

Identificação taxonômica pelo gene 16S ribossomal de isolados provenientes de sedimento marinho profundo da margem sul brasileira com oligonucleotídeos iniciadores 9F e 1542R

Daniela Behrends¹, Renata Medina (Orientador)¹, Adriana Giongo (Pesquisador)²

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Faculdade de Biociências (FABIO), Laboratório de Pesquisa em Imunologia e Microbiologia¹, Centro de Excelência em Pesquisa e Inovação em Petróleo, Recursos Minerais e Armazenamento de Carbono (CEPAC)²

Resumo

O conhecimento da diversidade biológica marinha ainda é escassa quando se trata de micro-organismos. Amostras de sedimento marinho profundo da margem sul brasileira apresentam uma enorme diversidade de micro-organismos, principalmente procariotos, ainda não descritos pela comunidade científica. Coletadas com pistão (*piston core*, PC) durante uma missão oceanográfica, essas amostras ricas em organismos, provém de uma profundidade de 1.200 metros localizada em um *pockmark* (depressão do solo marinho formado por ascensão de água e/ou gases), onde micro-organismos quimiossintéticos são muito abundantes, uma vez que, conseguem utilizar alguns desses gases e prover ao ambiente a reciclagem de matéria orgânica.

É extremamente relevante o estudo desses seres, primeiramente devido ao seu valor intrínseco, seguido do seu potencial em aplicações biológicas que podem vir a beneficiar os humanos em diversos aspectos, como modelos para inovação tecnológica e aplicações industriais. Valendo-se disso, baseia-se a importância da caracterização da biodiversidade de locais pouco explorados, como o ambiente em questão.

As amostras de sedimento foram selecionadas com base nas características geoquímicas de interesse biológico e já foram submetidas a algumas das etapas necessárias para a sua caracterização. Os isolados microbianos foram descritos morfológicamente após cultivo e análise microscópica pós-coloração Gram. De uma total de 55 isolados, 35 já foram identificados em nível de gênero utilizando-se um pequeno segmento do gene de interesse (16S ribossômico) com oligonucleotídeos iniciadores (515F/806R), que são capazes de amplificar um fragmento de ~291 pb. Entretanto, para a identificação taxonômica em nível de espécie, novos oligonucleotídeos iniciadores (9F/1542R), que amplificam um fragmento de cerca de 1.500 pb, estão sendo utilizados. Toda a etapa de amplificação por técnica de PCR está sendo feita em um termociclador Techne TC-5000 Gradient com as seguintes condições de ciclagem: 94°C a 5 min, seguidos de 30 ciclos de 94°C por 30 seg., 45°C por 30 seg., 72°C por 1 min. e uma extensão final de 72°C por 6 min. Após a amplificação, o fragmento de interesse será sequenciado em um sequenciador automático MegaBACE 1000 (GE Healthcare) seguindo as especificações do fabricante. As sequências obtidas pelo processo de sequenciamento serão processadas no programa Mega 5.1 e, em seguida, comparadas ao banco de dados GenBank utilizando-se a ferramenta BLAST.

Os experimentos para a caracterização molecular e taxonômica dos isolados estão em desenvolvimento. No auxílio às técnicas de cultivo e classificação morfológica

clássicas serão utilizadas ferramentas de biologia genômica e molecular, o que possibilitará uma descrição pioneira dos microrganismos investigados.

Palavras-chave

sedimento marinho; 16S RNAr; diversidade microbiana; procariotos;