

Microscopia eletrônica de transmissão para detecção de biopolímero em espécies de *Pseudomonas*

Ane Gerber Crochemore^{1*}; Maria Laura Turino Mattos²; Claire Tondo Vendruscolo³; Luis Antonio Saita de Castro⁴

^{1,3}Universidade Federal de Pelotas - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia; ^{2,4}Embrapa Clima Temperado. * anecrochemore@gmail.com

Polihidroxialcanoatos (PHAs) são poliésteres sintetizados intracelularmente por uma variedade de bactérias, acumulados como material de reserva de carbono e energia, podendo chegar até o nível de 90% de sua massa seca. Os PHAs possuem potenciais aplicações na fabricação de embalagens, na agricultura e na medicina. O polihidroxibutirato (PHB) é o mais simples poliéster da família dos PHAs e é armazenado mais frequentemente pelos microrganismos. O acúmulo deste biopolímero também é utilizado como parâmetro para classificação taxonômica de espécies de *Pseudomonas* fitopatogênicas. Os polímeros de origem biológica são biodegradáveis, sendo suscetíveis a ação de enzimas. Outro aspecto que também torna os PHAs interessantes é a utilização de fonte de carbono renovável na sua síntese. O PHB pode ser totalmente degradado a CO₂ por meio da ação de bactérias, fungos e algas. Muitas espécies de *Pseudomonas* são capazes de produzir este poliéster, que é usualmente formado em condições de limitação de um nutriente. O objetivo deste trabalho foi identificar por meio de microscopia eletrônica de transmissão a formação de grânulos de PHB em quatro cepas selecionadas. As cepas, espécies de *Pseudomonas* (STC1, STC2, STC3 e STC4), foram isoladas de solo de várzea subtropical do Rio Grande do Sul, pertencentes à Coleção de Culturas de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Clima Temperado (CCMM). Para visualização do biopolímero no interior das células foi feito o cultivo das bactérias em agar nutritivo acrescido de 5% de sacarose por 48 h, em B.O.D. a 28 °C. As células foram centrifugadas e lavadas com solução salina 0,85%. O material foi colocado em dois fixadores, ficando uma hora em cada, passou por desidratações com álcool e acetona. Por fim, as amostras foram incluídas na resina, sendo seu tempo de polimerização de cinco dias, a 60 °C. Os cortes ultra-finos foram observados em microscópio eletrônico de transmissão (ZEISS EM900). As micrografias mostraram que todas as cepas têm a capacidade de acumular PHB, entretanto a cepa STC2 não apresenta uma produção expressiva em comparação com as demais. Os grânulos observados apresentam-se como electron-dense bodies como descritos na literatura. Este resultado mostra que as cepas STC1, STC3 e STC4 acumulam uma grande quantidade de grânulos no seu interior, sugerindo serem promissoras para este estudo de produção de biopolímeros.

Palavras-chave: grânulos de PHB, microscopia, *Pseudomonas*, identificação

“Apoio: CAPES”