

308

**ISOLAMENTO DO GENE QUE CODIFICA PARA O FATOR TRANSCRICIONAL NTRC DO DIAZOTRÓFICO AZOSPIRILLUM AMAZONENSE.** Anna Martha Vaitses Fontanari, Débora Broch Trentini, Irene Silveira Schrank (orient.) (UFRGS).

O gênero *Azospirillum* é composto por bactérias diazotróficas de vida livre capazes de se associar com gramíneas economicamente importantes, como cana-de-açúcar e arroz. Em associação, promovem o crescimento vegetal por diversos mecanismos, como produção de fitohormônios, indução da absorção de nutrientes pelas raízes e fixação biológica do nitrogênio. Esta última ocorre apenas sob condições ambientais específicas, devido ao seu custo energético bastante elevado e à incompatibilidade com altos níveis de oxigênio. Em decorrência, a célula bacteriana desenvolveu sistemas regulatórios estridentes que limitam o processo de fixação do nitrogênio a condições de microaerofilia e escassez de nitrogênio fixado. Dentro disso, nosso grupo vem estudando as vias regulatórias do metabolismo de nitrogênio da espécie *Azospirillum amazonense*, que se destaca pela ampla distribuição em solos brasileiros. O fator transcricional NtrC é um componente chave do Sistema Global de Regulação do Nitrogênio, caracterizado a partir de enterobactérias. Está associado a diversos promotores dependentes do fator  $\sigma^{54}$ , que controla a expressão de proteínas envolvidas no metabolismo/fixação de nitrogênio. O presente estudo tem como objetivo isolar e caracterizar o gene *ntrC* de *A. amazonense*. Para tal, foram criados primers degenerados a partir de regiões altamente conservadas de genes ortólogos de diversos microrganismos filogeneticamente próximos a *Azospirillum* sp. Regiões flanqueadoras serão isoladas por técnicas de caminhada cromossômica, como GenomeWalker PCR. A partir disso espera-se isolar também o gene *ntrB*, tipicamente organizado em operon com *ntrC*. NtrB é uma histidina cinase que fosforila (ativa) NtrC em condições de limitação de nitrogênio. O conhecimento da seqüência destes genes futuramente subsidiará experimentos de caracterização de promotores que apresentam seqüências consenso para este fator transcricional.