

CYNTHIA CANÊDO DA SILVA

**DETECÇÃO DE GENES QUE CODIFICAM NAFTALENO
DIOXIGENASE, TOLUENO DIOXIGENASE E ALCANO HIDROXILASE
EM BACTÉRIAS DEGRADADORAS DE PETRÓLEO**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós- Graduação em
Microbiologia Agrícola, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

RESUMO

SILVA, Cynthia Canêdo, MS., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2005. **Deteção de Genes que Codificam Naftaleno Dioxigenase, Tolueno Dioxigenase e Alcano Hidroxilase em Bactérias Degradadoras de Petróleo.** Orientadora: Elza Fernandes de Araújo. Conselheiros: Marcos Rogério Tótola e Marisa Vieira de Queiroz.

Foram avaliados 14 isolados degradadores de petróleo, quanto à diversidade genética e à atividade catabólica dos mesmos e de cinco destes, em consórcio, no meio de cultivo adicionado de petróleo por meio da técnica de RT-PCR. A diversidade genética dos 14 isolados bacterianos foi avaliada por RAPD utilizando 12 oligonucleotídeos. O padrão de bandas amplificado do DNA total dos isolados evidenciou uma alta diversidade genética entre os isolados LBBMA 1, LBBMA 18a, LBBMA 53, LBBMA 88b, LBBMA 161, LBBMA 191, LBBMA 201 e LBBMA ES11, quando comparado ao padrão de bandas obtidos com os isolados LBBMA 58, LBBMA 75, LBBMA 101b, LBBMA 105a, LBBMA 195 e LBBMA 199. A detecção de seqüências genômicas e dos respectivos transcritos dos genes que codificam alcano hidroxilase, naftaleno dioxigenase e tolueno dioxigenase em meio de cultivo adicionado de petróleo evidenciou que os isolados LBBMA 58, LBBMA 75, LBBMA 101b e LBBMA 199 foram promissores para serem utilizados no processo de biorremediação. O consórcio C7 (LBBMA 105a, LBBMA 191, LBBMA 195, LBBMA 199, LBBMA 201) foi selecionado para ser avaliado quanto à atividade catabólica em meio de cultivo adicionado de petróleo, nos tempos: 0,5 hora, 4 horas, 7 horas e

24 horas. Detectou-se neste consórcio, os transcritos correspondentes aos genes que codificam alceno hidroxilase e naftaleno dioxigenase em todos os tempos avaliados. Estes resultados mostraram que a avaliação da atividade catabólica por meio da detecção dos transcritos indicou o potencial de aplicação deste consórcio no processo de biorremediação.

ABSTRACT

SILVA, Cynthia Canêdo, MS, Universidade Federal de Viçosa, May, 2005.
Detection of Genes that Encode Naphthalene Dioxygenase, Toluene Dioxygenase and Alkane Hydroxylase of Petroleum-degrading Bacteria. Advisor: Elza Fernandes de Araújo. Committee Members: Marcos Rogério Tótola and Marisa Vieira de Queiroz.

The present study objectified to evaluate the genetic diversity among 14 Petroleum-degrading bacterial isolates and to verify the catabolic activity of each one separately and in consortium in culture medium with addition of petroleum by RT-PCR technique. Their genetic diversity was evaluated by RAPD using twelve primers. The isolates presented high polymorphism indicating a great genetic diversity among them. The evaluation of the potential and the catabolic activity of the isolates was accomplished using as markers three catabolic genes that encode alkane hydroxylase, naphthalene dioxygenase and toluene dioxygenase. In these isolates different results were observed for the presence of the genomic sequences and their respective transcripts. These results indicated that the isolates LBBMA 58, LBBMA 75, LBBMA 101b and LBBMA 199 are promising for the bioremediation process. The consortium C7 (LBBMA 105a, LBBMA 191, LBBMA 195, LBBMA 199, LBBMA 201) was chosen to have its catabolic activity appraised due to its greater efficiency. In this consortium transcripts corresponding to the genes that encode alkane hydroxylase and naphthalene dioxygenase were detected with 0,5 hour, 4

hours, 7 hours and 24 hours. These results indicated the potential of this consortium for bioremediation.