

Sessão 13

Genética Molecular A

101

ANÁLISE DOS GENES GLNB E GLND DA BACTÉRIA DIAZOTRÓFICA AZOSPIRILLUM AMAZONENSE. *Fernando Hayashi Sant Anna, Irene Silveira Schrank (orient.)* (UFRGS).

A bactéria *Azospirillum amazonense* pertence a um grupo de microorganismos que promovem crescimento de plantas de importância econômica através da fixação biológica do nitrogênio e da produção de reguladores de crescimento vegetal. A fixação biológica do nitrogênio é um processo mediado por um complexo enzimático Nitrogenase, capaz de converter o dinitrogênio atmosférico, quimicamente inerte, em amônia, quimicamente reativo e assimilável por vegetais. As proteínas PII (GlnB) e Uridiltransferase (GlnD) estão diretamente envolvidas com a percepção dos níveis intracelulares de nitrogênio e com a regulação da expressão de genes envolvidos no processo de fixação do nitrogênio. O presente trabalho visa a clonagem e caracterização dos genes *glnB* e *glnD* de *A. amazonense*. Um fragmento de aproximadamente 230 pb foi obtido por PCR utilizando *primers* específicos, projetados a partir de regiões conservadas de genes *glnB* de diferentes bactérias. O mesmo foi clonado em pUC18 e sua sequência nucleotídica foi determinada, demonstrando um alto grau de homologia com o gene *glnB* de *A. brasilense*. Uma análise feita por Southern, utilizando esse fragmento como sonda contra o DNA genômico de *A. amazonense* digerido com Sall, revelou um forte sinal de hibridização na região dos fragmentos de aproximadamente 2 kb de tamanho. Está sendo construída uma biblioteca parcial de *A. amazonense* com os fragmentos isolados desta região de 2 kb. Os clones gerados serão analisados por hibridização de colônia e os que contiverem o gene *glnB* terão suas sequências nucleotídicas determinadas, possibilitando a obtenção do gene *glnB* completo, bem como suas regiões flangeadoras. A mesma metodologia de construção de banco parcial será utilizada para o isolamento do gene *glnD*. Será utilizado como sonda heteróloga um fragmento contendo a sequência parcial do gene *glnD* de *A. brasilense*, que foi obtida no nosso laboratório através da técnica de RDA. (PIBIC).