

Azospirillum brasilense é capaz de um crescimento diazotrófico pela utilização de uma nitrogenase dependente de molibdenum. A nitrogenase é uma metaloenzima complexa, composta por duas subunidades protéicas denominadas Fe-proteína e MoFe-proteína. A Fe-proteína nativa é um dímero de aproximadamente 68kDa, formada por duas subunidades idênticas, codificadas pelo gene *nifH*. O produto do gene *nifM* é necessário para o processamento e estabilização da Fe-proteína. Desta forma, as proteínas NifH e NifM são fundamentais para a produção de uma Fe-proteína funcional. Utilizando a técnica de mutagênese sítio direcionada com o transposon Tn5 foram isolados vários mutantes Nif⁻ de *Azospirillum brasilense*. Com o objetivo de isolarmos a região correspondente ao gene *nifM*, o DNA de um mutante Nif⁻ de *Azospirillum brasilense* foi extraído, digerido com *EcoRI* e hibridizado com um fragmento interno do Tn5. O fragmento de DNA do mutante, contendo o transposon inserido, foi subclonado e mapeado com enzimas de restrição. Fragmentos pequenos foram novamente subclonados em vetores bluescript e seqüenciados. Em um fragmento de 0,8kb de *EcoRI* foi encontrada uma similaridade significativa a nível de aminoácidos com a proteína NifM de *Klebsiella pneumoniae*. O gene *nifM* localizado no fragmento isolado do DNA de *A. brasilense* não faz parte dos operons *nifHDKorf1Y*, *nifENXorf3* e *niforf2USVW*, previamente identificados no laboratório. (CNPq, FAPERGS e PROPESP).