UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

CENTRO DE BIOTECNOLOGIA DA UFRGS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

DEISIANE FERNANDA DA ROSA

CLUSTERS GÊNICOS BIOSSÍNTETICOS EM *BACILLACEAE* EXTREMÓFILAS: PANORAMA GLOBAL E ESTUDO DE ISOLADOS DO BIOMA CAATINGA

Porto Alegre, RS

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

CENTRO DE BIOTECNOLOGIA DA UFRGS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

CLUSTERS GÊNICOS BIOSSÍNTETICOS EM *BACILLACEAE* EXTREMÓFILAS: PANORAMA GLOBAL E ESTUDO DE ISOLADOS DO BIOMA CAATINGA

Deisiane Fernanda da Rosa

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre José Macedo

Porto Alegre

Setembro de 2025.

CIP - Catalogação na Publicação

da Rosa, Deisiane Fernanda
CLUSTERS GÊNICOS BIOSSÍNTETICOS EM BACILLACEAE EXTREMÓFILAS: PANORAMA GLOBAL E ESTUDO DE ISOLADOS DO BIOMA CAATINGA / Deisiane Fernanda da Rosa. -- 2025.
136 f.
Orientador: Alexandre José Macedo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Porto Alegre, BR-RS, 2025.

1. Extremófilos. 2. BGCs. 3. Bacillaceae. 4. Genômica. 5. OSMAC. I. Macedo, Alexandre José, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Esse trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biofilmes e Diversidade Microbiana (LABDIM) do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A discente recebeu bolsa de estudos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais: muito além das razões óbvias, quero registrar meu profundo agradecimento por sempre me incentivarem a adquirir conhecimento e por estarem sempre ao meu lado. Não teria chegado até aqui sem vocês; me faltam palavras para expressar minha gratidão.

Aos meus gatos de estimação, especialmente minha gatinha Kiki e o gato Garfield, que foram minhas companhias durante árduas jornadas de trabalho no computador e durante os estudos.

Aos meus amigos desde a época da graduação, por estarem comigo até hoje, em especial a Catarine e o Arthur. Aos meus antigos colegas de laboratório de Micologia, Genivaldo e Viviane, que me introduziram aos estudos de filogenia e metabólitos secundários; vocês são responsáveis por eu ter chegado até aqui.

Ao meu orientador, Prof. Alexandre Macedo, por permitir que eu transformasse meu hiperfoco em extremófilos, meu objeto de estudo desde a iniciação científica, e por incentivar minha permanência nos estudos envolvendo bioinformática.

Ao grupo LABDIM como um todo, especialmente aos meus antigos colegas Dayse, Rodrigo e Nicole, que foram essenciais para meu aprendizado, me proporcionaram oportunidades de parceria e se tornaram pessoas muito queridas para mim. Aos membros mais recentes, Rafaela, Leidy, Nanda, Laura e Julya, agradeço a parceria e troca de conhecimento.

Ao grupo GPTrico, em especial a Fernanda (Fê) e ao Saulo, pelo apoio e companheirismo. Não posso deixar de agradecer também à ex-membro do grupo, Graziela, e à professora Tiana Tasca, com quem publiquei meu primeiro trabalho, sou extremamente grata!

Gostaria de agradecer ao PPGBCM pela oportunidade de realizar o mestrado, assim como ao CNPq pelo apoio financeiro. À Silvinha, sempre atenta e disposta a ajudar, que também foi um apoio emocional. Aos professores da minha comissão de acompanhamento, Prof. Augusto Schrank e Prof. Márcio Dorn, em especial ao Prof. Augusto, pelas palavras de incentivo à escrita. Também ao Prof. Carlos Termignoni pelos elogios e conselhos. Ao professor Nelson Rosa do departamento de Genética pelas aulas maravilhosas de evolução molecular e me despertar o senso crítico no trabalho.

Aos meus colegas e professores do curso de Alemão do NELE – UFRGS, iniciado junto com o mestrado, de certo modo tornaram essa caminhada mais leve. *Danke für alles, liebe Leute*!

E, por fim, não menos importante, a todos os meus alunos do PEAC e demais ex-alunos. É com vocês que percebo que tudo que construí até aqui valeu o esforço.

"A maioria das histórias erradas são aquelas que achamos que conhecemos melhor e, portanto, nunca examinamos ou questionamos"

Stephen Jay Gould

SUMÁRIO

RESUMO 8
ABSTRACT 9
1. INTRODUÇÃO 10
1.1. BACTÉRIAS EXTREMÓFILAS: DIVERSIDADE E ADAPTAÇÃO 10
1.1.1. A CAATINGA COMO AMBIENTE PARA EXTREMÓFILOS 13
1.2. DIVERSIDADE EXTREMÓFILA EM *BACILLACEAE* 14
1.3. EXTREMÓFILOS E SUA CONTRIBUIÇÃO BIOTECNOLÓGICA 16
1.4. GENES BIOSSINTÉTICOS E MINERAÇÃO GENÔMICA 17
1.5. ESTRATÉGIAS PARA ATIVAÇÃO DE BGCS 20
2. OBJETIVOS 22
CAPÍTULO 1: BGCS DOS EXTREMÓFILOS DA FAMÍLIA *BACILLACEAE* 23
CAPÍTULO 2: EXPLORANDO BGCs EM TERMÓFILOS DA CAATINGA 24
DISCUSSÃO GERAL 25
3. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS 29
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 30
5. CURRICULUM VITAE RESUMIDO 37

RESUMO

As bactérias extremófilas da família *Bacillaceae*, especialmente os gêneros *Anoxybacillus* e *Parageobacillus*, representam fontes promissoras de metabólitos secundários, embora seu potencial ainda permaneça largamente inexplorado devido à complexidade de replicar condições ambientais naturais em laboratório. Estratégias integradas, como OSMAC (*One Strain Many Compounds*), aliadas à mineração genômica e análises metabolômicas, permitem maximizar a expressão de genes biossintéticos (BGCs) silenciosos e revelar compostos bioativos. Neste estudo, objetivou-se caracterizar a estrutura e a organização de genes biossintéticos de extremófilos da família *Bacillaceae* e evidenciar seu potencial frente à descoberta de novas moléculas de valor biotecnológico. Para isso, inicialmente foram realizadas análises genômicas e filogenéticas em 596 genomas de domínio público de organismos correspondentes para caraterização e organização dessas estruturas gênicas. Observou-se uma diversidade de BGCs potencialmente órfãos, moléculas que sejam potencialmente estritas a termófilos, *Clusters* que podem atuar como sentinelas em situação de estresse, entre outros. A partir das evidências levantadas, dois representantes termófilos dos gêneros *Anoxybacillus* e *Parageobacillus* foram utilizados como modelos experimentais para elucidar genes biossintéticos potencialmente órfãos identificados na análise geral desenvolvida. Ambas as cepas foram isoladas do solo do Bioma da Caatinga, Vale do Catimbau (PE, Brasil). Para garantir a expressão adequada desses genes, aplicou-se a técnica OSMAC aliada à genômica comparativa e à metabolômica. Além disso, realizou-se uma triagem antimicrobiana, por meio de técnica de halo de inibição, frente a cepas clínicas e a *Bacillus subtilis*. Os resultados demonstraram que fatores físicos, particularmente a temperatura, podem afetar diretamente a produção de metabólitos e influenciar a ativação de diferentes BGCs. Os extratos obtidos de ambas as cepas, cultivadas sob diferentes condições de crescimento e nutrientes, apresentaram ação seletiva contra *B. subtilis* e, em condições ótimas de crescimento (R2A, pH 8 a 60 °C), contra *Candida albicans* e apenas a cepa PC5 induziu inibição frente a *Staphylococcus aureus*. Esse panorama ressalta a importância de estudar extremófilos sob múltiplas condições experimentais, não apenas para revelar seu verdadeiro potencial biossintético, mas também para compreender seu papel ecológico em habitats extremos.

Palavras-chave: BGC, produtos naturais, extremófilos, *Bacillaceae*, Genômica, OSMAC.

ABSTRACT

Extremophilic bacteria from the *Bacillaceae* family, particularly members of the genera *Anoxybacillus* and *Parageobacillus*, represent promising yet underexplored sources of secondary metabolites. Their biotechnological potential remains largely untapped due to the challenges of replicating extreme environmental conditions in the laboratory. Integrated approaches, such as OSMAC (One Strain Many Compounds) combined with genome mining and metabolomics, offer powerful strategies to activate silent biosynthetic gene clusters (BGCs) and uncover novel bioactive compounds. In this study, we characterized the structure and organization of biosynthetic genes from extremophilic *Bacillaceae* and evaluated their potential for biotechnological applications. Genomic and phylogenetic analyses of 596 publicly available genomes revealed numerous orphan BGCs, including clusters potentially restricted to thermophiles and others that may act as stress-response "sentinels." Guided by these findings, two thermophilic isolates from the Caatinga biome (Vale do Catimbau, Pernambuco, Brazil), belonging to *Anoxybacillus* and *Parageobacillus*, were selected as experimental models to investigate orphan biosynthetic genes identified in the global survey. To promote gene expression, we applied the OSMAC strategy in combination with comparative genomics and metabolomics. Antimicrobial screening using the agar well diffusion method revealed that culture conditions, particularly temperature, strongly influenced metabolite production and BGC activation. Extracts from both strains exhibited selective activity against *Bacillus subtilis* and, under optimal growth conditions (R2A, pH 8, 60 °C), against *Candida albicans*. Additionally, strain PC5 inhibited *Staphylococcus aureus*. No activity was observed against Gram-negative bacteria. These findings underscore the importance of exploring extremophiles under diverse experimental conditions, not only to unlock their biosynthetic potential but also to deepen our understanding of their ecological functions in extreme habitats.

Keywords: BGC**,** natural products, extremophiles, *Bacillaceae*, genomics, OSMAC.

1. INTRODUÇÃO

1.1. BACTÉRIAS EXTREMÓFILAS: DIVERSIDADE E ADAPTAÇÃO

Ao longo das eras geológicas, a Terra passou por profundas transformações, originando uma ampla diversidade de ambientes, muitos deles caracterizados por condições físicas e químicas extremas. Os organismos que prosperam nesses limites, conhecidos como extremófilos, evoluíram adaptações específicas que lhes permitem sobreviver e se multiplicar em tais cenários. Sua classificação considera tanto características fisiológicas quanto os nichos ecológicos que ocupam (Stolz, 2017; Angelakis *et al*., 2024). Embora a nomenclatura seja por vezes criticada por seu viés antropocêntrico, há consenso em defini-los como habitantes dos extremos (Stan-Lotter, 2017). Os extremófilos podem ser classificados de acordo com o tipo de condição ambiental ao qual são adaptados (tabela 1).

Tabela 1. Distribuição das categorias de extremófilos e seus critérios de classificação

Categoria	Condições ótimas de crescimento	Referência
Termófilos	Altas temperaturas: Moderados (50-60°C) Termófilos (60-80°C) Hipertermófilos (>80°C)	Satyanarayana *et al*. (2013)
Psicrófilos	Baixas temperaturas (<18 °C)	Mitra and Das Mohapatra (2021)
Alcalófilos	Alto pH (pH > 9)	Preiss *et al*. (2015)
Acidófilos	Baixo pH (pH < 5)	Johnson (2007); Johnson and Quatrini, (2020)
Halófilos	De acordo com concentração de NaCl: Levemente halófilos (1-5%) * Moderados (5-20%) Hiperhalófilos (20-30%)	Seck *et al*., (2018); DasSarma and DasSarma, (2012)
Piezófilos	Alta pressão (Pascal (Pa)): Piezófilo (10–50 MPa) Hiperpiezófilo (>50 MPa)	Sysoev *et al.* (2021)
Metalófilos	Locais com altos índices de metais pesados	Merino *et al*. (2019)
Radiofilos	Locais com altos índices de radiação e UV	Merino *et al.* (2019)

*No caso de 1%, requerem NaCl para cultivo. Fonte: elaborado pela própria autora.

Muitas destas adaptações também podem ocorrer de forma combinada, originando microrganismos classificados como poli-extremófilos, (Goldenberg-Barbosa *et al.,* 2025). Essas categorias, embora didáticas, não esgotam a diversidade funcional desses grupos, cuja fisiologia frequentemente ultrapassa os limites previamente estabelecidos pela microbiologia clássica. As pressões seletivas sofridas por procariotos extremófilos, permitiu a derivação de diferentes formas de adaptação celular que lhes confere uma versatilidade metabólica, como resumido na Figura 1.

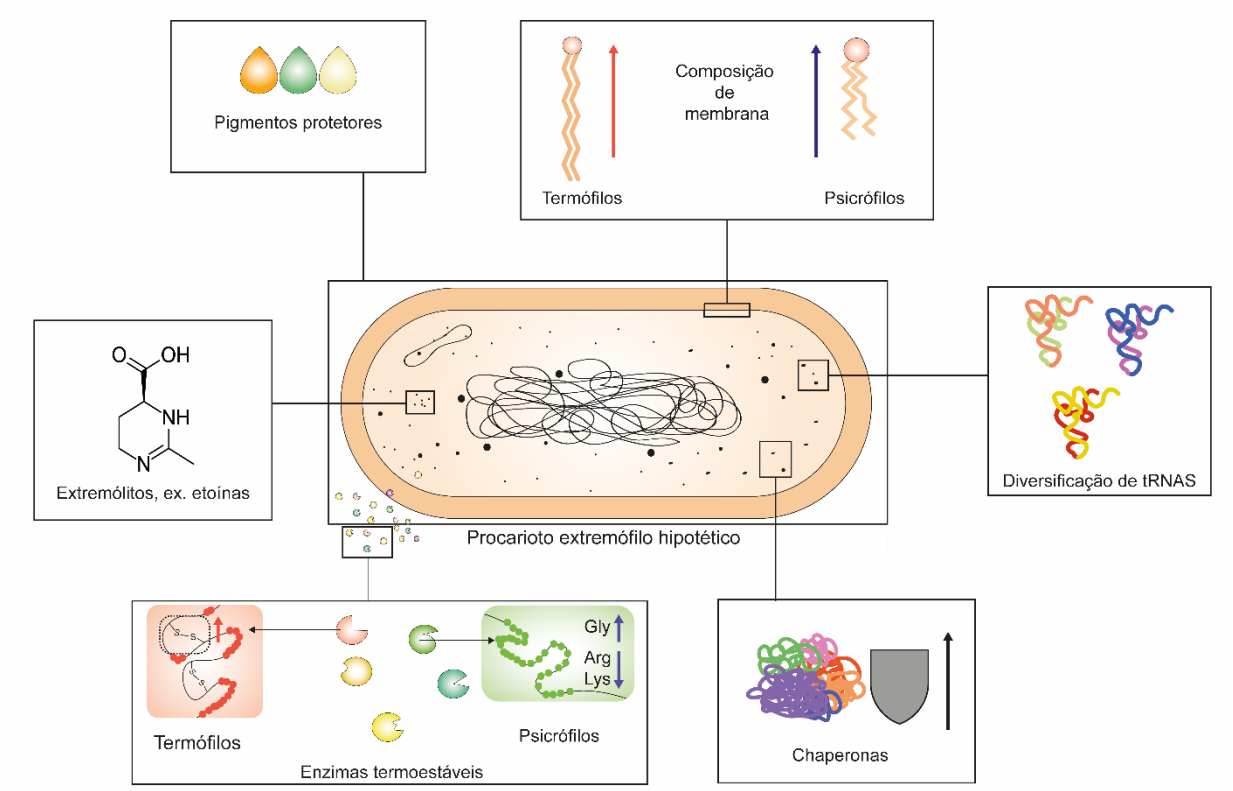


Figura 1. Sumarização das principais adaptações celulares observadas em procariotos extremófilos. A natureza dessas adaptações varia conforme a categoria do extremófilo, sendo que termófilos e psicrófilos apresentam padrões específicos de modificação da membrana celular. Fonte: própria autora.

Em halófilos e organismos que vivem em ambientes xerófitos, é comum o acúmulo de osmólitos (frequentemente referidos como extremólitos, *"extremolytes"*), como ectoínas, trealose e glicina-betaína, moléculas que protegem as células contra perda de água sem interferir na atividade enzimática (Becker e Wittman, 2020). A composição da membrana também é ajustada conforme o estresse: termófilos apresentam lipídios mais saturados e

rígidos (Maiti *et al*., 2024), enquanto psicrófilos possuem cadeias mais curtas e insaturadas, garantindo fluidez em baixas temperaturas (Pathania *et al.,* 2021). As enzimas desses organismos apresentam adaptações evolutivas que asseguram seu funcionamento em ambientes extremos. Em psicrófílicos, características como menor número de ligações salinas, menor proporção arginina/lisina, maior presença de glicina em *loops*, menor quantidade de prolina, além da produção de proteínas de choque térmico e anti-congelamento, contribuem para a adaptação ao frio (Angelin e Kavitha, 2022). Em contraste, enzimas termofílicas exibem loops mais curtos, núcleos hidrofóbicos compactos, maior número de ligações dissulfeto e outras modificações que aumentam a rigidez estrutural e previnem o desdobramento em altas temperaturas (Angelin e Kavitha, 2022)

Além disso, esses microrganismos possuem sistemas de reparo de DNA altamente eficientes e produzem grandes quantidades de chaperonas para prevenir o enovelamento incorreto de proteínas (Fusco *et al.*, 2022); em alguns casos, também sintetizam pigmentos que conferem proteção contra radiação (Sajjad *et al*., 2020). Alguns táxons podem apresentar baixo conteúdo de GC em seus genomas, como ocorre com membros da ordem Bacillota. Nesses casos, pressões seletivas levaram a uma compensação nos tRNAs, por meio de variações na organização e composição dessas moléculas, assegurando que a síntese proteica ocorra de forma adequada (Satapathy; Dutta; Ray, 2010a, 2010b). Essas adaptações não se restringem aos extremófilos mas acabam por beneficiar outros táxons: estudos recentes mostram que podem igualmente favorecer a sobrevivência de organismos de outros táxons em ambientes extremos, como observado em alguns poliquetas do Ártico (Buschi *et al.*, 2024).

A biologia diferenciada desses organismos não apenas fornece noções sobre os mecanismos de adaptação a condições extremas, mas também fundamenta estudos sobre a origem da vida e a possibilidade de existência de organismos em ambientes extraterrestres, como explorado na Exobiologia (Marzban e Tesei, 2025). Dessa forma, extremófilos funcionam como modelos únicos para investigar os limites da vida, desafiando conceitos tradicionais e abrindo novas fronteiras de pesquisa científica.

.

1.1.1. A CAATINGA COMO AMBIENTE PARA EXTREMÓFILOS

Localizada na porção nordeste do país (Figura 2), a Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, caracterizado por clima semiárido, o que constitui um fator determinante para diversas características ecológicas, como a dinâmica da vegetação nos períodos de seca e de chuva. Trata-se de uma região muito heterogênea, que pode ser dividida em oito ecorregiões (Velloso *et al*.,2002; Freire *et al*., 2018).



Figura 2. Localização geográfica do bioma Caatinga. A área destacada em laranja corresponde, em escala real, à extensão territorial do bioma. Base cartográfica: Mapa de Biomas do Brasil (IBGE, 2024). Referência espacial: DATUM SIRGAS 2000. Fonte: própria autora, elaborado em Python: GeoPandas (Jordahl *et al.,* 2020) e Maplotlib (Hunter *et al*., 2007).

A deciduidade da vegetação explica a origem do nome "Caatinga", que vem do tupi, língua dos povos originários que ainda habitam a região em pequeno número, e significa "mata branca", provavelmente em referência à paisagem formada por um "mar" de árvores sem folhas durante a estação seca (Prado, 2003). Algumas regiões são fundamentais para

compreender a composição e a formação dos povos originários, como demonstrado por Solari e Silva (2017) no sítio arqueológico Pedra do Cachorro. Localizado em Buíque, Pernambuco, a 295 km de Recife, o sítio situa-se na transição entre o agreste e o sertão, dentro do Parque Nacional do Catimbau, administrado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Foi nesse local que as bactérias analisadas no estudo apresentado no Capítulo 2 desta dissertação foram coletadas. Longe de ser apenas um patrimônio histórico, geológico e biológico, esse bioma também tem se destacado como fonte promissora de produtos biotecnológicos (Junior *et al*., 2017; Silva *et al*., 2015).

A composição geológica da região é predominantemente de origem cristalina e sedimentar (Férnandez *et al*., 2022), sendo esta última especialmente relevante por sua elevada capacidade de acúmulo e armazenamento de água subterrânea, fator essencial para a sobrevivência durante os períodos de estiagem (Freire *et al*., 2018). Essas variações litológicas influenciam diretamente a composição dos solos, sendo mais comuns os solos pedregosos e rasos, geralmente ocupados por plantas de pequeno porte e cactáceas (Queiroz *et al*., 2017). Em determinadas áreas sedimentares, as temperaturas podem ultrapassar os 60 °C durante os períodos de seca, favorecendo a proliferação de comunidades bacterianas termófilas e poliextremófilas, adaptadas também a diferentes faixas de pH. Esses microrganismos, componentes da microbiota edáfica, atuam em etapas-chave da ciclagem de nutrientes, processo essencial para a sustentação das cadeias tróficas locais (Martinéz-Espinosa, 2020). A interação entre tais características geológicas, climáticas e ecológicas da Caatinga cria um ambiente singularmente propício ao desenvolvimento de microrganismos extremófilos, sendo um local de interesse para estudos de Exobiologia (Duarte *et al*., 2012).

1.2. DIVERSIDADE EXTREMÓFILA EM *BACILLACEAE*

A família *Bacillaceae* (filo Bacillota; classe Bacilli; ordem Caryophanales), é conhecida por ter uma diversidade de bactérias cosmopolitas e possuir uma variedade de espécies extremófilas. Os membros extremófilos da família, para além das adaptações mencionadas anteriormente, contam com a capacidade de formar endósporos, estruturas de resistência que garantem a sobrevivência a condições não favoráveis no momento, e são ótimas formadoras de biofilmes (Galperin *et al.,* 2022; Sowmiya *et al*., 2024). Apesar de ser um grupo taxonômico relativamente antigo, tendo o gênero *Bacillus* determinado em 1895,

a família foi oficialmente estabelecida em 1984 (Tindall, 2019) e passa por constantes revisões taxonômicas e reformas. Atualmente a família conta com 118 gêneros e 729 espécies, sendo *Bacillus* seu gênero modelo e mais conhecido.

Os membros da família apresentam uma heterogenia quanto aos ambientes ocupados e adaptações. Dada a versatilidade é comum que seus membros sejam classificados como poli-extremófilos. Um dos gêneros notáveis dessa versatilidade é *Exiguobacterium*, que apresenta inúmeras adaptações conseguindo superar temperaturas negativas a temperaturas correspondentes ao ambiente ideal de um termófilo (Rodrigues *et al*., 2006; Shen *et al.,* 2024). Há também os que habitam condições alcalinas, como certas espécies de *Alkalibacillus* e *Amphibacillus*, típicos de solos e lagos alcalinos, a extensos grupos de halófilos tais como *Alteribacillus, Virgibacillus* e *Geomicrobium,* muitos oriundos de ambiente marinho (Fajardo *et al*., 2016; Mandic *et al.,* 2016; Harirchi *et al*., 2022). Além disso, grupos de termófilos já então consolidados como *Geobacillus*, muito conhecida por suas aplicações biotecnológicas (Najar e Thakur, 2020), assim como suas parentes próximas como *Anoxybacillus* e *Parageobacillus*.

O gênero *Anoxybacillus* ("*Na*" preposição negação," *oxy*" oxigênio, "*bacillus*" em referência à morfologia e à família) compõe o universo de termófilos da família *Bacillaceae* e conta com 16 espécies descritas oficialmente, sendo descrita pela primeira vez por Pikuta e colaboradores (2000). A maioria das espécies foram isoladas de fontes termais, sendo predominante em regiões da Ásia e Oriente Médio. Apesar disso, há registros de *Anoxybacillus* em diferentes locais como formações rochosas, solo e encanamentos de instalações industriais de laticínios, sendo inclusive considerada um problema para esterilização de alimentos oriundos (Goh *et al*. 2013). Inicialmente, fora atribuída a característica anaeróbica, mas conforme estudos publicados posteriormente, demonstraram se tratar de organismos anaeróbios facultativos.

Já o gênero *Parageobacillus* ("*Para"* prep. ao lado de ou próximo de; "*geobacillus"* em referência ao gênero *Geobacillus*), foi oficialmente estabelecido em 2019 (Aliyu *et al.*, 2016) após uma reformulação do gênero *Geobacillus,* e atualmente conta com 6 espécies descritas. Além de termofílicas, podem ser termorresistentes e anaeróbias facultativas. São encontradas com frequência na microbiota do solo, habitando locais como rochas e fontes termais (Najar e Thakur, 2020). O grupo tem se destacado em estudos de engenharia metabólica e como modelos de estudos de exobiologia (Paredes-Barrada *et al*., 2024).

1.3. EXTREMÓFILOS E SUA CONTRIBUIÇÃO BIOTECNOLÓGICA

O entendimento e exploração da biologia de organismos extremófilos abriu novos horizontes para a bioprospecção, direcionando a descoberta e aplicação de produtos bioativos inovadores. Desde o isolamento da DNA polimerase termoestável Taq, oriunda de *Thermus aquaticus* (Chien *et al.*, 1976), inúmeras aplicações biotecnológicas emergiram e continuam a evoluir, consolidando o potencial desses organismos em diferentes setores industriais.

As extremozimas destacam-se como as biomoléculas mais exploradas para aplicações biotecnológicas (Salas-Bruggink *et al.*, 2024). Em particular, bactérias termófilas e alcalófilas têm recebido grande atenção, pois a evolução conferiu a elas adaptações que garantem estabilidade em condições extremas de temperatura e pH. Consequentemente, setores industriais que operam sob condições semelhantes podem se beneficiar dessas propriedades, como ocorre nas indústrias têxtil, alimentícia e de limpeza (Fujinami e Fujisawa, 2010; Sharma *et al*., 2019; Mesbah, 2022; Liu & Kokare, 2023). Entre as enzimas mais comumente isoladas e aplicadas, destacam-se as amilases (Paul *et al*., 2021), proteases (Aruna *et al.,* 2023) e xilanases. Esta última, em particular, é amplamente buscada em organismos alcalófilos, uma vez que muitos processos de tratamento envolvendo celulose e xilose ocorrem em condições alcalinas (Sarangi e Thatoi, 2024). Importante notar: conforme a origem do organismo, pode haver uma finalidade adequada (Figura 3).

Contudo, as aplicações dos extremófilos ultrapassam esse cenário clássico. Nas últimas duas décadas, o crescente interesse por processos e materiais sustentáveis impulsionou o uso desses organismos em novas frentes. Eles têm se mostrado excelentes aliados em técnicas de biorremediação e captura de compostos tóxicos do ambiente (Koul *et al*., 2021), além de serem utilizados na degradação de corantes industriais provenientes das indústrias têxtil e calçadista (Agrwal *et al*., 2017; Tizazu *et al*., 2023; Wadhawan *et al.,* 2024). Sua aplicação ultrapassa o contexto terrestre visto que pela sua contribuição em técnicas de mineração, também chamada de Biomineração (Dopson e Okibe, 2022) há um crescente interesse de uso desses organismos para Biomineração espacial (Santo Martino *et al.,* 2022).

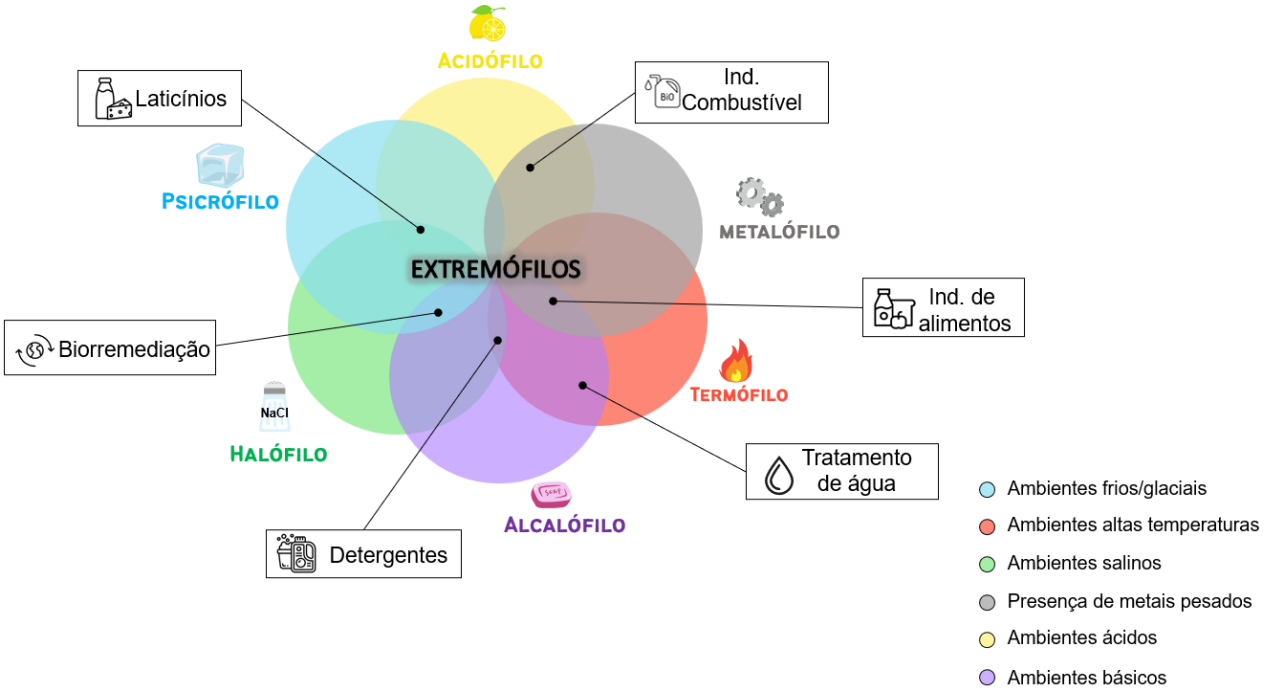


Figura 3. Aplicação das enzimas oriundas de extremófilos, principalmente procariotos. Cada círculo colorido representa uma categoria de extremófilo identificado. Os poliextremófilos, representados pela intersecção dos círculos, acabam por ser uma fonte versátil e possuem mais de uma aplicação. Adaptado de: *Bioprospecting of Novel Extremozymes From Prokaryotes-The Advent of Culture-Independent Methods* (Sysoev *et al.,* 2021).

1.4. GENES BIOSSINTÉTICOS E MINERAÇÃO GENÔMICA

Os Genes biossintéticos, *Biosynthetic Gene Clusters* (BGCs), são agrupamentos organizados de genes responsáveis pela biossíntese de metabólitos secundários, metabólitos esses em que sua definição clássica se concentra em tratá-los apenas como "não essenciais para vida" (Bennett *et al.*, 1989; Agostini-Costa *et al.*2012; Elshafie *et al.,* 2023). Esses genes, frequentemente dispostos de forma contígua no genoma, codificam enzimas estruturais, reguladores e transportadores necessários para a produção e exportação do metabólito final (Fischbach *et al.* 2008; Chen *et al*. 2019, Barona *et al.* 2023).

De modo geral, os BGCs podem ser classificados em categorias de acordo com o tipo de via biossintética predominante que codificam. Entre elas estão as polyketide synthases (PKS), que produzem enzimas responsáveis pela síntese de poliquetídeos (PKs) com grande diversidade estrutural e bioatividade, incluindo antibióticos e imunossupressores (Beck *et al*., 2020); as non-ribosomal peptide synthetases (NRPS), que sintetizam peptídeos não ribossomais (NRPs) com ampla variedade de atividades, como antimicrobiana, antitumoral e siderofórica (Walsh *et al*., 2016; Beck *et al*., 2020); os terpenos, derivados da via do mevalonato ou da via MEP/DOXP, geralmente associados a pigmentos, hormônios e metabólitos voláteis (Helfrich *et al*., 2019); e os RiPPs (ribossomais e pós-traducionalmente modificados), peptídeos sintetizados por ribossomos e modificados enzimaticamente, resultando em moléculas como bacteriocinas e lantibióticos (Zdouc *et al*., 2023). Além disso, existem BGCs sem uma categoria bem definida, referenciados como "outros" em plataformas de detecção, como ectoína e beta-lactonas, e aqueles que podem ocorrer de modo híbrido, como NRPS-PKS.

Cada BGC possui uma organização característica que reflete sua funcionalidade, contudo, eles apresentam genes-chave essenciais, como sumarizado na Figura 4. Os genes *core*, como PKSs, NRPSs e terpeno sintases, determinam o esqueleto químico (*scaffold*) do metabólito, sendo essenciais para a síntese da molécula principal. Ao redor desses genes, geralmente encontram-se os genes de modificação (*tailoring genes*), responsáveis pelas *tailoring enzyme*s, que adicionam grupos químicos específicos ou promovem modificações estruturais no contexto da via biossintética. Dentre elas, destacam-se oxigenases, metiltransferases, glicosiltransferases, redutases e desidrogenases (Walsh, 2023).

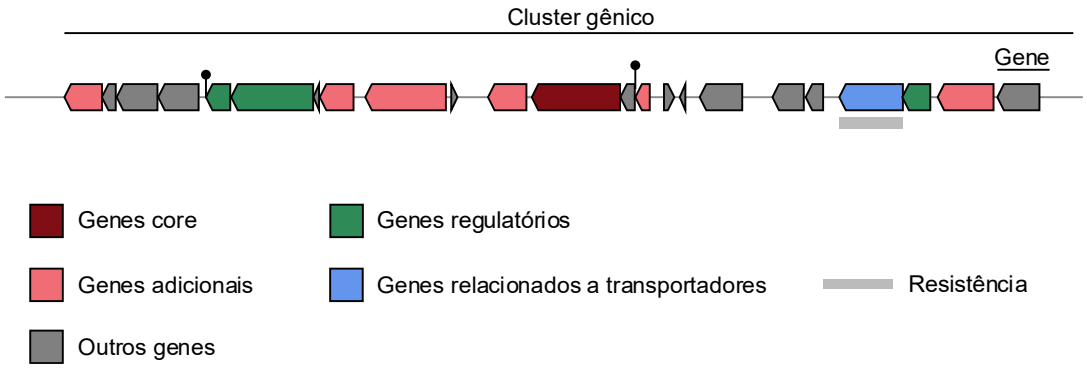


Figura 4. Esquema genérico de organização de um BGC. Setas coloridas representam genes individuais dentro do *cluster*. A direção da seta indica a orientação do gene na fita de DNA. Fonte: própria autora.

Os clusters frequentemente são compostos por genes especializados, responsáveis por funções como transporte, regulação da expressão e resistência ao próprio metabólito (Alanjary *et al*., 2017), tais genes podem ser relacionados a transportadores ABC (Theodoulou *et al.*, 2015) ou da superfamília dos principais facilitadores (MFS) que adicionalmente atuam na resistência ao composto produzido (Lee-Sands e Biggin, 2016), reguladores do tipo LuxR (Li *et al*., 2022) ou TetR (Bhukya *et al*., 2017). A presença combinada desses genes não apenas indica a capacidade biossintética do cluster, mas também fornece pistas sobre seu potencial ativação em condições ambientais específicas (Bhukya *et al*., 2017). Vale ressaltar que um BGC pode produzir compostos bioativos sem apresentar toda essa estrutura básica, a presença de genes adicionais ou apenas gene core, já são suficientes para produção de compostos bioativos, como observado nos BGCs de 1-heptadecen (BGC0001164) (Mendez *et al*., 2014) e canamicina (BGC0000706) (Yanai *et al.*, 2006), por exemplo.

Com os avanços da genômica, consolidou-se uma nova área de estudo frequentemente denominada: mineração genômica. No caso dos BGCs, a abordagem envolve a identificação, caracterização e compreensão da organização e função dessas estruturas genéticas, bem como a avaliação do potencial biossintético de um organismo (Bauman *et al*., 2021). O objetivo é determinar se um BGC presente no genoma é funcional e capaz de produzir metabólitos secundários, sejam eles já conhecidos ou completamente novos. Para isso, são empregadas ferramentas bioinformáticas que não apenas detectam

BGCs, mas também predizem o tipo de via biossintética, a estrutura química provável do produto e sua similaridade com compostos previamente descritos. Essa estratégia tem se mostrado particularmente relevante para a descoberta de moléculas bioativas de interesse farmacêutico, industrial e ambiental (Baltz, 2021), especialmente em microrganismos pouco estudados, como extremófilos, cujo repertório genético pode revelar compostos inéditos com propriedades singulares.

1.5. ESTRATÉGIAS PARA ATIVAÇÃO DE BGCS

Um dos principais desafios na mineração genômica é estabelecer a relação entre um BGC identificado e a produção efetiva de seu metabólito em níveis detectáveis, sendo um processo gradual (Figura 5). Nem todos os BGCs previstos estão ativos sob condições de cultivo convencionais, aqueles que permanecem inativos são conhecidos como BGCs silenciosos (*silent* BGCs) (Covington *et al*., 2021).

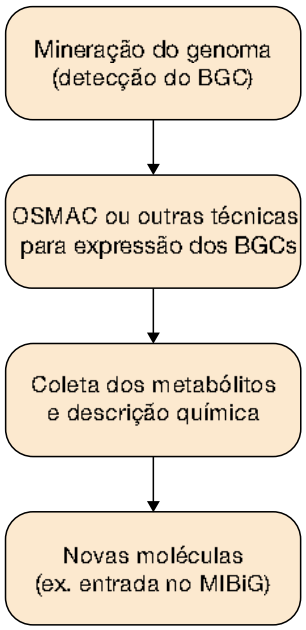


Figura 5. Etapas para identificação de metabólitos. É recorrente a identificação do BGC e seu metabólito associado ser depositado no banco de dados adequado: *Minimum Information about a Biosynthetic Gene cluster* (MIBiG) (Terlouw *et al*.,2023). Fonte: própria autora

Em alguns casos, esses *clusters* podem ser confundidos com BGCs órfãos, cujos produtos ainda não foram identificados, ou com BGCs degradados, que perderam parte de sua capacidade biossintética, levando a interpretações incorretas ou a falsos positivos

(Rutledge e Challis, 2015). Para superar essas limitações, diversas técnicas têm sido aplicadas com o objetivo de ativar ou acessar os produtos codificados por BGCs silenciosos. A biologia molecular é uma das abordagens mais utilizadas, abrangendo estratégias como expressão heteróloga, edição gênica direcionada e nocaute de genes (Ren *et al.*, 2017). Embora eficientes, essas técnicas podem ser economicamente inviáveis e exigir infraestrutura laboratorial especializada, além de apresentarem desafios técnicos consideráveis. Como alternativa, a estratégia OSMAC (*One Strain, Many Compounds*) é amplamente empregada (Ferreira *et al*., 2022).

A abordagem OSMAC consiste em modificar sistematicamente as condições de cultivo, como composição do meio, temperatura, pH e adição de indutores, com o objetivo de ativar vias biossintéticas e estimular a produção de diferentes metabólitos a partir de um único microrganismo (Bode *et al*., 2002). Proposta por Bode e colaboradores (2002), essa técnica surge como contraponto às abordagens químicas e de cultivo tradicionais, que utilizam apenas parâmetros estáticos e pouco flexíveis, explorando o organismo de forma limitada; além disso, tais métodos têm se mostrado cada vez menos eficientes devido à elevada taxa de redescoberta de moléculas conhecidas (Pan *et al*., 2019). O potencial da OSMAC pode ser ampliado quando o desenho experimental incorpora análises *in silico* e considera as condições ambientais nas quais o organismo evoluiu, aumentando a probabilidade de expressão de BGCs adaptados a nichos ecológicos específicos. Dessa forma, a combinação da OSMAC com mineração genômica se consolida como uma estratégia robusta e sistemática para a descoberta de novos compostos.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Identificar e caracterizar os *clusters* órfãos de genes biossintéticos em extremófilos da família *Bacillaceae* e utilizar dois espécimes dos gêneros *Anoxybacillus* e *Parageobacillus* para elucidar casos observados.

Objetivos específicos:

- Identificar o perfil de extremófilos que compõe a família *Bacillaceae* assim como identificar a sua situação taxonômica com dados atualizados.

- Realizar uma análise concisa e descritiva dos genes biossintéticos dos extremófilos da família *Bacillaceae* assim como evidenciar seus potenciais e importância de estudo;

- Realizar a identificação taxonômica a nível de espécie e caracterização genômica, das cepas isoladas da Caatinga;

- Contribuir para o registro da diversidade da microbiota do solo da Caatinga e determinar as possíveis consequências observadas nos genomas atribuíveis às condições ambientais desse bioma;

- Integrar dados genômicos e fenotípicos como estratégia para ativação de BGCs potencialmente silenciosos nas cepas estudadas;

CAPÍTULO 1: BGCS DOS EXTREMÓFILOS DA FAMÍLIA *BACILLACEAE*

(suprimido para publicação)

Manuscrito intitulado: "**Extremophilic *Bacillaceae* Reveal Biosynthetic Richness Beyond Model Organisms**"

Manuscrito completo, a ser submetido ao periódico *Bioresource Technology* (Elsevier), referências formatadas nas normas exigidas.

Neste primeiro capítulo, apresentamos uma análise *in silico* global da estrutura e composição dos BGCS dos organismos alvo, tendo sido aplicado análises de redes de similaridade, análises genômicas e filogenéticas. Ao todo foram selecionados 596 genomas de domínio público, sendo destes identificados 3044 BGCs com sua maior parte composta por BGCs órfãos e com domínios funcionais e genes assinatura relacionados a produção de compostos. As categorias predominantes identificadas foram: NRPS, PKS, RiPP, Terpenos e outros; Muitos BGCs estão localizados próximos a genes relacionados ao estresse e à esporulação, indicando papéis duplos na proteção e na sinalização ecológica. Dos casos já descritos, muitos se relacionam com compostos canônicos identificados em outros membros da família. Nosso trabalho visou demonstrar o uso desses organismos de modo expandido, para além de fontes enzimáticas, mas como fontes promissoras de moléculas bioativas. Tendo a autora desta dissertação efetuado toda a base teórica, aplicação das ferramentas, seleção e montagem do conjunto de dados, assim como a análise dos dados encontrados.

Após o manuscrito estão organizados o material suplementar:

- Imagens adicionais;
- Tabela S1 – 596 genomas utilizadas no estudo;
- Tabela S2 – Genomas selecionados para arvore filogenética;

CAPÍTULO 2: EXPLORANDO BGCs EM TERMÓFILOS DA CAATINGA

(suprimido para publicação)

Manuscrito intitulado: **"Exploring the Biosynthetic Potential of Thermophilic Bacteria via Integrated OSMAC, Metabolomic, and Genomic Mining"**

Manuscrito a ser submetido (sem periódico definido, portanto, adotou-se as normas ABNT para referências).

Neste segundo capítulo, apresentamos um estudo de caso colocando como contraste os problemas de BGCs órfãos observados no capítulo 1. Uma abordagem com a técnica OSMAC e *in sílico* (mineração e genômica comparativa) de duas cepas de bactérias termófilas, isoladas do bioma da Caatinga, sendo um espécime do gênero *Anoxybacillus* e a outra do gênero *Parageobacillus.* Os dados de metabolômica ainda estão sendo gerados mas espera-se encontrar moléculas relacionadas aos BGCs descritos e que ilustrem a atividade microbiana observada na análise de triagem. Tendo a autora desta dissertação efetuado toda a base teórica, aplicação das ferramentas, a análise dos dados encontrados, cultivo das cepas, extração dos metabólitos e aplicação de uma triagem de atividade de inibição antimicrobiana.

Após o manuscrito estão organizados o material suplementar:

- Imagens adicionais

DISCUSSÃO GERAL

A dinâmica ambiental da Terra, ao longo de sua evolução, oportunizou a origem de microrganismos aptos a colonizar ambientes outrora consideradas incompatíveis com a vida. Extremófilos não constituem adaptações simplistas, mas sim manifestações de uma notável plasticidade evolutiva, refletida em genomas compactos e metabolicamente engenhosos. Reduzir seu potencial biotecnológico apenas às aplicações enzimáticas, portanto, constitui uma visão limitada diante da complexidade desses sistemas biológicos. Mais do que portadores de enzimas de interesse, concentram repertórios genéticos capazes de originar um leque diversificado de metabólitos secundários que aguardam silenciosamente para serem descobertos.

São inegáveis os avanços nas ferramentas de análise *in silico* de estruturas gênicas, como os BGCs. Contudo, ainda é necessária cautela e curadoria criteriosa dos dados. Ao longo do desenvolvimento do Capítulo 1, foram observados diversos falsos positivos no antiSMASH ao estimar o grau de similaridade dos BGCs em relação às regiões-alvo analisadas. Diante disso, tornou-se necessária uma avaliação mais profunda, incluindo curadoria manual dos resultados, além do emprego de análises de sintenia e filogenia dos conjuntos gênicos. Esses problemas de detecção de BGCs são, inclusive, discutidos pelos desenvolvedores da ferramenta, que reforçam as boas práticas de coleta e interpretação de dados. Mesmo com essas limitações, o antiSMASH continua sendo a ferramenta mais acurada e indicada para usos em conjunto de dados maiores e gerais, enquanto em análises mais restritas podem ser aplicadas ferramentas complementares, como o BAGEL4.

A análise taxonômica apresentada no Capítulo 1 destacou de forma significativa a notável biodiversidade e a capacidade adaptativa da família *Bacillaceae*. As cepas halofílicas foram as extremófilas mais recorrentes, enquanto representantes acidófilos e radioresistentes foram pouco identificados. Conforme observado por Harirchi e colaboradores (2022), a família *Bacillaceae* pode ser considerada um verdadeiro reservatório de poliextremófilos, sendo os termófilos o perfil mais prevalente, geralmente acompanhado por características como halofilia e alcalifilia. Esse padrão reflete a diversidade de ambientes em que tais microrganismos são encontrados, variando desde ecossistemas naturais, como a Caatinga, até ambientes antropogênicos e industriais, incluindo instalações nucleares.

Apesar de apresentarem genomas mais compactos e menor capacidade de abrigar BGCs em comparação a outros táxons já consolidados, como *Streptomyces* e Actinobacteria, a análise do Capítulo 1 revelou uma marcada seletividade quanto à presença ou ausência de determinados BGCs. Grande parte desses agrupamentos, assim como outras regiões genômicas, está sob constante pressão seletiva quanto aos genes que podem ou não ser mantidos no genoma, uma característica esperada da arquitetura genômica procariótica, conforme exemplificado por Sela *et al.* (2016). Esse padrão não limita o uso de *Bacillaceae* em bioprospecção; pelo contrário, reforça a necessidade de abordagens planejadas e direcionadas, como demonstrado no Capítulo 2, por meio da combinação entre mineração genômica e estratégias como OSMAC.

Alguns BGCs, como os de RiPPs e terpenos, foram frequentes em organismos termófilos, enquanto a categoria "other" ocorreu com maior destaque em halófilos, representada principalmente pela ectoína, molécula essencial para a sobrevivência em ambientes de alta salinidade (Chen *et al.,* 2024). Inicialmente, esperava-se uma distribuição mais distintiva dos BGCs entre as diferentes categorias de extremófilos; entretanto, constatou-se que essa distribuição está fortemente correlacionada à filogenia. Genes associados, por exemplo, à produção de compostos do grupo geobacillin foram detectados apenas em termófilos filogeneticamente próximos a *Geobacillus*, sugerindo uma distribuição restrita a esse grupo. Esses resultados reforçam que, dependendo do tipo de molécula a ser explorada, é essencial considerar o ambiente de origem do microrganismo no planejamento da bioprospecção, de modo a garantir que as condições laboratoriais reflitam, ao menos parcialmente, os sinais ambientais que regulam a expressão desses BGCs. Ainda assim, tais achados indicam que há muito a ser investigado antes que se alcance um consenso sobre a real distribuição de compostos supostamente restritos a determinados perfis extremofílicos.

Quanto à estrutura e à composição dos BGCs, muitos apresentam indícios de regulação ambientalmente responsiva, sendo possivelmente ativados apenas sob condições específicas de estresse. Esse perfil se aproxima do conceito de **"**BGC sentinela**"**: agrupamentos genéticos que permanecem latentes, mas são rapidamente induzidos por sinais externos críticos, funcionando como um "sistema de prontidão" adaptativo. Estratégias semelhantes são observadas em outros táxons. Em fungos, por exemplo, policetídeos do tipo III (Type III PKS) estão frequentemente associados a funções protetoras, como pigmentação e resistência à radiação ou oxidação; sua deleção resulta em fenótipos mais sensíveis

(Navarro-Muñoz e Collemare, 2020; Lim *et al*., 2021), sendo estruturas-chave para a adaptação de certas espécies (Zeng *et al*., 2018). Embora menos caracterizada em bactérias, a presença de PKS tipo III próximas a genes de resposta ao estresse, como chaperonas, transportadores de metais, genes antioxidantes e reguladores, sugere um papel análogo nas extremófilas da família *Bacillaceae*. Em várias linhagens, observou-se a conservação dessa organização genômica, refletindo um mecanismo evolutivamente selecionado para integrar a biossíntese de compostos fenólicos ou aromáticos protetores. Nesse contexto, BGCs responsáveis pela biossíntese de sideróforos representam outro exemplo de BGC sentinela: normalmente permanecem latentes, mas são rapidamente ativados em condições de deficiência de ferro, fornecendo uma vantagem adaptativa crítica para sobrevivência e colonização em ambientes competitivos.

Para além do potencial de isolamento de moléculas bioativas, a caracterização de BGCs em *Bacillaceae* constitui um recurso de alto valor, especialmente considerando o histórico desse grupo como fonte de enzimas de interesse industrial. Diversos estudos exploraram a construção de consórcios e coquetéis bacterianos voltados a processos de degradação mais eficientes e específicos (Ebadi *et al*., 2021; Shao *et al*., 2022). No entanto, a elaboração desses consórcios exige planejamento criterioso, uma vez que produtos de BGCs podem modular interações microbianas, interferindo no *quorum sensing* e promovendo comportamentos antagônicos, geralmente emergentes em contextos de competição por recursos (Abisado, 2018). Esse antagonismo possivelmente corresponde à interação observada entre os metabólitos produzidos pelas cepas de *Anoxybacillus* e *Parageobacillus* frente ao isolado de *B. subtilis*. Tal padrão é coerente com observações prévias em *Bacillus*, nas quais maior distância filogenética frequentemente se correlaciona com intensificação das respostas antagônicas (Xia *et al.*, 2022). Além disso, os resultados frente a *Bacillus*, embora preliminares, reforçam a necessidade de estudos adicionais, visto que alguns autores sugerem o uso de moléculas alternativas com estabilidade térmica como agentes antimicrobianos naturais capazes de reduzir a contaminação em alimentos durante processos industriais, como observado com a geobacilina (Garg *et al*., 2012). Essas moléculas representam alternativas mais seguras e sustentáveis aos conservantes químicos tradicionais (Xin *et al*., 2015; Sem e Sett, 2023), sendo particularmente relevantes contra contaminações provocadas por Gram-positivos, como *B. cereus* e *Listeria monocytogenes*.

Adicionalmente, um achado relevante conecta os resultados dos dois capítulos desta dissertação. No Capítulo 1, foi identificada, em diversas cepas extremófilas da família, a presença de um agrupamento gênico semelhante ao da fengicina, mas com arquitetura incompleta, caracterizada pela ausência dos módulos NRPS canônicos e pela conservação do cassete *yngE–J*. No Capítulo 2, observou-se nas cepas analisadas um arranjo comparável idêntico, e que apesar de minimalista, pode estar associado à atividade antifúngica registrada contra *Candida albicans*. A obtenção de dados metabolômicos será fundamental para esclarecer se esses clusters "reduzidos" apresentam vias biossintéticas ativas, permitindo elucidar seu papel na produção de metabólitos bioativos e aprofundar a compreensão sobre possíveis adaptações metabólicas dentro da família.

Por fim, embora a abordagem OSMAC seja tradicionalmente valorizada por expandir o repertório químico de microrganismos, nossos resultados mostram que ela também permite investigar a plasticidade biológica e fisiológica de espécies-chave. Pequenas variações de temperatura (± 5 °C) durante o cultivo das cepas estudadas foram suficientes para modular a expressão de BGCs, e que muito possivelmente atuam na comunicação e organização comunitária. Considerando o papel desses microrganismos na ciclagem de nutrientes e na estabilidade das microbiotas ambientais, mudanças na produção de metabólitos secundários podem ter impactos ecológicos significativos. Se extremófilos altamente adaptados respondem a variações tão sutis, os efeitos sobre microrganismos mesófilos podem ser ainda mais pronunciados, reforçando a urgência em compreender essas dinâmicas frente às mudanças ambientais e ao aquecimento global.

3. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Em síntese, as análises realizadas evidenciam:

I) Organismos extremófilos permanecem uma fonte excepcional para inovação e exploração biotecnológica, especialmente na área de genes biossintéticos, mostrando potencial para descobertas significativas;

II) É necessário cautela ao classificar metabólitos secundários como não essenciais à vida, pois, no contexto de extremófilos, a visão tradicional não se aplica. Moléculas-chave, como ectoína em halófilos e terpenos em organismos expostos à radiação e altas temperaturas, são cruciais para sua adaptação e sobrevivência;

III) A família *Bacillaceae* evidencia uma grande diversidade de extremófilos, incluindo poliextremófilos, e demonstra caráter cosmopolita, desafiando a percepção tradicional de que extremófilos estariam restritos a ambientes isolados e remotos;

IV) Muitos clusters gênicos órfãos parecem ter potencial para a produção de compostos bioativos, dada a presença de genes-chave envolvidos na modulação e organização de moléculas complexas. Contudo, como destacado no Capítulo 1, ainda há muito a ser explorado, não apenas em *Bacillaceae*, mas em outros grupos de extremófilos;

V) Os resultados de metabolômica do Capítulo 2, ainda em andamento, poderão esclarecer o caso observado dos clusters fengycin-like do Capítulo 1, especialmente em relação à atividade antifúngica contra *Candida albicans*, assim como elucidar clusters órfãos e únicos observados nas cepas PC2 e PC5.

VI) A preservação de biomas como a Caatinga torna-se ainda mais urgente: além de berços de biodiversidade singular, funcionam como laboratórios naturais para o estudo de extremófilos no Brasil. A perda desses ecossistemas não representa apenas um empobrecimento ambiental, mas também a eliminação de recursos genéticos e metabólicos, e, com eles, a oportunidade de revisitar histórias evolutivas que aguardam silenciosamente para serem examinadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTA, T. d. S. et al. Secondary metabolites. *Chromatography and its applications*. Slavka Krautzeka, Croatia: IntechOpen, v. 1, p. 131–164, 2012.

AGRAWAL, S. et al. Bacterial decolourization, degradation and detoxification of azo dyes: an eco-friendly approach. In: ARORA, N. K.; AGNIHOTRI, S.; MISHRA, J. (Ed.). *Microbial Applications*, Vol. 1: Bioremediation and Bioenergy. [S.l.]: Springer, 2017. p. 91–124.

ALANJARY, M. et al. The antibiotic resistant target seeker (ARTS), an exploration engine for antibiotic cluster prioritization and novel drug target discovery. *Nucleic Acids Research*, v. 45, n. W1, p. W42–W48, 2017.

ALIYU, H. et al. Phylogenomic re-assessment of the thermophilic genus *Geobacillus*. *Systematic and Applied Microbiology*, v. 39, n. 8, p. 527–533, 2016.

ANGELAKIS, G. N. et al. Extremophiles and extremophilic behaviour, new insights and perspectives. *Life*, v. 14, n. 11, p. 1425, 2024.

ANGELIN, J.; KAVITHA, M. Molecular mechanisms behind the cold and hot adaptation in extremozymes. In: ARORA, N. K.; AGNIHOTRI, S.; MISHRA, J. (Ed.). *Extremozymes and Their Industrial Applications*. Academic Press, 2022. p. 141–176. ISBN 978-0-323-90274-8.

ARUNA, V. et al. Proteases: an overview on its recent industrial developments and current scenario in the revolution of biocatalysis. *Materials Today: Proceedings*, v. 92, p. 565–573, 2023.

BALTZ, R. H. Genome mining for drug discovery: progress at the front end. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, Oxford University Press, v. 48, n. 9-10, p. kuab044, 2021.

BARONA-GÓMEZ, F.; CHEVRETTE, M. G.; HOSKISSON, P. A. On the evolution of natural product biosynthesis. In: *Advances in Microbial Physiology*. [S.l.]: Elsevier, 2023. v. 83, p. 309–349.

BAUMAN, K. D. et al. Genome mining methods to discover bioactive natural products. *Natural Product Reports*, v. 38, n. 11, p. 2100–2129, 2021.

BECK, C.; GARZÓN, J. F. G.; WEBER, T. Recent advances in re-engineering modular PKS and NRPS assembly lines. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, v. 25, n. 6, p. 886–894, 2020.

BECKER, J.; WITTMANN, C. Microbial production of extremolytes—high-value active ingredients for nutrition, health care, and well-being. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 65, p. 118–128, 2020.

BENNETT, J.; BENTLEY, R. What's in a name?—microbial secondary metabolism. In: *Advances in Applied Microbiology*. [S.l.]: Elsevier, 1989. v. 34, p. 1–28.

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.

BODE, H. B.; BETHE, B.; HÖFS, R.; ZEECK, A. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. *ChemBioChem*, v. 3, n. 7, p. 619–627, 2002.

BUSCHI, E. et al. Resistance to freezing conditions of endemic Antarctic polychaetes is enhanced by cryoprotective proteins produced by their microbiome. *Science Advances*, American Association for the Advancement of Science, v. 10, n. 25, p. eadk9117, 2024.

CHAKRABORTY, K. et al. Bacillibactin class of siderophore antibiotics from a marine symbiotic Bacillus as promising antibacterial agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Springer, v. 106, n. 1, p. 329–340, 2022.

CHEN, J. et al. Biotechnological production of ectoine: current status and prospects. *Folia Microbiologica*, Springer, v. 69, n. 2, p. 247–258, 2024.

COVINGTON, B. C.; XU, F.; SEYEDSAYAMDOST, M. R. A natural product chemist's guide to unlocking silent biosynthetic gene clusters. *Annual Review of Biochemistry*, Annual Reviews, v. 90, n. 1, p. 763–788, 2021.

DASSARMA, S.; DASSARMA, P. Halophiles. [S.l.]: Els, Wiley Online Library, 2012.

DOPSON, M.; OKIBE, N. Biomining microorganisms: diversity and modus operandi. In: *Biomining technologies: extracting and recovering metals from ores and wastes*. [S.l.]: Springer, 2022. p. 89–110.

DUARTE, R. T. et al. Brazilian research on extremophiles in the context of astrobiology. *International Journal of Astrobiology*, Cambridge University Press, v. 11, n. 4, p. 325–333, 2012.

EBADI, A. et al. New strategy to increase oil biodegradation efficiency by selecting isolates with diverse functionality and no antagonistic interactions for bacterial consortia. Journal of Environmental Chemical Engineering, Elsevier, v. 9, n. 5, p. 106315, 2021

ELSHAFIE, H. S.; CAMELE, I.; MOHAMED, A. A. A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolite-based-plant origin. *International Journal of Molecular Sciences*, MDPI, v. 24, n. 4, p. 3266, 2023.

FAJARDO-CAVAZOS, P.; MAUGHAN, H.; NICHOLSON, W. L. Evolution in the Bacillaceae. In: *The Bacterial Spore: From Molecules to Systems*. Wiley Online Library, 2016. p. 21–58.

FERNÁNDEZ, Z. H. et al. Pernambuco caatinga: relevance of soil chemical composition for biodiversity conservation. *Chemistry and Ecology*, Taylor & Francis, v. 38, n. 2, p. 108–121, 2022.

FERREIRA, R. R.; CRUZ, J. S.; HAMERSKI, L. Estratégia osmac: Um método acessível para a descoberta de novas substâncias microbianas. Revista Virtual de Química, v. 14, n. 5, 2022.

FISCHBACH, M. A.; WALSH, C. T.; CLARDY, J. The evolution of gene collectives: How natural selection drives chemical innovation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, National Academy of Sciences, v. 105, n. 12, p. 4601–4608, 2008.

FREIRE, N et al. Atlas das caatingas: o único bioma exclusivamente brasileiro. *Fundação Joaquim Nabuco*, Massangana, 2018.

FUJINAMI, S.; FUJISAWA, M. Industrial applications of alkaliphiles and their enzymes–past, present and future. *Environmental Technology*, Taylor & Francis, v. 31, n. 8-9, p. 845–856, 2010.

FUSCO, G. et al. The role of structural dynamics in the thermal adaptation of hyperthermophilic enzymes. *Frontiers in Molecular Biosciences*, Frontiers Media SA, v. 9, p. 981312, 2022.

GALPERIN, M. Y. et al. Conservation and evolution of the sporulation gene set in diverse members of the Firmicutes. *Journal of Bacteriology*, American Society for Microbiology, v. 204, n. 6, p. e00079–22, 2022.

GARG, N. et al. Lantibiotics from *Geobacillus thermodenitrificans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, National Academy of Sciences, v. 109, n. 14, p. 5241–5246, 2012.

GOH, K. M. et al. Recent discoveries and applications of *Anoxybacillus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Springer, v. 97, n. 4, p. 1475–1488, 2013.

GOLDENBERG-BARBOSA, R. et al. A review on antarctic polyextremophiles and their survival strategies. *Polar Biology*, Springer, v. 48, n. 2, p. 39, 2025.

HARIRCHI, S. et al. Bacillales: from taxonomy to biotechnological and industrial perspectives. *Microorganisms*, MDPI, v. 10, n. 12, p. 2355, 2022.

HELFRICH, E. J. et al. Bacterial terpene biosynthesis: challenges and opportunities for pathway engineering. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, Beilstein-Institut, v. 15, n. 1, p. 2889–2906, 2019.

HUNTER, J. D. Matplotlib: a 2D graphics environment. *Computing in Science & Engineering*, IEEE COMPUTER SOC, v. 9, n. 3, p. 90–95, 2007.

JORDAHL, K. et al. *geopandas/geopandas*: v0.8.1. Zenodo, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.5281/zenodo.3946761.

JÚNIOR, G. V. L. et al. Potential of semiarid soil from Caatinga biome as a novel source for mining lignocellulose-degrading enzymes. *FEMS Microbiology Ecology*, Oxford University Press, v. 93, n. 2, p. fiw248, 2017.

KOUL, B.; CHAUDHARY, R.; TAAK, P. Extremophilic microbes and their application in bioremediation of environmental contaminants. In: *Microbe Mediated Remediation of Environmental Contaminants*. [S.l.]: Elsevier, 2021. p. 115–128.

LEE, J.; SANDS, Z. A.; BIGGIN, P. C. A numbering system for MFS transporter proteins. *Frontiers in Molecular Biosciences*, Frontiers Media SA, v. 3, p. 21, 2016.

LI, Z.; LI, X.; XIA, H. Roles of LuxR-family regulators in the biosynthesis of secondary metabolites in actinobacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Springer, v. 38, n. 12, p. 250, 2022.

LIM, S. et al. Identification of the pigment and its role in UV resistance in *Paecilomyces variotii*, a Chernobyl isolate, using genetic manipulation strategies. *Fungal Genetics and Biology*, Elsevier, v. 152, p. 103567, 2021.

LIU, X.; KOKARE, C. Microbial enzymes of use in industry. In: *Biotechnology of Microbial Enzymes*. [S.l.]: Elsevier, 2023. p. 405–444.

MAITI, A.; ERIMBAN, S.; DASCHAKRABORTY, S. Extreme makeover: the incredible cell membrane adaptations of extremophiles to harsh environments. *Chemical Communications*, Royal Society of Chemistry, v. 60, n. 75, p. 10280–10294, 2024.

MANDIC-MULEC, I.; STEFANIC, P.; ELSAS, J. D. van. Ecology of Bacillaceae. In: *The Bacterial Spore: From Molecules to Systems*. Wiley Online Library, p. 59–85, 2016.

MARZBAN, G.; TESEI, D. The extremophiles: adaptation mechanisms and biotechnological applications. *Biology*, MDPI, v. 14, n. 4, p. 412, 2025.

MARTÍNEZ-ESPINOSA, R. M. Microorganisms and their metabolic capabilities in the context of the biogeochemical nitrogen cycle at extreme environments. International journal of molecular sciences, MDPI, v. 21, n. 12, p. 4228, 2020.

MENDEZ-PEREZ, D.; HERMAN, N. A.; PFLEGER, B. F. A desaturase gene involved in the formation of 1,14-nonadecadiene in *Synechococcus* sp. strain PCC 7002. *Applied and Environmental Microbiology*, American Society for Microbiology, v. 80, n. 19, p. 6073–6079, 2014.

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

NAJAR, I. N.; THAKUR, N. A systematic review of the genera *Geobacillus* and *Parageobacillus*: their evolution, current taxonomic status and major applications. *Microbiology*, Microbiology Society, v. 166, n. 9, p. 800–816, 2020.

NAVARRO-MUÑOZ, J. C.; COLLEMARE, J. Evolutionary histories of type III polyketide synthases in fungi. *Frontiers in Microbiology*, Frontiers Media SA, v. 10, p. 3018, 2020.

PAN, R. et al. Exploring structural diversity of microbe secondary metabolites using OSMAC strategy: a literature review. *Frontiers in Microbiology*, Frontiers Media SA, v. 10, p. 294, 2019.

PAREDES-BARRADA, M. et al. *Parageobacillus thermoglucosidasius* as an emerging thermophilic cell factory. *Metabolic Engineering*, Elsevier, v. 83, p. 39–51, 2024.

PATHANIA, S. et al. Adaptation to cold environment: the survival strategy of psychrophiles. In: *Survival Strategies in Cold-Adapted Microorganisms*. [S.l.]: Springer, 2021. p. 87–111.

PATI, S. et al. Adaptation strategies of thermophilic microbes. In: *Bacterial Survival in the Hostile Environment*. [S.l.]: Elsevier, 2023. p. 231–249.

PAUL, J. S. et al. Aspects and recent trends in microbial α-amylase: a review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Springer, v. 193, n. 8, p. 2649–2698, 2021.

PRADO, D. E. et al. As Caatingas da América do Sul. *Ecologia e Conservação da Caatinga*, v. 2, n. 1, p. 3–74, 2003.

PREISS, L. et al. Alkaliphilic bacteria with impact on industrial applications, concepts of early life forms, and bioenergetics of ATP synthesis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, Frontiers Media SA, v. 3, p. 75, 2015.

PUT, H. et al. *Bacillus subtilis* as a host for natural product discovery and engineering of biosynthetic gene clusters. *Natural Product Reports*, Royal Society of Chemistry, v. 41, n. 7, p. 1113–1151, 2024.

QUEIROZ, L. P. de et al. Diversity and evolution of flowering plants of the Caatinga domain. In: *Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America*. [S.l.]: Springer, 2017. p. 23–63.

REN, H.; WANG, B.; ZHAO, H. Breaking the silence: new strategies for discovering novel natural products. *Current Opinion in Biotechnology*, Elsevier, v. 48, p. 21–27, 2017.

RODRIGUES, D. F. et al. Characterization of *Exiguobacterium* isolates from the Siberian permafrost. Description of *Exiguobacterium sibiricum* sp. nov. *Extremophiles*, Springer, v. 10, n. 4, p. 285–294, 2006.

RUTLEDGE, P. J.; CHALLIS, G. L. Discovery of microbial natural products by activation of silent biosynthetic gene clusters. *Nature Reviews Microbiology*, Nature Publishing Group UK London, v. 13, n. 8, p. 509–523, 2015.

SAJJAD, W. et al. Pigment production by cold-adapted bacteria and fungi: colorful tale of cryosphere with wide range applications. *Extremophiles*, Springer, v. 24, n. 4, p. 447–473, 2020.

SALAS-BRUGGINK, D. I. et al. Extremozymes: Challenges and opportunities on the road to novel enzymes production. *Process Biochemistry*, Elsevier, v. 143, p. 323–336, 2024.

SANTOMARTINO, R.; ZEA, L.; COCKELL, C. S. The smallest space miners: principles of space biomining. *Extremophiles*, Springer, v. 26, n. 1, p. 7, 2022.

SARANGI, A.; THATOI, H. Xylanase as a promising biocatalyst: A review on its production, purification and biotechnological applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, Springer, p. 1–16, 2024.

SATAPATHY, S. S.; DUTTA, M.; RAY, S. K. Higher trna diversity in thermophilic bacteria: a possible adaptation to growth at high temperature. Microbiological research, Elsevier, v. 165, n. 8, p. 609–616, 2010.

SATAPATHY, S. S.; DUTTA, M.; RAY, S. K. Variable correlation of genome gc% with transfer rna number as well as with transfer rna diversity among bacterial groups: α-proteobacteria and tenericutes exhibit strong positive correlation. Microbiological Research, Elsevier, v. 165, n. 3, p. 232–242, 2010.

SATYANARAYANA, T.; LITTLECHILD, J.; KAWARABAYASI, Y. Thermophilic microbes in environmental and industrial biotechnology. In: *Biotechnol. Thermophiles*. Springer, v. 3, p. 1–954, 2013.

SECK, E. H. et al. Halophilic & halotolerant prokaryotes in humans. *Future Microbiology*, Taylor & Francis, v. 13, n. 7, p. 799–812, 2018.

SELA, I.; WOLF, Y. I.; KOONIN, E. V. Theory of prokaryotic genome evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, National Academy of Sciences, v. 113, n. 41, p. 11399–11407, 2016.

SEN, S.; SETT, A. Lantibiotics and its role in dairy product preservation. In: *Lantibiotics as Alternative Therapeutics*. [S.l.]: Elsevier, 2023. p. 169–190.

SHAO, J. et al. Annulment of bacterial antagonism improves plant beneficial activity of a *Bacillus velezensis* consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, American Society for Microbiology, v. 88, n. 8, p. e00240–22, 2022.

SHARMA, S. et al. Thermostable enzymes for industrial biotechnology. In: *Advances in Enzyme Technology*. [S.l.]: Elsevier, 2019. p. 469–495.

SHEN, L. et al. Genomic basis of environmental adaptation in the widespread poly-extremophilic *Exiguobacterium* group. *The ISME Journal*, Oxford University Press, v. 18, n. 1, p. wrad020, 2024.

SILVA, I.; COELHO, L.; SILVA, L. Biotechnological potential of the Brazilian Caatinga biome. *Advances in Research*, v. 5, n. 1, p. 1–17, 2015.

SOLARI, A.; SILVA, S. F. S. M. de. Sepultamentos secundários com manipulações intencionais no Brasil: um estudo de caso no sítio arqueológico Pedra do Cachorro, Buíque, Pernambuco, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas*, SciELO Brasil, v. 12, n. 1, p. 135–155, 2017.

SOWMIYA, K. et al. Biofilm-forming capability of *Bacillus* and its related genera. In: *Applications of Bacillus and Bacillus Derived Genera in Agriculture, Biotechnology and Beyond*. Springer, p. 71–89, 2024.

STAN-LOTTER, H. Physicochemical boundaries of life. In: *Adaption of Microbial Life to Environmental Extremes: Novel Research Results and Application*. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 1–21. ISBN 978-3-319-48327-6.

STOLZ, A. Extremophile Mikroorganismen. [S.l.]: Springer, 2017.

SYSOEV, M. et al. Bioprospecting of novel extremozymes from prokaryotes—the advent of culture-independent methods. *Frontiers in Microbiology*, Frontiers Media SA, v. 12, p. 630013, 2021.

TERLOUW, B. R. et al. MIBiG 3.0: a community-driven effort to annotate experimentally validated biosynthetic gene clusters. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, v. 51, n. D1, p. D603–D610, 2023.

THEODOULOU, F. L.; KERR, I. D. ABC transporter research: going strong 40 years on. *Biochemical Society Transactions*, Portland Press Ltd., v. 43, n. 5, p. 1033–1040, 2015.

TINDALL, B. J. When treated as heterotypic synonyms the names Caryophanaceae Peshkoff 1939 (approved lists 1980) and Caryophanales Peshkoff 1939 (approved lists 1980) have priority over the names Planococcaceae Krasilapos;nikov 1949 (approved lists 1980) and Bacillales Prévot 1953 (approved lists 1980) and Bacillales Prévot 1953 (approved lists 1980), respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Microbiology Society, v. 69, n. 8, p. 2187–2195, 2019. ISSN 1466-5034.

TIZAZU, S. et al. Microbial diversity, transformation and toxicity of azo dye biodegradation using thermo-alkaliphilic microbial consortia. *Heliyon*, Elsevier, v. 9, n. 6, 2023.

VELLOSO, A. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; PAREYN, F. G. C. Ecorregiões propostas para o bioma Caatinga: resultado do Seminário de Planejamento Ecorregional da Caatinga. Recife: Associação Plantas do Nordeste; Instituto de Conservação Ambiental; The Nature Conservancy, 2002. 76 p.

WADHAWAN, G.; KALRA, A.; GUPTA, A. Potential of halophiles and alkaliphiles in bioremediation of azo dyes-laden textile wastewater: a review. *3 Biotech*, Springer, v. 14, n. 9, p. 194, 2024.

WALSH, C. T. Insights into the chemical logic and enzymatic machinery of NRPS assembly lines. *Natural Product Reports*, Royal Society of Chemistry, v. 33, n. 2, p. 127–135, 2016.

WALSH, C. T. Tailoring enzyme strategies and functional groups in biosynthetic pathways. *Natural Product Reports*, Royal Society of Chemistry, v. 40, n. 2, p. 326–386, 2023.

XIA, L. et al. Biosynthetic gene cluster profiling predicts the positive association between antagonism and phylogeny in *Bacillus*. *Nature Communications*, Nature Publishing Group UK London, v. 13, n. 1, p. 1023, 2022.

XIN, B. et al. Three novel lantibiotics, Ticins A1, A3, and A4, have extremely stable properties and are promising food biopreservatives. *Applied and Environmental Microbiology*, American Society for Microbiology, v. 81, n. 20, p. 6964–6972, 2015.

YANAI, K.; MURAKAMI, T.; BIBB, M. Amplification of the entire kanamycin biosynthetic gene cluster during empirical strain improvement of *Streptomyces kanamyceticus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, National Academy of Sciences, v. 103, n. 25, p. 9661–9666, 2006.

ZDOUC, M. M.; HOOFT, J. J. van der; MEDEMA, M. H. Metabolome-guided genome mining of RiPP natural products. *Trends in Pharmacological Sciences*, Elsevier, v. 44, n. 8, p. 532–541, 2023.

ZENG, G. et al. Duplication of a PKS gene cluster and subsequent functional diversification facilitate environmental adaptation in *Metarhizium* species. *PLoS Genetics*, Public Library of Science San Francisco, CA USA, v. 14, n. 6, p. e1007472, 2018.

5. CURRICULUM VITAE RESUMIDO

da Rosa, D. F.

1. Dados pessoais

Nome: completo: Deisiane Fernanda da Rosa

Endereço profissional: Laboratório de Biofilmes e Diversidade Microbiana (LABDIM), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970 Porto Alegre, Brasil

2. Formação acadêmica:

Mestrado em Biologia Celular e Molecular (2023 - 2025) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

Bacharelado em Ciências Biológicas (2017 – 2023) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

Bacharelado em Física Computacional (2014 – 2016) – Interrompido - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

Educação Secundária – Ensino normal (técnico Magistério) - Instituto Estadual de Educação Sapiranga (IEES), Brasil

3. Estágios

Iniciação científica – 06/2019 – 05/2023 - LABDIM – Centro de Biotecnologia, UFRGS – Prof. Dr. Alexandre José Macedo - Estudo de enzimas de bactérias termofílas, microscopia e filogenia/taxonomia e Bioinformática.

Estágio curricular (final de curso) – 09/2022 – 12/2022 – Laboratório de Microbiologia Molecular - Universidade FEEVALE, – Prof. Dra. Juliane Deise Fleck e Fernando Spilki - Extração de DNA/RNA viral de amostras clínicas, sequenciamento plataforma Ilumina Miseq (desde biblioteca até sequenciamento) e genômica.

Iniciação científica – 12/2017 - Departamento de Botânica, Laboratório de Micologia – UFRGS - Prof.ª Dra. Rosa Mara Borges da Silveira - Cultivo de fungos macroscópicos, extração de compostos orgânicos, microscopia e estudos filogenéticos e taxônomicos.

4. EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL OU DIDÁTICA ANTERIOR

Professora voluntária Biologia (PEAC – UFRGS) - 2023- 2025 – Curso preparatório para vestibulares e ENEM.

Estágio docente - 2008 -2012. Prefeitura municipal de Campo Bom/CIEE – Ensino de educação infantil e educação básica.

5. ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS

RIBEIRO, N. S., da ROSA, D. F., XAVIER, M. A., dos REIS, S. V., BEYS-DA-SILVA, W. O., SANTI, L., BIZARRO, C. V., DALBERTO, P. F., BASSO, L. A., MACEDO, A. J. Unveiling antibiofilm potential: proteins from *Priestia* sp. targeting *Staphylococcus aureus* biofilm formation. **Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, 117, 78, 2024

da ROSA, D. F., MACEDO, A. J. The genus *Anoxybacillus*: an emerging and versatile source of valuable biotechnological products. **Extremophiles**, 27, 22, 2023

VARGAS RIGO, G., GOMES CARDOSO, F., BONGIORNI GALEGO, G., da ROSA, D. F**.**, dos SANTOS, A. L., & TASCA T. Metallopeptidases as key virulence attributes of clinically relevant protozoa: New discoveries, perspectives, and frontiers of knowledge. **Current Protein and Peptide Science**, *24*(4), 307-328, 2023

6. RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

AGUELO, S. O., RESPRETO, A. V., ABURJAILE, F. F., MACEDO, A. J., da ROSA, D. F., JJUNCA, H.. Biosynthetic Gene Cluster (BGC) associated with metallophore synthesis in *Pseudomonas* genomes isolated from lead-contaminated waters. em: 21º Congresso Brasileiro de Bioinformática: X Meeting, 2025.

VIEIRA, J. E. A., STEDILE, B., MARIOT, C. S., da ROSA, D. F., SILVA, D. P. D., GODATARDI, J., Willig, J. B., Harttfeil, M. H. B., Macedo, A. J., Pilger, D. A. (2024). Cytotoxic effect of secondary metabolites from marine and endophytic fungi in chronic myeloid leukemia cell line. In: XVIII Simpósio de Oncologia, Rio de Janeiro, Brazil, 2024

GARCIA, V. O., da ROSA, D. F., ROSSATTO, F. C. P., ZIMMER, K. R., GNOATTO, S. C. B., SILVEIRA, R. M. B. Avaliação da atividade anti-biofilme de extratos etanólicos de Amauroderma schomburgkii frente a *Staphylococcus epidermidis*. In: IX Congresso Brasileiro de Micologia -CBMy, 2019.

Da ROSA, D. F., GARCIA, V. O., GNOATTO, S. C. B., TASCA, T., SIILVEIRA, B. P., SILVEIRA, R. M. B. Cytotoxic effect of *Ganoderma* sp. extracts on *Trichomonas vaginalis*. In: 7th Brazilian Conference on Natural Products / XXXIII RESEM, Rio de Janeiro, Brazil. 2019.