

ANÁLISE GENÔMICA DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS VISANDO A IDENTIFICAÇÃO DE GENES E DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES ESTIRPE-ESPECÍFICOS^(*)

Samuel Felipe Azevedo Galvão⁽¹⁾, Ubiraci Gomes de Paula Lana⁽²⁾, Eliane Aparecida Gomes⁽³⁾, Christiane Abreu de Oliveira Paiva⁽⁴⁾, Michel Eduardo Beleza Yamagishi⁽⁵⁾, Marcos José Andrade Viana⁽⁶⁾ e Sylvia Moraes de Sousa Tinoco⁽⁷⁾

Palavras-chave: *Bacillus*, genoma, *Priestia*, PCR em tempo real, marcadores moleculares.

As bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) são capazes de estimular o desenvolvimento vegetal, podendo levar ao aumento de produtividade, à redução dos custos de produção, ao aumento da segurança alimentar e à redução do uso de agroquímicos, contribuindo assim para uma agricultura mais sustentável. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o genoma e desenvolver marcadores estirpe-específicos para três estirpes de BPCP pertencentes à Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo. O genoma das estirpes CNPMS B116, CNPMS B119 e CNPMS B2084 foi sequenciado pela plataforma Illumina HiSeq 4000 utilizando a estratégia 150-*paired end*. As sequências genômicas foram anotadas pelos softwares PROKKA, versão 1.8 e RAST, versão 2.0. O alinhamento das sequências foi realizado utilizando o programa ClustalW e as árvores filogenéticas construídas com o software MEGA X com método de máxima verossimilhança baseado na distância ML calculada pelo modelo *General Time Reversible*. Para a obtenção dos marcadores estirpe-específicos foi utilizada a metodologia Kmer, baseada num dicionário de 21-kmer para cada um dos genomas e comparação com o banco de dados *nucleotide collection* (nt) do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). A partir das regiões únicas encontradas em cada genoma foram desenhados três pares de iniciadores específicos para cada estirpe por meio dos programas Primer3Plus e Primer-Blast. Para cada ensaio foi elaborada uma curva-padrão para avaliação dos ensaios por PCR em tempo real utilizando SYBR Green. A análise genômica revelou que as estirpes apresentam diferenças significativas entre genes relacionados à promoção do crescimento de plantas de diferentes categorias funcionais, incluindo motilidade e quimiotaxia, metabolismo de fósforo, produção de ácidos orgânicos e fixação de nitrogênio. A identificação molecular baseada no genoma confirmou que a estirpe CNPMS B116 pertence ao grupo *Bacillus thuringiensis*, a estirpe CNPMS B2084 pertence ao grupo *B. subtilis* e a estirpe CNPMS B119 pertence ao grupo *Priestia megaterium*. Análises baseadas em PCR em tempo real permitiram o desenvolvimento de marcadores estirpe-específicos com eficiência entre 93,58% e 99,29% que poderão ser utilizados para um melhor entendimento dos mecanismos associados ao processo de colonização destas bactérias em plantas.

* Fonte financiadora: Embrapa, CNPq, Fapemig, Capes, INCT/CNPq e MCTIC/Finep

⁽¹⁾ Biotecnologista, Mestrando em Bioengenharia, Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas-MG. E-mail: samuelgalvao96@gmail.com

⁽²⁾ Químico, Analista de pesquisa e desenvolvimento, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG

⁽³⁾ Bióloga, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG

⁽⁴⁾ Agrônoma, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG

⁽⁵⁾ Matemático, Pesquisador da Embrapa Agricultura Digital, Campinas-SP.

⁽⁶⁾ Analista de sistemas, Analista de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG

⁽⁷⁾ Bióloga, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG. E-mail: sylvia.sousa@embrapa.br