

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS FACULDADE DE BIOTECNOLOGIA CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

#### DAVI JOSUÉ MARCON

## CARACTERIZAÇÃO GENOMICA DE MICROORGANISMOS ISOLADOS DO SOLO DO PARQUE DO UTINGA - PARÁ

Belém 2022



# UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS FACULDADE DE BIOTECNOLOGIA CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

#### DAVI JOSUÉ MARCON

## CARACTERIZAÇÃO GENOMICA DE MICROORGANISMOS ISOLADOS DO SOLO DO PARQUE DO UTINGA - PARÁ

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Azevedo Baraúna

Belém 2022

Marcon, Davi

CARACTERIZAÇÃO GENOMICA DE MICROORGANISMOS ISOLADOS DO SOLO DO PARQUE DO UTINGA - PARÁ/ DAVI JOSUÉ MARCON. – Belém, 2022. 29 p. : il. (algumas color.) ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Azevedo Baraúna

Monografia – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA, 2022.

1. Microrganismos. 2. Potêncial biotecnológico. 3. Isolamento. 4. Identificação. I. Título.

## **ERRATA**

Elemento opcional da ABNT (2011, 4.2.1.2). Exemplo:

Folha	Linha	Onde se lê	Leia-se
1	10	auto-conclavo	autoconclavo

#### DAVI JOSUÉ MARCON

## CARACTERIZAÇÃO GENOMICA DE MICROORGANISMOS ISOLADOS DO SOLO DO PARQUE DO UTINGA - PARÁ

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Data da Defesa: Conceito:

#### Banca Examinadora

**Prof. Dr. Rafael Azevedo Baraúna**Faculdade de Biotecnologia - UFPA
Orientador

**Prof. Dr. Agenor Valadares Santos**Faculdade de Biotecnologia - UFPA
Membro da Banca

Dr. Yan Corrêa Rodrigues

Universidade do Estado do Pará - UFPA Membro da Banca

> Belém 2022

Este trabalho é dedicado a todos aqueles que, de alguma forma abdicaram de algo e/ou a si mesmos pela Ciência.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradecimentos aos que contribuiram diretamente para o desenvolvimento desse trabalho: Aos desenvovedores, usuários e contribuintes ao projeto abnTEX2e ao LATEX,

Agradecimentos aos que contribuiram indiretamente ao trabalho e diretamente com minha formação:

"A consistência é contrária à natureza, contrária à vida. As únicas pessoas completamente consistentes são os mortos. (Aldous Huxley - Do What You Will) **RESUMO** 

Segundo a ABNT, o resumo deve ressaltar o objetivo, o método, os resultados e as conclusões

do documento. A ordem e a extensão destes itens dependem do tipo de resumo (informativo

ou indicativo) e do tratamento que cada item recebe no documento original. O resumo deve ser

precedido da referência do documento, com exceção do resumo inserido no próprio documento.

(...) As palavras-chave devem figurar logo abaixo do resumo, antecedidas da expressão Palavras-

chave:, separadas entre si por ponto e finalizadas também por ponto.

Palavras-chave: latex. abntex. editoração de texto.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

## LISTA DE QUADROS

## LISTA DE TABELAS

## LISTA DE ALGORITMOS

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

abnTeX ABsurdas Normas para TeX

## LISTA DE SÍMBOLOS

- Γ Letra grega Gama
- Λ Lambda
- $\zeta$  Letra grega minúscula zeta
- ∈ Pertence

## **SUMÁRIO**

1	INTRODUÇÃO
1.1	Contexto
1.2	Justificativa
2	OBJETIVOS
2.1	Objetivo Geral
2.2	Objetivos Específicos
3	REFERENCIAIS TEÓRICOS 1
3.1	Microoganismos de Interesse Biotecnológico (MIB)
3.2	Actinomicetos
3.2.1	Streptomyces
3.2.2	Rhodococcus
3.2.3	Kitastospora
3.3	Bacillus
3.4	Metabolitos secundários e a descoberta de fármacos
3.5	Produção de substâncias antimicrobianas
3.6	Estudo in silico de MIB
4	METODOLOGIA 1
4.1	Seleção de amostras
4.2	Extração de DNA
4.3	Sequênciamento e análise genômica
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO
6	CONCLUSÃO
	REFERÊNCIAS 2
	APÊNDICES 23
	APÊNDICE A – QUISQUE LIBERO JUSTO 2
	APÊNDICE B – NULLAM ELEMENTUM URNA 2
	ANEXOS 20
	ANEXO A – MORBI ULTRICES RUTRUM LOREM 2
	ANEXO B - CRAS NON URNA SED
	ANEXO C – FUSCE FACILISIS LACINIA DUI

## 1 INTRODUÇÃO

#### 1.1 Contexto

Actinomicetos são um filo de microorganismos gram-positivos de alto conteúdo guanina e citosina que contém as classes: Acidimicrobiia, Actinobacteria, Coriobacteriia, Nitriliruptoria, Rubrobacteria, e Thermoleophilia(YADAV et al., 2018). Dentre suas principais caracteristicas podemos ressaltar a presença de micélios e a produção de hifas filamentosas (CHATER, 2016).

Actinobactérias foram uma grande fonte para o desenvolvimento de diversos compostos como:e segundo Genilloud (2017) continuam sendo uma fonte relevante para o isolamento de caracterização de compostos de interesse biotecnológicos, com o emprego de metodologias modernas de investigação podem continuar a fornecer substâncias de impacto mercadológico.

#### 1.2 Justificativa

Bactérias ambientais são interessantes alvos para a descoberta de compostos de relevância biotecnológica, especialmente como solução para os crescentes níveis de resistência a antimicrobianos encontrados em microorganismos patogênicos. O isolamento desses microorganismos, especialmente do ambiente amazônico, é um passo importante em busca de compostos de potencial farmacológico e industrial.

## **2 OBJETIVOS**

#### 2.1 Objetivo Geral

Determinar a produção de compostos antimicrobianos de actinomicetos provenientes do solo do parque do utinga

## 2.2 Objetivos Específicos

- 1. Identificar e caracterizar os organismos em nível de espécie
- 2. Determinar o perfil clonal e a distância filogenética entre os isolados
- 3. Categorizar os microorganismos quanto a produção de compostos bactericidas.

#### 3 REFERENCIAIS TEÓRICOS

- 3.1 Microoganismos de Interesse Biotecnológico (MIB)
- 3.2 Actinomicetos
- 3.2.1 Streptomyces
- 3.2.2 Rhodococcus
- 3.2.3 Kitastospora
- 3.3 Bacillus
- 3.4 Metabolitos secundários e a descoberta de fármacos
- 3.5 Produção de substâncias antimicrobianas
- 3.6 Estudo in silico de MIB

#### 4 METODOLOGIA

#### 4.1 Seleção de amostras

Foram selecionados 4 microorganismos de espécies diferentes do banco de amostras ambientais provenientes do parque estadual Utinga - Belém, PA gentilmente disponibilizadas pelo Centro de Gênomica e Biologia de Sistemas. Incluindo três Actinobacterias: *Kitasatospora sp.,Rhodococcus sp.* e *Streptomyces sp.* e uma bactéria do filo *Firmicutes: Brevibacillus brevis*. Essa amostras foram previamente identificadas utilizando sequênciamento do gene de RNA ribossomal 16s utilizando os primers (TODO) com o squenciador 3500(TODO).

#### 4.2 Extração de DNA

As amostras foram cultivadas em meio Tryptone Soy Broth (TSB) por 48 horas á 28 graus, e em seu DNA foi extraído utilizando o kit HiPureA Multi-sample DNA Purification Kit(HI-MEDIA) seguindo as orientações do fabricante. O DNA foi quantificado usando quantificador Quibit(TODO) e sua intigridade foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1% complementado com brometo de estídio 0.5%.

#### 4.3 Sequênciamento e análise genômica

As bibliotecas foram preparadas utilizando o protocolo do fabricante e sequênciadas no equipamento Ion GeneStudio S5 Plus (Thermo Fisher) Após o sequênciamento as amostras foram submetidas ao pipeline Bactopia, o qual filtrou as leituras, montou e anotou o genoma. Após isso, foram utilizadas as ferramentas do Bactopia para análise de resistência, genes patogênicos, genes de produção de compostos, clusters gênicos e elementos moveis. Foram utilizados os softwares GoFeat, BRIG e R para criação de figuras a partir dos dados gerados.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 6 CONCLUSÃO

#### REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: Informação e documentação — trabalhos acadêmicos — apresentação. Rio de Janeiro, 2005. 9 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: Informação e documentação — trabalhos acadêmicos — apresentação. Rio de Janeiro, 2011. 15 p. Substitui a Ref. ABNT (2005).

CHATER, K. F. Recent advances in understanding streptomyces. **F1000Research**, Faculty of 1000 Ltd, v. 5, 2016.

GENILLOUD, O. Actinomycetes: still a source of novel antibiotics. **Natural product reports**, Royal Society of Chemistry, v. 34, n. 10, p. 1203–1232, 2017.

YADAV, A. N. et al. Actinobacteria from rhizosphere: molecular diversity, distributions, and potential biotechnological applications. In: **New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering**. [S.l.]: Elsevier, 2018. p. 13–41.



## APÊNDICE A - QUISQUE LIBERO JUSTO

Quisque facilisis auctor sapien. Pellentesque gravida hendrerit lectus. Mauris rutrum sodales sapien. Fusce hendrerit sem vel lorem. Integer pellentesque massa vel augue. Integer elit tortor, feugiat quis, sagittis et, ornare non, lacus. Vestibulum posuere pellentesque eros. Quisque venenatis ipsum dictum nulla. Aliquam quis quam non metus eleifend interdum. Nam eget sapien ac mauris malesuada adipiscing. Etiam eleifend neque sed quam. Nulla facilisi. Proin a ligula. Sed id dui eu nibh egestas tincidunt. Suspendisse arcu.

#### APÊNDICE B - NULLAM ELEMENTUM URNA

Nunc velit. Nullam elit sapien, eleifend eu, commodo nec, semper sit amet, elit. Nulla lectus risus, condimentum ut, laoreet eget, viverra nec, odio. Proin lobortis. Curabitur dictum arcu vel wisi. Cras id nulla venenatis tortor congue ultrices. Pellentesque eget pede. Sed eleifend sagittis elit. Nam sed tellus sit amet lectus ullamcorper tristique. Mauris enim sem, tristique eu, accumsan at, scelerisque vulputate, neque. Quisque lacus. Donec et ipsum sit amet elit nonummy aliquet. Sed viverra nisl at sem. Nam diam. Mauris ut dolor. Curabitur ornare tortor cursus velit.

Morbi tincidunt posuere arcu. Cras venenatis est vitae dolor. Vivamus scelerisque semper mi. Donec ipsum arcu, consequat scelerisque, viverra id, dictum at, metus. Lorem ipsum dolor sit amet, consectetuer adipiscing elit. Ut pede sem, tempus ut, porttitor bibendum, molestie eu, elit. Suspendisse potenti. Sed id lectus sit amet purus faucibus vehicula. Praesent sed sem non dui pharetra interdum. Nam viverra ultrices magna.

Aenean laoreet aliquam orci. Nunc interdum elementum urna. Quisque erat. Nullam tempor neque. Maecenas velit nibh, scelerisque a, consequat ut, viverra in, enim. Duis magna. Donec odio neque, tristique et, tincidunt eu, rhoncus ac, nunc. Mauris malesuada malesuada elit. Etiam lacus mauris, pretium vel, blandit in, ultricies id, libero. Phasellus bibendum erat ut diam. In congue imperdiet lectus.



#### ANEXO A - MORBI ULTRICES RUTRUM LOREM

Sed mattis, erat sit amet gravida malesuada, elit augue egestas diam, tempus scelerisque nunc nisl vitae libero. Sed consequat feugiat massa. Nunc porta, eros in eleifend varius, erat leo rutrum dui, non convallis lectus orci ut nibh. Sed lorem massa, nonummy quis, egestas id, condimentum at, nisl. Maecenas at nibh. Aliquam et augue at nunc pellentesque ullamcorper. Duis nisl nibh, laoreet suscipit, convallis ut, rutrum id, enim. Phasellus odio. Nulla nulla elit, molestie non, scelerisque at, vestibulum eu, nulla. Ut odio nisl, facilisis id, mollis et, scelerisque nec, enim. Aenean sem leo, pellentesque sit amet, scelerisque sit amet, vehicula pellentesque, sapien.

#### ANEXO B - CRAS NON URNA SED

Sed consequat tellus et tortor. Ut tempor laoreet quam. Nullam id wisi a libero tristique semper. Nullam nisl massa, rutrum ut, egestas semper, mollis id, leo. Nulla ac massa eu risus blandit mattis. Mauris ut nunc. In hac habitasse platea dictumst. Aliquam eget tortor. Quisque dapibus pede in erat. Nunc enim. In dui nulla, commodo at, consectetuer nec, malesuada nec, elit. Aliquam ornare tellus eu urna. Sed nec metus. Cum sociis natoque penatibus et magnis dis parturient montes, nascetur ridiculus mus. Pellentesque habitant morbi tristique senectus et netus et malesuada fames ac turpis egestas.

#### ANEXO C - FUSCE FACILISIS LACINIA DUI

Phasellus id magna. Duis malesuada interdum arcu. Integer metus. Morbi pulvinar pellentesque mi. Suspendisse sed est eu magna molestie egestas. Quisque mi lorem, pulvinar eget, egestas quis, luctus at, ante. Proin auctor vehicula purus. Fusce ac nisl aliquam ante hendrerit pellentesque. Class aptent taciti sociosqu ad litora torquent per conubia nostra, per inceptos hymenaeos. Morbi wisi. Etiam arcu mauris, facilisis sed, eleifend non, nonummy ut, pede. Cras ut lacus tempor metus mollis placerat. Vivamus eu tortor vel metus interdum malesuada.