



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

AVALIAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS PARA O DESENVOLVIMENTO BACTERIANO

Autores: RENATO MARTINS ALVES, ELISETE PEDREIRA LOPES, REGINA CÁSSIA FERREIRA RIBEIRO, LORENA GRACIELLY DE ALMEIDA, MARCELLY THAÍS DE CASTRO, MARIA JOSIANE MARTINS, ADELICA APARECIDA XAVIER

Introdução

A busca por novas formas de diminuir a incidência de fitopatógenos, como a utilização do controle biológico é constante, pois mostra-se como uma alternativa ecológica aos agroquímicos, responsáveis por efeitos adversos ao ambiente. Dentre os antagonistas a fitopatógenos destacam-se as rizobactérias que também apresentam efeitos positivos na promoção de crescimento de plantas. Os gêneros mais comuns são *Bacillus* e *Pseudomonas*. Destes destaca-se o gênero *Bacillus* por produzir endósporos que são células que permanecem no solo por vários anos. (BERG et al., 2001).

Os efeitos benéficos exercidos por esse grupo de bactérias podem ser diretos ou indiretos. A promoção direta de crescimento ocorre quando uma bactéria produz metabólitos que promovam diretamente o crescimento das plantas, sem interação com a microbiota do solo, como por exemplo por meio da produção de reguladores de crescimento tais como as auxinas, giberelinas e pela solubilização de fosfatos minerais (ASGHAR et al., 2002). A promoção indireta ocorre pela eliminação de patógenos, como por exemplo a produção de substâncias antifúngicas que de alguma maneira afetam o desenvolvimento de fitopatógenos, como por exemplo a produção de enzimas que atuam na desnaturação da parede celular (FRIDLINDER et al., 1993), antibióticos e sideróforos. Para a produção de produtos biológicos é necessária a multiplicação de tais bactérias em meios de cultura que são bastante caros. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi em avaliar a eficiência na utilização de meios de cultura economicamente viáveis para a multiplicação de *Bacillus lentimorbus*.

Material e métodos

A. Seleção do isolado

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Montes Claros-Unimontes, campus Janaúba, no período de outubro de 2016 a outubro de 2017. Para realização dos ensaios foi utilizado o isolado 24 de *B. lentimorbus* oriundo da bacterioteca do Laboratório de Fitopatologia da Unimontes.

B. Produção de meio de cultura

Foram utilizados os seguintes materiais para a produção dos meios de cultura: mandioca, abóbora, feijão, arroz, banana, polpa de coco verde e arroz com feijão. Todos esses materiais foram cozidos em 300 ml de água destilada, sendo 100 g de cada um, após o cozimento essa mistura foi coada três vezes em peneira de malha 1 mm. Ao coado foi adicionado 10 gramas de açúcar cristal, três gramas de cloreto de sódio (NaCl) e três gramas de Fosfato de Potássio (KH₂PO₄) a esta mistura foi adicionada água destilada para que se obtivesse um volume final de 500 mL. Foi medido o pH dessa mistura e este ajustado com hidróxido de sódio a 0,5% mol para pH 7 (+/- 0,2). Após isto foi acrescentado a mistura 10 gramas de ágar.

O meio pronto foi levado ao micro-ondas a uma potência de 110 watts por 5 minutos. Finalizado esse processo, os meios foram acondicionados em potes de vidro e etiquetados. Todos os meios foram autoclavados por 20 minutos a uma potência de 120 atm. Todos os meios foram vertidos em placas de Petri para posterior repicagem da rizobactéria.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

C. Teste de crescimento bacteriano

O isolado bacteriano foi repicado para placas de Petri, previamente esterilizadas, contendo meio TSA (Tryptic Soy Agar). Em seguida, as placas foram incubadas em BOD por 48 horas a uma temperatura de 28°C. Após 48 horas, as placas contendo as colônias bacterianas foram lavadas com solução salina a 0,85% e a suspensão acondicionada em tubos para posterior centrifugação a uma rotação de 10.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e ao pélete adicionou-se 90 mL de solução salina a 0,85% ficando com um volume final de 100 mL. Esta suspensão foi mantida em agitação no vórtex e durante esse período a solução foi diluída de 10⁻¹ até 10⁻¹⁰. Desta nova solução calibrada para 10⁻⁵ foram retiradas alíquotas de 100 µL que foram colocadas em placas de Petri com os meios de cultura mencionados anteriormente.

As placas foram incubadas em BOD em escuro contínuo a uma temperatura de 28° C. Passadas 12, 24 e 36 horas após incubação procedeu-se a avaliação das unidades formadoras de colônia (UFC).

O experimento foi montado em delineamento inteiramente ao acaso com 8 meios de cultura (7 meios alternativos e a testemunha TSA). Cada tratamento continha 5 repetições totalizando 40 unidades experimentais.

Foi realizada a análise de variância ($p > 0,05$) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo software Sisvar versão 5.6 (FERREIRA, 2008).

Foi realizada a análise de variância ($p > 0,05$), sendo a interação significativa as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo software Sisvar versão 5.6 (FERREIRA, 2008).

Resultados e discussão

O meio de arroz foi o que proporcionou maior número de unidades formadoras de colônias de *B. lentimorbus* -24 em relação ao meio comercial -TSA (testemunha). O aumento foi de 304,8%, o que demonstra que pode ser usado na formulação da bactéria em substituição ao meio comercial. O meio de abóbora apresentou uma tendência estatística de proporcionar maior multiplicação da rizobactéria em relação a testemunha. Os demais meios não diferiram significativamente entre si e em relação à testemunha. (Tabela 1).

O crescimento e a divisão celular necessitam de um ambiente propício com todos os constituintes físicos e químicos para o seu metabolismo. Meio de cultura é uma mistura de nutrientes necessários ao crescimento microbiano. Basicamente deve conter a fonte de energia e de todos os elementos imprescindíveis à vida das células. As raízes de mandioca apresentam uma composição média de 68,2% de umidade, 30% de amido, 2% de cinzas, 1,3% de proteínas, 0,2% de lipídios e 0,3% de fibras (ALBUQUERQUE et al. 1993). As raízes de mandioca são, portanto, essencialmente energéticas, apresentando elevados teores de carboidratos, principalmente polissacarídeos nutrientes esses essenciais ao desenvolvimento bacteriano. O meio arroz é constituído principalmente por amido, apresentando quantidades menores de proteínas, lipídios, fibras e cinzas. A concentração de amido no arroz pode variar de 72 e 82% (FREI; SIDDHURAJU; BECKER, 2003). Essa porcentagem de amido o torna uma fonte de carbono de alta qualidade para o crescimento de microrganismos (ALLORI STAZZONELLI; YASEM DE ROMERO; PLOPER, 2017)

Conclusão



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

O meio de arroz foi superior na multiplicação de *B. lentimorbus-24* em relação ao meio sintético Tryptic Soy Agar.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de iniciação científica (PIBIC) e de incentivo a produtividade e desenvolvimento tecnológico (BIPDT).

Referências bibliográficas

BERG, G. et al. Evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from different host plants of *Verticillium dahliae* Kleb. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 6, p. 963–971, 1 dez. 2001.

FREI, M.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Studies on the in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. **Food Chemistry**, v. 83, n. 3, p. 395–402, 1 nov. 2003.

FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.

ALBUQUERQUE, T. T. O. et al. Composição centesimal da raiz de 10 variedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivadas em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Mandioca**, v. 12, n. 1, p. 7-12, 1993.

ASGHAR, H. et al. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, n. 4, p. 231–237, 1 jun. 2002.

FRIDLENDER, M.; INBAR, J.; CHET, I. Biological control of soilborne plant pathogens by a β -1,3 glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 25, n. 9, p. 1211–1221, 1 set. 1993

ALLORI STAZZONELLI, E.; YASEM DE ROMERO, M. G.; PLOPER, L. D. Evaluación de sustratos para la producción de esporas de *Trichoderma* y estudio del crecimiento en arroz de las cepas antagonistas TPT03, TPT02, MRT35 y MRT40. **Revista agronómica del noroeste argentino**, v. 37, n. 1, p. 57–66, jun. 2017.

Tabela 1. Número de unidades formadoras de colônias de *Bacillus lentimorbus-24* em diferentes meios de cultura.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

Meios

UFCs

Arroz

502.000 a



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

Abóbora	408.000 ab
Banana	226.000 abc
Feijão	166.000 bc
Coco	140.000 bc
AF	140.000 bc
TSA	124.000 bc
Mandioca	20.000 c
CV%	26,23

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.