

Encontro anual de
INICIAÇÃO 
CIENTÍFICA DA UNESPAR

**IDENTIFICAÇÃO DE GENES CATABÓLICOS DE
HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS EM SOLO CONTAMINADO**

Camila Souza Almeida dos Santos (PIC, Fundação Araucária)
Unespar/Campus Paranaguá, camilasouza-ca@hotmail.com
Danyelle Stringari (Orientador)
Unespar/Campus Paranaguá, danyelle.stringari@unespar.edu.br

RESUMO: Estudos realizados por diversos autores concluíram que bactérias cultiváveis representam apenas de 0,1 a 10% da população bacteriana total no ambiente. Técnicas moleculares são utilizadas com intuito de fornecer uma visão global da estrutura genética da comunidade microbiana. O objetivo do trabalho foi avaliar a presença de espécies microbiana que biodegradam compostos aromáticos em uma área contaminada com óleo diesel em processo de biorremediação. Foram testadas sete amostras de solo contaminado, coletadas por meio de sondagem a 3,5 metros. Como controle positivo, foram utilizadas seis linhagens de bactérias, que expressam os genes fenol monooxigenase (PHE) e tolueno dioxigenase (TOD). As amostras de solo foram enriquecidas em meio TSB por 24 horas à 37°C antes da extração de DNA, a qual foi testada por diferentes protocolos (extração convencional a base de proteinase K e lisozima com modificações, kit Soil DNA Isolation Kit Norgen® e Kit HiPura para Extração de DNA de Solo Himedia®). A extração do DNA dos controles positivos, também foi testada pelo método convencional e com o kit Wizard Genomic DNA Purification Kit Promega®. Os DNAs foram quantificado em espectrofotômetro de massa e verificada a integridade em eletroforese em gel de agarose 0,8% (p/v). A reação de PCR foi realizada com os *primers tod* e *phe* nas seguintes condições: tampão de PCR 1x, 0,2 mM de cada dNTP, 1 U de Taq polimerase, 0,3 µM de cada *primer*, 2 a 4 mM de MgCl₂ e volume final de 20 µL. A amplificação seguiu uma desnaturação inicial de 10 minutos a 95°C; 30 ciclos de 1 minuto a 95°C, 1 minuto à temperatura ideal de anelamento de acordo com cada *primer*, 2 minutos a 72°C; e extensão final de 10 minutos a 72°C. A extração de DNA das bactérias controle, bem como das amostras de solo contaminado com óleo diesel, só foram possíveis utilizando o protocolo convencional a base de lisozima e proteinase K. Os kits comerciais testados não se mostraram eficientes na extração do DNA dos possíveis microrganismos presentes no solo. Os testes de PCR indicaram a presença dos genes catabólicos *phe* e *tod* apenas nas linhagens controle e a sua ausência nas amostras de solo, mesmo com diferentes protocolos. Estes resultados sugerem a ausência de microrganismos detentores destes genes catabólico neste ambiente contaminado. Tal fato poderá direcionar o pesquisador na escolha do melhor método de remedição a ser adotado.

Palavras-chave: Biorremediação. Fenol monooxigenase. PCR.