

ISOLAMENTO DE MICROORGANISMOS ENDOFÍTICOS DA RIZOSFERA DE CANA-DE-AÇÚCAR (*SACCHARUM OFFICINARUM* L.) E ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA, ANTIMICROBIANA E CELULOLÍTICA
ISOLATION OF ENDOPHYTIC AND RHIZOSPHERE MICROORGANISMS FROM SUGARCANE (*SACCHARUM OFFICINARUM* L.) AND ANALYSIS OF GENETIC, ANTIMICROBIAL AND CELLULOLYTIC DIVERSITY

CLEITON BISPO DO NASCIMENTO

Endereço atual/Current address: Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50670-901 Recife, Pernambuco, Brasil; e-mail: cleitonnb@hotmail.com

Dissertação de Mestrado/Master Dissertation: Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Produtos Bioativos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil/ Postgraduate Program in Biotechnology of Bioactive Products, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

Defendida/Defended: 6.VI.2006.

Orientadora/ Adviser: Dra. Janete Magali de Araújo Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Department of Antibiotics, Biological Sciences Center, Federal University of Pernambuco.

RESUMO: A diversidade de microrganismos endofíticos e da rizosfera foi avaliada utilizando raízes e folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) coletadas no município de Goiana-Pernambuco. Os tecidos vegetais desinfetados foram incubados nos meios de cultura Batata Dextrose Agar, Caseína Amido Agar e Aveia Agar durante 30 dias a 30°C. Amostras da rizosfera foram diluídas e plaqueadas nos mesmos meios de cultura. Foram isolados 267 microrganismos endofíticos, sendo 191 isolados de raízes (124 bactérias, 61 fungos e 6 actinobactérias) e 75 isolados de folhas (33 bactérias, 42 fungos e 1 actinobactéria). Da rizosfera foram isolados 25 microrganismos (15 bactérias, 5 fungos e 5 actinobactérias). O aumento no tempo de desinfecção com hipoclorito de sódio para 15 minutos ocasionou diminuição do número de microrganismos endofíticos isolados. A identificação dos microrganismos endofíticos mostrou maior predominância do gênero *Fusarium* entre os fungos e do gênero *Streptomyces* entre as actinobactérias. Entre os microrganismos isolados, 16% dos fungos e 25% das actinobactérias apresentaram atividade antimicrobiana contra fungos fitopatogênicos da cana-de-açúcar e de outras culturas. Todas as actinobactérias e 54,9% dos fungos isolados apresentaram atividade celulolítica. A técnica de ARDRA utilizando rDNA 18S mostrou grande distância filogenética entre os 15 fungos selecionados, não sendo, entretanto, suficiente para distinguir espécies de *Fusarium* sp. e *Acremonium kilienses*. A análise da diversidade por DGGE das bactérias endofíticas mostrou não haver correlação entre as comunidades bacterianas e o tempo de cultivo da cana-de-açúcar. As variações das comunidades de b-proteobactérias da rizosfera nos períodos de 9 e 3 meses estão mais relacionadas com a quantidade de bactérias do que com a diversidade das comunidades.

PALAVRAS-CHAVE: atividade antimicrobiana, atividade celulolítica, cana-de-açúcar, microrganismos endofíticos, rizosfera.

ABSTRACT: Endophytic and rhizosphere microbial diversity was evaluated using root and leaf samples of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) collected in Goiana-Pernambuco. After tissue surface sterilization, fragments were inoculated in Potato Dextrose Agar, Casein Starch Agar, and Oat Agar media and incubated at 30°C for 30 days. Rhizosphere samples

were diluted and transferred to plates containing the same media. A total of 267 endophytic microorganisms were isolated, 191 from the roots (124 bacteria, 61 fungi, and 6 actinobacteria), and 75 from the leaves (33 bacteria, 42 fungi, and 1 actinobacterium). From the rhizosphere, 25 microorganisms were isolated (15 bacteria, 5 fungi, and 5 actinobacteria). It was observed that the number of organisms isolated decreased when the time of surface sterilization using sodium hypochlorite was increased to 15 minutes. Identification of endophytic microorganisms showed higher predominance of the genus *Fusarium* among the fungi and the genus *Streptomyces* among the actinobacteria. Among the isolated microorganisms, 16% of fungi and 25% of the actinobacteria presented antimicrobial activity against phytopathogenic fungi of sugarcane and other crops. All actinobacteria and 54.9% of the fungi isolated showed cellulolytic activity. ARDRA technique using amplified 18S rDNA showed large phylogenetic distance among the 15 fungi selected, although this technique was insufficient to distinguish species of *Fusarium* and *Acremonium kilienses*. Diversity analysis of endophytic bacteria using DGGE showed no correlation between bacterial communities and time of sugarcane cropping. Variations of rhizosphere b-proteobacteria communities are more related to the quantity of bacteria than to the community diversity.

KEY WORDS: antimicrobial activity, cellulolytic activity, sugarcane, endophytic microorganisms, rhizosphere.