realizado por Gallo et al.

(2014), no seu estudo do cluster de genes da ocratoxina que foi catalogado em *Aspergillus carbonarius*, usando busca de homologia do cluster de ocratoxina já previsto em *Aspergillus niger*, e sua posterior exclusão de um PKS no cluster previsto eliminou toda a produção de ocratoxina, confirmando o papel biossintético.

A estratégia de retrobiossíntese baseia-se quando um agrupamento de genes biossintéticos produtor de um composto específico é identificado pela dedução de quais atividades enzimáticas são necessárias para sintetizar a substância e pela busca dessas atividades no genoma. Isto é, o princípio parte do metabólito secundário quimicamente descrito combinado com o conhecimento da biossíntese do metabólito secundário e uma sequência genômica completa anotada. O trabalho de Lukassen et al. (2015). para verificação do perfil de metabólitos secundários de *Scopulariopsis brevicaulis* (microfungo marinho), identificou o bioativo escopulídeo A (um agente lipopeptídico, anticâncer) pois apresenta alta similaridade química com a emericelamida A e W493-B de *Aspergillus nidulans* e *Fusarium pseudograminearum*, respectivamente. Com o propósito de identificar o cluster responsável pela produção de scopularide A para otimizar a produção, os autores obtiveram o sucesso seguindo o modelo da retrobiossíntese apoiada por comparações homólogas. Desse modo, ao combinar o conhecimento da estrutura com BGCs previstos, possibilitou a identificação dos genes codificadores do MS (um NRPS com cinco módulos e um PKS redutor).

Na genômica comparativa, a análise parte do ponto no qual os clusters de genes biossintéticos que produzem uma substância específica são identificados pela comparação entre genomas de um conjunto de organismos que produzem o composto de alvo, sendo não considerada a composição química do bioativo. Não necessariamente deve-se envolver espécies próximas filogeneticamente, ou espécies intimamente relacionadas compartilhando um alto grau de MS, trata-se de prever o padrão de presença/ausência do MS usado para procurar similaridades de BGCs em toda a sequência do genoma, sendo importante quando se sabe que um composto bioativo de interesse existe, mas não a via biossintética, nem os BGC. Em Li et al. (2012), os BGCs da notoamida, paraherquamida e malbrancheamida (derivadas do biciclo[2.2.2]diazaoctano) foram observadas usando a busca de homologia e genômica comparativa. Após os genomas de *A. versicolor*, *P. fellutanum* e *M. aurantiaca* serem sequenciados e, adotando o BGCs de notoamida conhecido de *Aspergillus sp.*, constatou os homólogos dos BGCs nas espécies recentemente sequenciadas. A comparação dos agrupamentos reconhecidos levou à identificação de genes correspondente a formação do núcleo do biciclo[2.2.2]diazaoctano,

juntamente com as enzimas específicas responsáveis pela peculiaridade de cada uma das estruturas dos compostos.

### 4.3 Caracterização da rota metabólica dos compostos

Como ressaltado anteriormente, ambas as regiões do genoma de *T. mesenterica* determinou a predição de substâncias terpenoides. Os compostos dessa natureza antes de sua produção apresentam uma rota inicial ou rota principal que possuem papel fundamental na síntese da estrutura principal dos terpenos.

Nesse sentido, os dados resultantes do KEGG descreveram a rota inicial do metabólito secundário a partir de uma atividade derivada do processo de glicólise, no qual partindo da Acetil-CoA, uma série de cinco reações são ocasionados até a formação do Difosfato de isopentenil. Nesta etapa, as enzimas atuantes definidas foram C-acetiltransferase, hidroximetilglutaril-CoA sintase, hidroximetilglutaril-CoA redutase, fosfomevalonato quinase e difosfomevalonato descarboxilase.

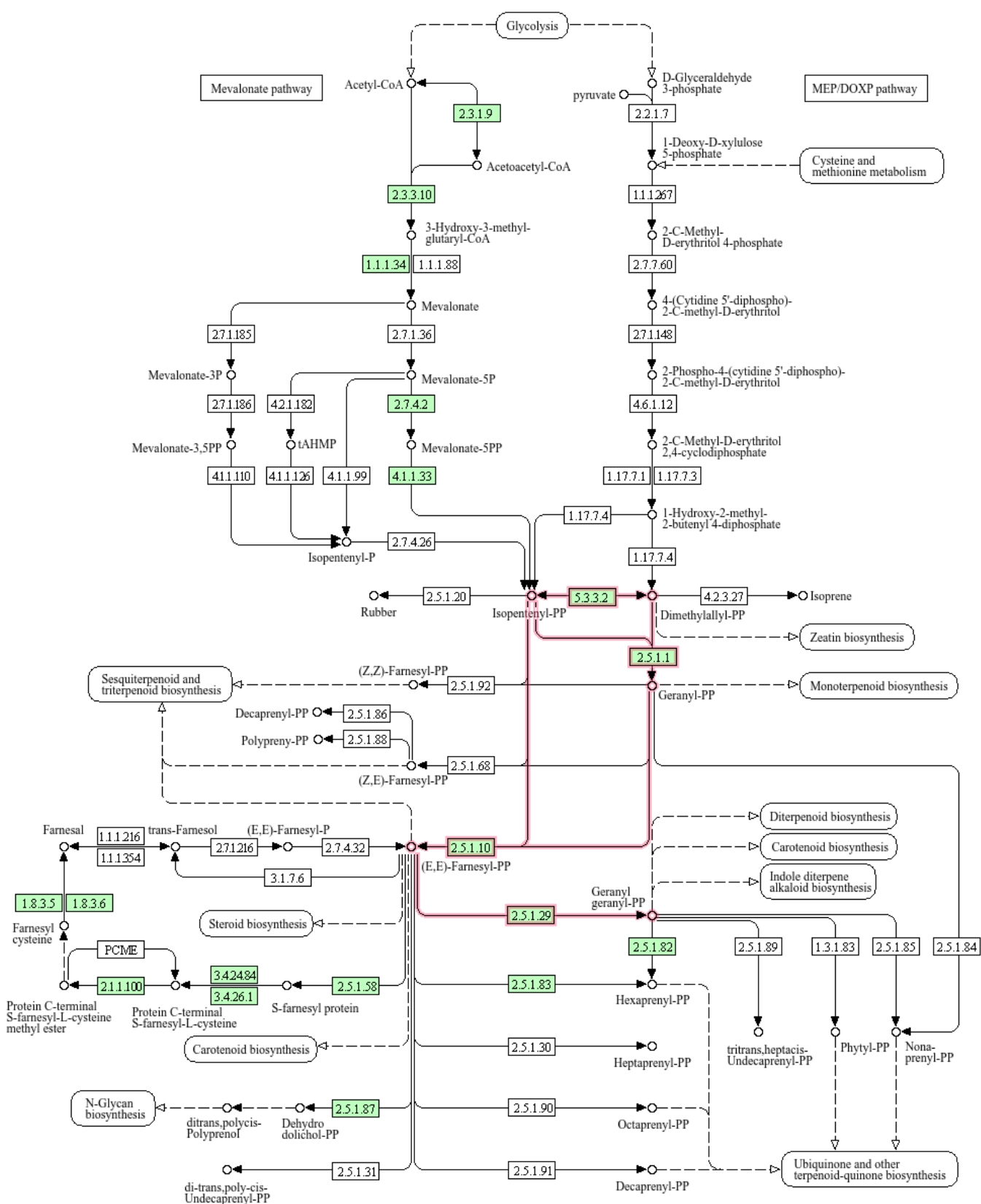
Com o Isopentenil-PP foi ilustrado duas vias alternativas: 1) a formação do Geranyl-PP até o Nonaprenil-PP (neste caminho não foi caracterizado as enzimas participantes neste fragmento de via) e; 2) formação do Farnesil-PP até o Hexaprenil-PP, com participação das enzimas geranylgeranyl difosfato sintase e hexaprenil difosfato sintase. Sendo ambas as cadeias chave que direcionam a corrente biossintética para síntese final de compostos terpenóides e quinonas (FIGURA 5).

A via metabólica específica do bioativo predito pelo antiSMASH, ácido clavárico, até então, não foi claramente descrito na literatura, no entanto, como trata de um bioativo triterpeno, enquadra-se na rota desta classificação. Ou seja, a cadeia principal resultante atua, conjuntamente, com trans-Farnesil difosfato para formar o presqualeno-PP que, por sua vez, formará o esqualeno ou esqualeno-2,3,epoxido, por meio das atividade das farnesil-difosfato farnesiltransferase e esqualeno monooxigenase compondo as estruturas bases complementares deste bioativo.

Quanto a via metabólica do bioativo, esqualestatina (ou Ácido zaragóxico), não houve resultantes especificadas de descrição pelo KEGG, porém, pelo fato do composto ser de natureza policetídeo, condiz com rota desta classe estimada pelo programa. Isto é, a partir de moléculas como metilmalonil-CoA, propanoil-CoA e cetil-CoA advinda da via primária do metabolismo, são rearranjadas por meio blocos enzimáticos multimodulares denominados sintases de policetídeos (PKS) que promovem

condensação das unidades de acetila e malonila (similar a biossíntese de ácidos graxos). Algumas das enzimas modificadoras atuantes na síntese de policetideos são a cetorredutase (KR), responsável pela redução da carbonila ao álcool, a desidratase (DH), que elimina água levando a formação da olefina e, a enoila redutase (ER), que converte a olefina na cadeia saturada.

TERPENOID BACKBONE BIOSYNTHESIS



00900 1/18/24  
(c) Kanehisa Laboratories

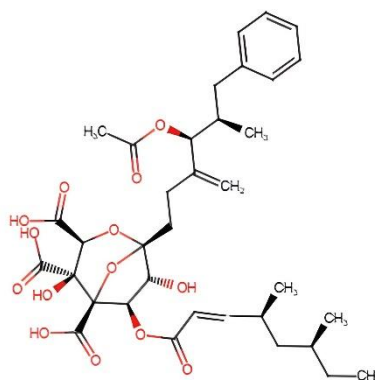
Fonte: Imagem gerada pelo KEGG. Descrição: 2.3.1.9 (C-acetiltransferase); 2.3.3.10 (hidroximetilglutaril-CoA sintase); 1.1.1.34 (hidroximetilglutaril-CoA redutase); 2.7.4.2 (fosfomevalonato quinase); 4.1.1.33 (difosfomevalonato descarboxilase); 2.5.1.10, 2.5.1.29 (geranilgeranil difosfato sintase); e 2.5.1.82 (hexaprenil difosfato sintase). A linha destacada em vermelho retrata o caminho chave de reações e moléculas importantes para síntese de metabólitos secundários (destaque para Policetídeos e Terpenóides)

## 4.4 Potencial biotecnológico

### 4.4.1 Ácido Zaragózico

A esqualestatina, também conhecida como ácido zaragózico (AZ), família a qual pertence, são compostos produzidos por alguns fungos filamentosos. Os primeiros trabalhos sobre esta substância foram em 1993, com isolados de *Spororniellea intermedia*, *Leptodontium elatius* e *Amauroascus niger*. Quimicamente, o ácido Zaragózico é um ácido carboxílico, no qual suas cadeias laterais podem variar em 1-alquil e 6-acil (Bergstrom et al. 1995; Dufresne et al., 1993).

Figura 6 - Estrutura da esqualestatina 1



Fonte: modelagem via SwissDrugDesign

Alguns estudos e revisões relatam que este composto possui atividade contra a enzima fitoeno sintase em vegetais, portanto, inibem a síntese de carotenoide (Kamdem; Boyom, 2023; Neudert et al., 1998; Baxter et al., 1992). Em outros organismos, esta substância atua como inibidor da enzima esqualena sintase em mamíferos, assim, impede a síntese de colesterol (Kamdem; Boyom, 2023; Bergstrom et al., 1995) ou podem apresentar efeitos anti-Tripanossomatídeos (Kamdem; Boyom, 2023; Silva, 2012).

Nessa perspectiva, a potencial produção de AZ por *T. mesenterica* pode ser direcionada para aplicações farmacológicas. Um estudo de Silva (2012) abordou a possibilidade de desenvolvimento de drogas antimaláricos a partir da esqualestatina. A autora não deixa claro a fonte da extração do composto, porém, seu trabalho revelou o efeito antiparasitário moderado contra *Plasmodium falciparum* geneticamente modificado, a partir de experimentos in vitro do microrganismo, visto que foi observado a inibição do desenvolvimento e crescimento do protozoário, bem como alcançou resultados expressivos associando o bioativo com outras substâncias como nerolidol e

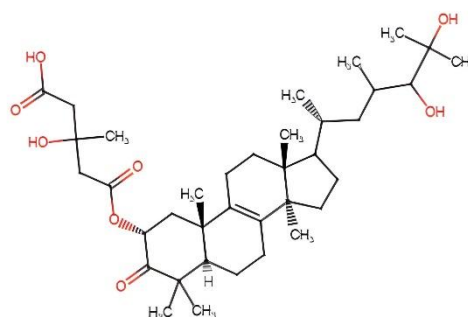
com risedronato, nos qual ambas as concentrações observou cerca de 50% de inibição, demonstrando interação sinérgicas entre os compostos. Ademais, neste mesmo cenário, Gabriel et al. (2015) observaram a redução da biossíntese de fitoeno (PTY) e morte dos *P. falciparum* durante o ciclo intraeritrocítico usando o bioativo esqualestatina e apontando, portanto, que a PTY é uma enzima chave para a biossíntese de carotenoides do parasita que é fundamental para o crescimento intraeritrocítico.

Outra possível utilidade deste bioativo, é em uso medicamentoso para tratamento da hipercolesterolemia em seres humanos. Bergstrom et al. (1995), isolou as esqualenos sintases de fígado de camundongos e, a partir das aplicações *in vitro* de AZ foi notado redução da atividade enzimática. O mecanismo avaliado consistiu na inibição da esqualeno sintase pelo AZ que é competitiva em relação ao F-PP (pirofosfato), sendo uma das justificativas associada a similaridade estrutural entre o AZ e o F-PP (ambos têm um núcleo central altamente ácido com duas longas caudas hidrofóbicas anexadas) o qual direcionou à tese de que os ZAs inibem a esqualeno sintase imitando efetivamente a ligação do F-PP à enzima.

#### 4.4.2 Ácido Clavárico

O AC é um composto triterpeno produzido por alguns fungos, no qual foi isolada de *C. truncatus* pela primeira vez em 1998, porém podem apresentar variações conforme o organismo produtor (Jayasuriya et al., 1998).

Figura 7 - Estrutura do Ácido clavárico



Fonte: modelagem via SwissDrugDesign

Das poucas investigações acerca do ácido clavárico (AC), os estudos o associam como uma substância antitumoral e anti-inflamatório. O experimento de Lingham et al. (1998), por meio de triagem aleatória de extratos de produtos naturais e usando-as em ensaio bioquímico de alto rendimento em células cancerígenas de camundongos, descobriu um composto combatente de enzimas mutantes em células tumorais, o AC. Este bioativo foi o único inibidor específico das proteínas RAS ou farnesil-proteína transferase

(um catalisador essencial para oncogenes) que está ativo na maior parte dos cânceres humanos. O AC demonstrou ser competitivo nas atividades das proteínas oncogênicas, no qual interferiu, portanto, no desenvolvimento das células mutantes dos mamíferos.

Já Yazdani et al. (2022), através de análises bioquímicas e comparação molecular refinadas, demonstrou em teste in vitro de células cancerígenas de cólon humano ações moderadas de citotoxicidade de triterpenos fúngicos, trazendo a abordagem que alguns triterpenos fúngicos são potenciais agentes citotóxicos e quimiossensibilizadores para superar a resistência a múltiplas drogas por parte linhagens de células cancerígenas. Posteriormente, o AC foi apresentado com efeito anti- inflamatório em ensaios do composto em placas contendo enzimas ciclooxigenase (COX- 1 e COX-2) e outras contendo lipoxigenase (5-LOX e 15-LOX), cujas enzimas desempenham papel fundamental na inflamação, na percepção da dor, como mediadores pró-inflamatórios, sendo importante na resposta inflamatória a lesões e propagação da inflamação. Os resultados evidenciaram ação anti-inflamatoria moderada do AC sob as enzimas das células de adenocarcinoma de cólon humano, principalmente, em COX-2 (Yazdani et al. 2022).

## 5 CONCLUSÃO

Com base na sequência genômica é possível realizar bioprospecção de recursos genéticos, bioativos de interesse em organismos por meio de ferramentas de bioinformática. Tais artifícios são fundamentais em análises iniciais, sobretudo, em genomas de espécies recém-descobertas.

É evidente que a mineração genômica de espécie por meio in silico de metabólitos secundários é vantajosa no gerenciamento do tempo de análise, visto que é possível alcançar resultados favoráveis com base em ferramentas de predição quando requer respostas ou soluções em curto período de tempo ou em tempo imediato exigido.

Neste trabalho foi possível a detecção por ferramentas de bioinformática de grupos de genes envolvidos na síntese dos seguintes metabólitos secundários do fungo *T. mesenterica*: Ácido Clavárico e Ácido Zaragóxico. O presente estudo aponta que provavelmente a espécie *T. mesenterica* pode ser produtora desses importantes metabólitos para a biotecnologia e sugere que futuras pesquisas in vitro podem ser realizadas com o fungo para induzir a produção dos mesmos.

## REFERÊNCIAS

ABBADE, Eduardo Botti. O papel do agronegócio brasileiro no seu desenvolvimento econômico. **Revista Gestão da Produção Operações e Sistemas**, v. 9, n. 3, p. 149, 2014.

ABDELMAGID, Walid M. et al. Studies with Guanidinium-and Amidinium-Based Inhibitors Suggest Minimal Stabilization of Allylic Carbocation Intermediates by Dehydrosqualene and Squalene Synthases. **Biochemistry**, v. 57, n. 38, p. 5591-5601, 2018.

AMOR, Verónica Andrea. CAPÍTULO 1 Características generales de los hongos. **Micología en Medicina Veterinaria**, p. 9.

BARBA, Romina Ysabel Bazán; SANTOS, Nivaldo dos. A Bioeconomia no século XXI: Reflexões sobre Biotecnologia e Sustentabilidade no Brasil. **Revista de Direito e Sustentabilidade**, v. 6, n. 2, p. 26-42, 2020.

BAXEVANIS, Andreas D.; BADER, Gary D.; WISHART, David S. (Ed.). **Bioinformatics**. John Wiley & Sons, 2020.

BAXTER, Allan et al. Squalastatin 1, a potent inhibitor of squalene synthase, which lowers serum cholesterol in vivo. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 17, p. 11705-11708, 1992.

BERGSTROM, James D. et al. Discovery, biosynthesis, and mechanism of action of the zaragozic acids: potent inhibitors of squalene synthase. **Annual review of microbiology**, v. 49, n. 1, p. 607-639, 1995.

Bergstrom JD, Kurtz MM, Rew DJ, Amend AM, Karkas JD, Bostedor RG, Bansal VS, Dufresne C, VanMiddlesworth FL, Hensens OD (janeiro de 1993). Zaragozic acids: A family of fungal metabolites that are picomolar competitive inhibitors of squalene synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **90** (1): 80–4. [doi:10.1073/pnas.90.1.80](https://doi.org/10.1073/pnas.90.1.80)

BELCHIOR, Diana Cléssia Vieira et al. Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 34, n. 1, p. 135-151, 2017.

BERNARDES, Nicole Blanco et al. intoxicação alimentar: Um problema de Saúde Pública. **Revista de psicologia**, v. 12, n. 42, p. 894-906, 2018.

BERNARDI, Darlon Irineu. **Metabólitos secundários bioativos produzidos por fungos filamentosos de ambientes extremos**. 2023. Tese (Doutorado em Química Orgânica e Biológica) - Instituto de Química de São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2023. doi:10.11606/T.75.2023.tde-28072023-110212. Acesso em: 2024-10-31.

BLANKENBERG, Daniel et al. Galaxy: a web-based genome analysis tool for experimentalists. **Current protocols in molecular biology**, v. 89, n. 1, p. 19.10. 1-19.10. 21, 2010.

Blin, K., Shaw, S., Kloosterman, A.M., Charlop-Powers, Z., van Weezel, G.P., Medema, M.H., Weber, T. (2021) **antiSMASH 6.0: improving cluster detection and comparison capabilities** *Nucleic Acids Research* (2021) [doi: 10.1093/nar/gkab335](https://doi.org/10.1093/nar/gkab335).

BLIN, Kai et al. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. **Nucleic acids research**, v. 51, n. W1, p. W46-W50, 2023.

BLIN, K. et al. AntiSMASH 5.0: Updates to the secondary metabolite genome mining pipeline. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. W1, p. W81 W87, 2019b.

BORGES&AMORIM. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67, 2020.

CAMARA, Ana Gabrielle do Nascimento. Pigmentos produzidos pelo fungo basidiomiceto *Pisolithus tinctorius*: desreplicação, isolamento e estudo do potencial biotecnológico. 2023.

CAVALCANTE, Felipe Sant'Anna; CAMPOS, Milton César Costa; DE LIMA, Janaína Paolucci Sales. A percepção ambiental sobre fungos: uma revisão integrativa. **Novos Cadernos NAEA**, v. 24, n. 3, 2021.

CAVALCANTE, Felipe Sant'Anna et al. BIOECONOMIA DE FUNGOS: UMA REVISÃO DA LITERATURA. **Revista Valore**, v. 8, 2023.

CHAPLA, V. M.; BIASETTO, C. R.; ARAUJO, A. R. Fungos Endofíticos: Uma Fonte Inexplorada e Sustentável de Novos e Bioativos Produtos Naturais. **Rev. Virtual Quim.** [Vol 5] [No. 3] [421-437].

COELHO, Marco A. et al. Comparative genomics of the closely related fungal genera *Cryptococcus* and *Kwoniella* reveals karyotype dynamics and suggests evolutionary mechanisms of pathogenesis. **PLoS biology**, v. 22, n. 6, p. e3002682, 2024.

CONTRIBUIÇÃO AOS CONHECIMENTOS DA DIVERSIDADE DE FUNGOS BASIDIOMYCOTA NO SUL DO AMAZONAS, BRASIL. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, [S. l.], v. 10, n. 4, p. 203–217, 2021. [DOI: 10.19177/rgsa.v10e42021203-217](https://portaldeperiodicos.animaeducacao.com.br/index.php/gestao_ambiental/article/view/9090). Disponível em: [https://portaldeperiodicos.animaeducacao.com.br/index.php/gestao\\_ambiental/article/view/9090](https://portaldeperiodicos.animaeducacao.com.br/index.php/gestao_ambiental/article/view/9090). Acesso em: 28 ago. 2024.

CÓRDOBA, Susana Beatriz; REYNALDI, Francisco José; ROSA, Diana Esther. **Micología en Medicina Veterinaria. Libros de Cátedra**, 2021.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; DOS SANTOS, A. F. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 175–181, 2016. DOI: 10.17648/diversitas-journal-v1i2.332. Disponível em: [https://www.diversitasjournal.com.br/diversitas\\_journal/article/view/332](https://www.diversitasjournal.com.br/diversitas_journal/article/view/332). Acesso em: 16 jun. 2023.

DA LIMA SILVA, Lissete Fátima Abreu. **Avaliação de Atividade Biológicas de Extratos do Fungo *Laurobasidium Lauri***. 2022. Tese de Doutorado. Instituto Politecnico do Porto (Portugal).

DE CARVALHO, Agenor Manoel. O impacto da tecnologia no mercado de trabalho e as mudanças no ambiente de produção. **Revista Evidência**, v. 6, 2024.

DEVECI, Ebru et al. Chemical characterization, in vitro antioxidant, anti-cancer and enzyme inhibition activities of three edible mushroom species. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 17, n. 5, p. 5518-5533, 2023.

DRECHSLER-SANTOS, Lisandro Ricardo. [Nem bicho, nem planta: o que nos ensina o conhecimento dos fungos](https://noticias.ufsc.br/2022/11/nem-bicho-nem-planta-o-que-nos-ensina-o-conhecimento-dos-fungos). **Notícias da UFSC**, Santa Catarina, 03 de nov. de 2022 Disponível em: < <https://noticias.ufsc.br/2022/11/nem-bicho-nem-planta-o-que-nos-ensina-o-conhecimento-dos-fungos/> >. Acesso em: 29 de ago. de 2024.

Dufresne C, Wilson KE, Singh SB, Zink DL, Bergstrom JD, Rew D, Polishook JD, Meinz M, Huang L, Silverman KC (novembro de 1993). Zaragozic acids D and D2: potent inhibitors of squalene synthase and of Ras farnesyl-protein transferase. *J. Nat. Prod.* 56 (11): 1923–9. [doi:10.1021/np50101a009](https://doi.org/10.1021/np50101a009).

EL-GEBALI, S. et al. The Pfam protein families database in 2019. **Nucleic Acids Research**, v.47, n. D1, p. D427 D432, 2019.

Fernandes, M., Gugliotta, A.M., Silva, D.S., Pires, R.M. 2024. Fungos trametoides (Polyporaceae, Basidiomycota) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. *Hoehnea* 51: e202023. <https://doi.org/10.1590/2236-8906e202023>.

FERREIRA, Raissa Rezende; CRUZ, Jacqueline Santos; HAMERSKI, Lidilhone. Estratégia OSMAC: Um Método Acessível para a Descoberta de Novas Substâncias Microbianas. **Revista Virtual de Química**, v. 14, n. 5, 2022.

GABRIEL, Heloisa B. et al. Squalestatin is an inhibitor of carotenoid biosynthesis in *Plasmodium falciparum*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 6, p. 3180-3188, 2015.

GALLO, Antonia et al. Identification and characterization of the polyketide synthase involved in ochratoxin A biosynthesis in *Aspergillus carbonarius*. **International journal of food microbiology**, v. 179, p. 10-17, 2014.

GAO, Xue et al. Fungal indole alkaloid biosynthesis: genetic and biochemical investigation of the tryptoquialanine pathway in *Penicillium aethiopicum*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 8, p. 2729-2741, 2011.

GAO, X., Wang, P. & Tang, Y. Engineered polyketide biosynthesis and biocatalysis in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* **88**, 1233–1242 (2010). <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2860-4>

GARCIA MENDOZA, Anita Yris; VIDAL DA SILVA, Viviane; ABREU LIMA, Renato; PAOLUCCI SALES DE LIMA, Janaína. Potencialidades Biotecnológicas dos Fungos da Amazônia Brasileira: Uma Revisão Sistemática. **Diversitas Journal**, [S. l.], v. 7, n. 4, 2022. DOI: 10.48017/dj.v7i4.2104. Disponível em: [https://diversitas.emnuvens.com.br/diversitas\\_journal/article/view/2104](https://diversitas.emnuvens.com.br/diversitas_journal/article/view/2104). Acesso em: 28 ago. 2024.

GODIO, Ramiro P.; MARTÍN, Juan F. Oxidosqualeno ciclases modificadas na formação de metabólitos secundários bioativos: biossíntese do ácido clavárico antitumoral. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 3, p. 232-242, 2009.

GODIO, Ramiro P.; FOUCES, Roberto; MARTÍN, Juan F. A squalene epoxidase is involved in biosynthesis of both the antitumor compound clavarinic acid and sterols in the basidiomycete *H. sublateralis*. **Chemistry & biology**, v. 14, n. 12, p. 1334-1346, 2007.

GODIO, R. P. et al. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of the antitumor clavarinic acid-producing basidiomycete *Hypholoma sublateralis*. **Current genetics**, v. 46, p. 287-294, 2004.

GOMES, Wellington Silva; BORÉM, Aluizio. Biotecnologia: novo paradigma do agronegócio brasileiro. **Revista de Economia e Agronegócio**, v. 11, n. 1, 2013.

HOOCK, Joseph Georg Franz. Unexpected discoveries in the targeted protein degradation of squalene synthase and DCAF15. 2023.

JAYASURIYA, Hiranthi et al. Clavaric Acid: A Triterpenoid Inhibitor of Farnesyl-Protein Transferase from *Clavariadelphus truncatus*. **Journal of natural products**, v. 61, n. 12, p. 1568-1570, 1998.

KIM, Sunghwan et al. Atualização do PubChem 2023. **Pesquisa de ácidos nucleicos**, v. 51, n. D1, p. D1373-D1380, 2023.

KJÆRBØLLING, Inge et al. Strategies to establish the link between biosynthetic gene clusters and secondary metabolites. **Fungal Genetics and Biology**, v. 130, p. 107-121, 2019.

Kanehisa M, Sato Y. KEGG Mapper for inferring cellular functions from protein sequences. **Protein Science**. 2020; 29: 28–35. <https://doi.org/10.1002/pro.3711>.

KANEHISA, Minoru et al. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. **Nucleic acids research**, v. 51, n. D1, p. D587-D592, 2023.

KANEHISA, Minoru; SATO, Yoko; KAWASHIMA, Masayuki. KEGG mapping tools for uncovering hidden features in biological data. **Protein Science**, v. 31, n. 1, p. 47-53, 2022.

KAMDEM, Boniface Pone; BOYOM, Fabrice Fekam. Inhibitors of Farnesyl Diphosphate Synthase and Squalene Synthase: Potential Source for Anti-Trypanosomatidae Drug Discovery. **Drugs and Drug Candidates**, v. 2, n. 3, p. 624-652, 2023.

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.

LI, A.-H. et al. Diversity and phylogeny of basidiomycetous yeasts from plant leaves and soil: proposal of two new orders, three new families, eight new genera and one hundred and seven new species. **Studies in Mycology**, v. 96, n. 1, p. 17-140, 2020.

LI, Shengying et al. Comparative analysis of the biosynthetic systems for fungal bicyclo [2.2. 2] diazaoctane indole alkaloids: the (+)/(-)-notoamide, paraherquamide and malbrancheamide pathways. **MedChemComm**, v. 3, n. 8, p. 987-996, 2012.

LI, Shou-Jie et al. Novel natural compounds from endophytic fungi with anticancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 156, p. 316-343, 2018.

LINGHAM, Russell B. et al. Clavaric acid and steroidal analogues as Ras-and FPP-directed inhibitors of human farnesyl-protein transferase. **Journal of medicinal chemistry**, v. 41, n. 23, p. 4492-4501, 1998.

RODRIGUES DA SILVA, Laís et al . Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicol. argent.**, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, v. 23, n. 1, p. 36-43, maio 2015 .

LUKASSEN, Mie Bech et al. Identification of the scopularide biosynthetic gene cluster in *Scopulariopsis brevicaulis*. **Marine drugs**, v. 13, n. 7, p. 4331-4343, 2015.

MATOS, Dalton Ferreira et al. BIOINFORMÁTICA APLICADA ÀS CIÊNCIAS ÔMICAS: UMA BREVE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **TECNOLOGIA E INOVAÇÃO NA AGRICULTURA: APLICAÇÃO, PRODUTIVIDADE E SUSTENTABILIDADE EM PESQUISA**, v. 1, p. 23-43, 2023.

NARANJO-ORTIZ, Miguel; GABALDON, Toni. Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biol. Rev.* (2019), 94, pp. 2101–2137. doi: 10.1111/brv.12550

NOGUEIRA, Karolina Lima. ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO FUNGO ENDOFÍTICO *Coriopsis rigida* ISOLADO DE *Cochlospermum regium*. Orientador: Dra. Vanessa Mara Chapla. 2022. 105. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2022.

MORAES, G. K. A.; FERRAZ, Luana Fernandes; CHAPLA, Vanessa Mara. Compostos orgânicos voláteis de fungos endofíticos e suas aplicações biotecnológicas. **RVq**, v. 12, n. 6, p. 1498-510, 2020.

PAN, Jingxuan; YEUNG, Sai-Ching Jim. INHIBITORS OF MICROBIAL ORIGINS IN CANCER THERAPY. **Emerging Cancer Therapy**, p. 367, 2010.

PAULO, Bruno S.; SIGRIST, Renata; OLIVEIRA, Luciana G. de. Avanços Recentes Em Biossíntese Combinatória De Policetídeos: Perspectivas E Desafios. **Química Nova**, v. 42, n. 1, p. 71-83, 2019.

PRIEST, S. J.; YADAV, V.; HEITMAN, J. Advances in understanding the evolution of fungal genome architecture. *F1000Research* 9: 776. 2020.

RANGWALA, Sanjida H. et al. Accessing NCBI data using the NCBI sequence viewer and genome data viewer (GDV). **Genome research**, v. 31, n. 1, p. 159-169, 2021.

SANTOS, Isabela Biffi dos; SILVA, Emilia Maria; XAVIER, Mírian. FUNGOS E IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA. **ANAIS DO SEMEX**, [S. l.], n. 12, 2020. Disponível em: <https://anaisonline.uems.br/index.php/semex/article/view/6748>. Acesso em: 29 ago. 2024.

SAUSEN, Darlene et al. Biotecnologia aplicada ao manejo de plantas daninhas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 23150-23169, 2020.

SAYERS, Eric W. et al. Database resources of the national center for biotechnology information. **Nucleic acids research**, v. 50, n. D1, p. D20-D26, 2022.

SENBAGALAKSHMI, P. et al. Squalene, biosynthesis and its role in production of bioactive compounds, a proper scientific challenge—a review. **J. Emerg. Technol. Innov. Res**, v. 6, p. 505-526, 2019.

SHELDRAKE, Merlin. **Trama da vida: como os fungos constroem o mundo**. Fósforo, 2021.

SILVA, Márcia Ferreira da. **Estudos in vitro de potenciais antimaláricos nos estágios intraeritrocítico de Plasmodium falciparum**. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) - Instituto de Ciências Biomédicas, University of São

Paulo, São Paulo, 2012. doi:10.11606/D.42.2012.tde-23042013-122652. Acesso em: 2024-09-16.

Roberts P. (1995). "Espécies britânicas de Tremella I: Tremella aurantia e T. mesenterica". *Micologista*. **9** (3): 110–114. doi : [10.1016/S0269-915X\(09\)80270-X](https://doi.org/10.1016/S0269-915X(09)80270-X) .

TELES, A. M. et al. Triagem fitoquímica de extrato obtido do fungo *Penicillium purpurogenum* advindo de ambiente marinho poluído do Maranhão. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 8, p. 1–12, 2020.

THEOBALD S, Vesth TC, Rendsvig JK, Nielsen KF, Riley R, de Abreu LM, Salamov A, Frisvad JC, Larsen TO, Andersen MR, Hoof JB. Uncovering secondary metabolite evolution and biosynthesis using gene cluster networks and genetic dereplication. *Sci Rep*. 2018 Dec 18;8(1):17957. doi: 10.1038/s41598-018-36561-3.

WELLENREUTHER, Maren et al. Going beyond SNPs: The role of structural genomic variants in adaptive evolution and species diversification. *Molecular ecology*, v. 28, n. 6, 2019.

XIA Ma, Meng Yang, Yan He, Chuntao Zhai e Chengliang Li. A review on the production, structure, bioactivities and applications of Tremella polysaccharides. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* Volume **35**, 2021. <https://doi.org/10.1177/20587384211000541>

YAZDANI, Morteza et al. Triterpenes from *Pholiota populnea* as cytotoxic agents and chemosensitizers to overcome multidrug resistance of cancer cells. *Journal of natural products*, v. 85, n. 4, p. 910-916, 2022.

ZHAO, Ying; LIU, Xin-zhan; BAI, Feng-yan. Four new species of Tremella (Tremellales, Basidiomycota) based on morphology and DNA sequence data. *MycoKeys*, n. 47, p. 75, 2019.