



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Expressão diferencial de genes relacionados à fixação biológica do nitrogênio em <i>Paenibacillus riograndensis</i> (SBR5T)
Autor	LAURA JUNQUEIRA TRARBACH
Orientador	LUCIANE MARIA PEREIRA PASSAGLIA

Paenibacillus riograndensis (SBR5^T) é uma bactéria Gram-positiva isolada a partir da rizosfera de trigo no Rio Grande do Sul. Ela tem grande potencial para aplicação na agricultura, pois apresenta características que promovem o crescimento e desenvolvimento vegetal, tais como: produção de sideróforos e compostos indólicos, solubilização de fosfato e fixação biológica do nitrogênio (FBN). A FBN é a redução do nitrogênio molecular existente na atmosfera a amônio e é catalisada pela enzima nitrogenase. Os genes relacionados à síntese e regulação da nitrogenase padrão são denominados *nif*. Além desse sistema padrão, alguns microrganismos fixadores apresentam enzimas alternativas, codificadas pelos genes *anf* e *vnf*. O sequenciamento do genoma de *P. riograndensis* revelou três agrupamentos com genes relacionados à FBN: dois deles contendo apenas genes *nif*, e o terceiro, genes *nif* e *anf*. O objetivo deste trabalho foi verificar a expressão de um gene estrutural de cada agrupamento (*nifH1*, *nifH2* e *anfH*) nas condições de fixação do nitrogênio. Para tal, culturas de *P. riograndensis* foram lavadas em solução salina (NaCl 0,9%) e inoculadas nos meios TBNR (condição de fixação) e KB (condição controle). Após cultivo em estufa a 28 °C por 48 h, foi verificada a atividade da nitrogenase por ensaio de redução de acetileno, e as células foram coletadas para extração de RNA com Trizol, em triplicatas biológicas para cada condição. As amostras foram quantificadas e visualizadas por eletroforese em gel de agarose 1,5%, posteriormente tratadas com DNase (Promega) e utilizadas como molde para síntese de cDNA com a enzima M-MLV (Invitrogen). Efetuaram-se diluições do cDNA de 1:100 para a realização da PCR em tempo real. Iniciadores desenhados a partir da sequência do genoma foram utilizados para amplificar os três genes investigados. A normalização das amostras foi realizada através da expressão do gene 16S rRNA. Os níveis de expressão relativa foram avaliados seguindo o método comparativo $2^{-\Delta\Delta Ct}$ e comparados estatisticamente pelo teste de Tukey. Foi verificado que os níveis de expressão dos genes *nifH1* e *anfH* foram significativamente mais elevadas em condições de fixação em relação à situação controle. O primeiro apresentou um incremento da expressão bem mais acentuado (767 vezes maior que no controle) que o segundo (21 vezes maior que o controle). No entanto, não foram detectados transcritos do gene *nifH2*, que foi considerado inativo.