

Metodologias para caracterização molecular de bactérias metanotróficas isoladas de solos florestais

Letícia Corrêa Marcondes

Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Positivo, Curitiba, PR

Kauanna Brok Ferreira Pepe

Graduanda em Agronomia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR

Krisle da Silva

Pesquisadora da Embrapa Florestas, Colombo, PR, krisle.silva@embrapa.br

Bactérias metanotróficas são capazes de utilizar o metano (CH_4) como sua única fonte de carbono e podem ser uma alternativa para a redução deste gás na atmosfera. O objetivo deste trabalho foi estabelecer metodologias para a caracterização molecular de bactérias metanotróficas isoladas de solos florestais. Para a caracterização dessas bactérias, são utilizadas técnicas de extração de DNA, amplificação por PCR e sequenciamento dos genes *pmoA* e 16S rRNA. O experimento foi realizado com nove bactérias consideradas metanotróficas. Estas tiveram seu DNA total extraído utilizando kit Pure Link genomic DNA (Invitrogen). O PCR foi realizado por meio da amplificação do gene *pmoA*, utilizando os oligonucleotídeos iniciadores A189F e A682R e a combinação A189FA e o Mb661. O *pmoA* é um dos genes que codificam a metano monooxigenase, enzima responsável pela oxidação do CH_4 . Como controle positivo foi incluído DNA extraído de uma amostra de solo oriundo de floresta. Para o gene 16S rRNA, foi utilizado os oligonucleotídeos 27F e 1492R, universal para bactérias. A eficiência da extração de DNA e as amplificações foram checadas em gel de agarose 1%, corados com brometo de etídeo. A extração de DNA foi eficiente com o kit comercial. Quanto às amplificações por PCR do gene *pmoA*, estas não foram eficientes, resultando em ausência de ou amplificações inespecíficas, tanto para os isolados bacterianos quanto para o controle (DNA total do solo). A amplificação do gene 16S rRNA foi eficiente para todas as bactérias e o produto amplificado será enviado para sequenciamento. Portanto, conclui-se que o protocolo para a amplificação do gene *pmoA* necessita de ajustes.

Palavras-chave: Metano; 16S rRNA; Metano monooxigenase.

Apoio/financiamento: Projeto financiado pela Embrapa (SEG. 11.16.05.001.02.00).