

Caracterização genética de bactérias obtidas de solos florestais em meio para o isolamento de metanotróficas

João Vitor Natalino

Graduando em Agronomia pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR

Krisle da Silva

Engenheira-agrônoma, doutora em Microbiologia Agrícola, pesquisadora da Embrapa Florestas, Colombo, PR,
krisle.silva@embrapa.br

Kauanna Brok Ferreira Pepe

Engenheira-agrônoma pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR

O metano (CH₄) é um dos principais gases atuantes no efeito estufa, acarretando em problemas drásticos ao clima. Desta forma, é de interesse a busca por tecnologias que possam diminuir a emissão ou retirar este gás da atmosfera. Uma alternativa seria a utilização de bactérias metanotróficas que utilizam o CH₄ como única fonte de carbono. O objetivo deste trabalho foi caracterizar geneticamente bactérias consideradas metanotróficas, isoladas de solos florestais. Vinte e dois isolados bacterianos foram obtidos de dois locais distintos: Rio Negrinho, SC (área de *P. taeda* plantada em 2013 e em uma Floresta Ombrófila Mista, estágio sucessional intermediário para avançado) e Telêmaco Borba, PR (área de *P. taeda* plantada em 2015 e em uma Floresta Estacional Semidecidual com zona de contato com Floresta Ombrófila Mista). Após o cultivo em meio M2 e sob temperatura de 20 °C por sete dias com injeção de CH₄, as células bacterianas foram recolhidas para a extração de DNA genômico total utilizando o Kit *PureLink Genomic Dna* (Invitrogen, EUA). Posteriormente, o DNA obtido foi utilizado para amplificação do gene 16S rRNA, utilizando os oligonucleotídeos iniciadores 27F e 1492R. O sequenciamento parcial foi realizado utilizando o oligonucleotídeo 27F. As sequências obtidas foram, então, editadas manualmente, e posteriormente submetidas ao banco de dados do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) utilizando a ferramenta Blast para a identificação. Das 22 bactérias obtidas, foi possível a amplificação do gene 16S rRNA de 15 bactérias. Dessas, de 12 isolados bacterianos foram obtidas sequências com qualidade para a identificação. As bactérias foram identificadas como pertencentes aos gêneros *Caballeronia*, *Cupriavidus* e *Mycobacterium*. Esses gêneros não são considerados metanotróficos, mas contaminantes que crescem junto com bactérias metanotróficas durante o processo de isolamento. Essas bactérias crescem, utilizando o metanol oriundo da oxidação do metano por bactérias metanotróficas. Portanto, como os 22 isolados bacterianos não cresceram em meios contendo fontes de carbono em testes anteriores, indicando que há a presença de bactérias metanotróficas, todos os isolados deverão ser checados quanto à pureza novamente, por meio de sucessivas repicagens. Após a retirada dos contaminantes, o processo de caracterização genética será realizado novamente.

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

Apoio/Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Projeto financiado pela Embrapa (SEG. 11.16.05.001.02.00).