



Categoria: Doutorado

Biotecnologia e biossegurança

Mutação na região promotora do grupo gênico *tonB-exBD1D2* afeta a atividade da nitrogenase e a produção de sideróforos em *G. diazotrophicus*

Cleiton de Paula Soares¹; Jéssica de Paula Ferreira²; José Ivo Baldani³; Marcia Soares Vidal³

¹Bolsista CAPES, Doutorando em Biotecnologia Vegetal - UFRJ, cleiton_depaula@yahoo.com.br

²Bolsista CNPq, Graduada em Agronomia - UFRRJ, jeessica_ufrj@yahoo.com.br

³Pesquisador Embrapa Agrobiologia, marcia@cpnpab.embrapa.br, ibaldani@cpnpab.embrapa.br

Em um estudo anterior, envolvendo a bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* estirpe PAL5, foi gerado um mutante *tonB:Kan*, por meio da inserção do transposon (*kan*) na região promotora do grupo gênico *tonB-exBD1D2*, que codifica o sistema TonB, sendo designado Gdiaa31. Avaliando o envolvimento do sistema TonB na aquisição de ferro (Fe^{+3}), foram analisados dois aspectos do metabolismo que estão envolvidos com a disponibilidade desse elemento: atividade da nitrogenase e produção de sideróforos. A atividade da nitrogenase das estirpes PAL5 e Gdiaa31 de *G. diazotrophicus* foi determinada por ensaios de redução de acetileno (ARA). Para tal, cada estirpe foi inoculada no meio líquido LGI-P e cultivado sob agitação a 200 rpm por 72 h a 30°C, posteriormente, $1,5 \times 10^5$ células foram inoculadas em meio LGI-P semi-sólido, com diferentes concentrações de ferro ($FeCl_3$), com ou sem adição de quelante de ferro (2,2-dipiridil). Os ensaios de ARA foram realizados após crescimento das culturas. Para a avaliação da produção de sideróforos, as estirpes selvagem e mutante foram cultivadas em meio LGI-P líquido, com ou sem $FeCl_3$ e incubadas sob agitação. As células foram removidas por centrifugação e o sobrenadante da cultura foi misturado a solução de cromazurol S (CAS). Após incubação e desenvolvimento da coloração característica da reação, foi medida a absorvância com espectrofotômetro. Os resultados demonstraram que a mutação insercional, influenciou a atividade da nitrogenase, com redução de 50-60% na estirpe mutante, em relação a estirpe selvagem, mesmo na presença de Fe. O mutante Gdiaa31 acumulou sideróforo no meio, indicando que essa estirpe foi incapaz de realizar a absorção do sideróforo secretado. Assim um dos genes identificados *tonB-exBD1D2* está envolvido na internalização do complexo sideróforo-ferro, sob condições limitadas de Fe.

Palavras-chave:

bactéria diazotrófica endofítica, metabolismo de ferro, mutação.