

SELEÇÃO DE MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS PARA MULTIPLICAÇÃO DE *PAENIBACILLUS LENTIMORBUS*

Autores: RENATO MARTINS ALVES, ELISETE PEDREIRA LOPES, REGINA CÁSSIA FERREIRA RIBEIRO, MARCELLY THAÍS DE CASTRO, ISABELA OLIVEIRA SANTOS, ISABELLE CAROLYNE CARDOSO, ADELICA APARECIDA XAVIER,

Seleção de meios de cultura alternativos para multiplicação de *Paenibacillus lentimorbus*

Introdução

Microrganismos endofíticos podem ser classificados como fungos e bactérias que habitam no interior das plantas, como suas partes aéreas, folhas e caules sem originar ao que tudo indica nenhum agravo a seus hospedeiros. Bactérias endofíticas podem ser benéficas ao seu hospedeiro, produzindo compostos naturais que tem potencial uso agrícola, tendo sido isolados de flores, frutas, folhas, caules, raízes e sementes de várias espécies de plantas (Christy e Sudha, 2014; Kobayashi e Palumbo, 2000). Os microrganismos são cultivados para muitas finalidades. Os meios de cultura utilizados nos laboratórios para o cultivo de microrganismos disponibilizam os nutrientes imprescindíveis para o crescimento e manutenção. O Ágar nutritivo é universalmente usado como meio de propagação no cultivo de extensa gama de bactérias. O BDA (batata, dextrose, ágar) é comumente usado para isolamento e crescimento de ampla gama de fungos. Os custos elevados dos meios de cultura dificultam a sua utilização em laboratórios. Desse modo a busca por fontes alternativas para diferentes meios de cultura tem sido foco da pesquisa científica atual. Geralmente, os materiais mais baratos disponíveis são, cereais e leguminosas, podendo servir como meio nutritivo alternativo para cultivar bactérias.

Diante disso o objetivo do trabalho foi selecionar meios de cultura alternativos contendo milho e alpiste para multiplicação de células bacterianas.

Material e métodos

A. Seleção do isolado

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitopatologia e Microbiologia da Universidade Estadual de Montes Claros – *Campus Janaúba*. Para realização dos ensaios foi utilizado o isolado 24 de *Paenibacillus lentimorbus*. O isolado foi multiplicado em meio TSA (Tripyki Soy Agar) e armazenado em B.O.D durante 24 horas a 28 °C.

B. Condução do método

Os tratamentos consistiram em diferentes tipos de meios de cultura contendo: alpiste, alpiste grão, milho, milho grão e a testemunha (TSA). Os meios foram preparados da seguinte forma: em 500 mL de água destilada acrescentou-se 10 g de açúcar cristal, 3g de cloreto de sódio (NaCl) e 3 g de fosfato de potássio (KH₂PO₄). Esta solução teve seu pH medido e corrigido com hidróxido de sódio a 0,5% mol para pH 7,0. Logo após, a solução foi acondicionada em potes contendo 50 mL cada e autoclavados a 120 °C durante 20 minutos. Foram separados 4 potes, um com 5 g de alpiste, outro com 5 g de milho tipo canjiquinha, outro com 1g de alpiste e o último com 1g de milho tipo canjiquinha. Os potes foram autoclavados a 120 °C. Posteriormente os potes contendo os tratamentos (5 g de alpiste, 5 g milho tipo canjiquinha, 1g de alpiste e 1g de milho tipo canjiquinha) foram adicionados aos potes com 50 mL com solução de incrementos e agitados em incubadora do tipo “Shaker” a 120 rpm por 48 horas a 28°C. Após esse período, foi utilizado o caldo proveniente dos tratamentos 5 g, sendo feita a diluição, retirando-se 1 mL do mesmo e



O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo 4 tratamentos e cinco repetições. As análises estatísticas foram realizadas pelo software Sisvar versão 5.6 (FERREIRA, 2000). Sendo realizado o teste F para significância e o teste Tukey para comparação das médias dos diferentes tratamentos.

Resultados e discussão

O meio milho grão 1g proporcionou os maiores valores de u.f.c./mL, sendo seguido por milho 5 g. ambos diferiram significativamente da testemunha (TSB). Todar (2012) afirmou que o crescimento de bactérias é afetado pelos principais elementos (C, H, O, N, S, P, K, Mg, Fe, Ca, Mn) e oligoelementos (Zn, Co, Cu, Mo), possivelmente o milho disponibiliza esses nutrientes em um menor espaço de tempo, possibilitando um crescimento de u.f.c. superior. Os tratamentos alpiste 1 g e 5 g não diferiram da testemunha TSB. Outros fatores também podem influenciar o crescimento bacteriano como pH e temperatura.

Conclusões

Os meios, milho 1 g e milho 5g demonstraram resultados promissores como fontes de meio de cultura bacteriano alternativos, sendo possível sua utilização, pois é de fácil acesso e baixo custo financeiro.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de iniciação científica (PIBIC) e de Incentivo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico (BIPDT).

Referências bibliográficas

Christy, P.H. e Sudha, S.S. 2014. Um estudo sobre o potencial de bactérias endofíticas como agente de biocontrole. *Escritório internacional pesquisa J. de biológicas e meio ambiente*. 1(10): 7-11.

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

Kobayashi, Y. d. e J. D. Palumbo. 2000. Bactérias, fungos endofíticos e seus efeitos sobre plantas e usos na agricultura, p. 199-233. *Em* C.W. Bacon e J.F. branco (ed.). *Microbianos endofitos*. Marcel Dekker, Inc. Nova York.

Todar, K. 2012. Nutrição e crescimento de bactérias. *Textbook on-line de bacteriologia*. www.livro de bacteriology.net. Download em outubro de 2017



Tabela 1. Unidades formadoras de colônia ufc, em meios de cultura alternativos.

Meios de cultura	u.f.c./mL
Milho grão 1g	519,0 a
Milho 5 g	272,6 b
Alpiste 1 g	73,80 c
TSB	51,20 c
Alpiste Grão 5 g	32,60 c

CV(%) 15,28

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre se ao teste Tukey a ($p > 5\%$).