

Encontro anual de
INICIAÇÃO 
CIENTÍFICA DA UNESPAR

**DETECÇÃO DE GENES CATABÓLICOS EM AMOSTRAS DE SOLO CONTAMINADO
COM ÓLEO DIESEL**

Gabriela Xavier Schneider (PIC)
Unespar/Campus Paranaguá, gabrielaxavier13@gmail.com
Danyelle Stringari (Orientador),
Unespar/Campus Paranaguá, danyelle.stringari@unespar.edu.br

RESUMO: Atualmente pesquisas relacionadas à remediação de áreas atingidas por produtos petroquímicos são realizadas com a finalidade de restauração da qualidade do solo. Dentre as técnicas de remediação existentes, a biorremediação é considerada uma alternativa atraente por envolver baixo custo quando comparada a outras técnicas. Alguns microrganismos adquiriram a capacidade de utilizar substratos exóticos e/ou tóxicos como fonte de carbono e energia desempenhando um papel chave na degradação de poluentes de áreas contaminadas. Enzimas envolvidas na biodegradação de hidrocarbonetos, podem ser identificadas com a utilização de *primers* específicos, permitindo a detecção em amostras ambientais por meio de PCR. O objetivo do trabalho foi identificar a presença do gene catabólico naftaleno dioxigenase (NAH) em sete amostras de solo contaminado com óleo diesel, coletadas de uma área em processo de biorremediação. Como controle positivo, foram utilizadas seis linhagens de bactérias, que expressam o gene NAH. As amostras de solo foram enriquecidas em meio TSB por 24 horas à 37°C antes da extração de DNA. Para ambas as amostras (solo e bactérias controle) utilizou-se o protocolo convencional de extração a base de lisozima e proteinase K, otimizado e padronizado por nosso grupo de pesquisa. Os DNAs foram quantificados em espectrofotômetro de massa e verificado a sua integridade em eletroforese em gel de agarose 0,8% (p/v). A reação de PCR foi otimizada para: tampão de PCR 1x, 0,2 mM de cada dNTP, 1 U de Taq polimerase, 0,3 µM do *primer nad*, 2,5 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 47°C, 2 minutos a 72°C; e extensão final de 10 minutos a 72°C. Os testes de PCR indicaram a presença do gene NAH apenas nas linhagens controle, apresentando o produto esperado de 377 pb. Estes resultados sugerem a ausência de microrganismos detentores do gene NAH neste ambiente contaminado. E ainda, indicam que a técnica de PCR convencional, baseada na detecção de genes catabólicos de hidrocarbonetos aromáticos, pode ser considerada como ferramenta auxiliar nos processos de remediação de áreas contaminadas, contribuindo na tomada de decisão pelo pesquisador responsável.

Palavras-chave: Biorremediação. Naftaleno dioxigenase. PCR.