



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	DIVERSIDADE DE ISOLADOS DE ACTINOBACTÉRIAS UTILIZANDO BOX-PCR E URP-PCR
Autor	ANA ELISA SILVEIRA BALLARINI
Orientador	SUELI TERESINHA VAN DER SAND

DIVERSIDADE DE ISOLADOS DE ACTINOBACTÉRIAS UTILIZANDO BOX-PCR E URP-PCR

Ballarini, A.E.; Van Der Sand, S.

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Bactérias do filo Actinobacteria estão distribuídas de forma abundante em ambientes terrestres e aquáticos e são de grande interesse científico dada sua vasta produção de compostos biologicamente ativos. A identificação destes organismos, durante muito tempo, foi realizada apenas seguindo características morfológicas e fisiológicas. Entretanto, os recentes avanços em técnicas de biologia molecular vêm permitindo a identificação a partir de comparações existentes em bancos de dados genômicos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade de 88 isolados de actinobactérias, presentes no Laboratório de Microbiologia Ambiental ICBS/UFRGS com auxílio das técnicas de URP-PCR (*Universal Rice Primer*) e BOX-PCR. A partir de 473 isolados, foi possível a recuperação de 88 destes para os ensaios de biologia molecular. Para todos os experimentos, foi utilizado como controle cepas de referência *Streptomyces rimosus* 3082/CIFER-1836 e *Streptomyces rochei* ATCC 10739, oriundas da Coleção de Microrganismos de Referência da Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS). A extração do DNA foi realizada seguindo o protocolo de fenol-clorofórmio. Nove oligonucleotídeos iniciadores descritos por Kang et al.(2002) foram utilizados para a amplificação do DNA pela técnica URP-PCR. Para a amplificação utilizando BOX-PCR foi utilizado o oligonucleotídeo iniciador BOX-PCR 1AR (5' - CTA CGG CAA GGC GAC GCT GAC G - 3'). Os produtos obtidos nas reações de URP-PCR e BOX-PCR foram analisados, respectivamente, em gel de agarose 1,5% e 2%, para posteriormente serem visualizados em um fotodocumentador. Os oligonucleotídeos iniciadores URP e BOX1AR produziram padrões distintos de amplificação nos isolados estudados. Na técnica de BOX-PCR foram obtidos 73 fragmentos distintos, sendo que 23% encontram-se acima de 2000 pb, 39% entre 2000 pb e 1000 pb, 21% entre 999 pb e 500 pb e 18% abaixo de 500 pb. Um fragmento de 210 pb repetiu-se em 45% dos isolados. Um dendograma foi construído, onde 12 agrupamentos distintos foram formados. Para URP-PCR foram utilizados os oligonucleotídeos 1F, 2F, 2R, 9F, 13R, 17R, 25F, 32F, 38F, URP 2R, gerou o maior número de padrões distintos entre os isolados e foi capaz de amplificar 93,2% dos isolados. Os oligonucleotídeos 17R e 9F apresentaram a maior abrangência de amplificação, pois amplificaram 98,9% das amostras isoladas. Como resultado, foi possível observar que a técnica de BOX-PCR gerou um maior número de fragmentos do que o URP-PCR. Ademais, tanto o BOX-PCR quanto URP-PCR mostraram uma grande diversidade entre os isolados utilizados. Também foi possível a padronização de um protocolo de amplificação de URP-PCR BOX-PCR para esse grupo bacteriano, e deste modo possibilitando o estudo da diversidade desses microrganismos no ambiente.