

098

ESTIMATIVA DA PRESENÇA DE MICRORGANISMOS DIAZOTRÓFICOS EM SOLOS CULTIVADOS COM MILHO ATRAVÉS DE TÉCNICAS MOLECULARES. Geancarlo Zanatta, René Arderius Soares, Luciane Maria Pereira Passaglia (orient.) (Departamento de Genética, Instituto de Biociências, UFRGS).

A Fixação Biológica do Nitrogênio é um processo fundamental para a sustentabilidade da vida na Terra. No entanto, ela só é feita por um seleto grupo de microrganismos, chamados fixadores de nitrogênio ou diazotróficos. Todos os organismos diazotróficos possuem um gene *nifH*, o qual codifica a Fe-proteína, que é um dos componentes da nitrogenase. Esse gene tem sido bastante estudado através de abordagens envolvendo organismos não-cultiváveis, as quais fornecem uma visão mais completa da comunidade diazotrófica do que as técnicas microbiológicas convencionais. Nesse trabalho, descrevemos a metodologia utilizada para estimar a presença de organismos diazotróficos em comunidades bacterianas presentes em amostras ambientais (solo rizosférico, raiz e parte aérea) obtidas de duas variedades de milho (Santa Helena e Santa Rosa) cultivadas na Estação Experimental Agrônômica da UFRGS, em Eldorado do Sul, aos 30 e 115 dias após a emergência das plantas. Das amostras coletadas foi extraído o DNA das bactérias. Esse material foi utilizado como molde em reações de amplificação em cadeia, onde foram utilizados oligonucleotídeos degenerados, que amplificam uma região do gene *nifH*. Alíquotas dos fragmentos amplificados nessas reações serviram como DNA-molde para uma segunda reação de amplificação. Nesse caso, os oligonucleotídeos iniciadores anelaram em uma região interna do fragmento anteriormente amplificado, resultando em fragmentos de tamanhos entre 314 a 317 nucleotídeos. Os fragmentos amplificados a partir dos DNAs das amostras ambientais e de DNAs extraídos de linhagens bacterianas isoladas e identificadas foram clivados com as enzimas TaqI e HaeIII. Os produtos das clivagens foram analisados em géis de acrilamida 10%, corados com nitrato de prata e os padrões obtidos foram analisados através do programa KBcalc. Através da análise dos géis foi possível estimar a presença dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter*, e *Azoarcus* nas amostras ambientais estudadas.