

096

UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA DETECÇÃO DE POSSÍVEIS MODIFICAÇÕES NOS MICRORGANISMOS DOS SOLOS PROVENIENTES DA CONVIVÊNCIA COM CULTURAS TRANSGÊNICAS.

Deise Cristine Friedrich, René A. Soares, Luciane Maria Pereira Passaglia (orient.) (Departamento de Genética, Instituto de Biociências, UFRGS).

Com o objetivo de investigar a possibilidade de transferência de DNA de plantas transgênicas para as bactérias do ambiente, um dos argumentos mais utilizado contra a utilização de organismos geneticamente modificados (OGMs), estamos fazendo uso de métodos moleculares que permitam avaliar o impacto genético-ecológico proveniente do cultivo destas plantas nos microrganismos presentes nos solos gaúchos. Para isso, estamos utilizando a bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense*, que possui o sistema de fixação biológica de nitrogênio (FBN) extremamente regulado, como organismo-alvo e plantas transgênicas de tabaco, contendo o gene *nptII*, o qual confere resistência ao antibiótico canamicina. Sementes de tabaco transgênicas foram germinadas em placas de Petri. Quando as plântulas apresentavam tamanho de cerca de 0,5 cm essas foram transferidas para uma mistura inerte de vermiculita e areia e mantidas em casa de vegetação com solução nutritiva. A essas plantas foi acrescentada uma cultura de *A. brasilense*, cerca de 10⁸ bactérias/ml. O monitoramento das bactérias consiste em retirar uma amostra de vermiculita/areia da rizosfera das plantas a cada dois meses, suspender as bactérias presentes nessa amostra em solução salina estéril e inocular 100 µl dessa suspensão em frascos contendo 5,0 ml de meio Nfb semi-sólido. Da película bacteriana formada após 16 horas de multiplicação à temperatura de 30°C é extraído o DNA. Esse DNA é utilizado em PCRs, tendo como iniciadores oligonucleotídeos correspondentes aos genes *nptII* e *nifH*, um dos genes mais conservados da FBN. Os fragmentos amplificados na reação correspondente ao gene *nifH*, depois de purificados, são clivados com a enzima *TaqI* e os padrões de clivagem obtidos são comparados com o padrão originado pela clivagem do fragmento obtido na reação-controle, que contém DNA de *A. brasilense*. Até momento, duas coletas já foram realizadas e a análise do DNA das bactérias recuperadas da rizosfera de 7 plantas transgênicas não apresentou qualquer indício da presença do gene *nptII* nessas bactérias. Três plantas selvagens são utilizadas como controle negativo do experimento. (PIBIC/CNPq-UFRGS).