

454

CARACTERIZAÇÃO DE SEQUÊNCIAS DIFERENCIAIS ENTRE AZOSPIRILLUM AMAZONESNSE E A. BRASILENSE ISOLADAS POR REPRESENTATIONAL DIFFERENCE ANALYSIS. Ricardo Cecagno, Irene Silveira Schrank (orient.) (UFRGS).

A fixação biológica do nitrogênio é o único processo natural no qual esse elemento presente nas mais diferentes biomoléculas é novamente disponibilizado para os seres vivos. Essa importante reação é unicamente realizada por microrganismos denominados diazotróficos. O gênero *Azospirillum* faz parte do grupo de diazotróficos que fixa o nitrogênio livremente no solo ou em associação com vegetais de grande importância econômica como arroz, trigo, milho e cana-de-açúcar. Do ponto de vista econômico e ecológico pretende-se desenvolver linhagens capazes de se associar com esses vegetais e iniciar precocemente a fixação do nitrogênio, além de linhagens que sejam capazes de realizar esse processo em solos áridos, salinos ou oligotróficos. A espécie *Azospirillum amazonense*, recentemente isolada, possui a característica de fixar nitrogênio em associação com a cana-de-açúcar e difere de *A. brasilense* que fixa o nitrogênio livremente no solo em várias características, já observadas em nosso laboratório. Com a metodologia de RDA (*representational difference analysis*), pretende-se isolar de *A. amazonense* as regiões genômicas que são únicas dessa espécie, o que é importante para o estudo da diversidade de organismos diazotróficos, além de nos fornecer informações sobre a associação bactéria-planta. O protocolo utilizado requer 2 µg dos DNAs genômicos do Tester/Driver que são ligados a diferentes oligonucleotídeos e amplificados por PCR. Após mistura, desnaturação e hibridização subtrativa por 24 horas, os fragmentos diferenciais são purificados, clonados e transformados em *E. coli* XLI. Foram obtidos 200 clones dos quais 96 foram seqüenciados. Das 62 diferentes seqüências obtidas, 19 ORFs são válidas e 43 hipotéticas. Estudos referentes a essas seqüências estão sendo realizados. Apoio: Fapergs e PIBIC-CNPq.