UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº17.228 de 25/11/2016
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS
SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2021

ISOLAMENTO E PROSPECÇÃO DE GENE DE BIORREMEDIAÇÃO DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO

Mattheus Luís Alves Santiago[1]; Eddy José Francisco de Oliveira[2];

1. Bolsista PROBIC/UEFS Mattheus Luís Alves Santiago, Graduando em Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mattheusuefs@hotmail.com
2. Orientador Eddy José Francisco de Oliveira, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: eddyfo@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Isolamento de DNA ambiental, Genes funcionais, Biodegradação

INTRODUÇÃO

O Plano de Trabalho "Prospecção de gene de biorremediação de hidrocarbonetos de petróleo" faz parte do Projeto "Caracterização Molecular Avançada" (consepe 026/2018). Este projeto propõe por técnicas moleculares determinar a diversidade dos microorganismos presentes em amostras de sedimentos de manguezais da Baía de Todos os Santos (BTS). No projeto de iniciação tecnológica proposto será realizado o sequenciamento e análise das sequencias provenientes do DNA extraído das amostras de microrganismos (fungos e bactérias) isolados da BTS selecionados pela capacidade de degradação de petróleo. O produto final deste projeto é apresentar um painel de genes relacionados com atividade de degradação de hidrocarbonetos e/ou biossufactantes, e princípios para isolamento de enzimas de interesse industrial e biotecnológico.

Desta forma, seleção de genes funcionais a partir da análise metagenômica funcional é capaz de revelar a presença de degradadores de hidrocarbonetos aromáticos e alifáticos, bem como elucidar quais estão participando ativamente do processo de remediação das áreas impactadas.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)

Devido as recomendações vigentes no enfrentamento da pandemia da Covid-19, foi ressaltada a importância da implementação das medidas de distanciamento social para a redução efetiva nas taxas de transmissão da doença, e seu impacto avassalador e

consequentes hospitalizações e óbitos. Por conta disso, foi necessário mudanças no trabalho, passando a ser realizado "*In silico*".

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)

A biorremediação é uma opção que oferece a possibilidade de eliminar ou transformar diversos contaminantes em compostos menos prejudiciais usando a atividade biológica dos microrganismos que possuem capacidade de decompor poluentes, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos do petróleo, conhecidos como HAP's (VIDALLI, 2002; MARIANO, 2007).

O processo de biodegradação requer distintos genes para produzir enzimas capazes de degradar os diferentes grupos de hidrocarbonetos. Esses compostos podem ser divididos em quatro frações: alifáticos (saturados), aromáticos, asfaltenos (fenóis, ácidos graxos, cetonas, ésteres e porfirinas) e resinas (piridinas, quinolinas, sulfóxidos, amidas e carbazol) (KOSHLAF; BALL, 2017).

PRODUTO	MICRORGANISMO – GÊNERO	ALVO DE DEGRADAÇÃO	REFERENCIAL
Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (HAP's)	*Mucor, Gliocadium, Penicillium, Phialophora, Trichoderma, Scopulariopsis* e *Coniothyrium*	Degradação do pireno	Ravelet et al. (2000)
	Cladosporium, Fusarium, Penicillium, Aspergillus e *Pleorotus*	Biodegradação de HAP's	Mollea et al. (2005)
	Phanerochaete Aspergillus, Penicillium, Paecilomyces e *Fusarium*	Metabolizar hidrocarbonetos aromáticos	Chaillan e et al. (2004)
Hidrocarbonetos	*Talaromyces e Graphium*	Capazes de degradar compostos fenólicos	Conceição et al. (2005)
Hidrocarbonetos aromáticos BTEX (benzeno, tolueno, etilbezeno e xileno)	*Microbacterium.* e *Rhodococcus*	Capazes de catabolizar benzeno, tolueno, etilbezeno xilenos (BTEX).	Kang et al. (2005); Nikolova e Nenov (2005)
Alcanos	*Rhodococcus, Pseudomonas putida*	Capazes de degradar alcanos normais (C10-36 alcanos) e alcanos ramificados (pristano, fitano)	Makiko et al. (2010)

Tabela 1: Relação dos produtos de origem petrolífera e respectivos microrganismos biorremediadores.

É importante destacar que, o potencial de degradação e a via utilizada, varia entre as diferentes espécies de microrganismos. Desta forma, alguns microrganismos são degradadores de alcanos, outros de aromáticos, e há ainda microrganismos que degradam ambos os compostos (CURY, 2002).

A degradação dos hidrocarbonetos pode ser iniciada pela ação de diferentes enzimas presentes em diversas espécies bacterianas. Estudos realizado por ABO-STATE

et al. (2018) mostraram que uma bactéria isolada de águas residuais de uma refinaria de petróleo, identificada por análise do gene 16S Rrna como *Bordetella avium*, apresentou forte atividade de degradação do naftaleno (95%) em meio enriquecido, além da capacidade de utilizá-lo como única fonte de carbono. Bactérias como *Bordetella avium*, com a capacidade de degradar HAs, isoladas a partir de ambientes contaminados, podem ser usadas em processos de biorremediação sem riscos para o ecossistema.

Através de estudos na literatura, foi possível observar uma maior quantidade e expressão do gene ARHD envolvido na degradação dos hidrocarbonetos aromáticos em comparação ao gene alkB envolvido na degradação de hidrocarbonetos lineares. Genes alkB do gênero *Rhodococcus* são dominantes em solos puros e contaminados com hidrocarbonetos, enquanto os genes alkM do gênero *Acinetobacter sp.* São menos abundantes. No entanto, os genes alkB de *Pseudomonas sp.* mostraram um principal aumento na resposta aos hidrocarbonetos (WHITE *et al.* 2002).

Para YAN E WU (2017) nenhum gene envolvido na degradação dos hidrocarbonetos, atua sozinho. Estresses ambientais frequentes iniciam diferentes vias metabólicas. O isolamento de microrganismos, possibilita a formação de culturas mistas, ampliando a capacidade metabólica e contribuindo para uma biorremediação mais eficiente (PIUBELI, 2011).

Por fim, constatou-se que ambos, bactérias e fungos, são amplamente utilizados para a remediação de derivados de petróleo sendo difícil inferir e generalizar qual é mais utilizado. No entanto, estudos têm mostrado que fungos atuam como decompositores de compostos aromáticos, assim como de compostos fenólicos (SILVA, 2007). Segundo BALBA *et. al*. (1998), as bactérias e leveduras apresentam-se como os principais responsáveis pela degradação dos hidrocarbonetos em ambientes aquáticos, enquanto que fungos e bactérias são dominantes no solo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

Os mecanismos enzimáticos envolvidos na degradação aeróbia de hidrocarbonetos por bactérias têm sido extensivamente estudados por vários anos. Os genes que codificam as enzimas de degradação estão relativamente bem compreendidos para organismos aeróbios e cultiváveis. A prospecção destes genomas através de abordagens de genômica comparativa e análises evolutivas, com o auxílio de bancos de dados e ferramentas de bioinformática, irá permitir uma rápida identificação de novos genes e enzimas com as mais diferentes funções e aplicações.

Assim, as técnicas de biorremediação constituem uma boa alternativa na descontaminação de ambientes poluídos por petróleo e seus derivados, apresentando, na maioria das vezes, baixo custo de implementação, e menor risco ambiental do que técnicas de limpeza que envolvem processos físicos e químicos.

REFERÊNCIAS

BALBA, M. T.; AL-AWADHI, N.; AL-DAHER, R. (1998), Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. J. Microbiol. Methods, 32, 155-164.

CURY, J.C. Atividade microbiana e diversidade metabólica e genética em solo de mangue contaminado com petróleo. Dissertação de mestrado, Escola Superior de Agricultura ´´Luiz de Queiroz``, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2002, SP. 95p. Dorn, P. B.; Salantro, J. P. (2000) Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation. Chemosphere, 40:419-426

KOSHLAF, E.; S BALL, A.; Centre For Environmental Sustainability And Remediation, School Of Science, Rmit University, Bundoora, Victoria 3083, Australia. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. AIMS Microbiology, v. 3, n. 1, p. 25–49, 2017.

PIUBELI, F.A. Caracterização da Comunidade Microbiana em Ambientes Salinos e suas Possíveis Aplicações Biotecnológicas. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011.

VIDALLI, M. Biorremediação: Uma visão geral. Química Pura e Aplicada. v.73, p. 1163-1172. 2001.

SILVA, T. R.; VALDMAN, E.; VALDMAN, B.; LEITE, S. G. F. Salicylic acid degradation fromaqueous solutions using Pseudomonas fluorescens HK44: parameters studies and application tools. Brazilian Journal of Microbiology. n. 38, p. 39-44. 2007.

WHITE, N.; Thompson, M.; Barwise, T. (2003). Understanding the thermal evolution of deep-water continental margins. Nature 426: 334-343.

YANG Z, ZHANG L, ZHANG Y et al. Highly efficient production of soluble proteins from insoluble inclusion bodies by a two-step-denaturing and refolding method. PLoS One 2011;6:e22981–e22981.