

232

ISOLAMENTO DO GENE QUE CODIFICA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) EM AZOSPIRILLUM. Clarissa Magalhães Corrêa, Irene Silveira Schrank (orient.) (UFRGS).

A fixação biológica do nitrogênio consiste na redução do nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia sendo realizada por diferentes microorganismos associados a raízes de plantas ou de vida livre no solo. As reações de transferência de elétrons que ocasionam a redução do N_2 são possíveis devido ao complexo da enzima nitrogenase. Em função da grande demanda por energia, o processo de fixação do nitrogênio está associado à respiração celular. O complexo da nitrogenase é irreversivelmente inativado por significativos níveis de oxigênio e pela presença de espécies reativas de oxigênio (EROs) formadas através das reações de oxirredução. Uma das primeiras EROs formadas é o radical superóxido, que por ação de superóxidos dismutases (SODs) é detoxificada a oxigênio e peróxido de hidrogênio. Com o objetivo de isolamento de genes de SODs foi realizada uma PCR a partir de DNA genômico de *A. brasilense* e *A. amazonense* utilizando primers degenerados. Em ambas reações foram amplificados fragmentos com aproximadamente 0,4 kb. Estes fragmentos foram clonados no vetor pUC18 e seqüenciados. O seqüenciamento de *A. amazonense* e *A. brasilense* revelou um fragmento de 335 pb e um fragmento de 449 pb respectivamente. A análise dos fragmentos contra seqüências presentes em banco de dados apresentou homologia com SODs de outros microorganismos. Foi realizado southern blot a partir de DNA genômico das duas espécies de *Azospirillum* clivado com as enzimas de restrição EcoRI e Sall, sendo utilizado como sonda o fragmento de *A. amazonense* anteriormente seqüenciado. Foi observado um sinal de hibridização na região de 4,5 kb. Para o isolamento do gene completo está sendo construída uma biblioteca genômica parcial de *A. amazonense* utilizando a região dos fragmentos de aproximadamente 4,5 kb. Os clones com hibridização positiva, isolados da biblioteca genômica, serão seqüenciados e as regiões regulatórias analisadas. (BIC).