



Departamento de Química e Bioquímica

Curso de Licenciatura em Bioquímica

Isolamento e caracterização de bactérias endofíticas de trufas

Projeto do trabalho de estágio

Realizado por Eva Batista

Orientadoras:

Doutora Clarisse Brígido

Professora Doutora Celeste Santos e Silva

Évora

2025

Resumo

As trufas s. l. (p. ex. *Terfezia* spp., *Tuber* spp.) são fungos de elevado valor gastronómico, ecológico e económico, conhecidos pelo seu aroma único e pela capacidade de formar associações simbióticas com raízes de plantas hospedeiras. Contudo, o seu desenvolvimento e qualidade dependem também de interações com comunidades bacterianas endofíticas. Essas bactérias, presentes nos tecidos internos das trufas, desempenham um papel crucial em processos como maturação do corpo de frutificação, produção de compostos voláteis responsáveis pelo aroma característico e proteção contra patógenos. Embora estas bactérias desempenhem funções potencialmente importantes na biologia das trufas, a informação atual sobre a sua diversidade e papel funcional ainda é limitado.

Com o objetivo de aprofundar o conhecimento sobre estas comunidades microbianas, este trabalho focou-se no isolamento, identificação e caracterização funcional de bactérias endofíticas presentes em dois espécimes de trufas recolhidos em Portugal. A partir da gleba e do perídio de cada trufa, foram isoladas estirpes bacterianas, sendo posteriormente selecionadas com base na morfologia para identificação molecular. Foram ainda realizados ensaios fenotípicos para avaliar funções associadas à promoção de crescimento fúngico, como a produção de ácido indolacético, amónia, sideróforos e a solubilização de fosfato.

Os resultados demonstraram uma diversidade bacteriana considerável, com variações entre os tecidos e os espécimes. A maioria das estirpes produziu amónia e sideróforos, mas a produção de IAA foi menos frequente e não foi observada solubilização de fosfato nas condições testadas. Estes dados indicam uma possível especificidade funcional da microbiota bacteriana associada às trufas e sublinham a importância de estudos complementares que ajudem a compreender o papel destas bactérias na ecologia e fisiologia da trufa, contribuindo para futuras aplicações em truficultura e biotecnologia.

Palavras-chave: Trufas, microbiota bacteriana, isolamento bacteriano, propriedades funcionais, interações fungo-bactéria.

Abstract

Truffles s. l. (e. g. *Terfezia* spp., *Tuber* spp.) are fungi of high gastronomic, ecological, and economic value, known for their unique aroma and ability to form symbiotic associations with the roots of host plants. However, their development and quality also depend on interactions with endophytic bacterial communities. These bacteria, present within the internal tissues of truffles, play a crucial role in processes such as fruiting body maturation, production of volatile compounds responsible for their characteristic aroma, and protection against pathogens. Although these bacteria may have important functional roles in truffle biology, current knowledge regarding their diversity and functions remains limited.

To expand our understanding of these microbial communities, this study focused on the isolation, identification, and functional characterization of endophytic bacteria present in two truffle specimens collected in Portugal. Bacterial strains were isolated from the gleba and peridium of each truffle and selected based on colony morphology for molecular identification. Phenotypic assays were also performed to assess growth-promoting traits such as the production of indole-3-acetic acid (IAA), ammonia, siderophores, and phosphate solubilization.

The results revealed considerable bacterial diversity, with variation between tissues and specimens. Most strains were able to produce ammonia and siderophores, while IAA production was less frequent, and no phosphate solubilization was observed under the tested conditions. These findings suggest a potential functional specificity of the bacterial microbiota associated with truffles and highlight the need for further studies to better understand their ecological and physiological roles, with potential applications in truffle cultivation and biotechnology.

Keywords: Truffles, bacterial microbiota, bacterial isolation, functional traits, fungus–bacterium interactions.