



Categoria: Apoio técnico

Fixação Biológica de Nitrogênio

Sequenciamento da região 16S rDNA de microrganismos isolados da cultura de cana-de-açúcar

Cecília de Souza Antônio¹, Veronica Massena Reis²

¹Bolsista de Apoio Técnico, CNPq, ceciliamat2004@yahoo.com.br;

²Pesquisadora Embrapa Agrobiologia, veronica.massena@embrapa.br.

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande destaque no cenário nacional principalmente devido à produção de açúcar e etanol. Sendo uma cultura altamente dependente do adubo nitrogênio para o seu desenvolvimento, requer altas doses deste mineral. Bactérias diazotróficas que se associam com a cultura são capazes de fixar o nitrogênio e liberá-lo para a planta. Avanços e inovações de técnicas moleculares baseadas em extração de DNA genômico e análises de sequência de genes ribossômicos como o 16S rRNA (rDNA) têm permitido identificar estes microrganismos. O trabalho teve como objetivo identificar as bactérias diazotróficas isoladas de cana-de-açúcar. Foi realizada a extração do DNA genômico utilizando o kit o MiniKit QIAamp® DNA da QIAGEN. O fragmento foi amplificado através da combinação de iniciadores 27F e Amp2. As reações de amplificação foram realizadas em termociclador PTC 100 (MJ Research) com uma etapa de desnaturação (94°C por 3 min.), seguido de 30 ciclos intermediários (94°C por 1 minuto, 58°C por 1 minuto e 72°C por 2 min), e uma etapa final de extensão (72°C por 5 min.) seguido por resfriamento (4°C por 15 min.). Após a amplificação do gene, o produto da PCR foi purificado com o uso do kit Wizard® SV (Promega). Os resultados das sequências foram comparados em bancos de dados do NCBI utilizando o programa BLAST e no BioCloud-net pelo EzTaxon-e. As sequências foram alinhadas usando o programa CLUSTAL W através do método Neighbor-Joining. A análise filogenética foi realizada utilizando o programa MEGA4. Das 40 bactérias analisadas 12 foram semelhantes ao gênero *Gluconacetobacter*, 13 ao *Burkholderia* e 3 ao *Klebsiella*.

Palavras-chave:

bactéria; fixação biológica de nitrogênio; taxonomia.