

## 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 ( $\text{CH}_4$ ) 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  $\text{CH}_4$ . 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).