

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS BACTERIANOS EM CANA-DE-AÇÚCAR

Jadson Emanuel Lopes Antunes, Ana Dolores Santiago de Freitas, José de Paula Oliveira, Eline Waked Ferreira Gomes, Maria do Carmo Catanho Pereira de Lyra, Márcia do Vale Barreto Figueiredo

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos - CEP: 52.171-900 - Recife – PE; Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), Av. General San Martin, 1371 - Bongi - CEP: 50761-000 - Recife – PE, jadsonemanuel@gmail.com

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é cultivada em quase todas as regiões agrícolas brasileiras, sendo o Brasil o maior produtor mundial, com uma área plantada de mais de oito milhões de hectares e uma produtividade média de 68 Mg.ha⁻¹. A interação de bactérias diazotróficas com diversas culturas tem sido tema de pesquisas no mundo devido ao seu potencial biotecnológico, e principalmente pela fixação biológica do nitrogênio (FBN). Este potencial é evidenciado no aumento da produtividade das culturas, possibilidade de redução dos custos de produção e diminuição da aplicação de adubos nitrogenados o que possibilita uma agricultura mais sustentável e menos agressiva ao meio ambiente.. Nesse contexto, é estratégico e prioritário realizar trabalhos de prospecção de bactérias diazotróficas que avaliem a potencialidade da FBN na cana-de-açúcar sob condição regional. O presente trabalho teve como objetivo isolar e identificar com técnica molecular bactérias diazotróficas endofíticas presentes no colmo e folha de cana-de-açúcar, variedade RB92579, de cultivo comercial da Zona da Mata Pernambucana. Para proceder o isolamento, pequenos pedaços de folhas e colmos foram desinfestados, triturados e colocados em meios específicos para *Azospirillum* spp., *Herbaspirillum* spp., *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Burkholderia* spp. (DOBEREINER et al., 1995) e incubados a 30°C. Sessenta e seis colônias foram isoladas do colmo e das folhas. O DNA desses isolados foi extraído, utilizando-se o Kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega), conforme o fabricante. Após a extração do DNA dos isolados, a sua pureza e integridade foram verificadas por eletroforese em gel de agarose 0,8%, e a porção fD1 e rD1 do gene 16S rRNA foi amplificado e sequenciado. As Análises de identidade de sequência foram feitas pelo programa Bioedit v.7.0.9.0, CLUSTALW e análises filogenéticas pelo MEGA. Após o sequenciamento dos isolados bacterianos, foram obtidas 31 sequências com boa qualidade. A análise das sequências revelou que os isolados estão distribuídos em nove gêneros bacterianos: *Burkholderia*, *Azoarcus*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum*, *Gluconacetobacter*, *Sphingomonas*, *Gluconobacter*, *Bradyrhizobium* e *Methylobacterium*, os quais incluem 15 espécies diferentes. O gênero *Burkholderia* foi o que apresentou maior número de espécies isoladas, seguido do gênero *Azoarcus*, com destaque para o isolado IPA CC11, que apresentou boa capacidade de fixação do nitrogênio pela técnica da redução do acetileno em etileno. A análise molecular da região 16S rRNA sugere uma grande diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas da cana-de-açúcar com potencial para fixação de nitrogênio.

Palavras-chave: Fixação biológica do nitrogênio, gene16S rRNA, *Azoarcus*, *Saccharum officinarum* L.

Apoio financeiro: CAPES, CNPQ