

## **Produção de Polihidroxialcanoato (PHA) por bactérias bioprospectadas da broca-da-andiroba (*Hypsipyla* spp.)**

Letícia Cristina Fernandes da Costa<sup>1</sup>, Diana Gomes Gradíssimo<sup>1</sup>, Luciana Pereira Xavier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém-PA.

Com os crescentes problemas ambientais causados pelo uso e exploração de plásticos petroquímicos convencionais, alternativas com propriedades físico-químicas semelhantes se fazem necessárias. Os bioplásticos veem suprir esta demanda, em especial os polihidroxialcanoatos (PHA), lipídeos neutros produzidos por diferentes micro-organismos como estoque de energia, entre eles bactérias, permitindo a obtenção de polímeros para embalagens e até para o setor médico, de forma limpa e sustentável. Neste cenário o presente objetiva detectar e quantificar a produção de PHA pela microbiota do intestino da broca-da-andiroba em estágio larval (*Hypsipyla* spp.). Foi realizado screening com 14 amostras isoladas do intestino da larva, sendo 8 amostras bacterianas, já identificadas por sequências da região ITS e D1/D2, e as restantes leveduras (registro no SISGEN nº A5B286D). A prospecção inicial se baseou em teste de fluorescência com Nile Red em placas de ágar. A fim de se aumentar a produção de biomassa e de PHA realizou-se cultivo das amostras mais promissoras em meio TSB suplementado com E2 mineral, medindo-se a biomassa pela absorbância a 500 nm por 48 horas e quantificação de PHA por fluorescência com Nile Red (Spiekermann et al. 1999). Analisou-se o genoma das linhagens utilizadas no estudo, disponíveis no NCBI, para verificação da presença de genes da biossíntese de PHA de acordo com anotação no RAST. Todas as amostras bacterianas apresentaram fluorescência em placa, indicando a presença de lipídios neutros corados pelo Nile Red. Como visto na literatura nenhuma das amostras de levedura se mostrou apta à produção de PHA. Quanto à quantificação de biomassa, o meio suplementado aumentou o crescimento de quatro das 5 amostras testadas, com a amostra U4 apresentando crescimento maior em TSB, o que diverge do encontrado em U5, outra amostra de *Klebsiella Oxytoca*. Até o momento foi quantificada a produção de lipídeos neutros em U5, U6 e U7, duas espécies de *Enterococcus* sp., todas cultivadas em meio TSB suplementado. Nesta avaliação as três amostras apresentaram fluorescência relativa similar, média de  $31,49 \pm 1,35$ . O genoma de *Klebsiella Oxytoca* apresenta 52 sequências codificantes (CDS) do metabolismo de ácidos graxos, lipídios e isoprenóis, sendo 14 destas atribuídas ao metabolismo de polihidroxibutirato, indício que a fluorescência observada nesta amostra trate-se de um PHA. O presente trabalho faz uso do patrimônio genético brasileiro em potencial aplicação biotecnológica, os resultados iniciais indicam a produção de PHA por bactérias amazônicas sendo as próximas etapas a otimização da produção e posterior caracterização do biomaterial.

Palavras-chave: Bioprospecção, Bioplástico, Biopolímero, Protease, Microbiota

Financiamento: PIBIC-AF/UFGA