

451

VERIFICAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE TRANSFORMAÇÃO NATURAL DE AZOSPIRILLUM BRASILENSE COM DNA PROVENIENTE DE PLANTAS DE TABACO TRANSGÊNICAS CONTENDO UM GENE DE RESISTÊNCIA À CANAMICINA. *Daiane Peres,*

Deise Cristine Friedrich, Luciane Maria Pereira Passaglia (orient.) (UFRGS).

Existe uma preocupação geral em relação à possibilidade da ocorrência de transferência de genes que conferem resistência a antibióticos para as bactérias que convivem com plantas geneticamente modificadas. Um dos mecanismos de transferência de genes, que permite que uma bactéria em estado "competente" adquira material genético de outras espécies ou mesmo disperso no ambiente, é a transformação natural. A fim de verificarmos a possibilidade da ocorrência desse processo, utilizamos *Azospirillum brasilense*, uma bactéria fixadora de nitrogênio, abundante em solos de regiões subtropicais como recipiente de material genético doado por plantas de tabaco contendo o gene *nptII*, que confere resistência à canamicina. Dois mililitros de um inóculo contendo 10^8 células/ml foram adicionados nas raízes de plantas de tabaco com altura de 1 cm., que foram mantidas em casa de vegetação com solução nutritiva. A amostragem das bactérias foi feita a cada dois meses e consistiu na inoculação de 100 microlitros de suspensão bacteriana, proveniente da rizosfera das plantas, em frascos com 6 ml de meio Nfb-semi-sólido. Esses frascos foram mantidos à 30°C para a formação de uma película característica de microrganismos fixadores de nitrogênio. Dessa película, o DNA foi extraído e utilizado em reações de amplificação, com oligonucleotídeos específicos para os genes *nptII* e *nifH*, um dos genes mais conservados da fixação biológica do nitrogênio, a fim de verificarmos a possível transferência de material genético das plantas para as bactérias e para confirmarmos a presença de *A. brasilense* nas amostras testadas. A presença dessa bactéria também foi confirmada através da clivagem dos fragmentos correspondentes à reação para o gene *nifH* com a enzima *TaqI*. Sete coletas foram feitas e não foi detectada a presença do gene *nptII* nas bactérias que estavam em contato com sete plantas de tabaco transgênicas. Três plantas de tipo selvagem foram utilizadas como controle no experimento.