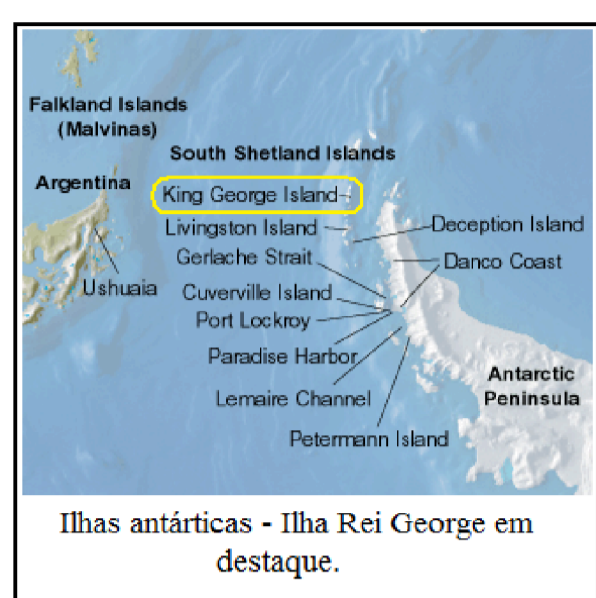


ATIVIDADE QUERATINOLÍTICA EM BACTÉRIA PSICRÓFILA ANTÁRTICA



Patrícia Aline Gröhs Ferrareze¹ – Maria Virgínia Petry²

Luís Fernando da Costa Medina¹

¹Laboratório de Biologia Molecular – UNISINOS

²Laboratório de Ornitologia - UNISINOS



INTRODUÇÃO

A bioprospecção de microrganismos como fonte de enzimas e outras substâncias de interesse biotecnológico vem motivando biólogos e outros profissionais a pesquisar os mais diversos ambientes do planeta; o continente Antártico, por sua vez, possui uma diversidade de organismos desconhecidos. A colonização deste continente por aves leva a deposição de penas e, portanto, bactérias capazes de degradá-las, consumindo uma importante fonte de carbono e nitrogênio. Estas bactérias, produzem proteases com atividade queratinolítica - queratinases - capazes de degradar a β -queratina das penas de aves nas baixas temperaturas polares. A ação das queratinases é de amplo espectro, podendo ser utilizadas em processos como a hidrólise das penas residuais em aviários, depilação do couro, ou também, na obtenção de aminoácidos, como a cisteína, precursora da coenzima A e da glutatona, um dos maiores antioxidantes do organismo. Assim, a identificação de tal atividade nestes microrganismos possui potencial industrial – nutricional – e biológico, alicerçando-se como uma possível alternativa à química do setor coureiro e aviário do país.

MATERIAIS E MÉTODOS

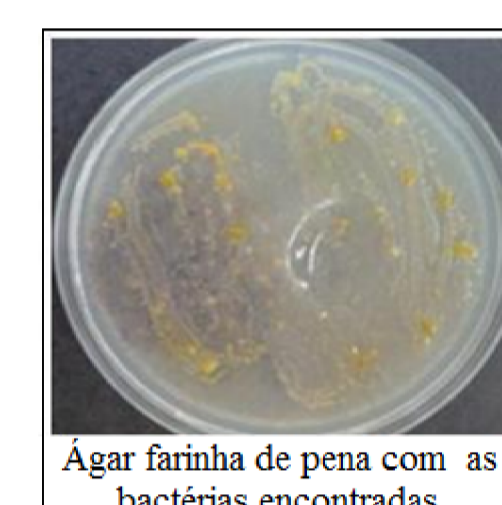
COLETA: A partir de amostras de penas de pingüim (*Pygoscelis papua*) em decomposição, provenientes da Ilha Rei George (62°05'0" S, 58°23'28" W), Antártica, foram isolados dois morfotipos bacterianos. Para conservação, os tubos contendo os fragmentos de penas foram armazenados sob refrigeração (4°C) durante todo o período.

ISOLAMENTO: As penas foram semeadas em Ágar farinha de pena (1%) e mantidas a temperatura de $4 \pm 2^\circ\text{C}$, $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e $37 \pm 2^\circ\text{C}$, por 4 a 7 dias em aerobiose para crescimento.

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR: Após obter colônias isoladas dos morfotipos, foi realizada a extração de DNA e amplificação do gene de rDNA 16s pela PCR. Para amplificação foram usados os primers 27F (5'-AGAGTTTGATC(AC)TGGCTCAG-3') e 1585R (5'-TGCAGG TGCTCTTTTGAAGGT-3').

IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA: Os ensaios bioquímicos realizados até o presente momento foram: coloração de Gram, catalase, motilidade e citrato de Simmons. Também foi avaliado o crescimento dos isolados em ágar MYP (Manitol gema de ovo e Polimixina B Sulfato) e ágar TSC (Tryptose Sulfito Cicloserina).

RESULTADOS



SEQUENCIAMENTO GENÉTICO

ISOLADOS	ESPÉCIE IDENTIFICADA	SIMILARIDADE GENÉTICA
MORFOTIPO 1	<i>Bacillus cereus</i> * <i>B. thuringiensis</i>	100%
MORFOTIPO 2	<i>Clostridium sordellii</i>	85%

TESTE	MORFOTIPO 1	MORFOTIPO 2
Coloração de Gram	Bacilos Gram-positivos, esporulados, sem cristal	Bacilos Gram-positivos, esporulados, sem cristal
Catalase	Positiva	Positiva
Motilidade	Positiva	Positiva
Citrato	Negativa	Positiva
Ágar base para <i>Bacillus cereus</i> (MYP) (sem Polimixina B Sulfato)	Crescimento ótimo Lecitinase + Fermentação do manitol -	Crescimento baixo
Ágar TSC para <i>Clostridium</i> sp. (sem Cicloserina)	Crescimento baixo	Crescimento ótimo

Dentre os isolados, destacaram-se os cultivados a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ e $25 \pm 2^\circ\text{C}$ - sendo estes últimos, mais satisfatórios - os demais não apresentaram crescimento significativo. Os resultados dos testes bioquímicos adicionais aumentam a suspeita em relação a existência de *Bacillus cereus*; entretanto, há incompatibilidade entre o modelo de cultivo citado na literatura para *Clostridium sordellii* e o modelo utilizado.

Apoio: UNISINOS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KONEMAN, Elmer W. **Diagnostico microbiologico** : Texto y atlas color. 5. ed. Bogota: Panamericana, C1999. 1432 p.

BROCK, Thomas D. **Biology of Microorganisms**. 1. ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1984. 847 p.