

## **Padronização das condições de indução de mutagênese por agentes físicos e químicos em *Azomonas* sp.**

**Luan da Luz Ramos<sup>1</sup>, André Luiz Martinez de Oliveira<sup>1</sup>, Elisete Pains Rodrigues<sup>2</sup>, Mayara Barbosa Silva<sup>1</sup>, Jéssica Ellen de Oliveira<sup>2</sup>, Fernanda de Oliveira<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina - Departamento de Bioquímica e Biotecnologia. Caixa Postal 10.001 CEP 86057-970 Londrina – PR - E-mail: [Luanramos07@hotmail.com](mailto:Luanramos07@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Estadual de Londrina – Departamento de Biologia Geral. Caixa Postal 10.001 CEP 86057-970 Londrina – PR

**Introdução:** O incremento da capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN) pela manipulação do genoma bacteriano é uma alternativa biotecnológica para diminuição da dependência agrícola por fertilizantes nitrogenados. O presente estudo teve como objetivo padronizar condições para indução de mutagênese por métodos físicos e químicos na bactéria *Azomonas* sp. **Métodos:** Colônias puras do micro-organismo alvo foram inoculadas em meio líquido de cultura (meio L), e ajustadas a D.O. de 0,5 a 680 nm após 24 horas de crescimento a 28 °C. Alíquotas de 1 mL das suspensões obtidas foram submetidas à indução de mutagênese aleatória por exposição a diferentes concentrações (0, 2, 4, 6, 8 e 10 mM) de metilmetanosulfonato (MMS) por 30 minutos à 25° C (mutagênese química), ou por exposição em diferentes tempos (0, 5, 10, 20, 30 e 40 segundos) à radiação ultravioleta (mutagênese física). Após os tratamentos, as suspensões celulares foram diluídas e plaqueadas em meio JMV sólido para determinação do número de unidades formadoras de colônia (UFC). **Resultados:** Os diferentes métodos de indução de mutagênese promoveram taxas de sobrevivência que variaram de 0,027% a 14,49% no método químico, e 0,02% a 3,6% no método físico. Estudos semelhantes realizados com outras espécies bacterianas indicam que taxas de sobrevivência de 5% a 10% proporcionam grande número de células mutagenizadas, favorecendo a seleção do fenótipo de interesse. A mutação química com exposição das células a 2 mM de MMS e a mutação física com exposição a radiação UV por 5 segundos promoveu 3,2% e 3,6% de taxa de sobrevivência, respectivamente, resultando nas condições ideais de mutagênese aleatória em *Azomonas* sp. **Conclusões:** A partir da identificação das condições ideais para mutagênese, estão sendo conduzidos ensaios para selecionar estirpes mutantes de *Azomonas* sp. com capacidade de FBN incrementada pela identificação de mutantes com elevada capacidade de excreção de amônio(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) em meio de cultivo livre de fontes de nitrogênio.

**Agências de Fomento:** Fundação Araucária, INCT-FBN, CNPq.

**Palavras-chave:** Bactérias diazotróficas, melhoramento de bactérias, biotecnologia do solo.