

Isolamento de cianobactérias para bioprospecção

Pedro Henrique Neves Bastos

Jaewon Yoon

Dr. Samuel Cavalcante do Amaral

Profª Dra Camila Manoel Crnkovic

Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP

pedro_henrique.neves@usp.br

Objetivos

As cianobactérias representam uma fonte promissora de metabólitos secundários bioativos com potencial terapêutico.

O presente trabalho teve como objetivo o isolamento e classificação taxonômica em nível de família de linhagens de cianobactérias brasileiras obtidas a partir de coletas ambientais para futuros estudos de bioprospecção de produtos naturais.

Métodos e Procedimentos

A partir de coletas ambientais previamente obtidas pelo grupo de pesquisa de diferentes localidades do Brasil, o processo de isolamento foi feito utilizando os métodos de plaqueamento e seleção por pipeta capilar. Dado o tempo necessário para o crescimento das cepas, cada uma foi analisada em microscópio óptico para confirmação do isolamento e análise morfológica para classificação taxonômica.

Um pequeno volume das amostras de coleta ambiental foi plaqueada em duplicata em placas de Petri estéreis contendo meio de cultura BG-0 e BG-11 e armazenadas a 25 °C e irradiação 30 µmol fôtons m⁻².s⁻¹ em fotoperíodo de 12-12h claro-escuro.¹⁻²

Assim que se observou o surgimento de colônias de cianobactérias nas placas de Petri, as amostras foram submetidas a seleção por

pipeta capilar. Este procedimento consistiu no uso de pipeta capilar preparada a partir de uma pipeta de Pasteur alongada com o uso de calor. Em uma placa de Petri contendo algumas gotas de meio de cultura estéril (BG-0 ou BG-11), um pequeno volume de células foi transferido da placa oriunda da coleta ambiental para uma destas gotas de meio de cultura. Com o auxílio de um estereoscópio, os filamentos de cianobactéria foram selecionados com a pipeta capilar e transferidos de uma gota a outra até se obter um filamento único, que é transferido a um tubo de ensaio com meio de cultura, BG-0 ou BG-11 a depender do meio utilizado na placa de origem. O tubo foi armazenado a 25 °C e irradiação 30 µmol fôtons m⁻².s⁻¹ em fotoperíodo de 12-12h claro-escuro até o crescimento notável das células.¹⁻²

A confirmação do sucesso do isolamento foi feita pela análise por microscopia óptica e, quando positivo, a amostra seguiu para classificação taxonômica. A classificação taxonômica foi feita com base na classificação polifásica de KOMÁREK, 2014.³

Resultados

No total, 12 cepas foram isoladas e classificadas em nível de família com base em suas características morfológicas. Estas irão compor a Coleção de Cianobactérias da

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (CFCF), mantida pelo laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais Microbianos (LabAzul).

Tabela 1 - Cepas Isoladas

Código da Cepa	Classificação Taxonômica	Local de Origem
CFCF 19	Nostocales, Scytonemataceae	São Paulo, SP
CFCF 20	Nostocales, Scytonemataceae	Sertãozinho, SP
CFCF 21	Synechococcales, Pseudanabaenaceae	São Paulo, SP
CFCF 22	Nostocales, Rivulariaceae	Santo André, SP
CFCF 23	Synechococcales, Pseudanabaenaceae	São Paulo, SP
CFCF 24	Oscillatoriaceae, Oscillatoriaceae	São Paulo, SP
CFCF 25	Synechococcales, Leptolyngbyaceae	São Paulo, SP
CFCF 26	Nostocales, Godleyaceae	São Paulo, SP
CFCF 27	Nostocales, Hapalosiphonaceae	Recife, PE
CFCF 28	Synechococcales, Leptolyngbyaceae	Recife, PE
CFCF 29	Nostocales, Rivulariaceae	São Paulo, SP
CFCF 30	Oscillatoriaceae, Microcoleaceae	São Paulo, SP

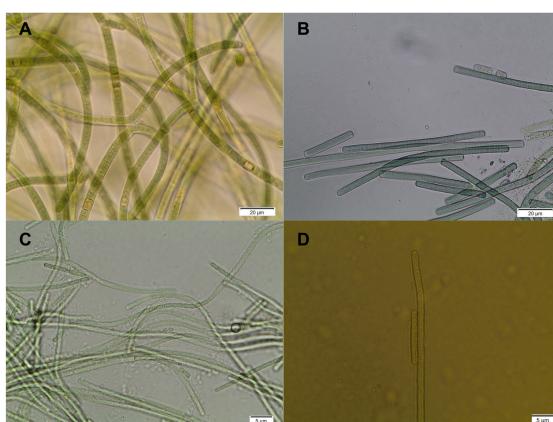


Figura 1 – A: CFCF 19(Scytonemataceae); B: CFCF 24(Oscillatoriaceae); C: CFCF 28(Leptolyngbyaceae); D: CFCF 21(Pseudanabaenaceae)

Ao fazer parte da Coleção de Cianobactérias da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (CFCF), as cepas isoladas passarão por repiques periódicos para garantia de sua manutenção.

Conclusões

Espera-se que as 12 linhagens isoladas ao longo deste projeto sirvam como material de estudo para bioprospecção de produtos naturais e contribua positivamente para a descoberta de metabólitos secundários bioativos de cianobactérias.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa Unificado de Bolsas (PUB) da USP (bolsa #1942), à PRPI (Edital 001/2023 - Bolsas de Pós-Doutorado para Pesquisadoras e Pesquisadores Negros) e à FAPESP (processos no. 2022/02872-4 e 2024/02692-1).

Referências

- (1) Acreman, J. Algae and Cyanobacteria: Isolation, Culture and Long-Term Maintenance. *J. Ind. Microbiol.* 1994, 13 (3), 193–194.
- (2) Algal Culturing Techniques; Andersen, R. A., Ed.; Elsevier/Academic Press: Burlington, Mass., 2005.
- (3) Komárek, J.; Kaštovský, J.; Mareš, J.; Johansen, J. R. Taxonomic Classification of Cyanoprokaryotes (Cyanobacterial Genera) 2014, Using a Polyphasic Approach. *Preslia* 2014, 86 (4), 295–335.