

ID TRABALHO: 204/1187-0

ÁREA DO TRABALHO: MICROBIOLOGIA AMBIENTAL

TÍTULO DO TRABALHO: Genômica E Atividade Antifúngica De *Serratia Marcescens* Isolada De *Leptodactylus Intermedius* Na Amazônia.

AUTORES: Beatriz Miranda Gomes, Ingrid Jarline Santos Da Silva, Iohanna Leticia Monteiro Meirelles Viana, Thiago Fernandes Sousa, Gleucinei Dos Santos Castro, Albertina Pimentel Lima, Gilvan Ferreira Da Silva

INSTITUIÇÃO: UFAM ; UFAM ; UFAM ; UFAM ; UEA ; INPA ; CPAA

RESUMO:

A Amazônia abriga uma biodiversidade única e ainda pouco explorada quanto à descoberta de novos microrganismos. Os anfíbios em particular, possuem uma microbiota cutânea que atua na defesa contra patógenos e pode representar uma fonte promissora de compostos com aplicação agrícola. Neste estudo, investigamos a atividade antifúngica e o potencial genômico (visando genes de interesse biotecnológico) de uma bactéria isolada da epiderme de *Leptodactylus intermedius*, um anuro amazônico. O isolado, denominado CPAA-LPma.D2, foi obtido por coleta via swab da superfície dorsal, seguido de esgotamento em meio LB. O isolado foi submetido a extração de DNA e sequenciamento do genoma completo utilizando a tecnologia de sequenciamento por Nanopore. A identificação do isolado foi realizada por meio de Identidade Nucleotídica Média (ANI) usando a plataforma OrthoANI. A fim de identificar a produção de compostos antifúngicos por CPAA-LPma.D2, ensaios de antagonismo foram conduzidos contra os fitopatógenos *Colletotrichum. scovillei* (INPA 2910), *Colletotrichum siamense* (Coll 2N) e *Fusarium graminearum*. Adicionalmente, clusters gênicos biossintéticos (BGCs) foram preditos usando a plataforma antiSMASH visando a identificação de vias relacionadas a produção de metabólitos secundários e a ferramenta PARAS foi usado para a predição de peptídeos não ribossomais codificados por NRPSs. A análise de ANI para o isolado CPAA-LPma.D2 revelou 95,31% de similaridade genômica com a espécie tipo de *Serratia marcescens*. Com base no critério de ANI >95% para identificação de espécies, o isolado foi classificado como sendo pertencente a essa espécie. Com base no método de cultura pareada esta linhagem inibiu o crescimento micelial de *C. scovillei* INPA 2910 em 78%, para *C. siamense* a inibição foi de 48% e para *F. graminearum* 35%, revelando a produção de compostos antifúngicos. A mineração genômica do isolado *S. marcescens* CPAA-LPma.D2 revelou um rico potencial para a biossíntese de metabólitos secundários, com a identificação de 19 clusters de genes biossintéticos (BGCs). Estes exibiram uma notável diversidade de tipos, incluindo 4 BGCs do tipo NRPS, 2 híbridos NRPS-PKS, 2 sideróforos, 2 de terpenos, 2 de betalactonas, 2 RiPPs, além de BGCs relacionados a fosfonatos (1),

cianeto de hidrogênio (1), resorcinol (1) e poliaminoácidos NAPAA (1). Uma análise mais aprofundada focou em BGCs de interesse biotecnológico. O cluster 1.11 demonstrou alta identidade com clusters biossintéticos conhecidos pela produção do composto antifúngico kolossin. Apesar da similaridade de sequência, uma diferença expressiva no número de módulos da NRPS (5 módulos no cluster 1.11 versus 15 módulos na NRPS do cluster de kolossin) sugere a produção de um produto final com tamanho e estrutura distintos. Utilizando a ferramenta PARAS, o peptídeo central do cluster 1.11 foi predito com alta confiança como sendo Thr-Ser-Ser-Val-Val, correspondente ao lipopeptídeo Stephensiolide A. Este composto é conhecido por sua atividade antibiótica contra bactérias Gram-negativas e antiparasitária contra *Plasmodium falciparum*, sendo produzido por outras espécies do gênero *Serratia*. O análogo Stephensiolide F é um potente larvicida contra *Aedes aegypti*, vetor da dengue. Esses resultados reforçam a importância da microbiota de anfíbios amazônicos como uma fonte promissora de bactérias produtoras de bioativos com potencial para aplicação na agricultura e controle de vetores.

Palavras-chave: *Serratia marcescens*, anuros amazônicos, atividade antifúngica, metabolitos secundários, mineração genômica, *Leptodactylus intermedius*.

Agradecimentos: Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pelo apoio financeiro pelo Programa de Apoio à Iniciação Científica do Amazonas - Edital: RESOLUÇÃO N. 003/2024 - PAIC/AM - EMBRAPA, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio por meio do Programa de Pesquisa em Biodiversidade - PPBio (Processo nº: 441260/2023-3), financiou as coletas dos anuros, ao projeto Prospecção de moléculas por meio de análise metabologenômica a partir da microbiota associada a desova e epiderme de espécies de anuros da superfamília Dendrobatidae, ao apoio financeiro.