

## Bactérias metanotróficas de solos florestais isoladas por diferentes metodologias

**Kauanna Brok Ferreira Pepe**

Graduanda em Engenharia Agrônômica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR

**Letícia Corrêa Marcondes**

Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Positivo Curitiba, PR

**Krisle da Silva**

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

Um dos principais gases responsáveis pelo efeito estufa é o metano ( $\text{CH}_4$ ), assim é importante buscar novas tecnologias que sejam capazes de reduzir o teor deste gás na atmosfera. Uma alternativa seria o emprego de bactérias metanotróficas. Este trabalho buscou isolar bactérias metanotróficas de áreas florestais mediante duas metodologias utilizando meio de cultivo específico para amostras de solo. Amostras de solo foram coletadas em duas áreas. Em Rio Negrinho, a coleta de solo foi realizada em área sob *P. taeda* implantado em 2013 e sob Floresta Ombrófila Mista no estágio sucessional intermediário para avançado. Em Telêmaco Borba a coleta de solo foi realizada em área sob *P. taeda* implantado em 2015 e sob Floresta Estacional Semidecidual, com zona de contato com a Floresta Ombrófila Mista. Duas metodologias foram utilizadas, ambas utilizando o meio M2 ( $\text{g L}^{-1}$ ):  $\text{KNO}_3$  (0,25  $\text{g L}^{-1}$ );  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,10  $\text{g L}^{-1}$ );  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,05  $\text{g L}^{-1}$ );  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,01  $\text{g L}^{-1}$ );  $\text{NaCl}_2$  (0,02  $\text{g L}^{-1}$ ). Todas as incubações foram realizadas sob temperatura de 20 °C e em ambiente com 20% de gás  $\text{CH}_4$ . Primeiramente, foi realizada a cultura de enriquecimento, onde os solos foram inseridos em tubos de ensaio com meio líquido e incubados por 10 semanas. Após este período, as amostras foram diluídas em solução salina (NaCl 0,85%) e as diluições 10-3 e 10-5 foram inoculadas em placas de Petri contendo meio sólido e incubadas por duas semanas. As colônias típicas de metanotróficas foram, então, isoladas. O segundo método foi a diluição até a extinção. Para isto, as amostras de solos foram diluídas no próprio meio de cultura M2 líquido e incubados por 10 semanas. Posteriormente, os tubos que apresentaram turbidez foram selecionados e rediluídos em microplacas (180  $\mu\text{l}$ ) e incubadas por duas semanas. Após este período, os poços que apresentaram crescimento foram inoculados em meio M2 sólido. As duas metodologias se mostraram eficientes para o isolamento de bactérias metanotróficas de amostras de solos, sendo obtidos no total 22 isolados bacterianos, 13 pelo método de enriquecimento e nove pelo método de diluição até a extinção. O meio M2 mostrou-se eficiente para o isolamento de bactérias metanotróficas. A cultura de enriquecimento será a metodologia padrão a ser utilizada no laboratório.

**Palavras-chave:** Metano; *Pinus taeda*; Mudanças climáticas.

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