

Azospirillum brasilense é uma bactéria fixadora de nitrogênio de vida livre, que é capaz de manter uma relação associativa com diversas gramíneas de elevado interesse econômico. Sabe-se que, neste organismo e em outras bactérias diazotróficas, a conversão do nitrogênio molecular (N_2) à amônia (NH_3) é catalisada por um complexo enzimático denominado nitrogenase, cuja regulação e expressão depende da ação conjunta de pelo menos vinte genes *nif*. Diversos genes *nif* já foram isolados em nosso laboratório (genes *nifH*, D, K, Y, N, E, U, S, V). A fim de identificarmos outras regiões do genoma de *A. brasilense* contendo genes *nif* foi utilizada a técnica de mutagênese em sítio-direcionado com o transposon Tn5. De uma biblioteca genômica construída em EMBL4 foram isolados dois recombinantes [6,5(1) e 6,5(5)] os quais continham uma região de DNA envolvida no processo de fixação de nitrogênio desta bactéria. O sequenciamento parcial de um fragmento de 3,0 kb de *EcoRI* do 6,5(5) revelou uma homologia de 55,3% com a porção 5' inicial do gene *nifM* de *K. pneumoniae*. No entanto, este segmento não contém o gene todo. Devido a isto, os objetivos deste trabalho consistem em: subclonagem dos segmentos adjacentes ao fragmento de 3,0 kb, sequenciamento destes fragmentos e, ao mesmo tempo, obtenção de novos recombinantes contendo a totalidade do suposto gene *nifM* de *A. brasilense*. (FAPERGS, CNPq, PROPESP)