

IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ISOLADAS DA ORQUÍDEA *Cymbidium* sp. PELA ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS METIL-ÉSTER POR CROMATOGRÁFIA GASOSA (GC-FAME)

Gracielle Vidal Silva Andrade¹, Matheus Pereira Simões¹, Marcos Rogério Tótola², Marihus Altoé Baldotto¹, Lílian Estrela Borges Baldotto¹

¹Universidade Federal de Viçosa (UFV), *Campus* Florestal, Rodovia LMG 818, Km 06, 35690-000 – Florestal – MG; ²UFV, *Campus* Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, 36570-000 – Viçosa – MG; gracielle.andrade@ufv.br

Bactérias endofíticas e epifíticas podem promover o crescimento da planta hospedeira e métodos de identificação desses inóculos são primordiais para estudos de isolamento, caracterização e seleção de estirpes eficientes, desejados para formulação de inoculantes e/ou biofertilizantes com menor ônus econômico e ambiental. O trabalho objetivou: (i) isolar bactérias diazotróficas de folhas e raízes de *Cymbidium* sp. em diferentes meios de cultura e (ii) identificar e quantificar os isolados bacterianos. O trabalho foi realizado no Setor de Floricultura (i) e no Departamento de Microbiologia (ii) da Universidade Federal de Viçosa *Campus* Florestal e *Campus* Viçosa, respectivamente. As bactérias diazotróficas foram isoladas de folhas e raízes de *Cymbidium* sp. nos meios JMV, JMV-L, JNFb, NFB, LGI e LGI-P, totalizando 17 isolados. Para identificação, os isolados bacterianos foram crescidos em meio TSA (Trypticase Soy Agar) por 24 horas a 30 °C, com uma segunda passagem no mesmo meio pelo mesmo tempo. Uma massa celular com cerca de 3 mg de células foi coletada para extração dos ácidos graxos. A extração e obtenção de ácidos graxos foram realizadas utilizando-se o kit Instant Fame (Midi, Newark, DE), segundo recomendações do fabricante. O sistema Sherlock[®] Microbial Identification foi utilizado para se determinar a composição de ácidos graxos bacterianos. O software Sherlock nomeia cada pico cromatográfico baseado no tempo de retenção e calcula sua porcentagem baseado em sua área em relação à área total dos picos encontrados. Seguindo sua nomeação e quantificação, o perfil de ácidos graxos obtido foi comparado com uma biblioteca, obtendo-se, assim, a identificação da amostra. Também foi realizada a construção de um dendrograma contendo agrupamentos baseados na composição de ácidos graxos dos isolados. A Distância Euclidiana (ED) da análise de agrupamento foi utilizada para se determinar a distância no espaço multi-dimensional entre duas linhagens, com base em seus perfis de ácidos graxos. O Software Sherlock foi eficaz em comparar níveis taxonômicos de espécies ou menor. Essa metodologia foi utilizada para se determinar se, entre os isolados, havia repetições de amostras, visto que essa metodologia determina que amostras ligadas por uma ED de cerca de 10 ou menos, representam a mesma espécie, e amostras ligadas por uma ED de cerca de 2.5 ou menos são tipicamente duas diferentes corridas para uma mesma linhagem. Das 17 estirpes isoladas, 8 foram identificadas: 1 *Chryseomonas luteola* (*Pseudomonas*), 1 *Stenotrophomonas maltophilia*, 1 *Pseudomonas stutzeri*, 1 *Rhizobium radiobacter*, 2 *Bacillus thuringiensis* e 2 *Burkholderia cepacia*. Desses isolados todos já foram relatados como pertencentes a espécies com potencial de estimular o crescimento e proteção de plantas. Esse potencial está sendo atualmente avaliado na orquídea *Cymbidium* sp.

Palavras-chave: fixação biológica de nitrogênio, microbiologia agrícola, bactérias promotoras de crescimento de plantas, floricultura

Apoio financeiro: CNPq, FAPEMIG e FUNARBE