

BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ASSOCIADAS À *COFFEA ARABICA* L. COM POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL.

PHM, Andrade¹*; PC, Machado¹; C C, Moreira¹, B, Soriano¹; R, Cavicchioli¹; C P, Sousa¹; P T, Lacava¹.

¹Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Morfologia e Patologia, Laboratório de Microbiologia e Biomoléculas. * e-mail (autor para correspondência): pauloandrade@ufscar.br

O café (*Coffea* sp.) pertence à família *Rubiaceae*, que tem cerca de 500 gêneros e mais de 6.000 espécies. Trata-se do gênero mais importante, em termos econômicos principalmente devido à espécie *Coffea arabica* L..

Micro-organismos endofíticos são aquelas que habitam o interior de plantas sem causar danos aparentes produzindo ou não estruturas externas. Já se conhecem produtos de importância agrícola e biotecnológica produzidos por estes micro-organismos tais como toxinas, antibióticos, fatores de crescimento, fármacos e enzimas.

Bactérias endofíticas podem conferir vantagens para a planta hospedeira por meio da promoção de crescimento vegetal e controle biológico. O efeito de promoção de crescimento vegetal atribuído às bactérias endofíticas pode ocorrer por meio da fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção de fitohormônios como o ácido inol-acético. A utilização dessas bactérias para promoção de crescimento vegetal é descrita como eficiente para outras culturas e podem apresentar resultados favoráveis para a cultura do café.

Nesse sentido, a caracterização da microbiota endofítica bacteriana relacionada ao café pode contribuir para o desenvolvimento de técnicas que otimizam sua produção em função da promoção de crescimento vegetal. Além disso, deve-se considerar a importância da exploração de plantas de clima tropical, como o café, como reservatórios de bactérias com enorme potencial agrícola e tecnológico.

A presente pesquisa objetivou o isolamento e a caracterização bioquímica da comunidade bacteriana cultivável endofítica associada à cultura do café com o potencial biotecnológico para promoção de crescimento vegetal.

As amostras vegetais de raiz, caule, folhas e frutos de café (*Coffea* sp.) foram coletadas na região central do Estado de São Paulo em propriedades rurais de cultivo convencional e de cultivo orgânico. Foram submetidas à desinfecção superficial e cortadas asépticamente em pequenos fragmentos e macerados em tampão PBS. O macerado foi posteriormente incubado sob agitação de 150 rpm a 28°C por 1 hora. Foram realizadas as diluições seriadas apropriadas e o extrato semeado em placas de Petri contendo meio sólido TSA (Ágar Triptona de Soja), suplementado com benomil (50 µg/mL), para evitar possível crescimento de fungos. As placas foram então incubadas por a 28°C para verificação das colônias isoladas. Estas colônias foram contadas e amostras aleatórias dos isolados bacterianos foram purificadas por meio da técnica de estrias de esgotamento em placas contendo o meio TSA e incubadas a 28° C por 48 h. As colônias isoladas foram repicadas em meio líquido TSB (Caldo Triptona de Soja) e então preparadas para o armazenamento em freezer a -80°C para os testes bioquímicos posteriores.

As linhagens bacterianas foram avaliadas quanto à solubilização de fosfato (SF) e fixação biológica de nitrogênio (FBN).

Para avaliar a solubilização de fosfato, as bactérias foram inoculadas, em quadruplicata, em meio de cultura sólido contendo fosfato insolúvel. As placas, com o mesmo volume de meio, foram incubadas por 120 horas e posteriormente visualizadas quanto à presença de halo ao redor das linhagens capazes de solubilizar fosfato. A presença de um halo ao redor da linhagem indica sua capacidade de solubilizar fosfato. A capacidade das linhagens em realizar o processo de FBN foi avaliada qualitativamente em tubos de ensaio, em triplicata, contendo 10 mL de meio de cultura livre de nitrogênio (NFb semi-sólido). Essas linhagens foram incubadas a 28°C por 96 horas no escuro. A fixação de N₂ pela bactéria será comprovada com a presença de uma película de crescimento próximo à superfície dos tubos. Foram realizadas três repetições para cada linhagem bacteriana.

As linhagens bacterianas foram classificadas em positivas (+) e negativas (-).

Resultados e Conclusões

A partir das plantas provenientes do cultivo orgânico foram obtidos 177 isolados bacterianos, dos quais 42 (25,0%) foram positivos para o teste FBN e 150 (89,3%) foram positivos para teste SF. A partir das plantas provenientes do cultivo convencional foram obtidos 168 isolados bacterianos, dos quais 67 (37, 8%) foram positivos para o teste FBN e 131 (74, 0%) foram positivos para teste SF. Além disso, 27, 9% e 34, 5% destes isolados do cultivo convencional e orgânico, respectivamente foram positivos para os testes de FBN E SF.

Os próximos estágios da pesquisa consistirá na determinação do índice de solubilização de fosfato por meio de testes semi-quantitativos. Além disso, as bactérias que apresentarem potencial para promoção de crescimento vegetal serão identificadas por meio do sequenciamento do gene do rDNA 16S. Posteriormente, as linhagens serão avaliadas “*in vivo*” por meio da inoculação dessas linhagens bacterianas em mudas de café; para verificar o desempenho para promoção de crescimento vegetal nessa cultura.