

Categoria: Iniciação Científica

Desenvolvimento de metodologia para avaliação da manutenção celular de cinco estirpes de bactérias veiculadas em substrato sólido

Autores: Eduarda Stefane Avila dos Santos¹, Ana Karla Santos Mousao², Gabriela Cavalcanti Alves³ e Veronica Massena Reis⁴

Afiliação:¹Graduanda de Agronomia, UFRRJ, eduardasantos.duda@icloud.com, ²Gaduanda de Engenharia Química – UFRRJ - anakarlas27@gmail.com; ³Bolsista da Funcate / Finep - gabcalves@gmail.com; ⁴Pesquisadora da Embrapa Agrobiologia, veronica.massena@embrapa.br

Inoculantes considerados multifuncionais podem contribuir para o crescimento vegetal e, simultaneamente, para a proteção de cultivos agrícolas contra pragas e doenças. Bactérias promotoras de crescimento e/ou biocontroladoras de patógenos de cana foram selecionadas para atuar como uma comunidade sintética (CS) baseada na somatória de suas funcionalidades individuais. Para imobilizar células das cinco estirpes pré-selecionadas, foram feitos testes visando a manutenção da culturabilidade em substratos sólidos pelo período de 30 dias. As estirpes bacterianas foram quatro diazotróficas Gram-negativas: *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Gd-BR 11281), *Herbaspirillum seropedicae* (Hs-BR 11335), *Paraburkholderia tropica* (Pt-BR 11366) e *Nitrospirillum amazonense* (Na-BR 11145), e uma não-diazotrófica Gram-positiva: *Bacillus velezensis* (Bv-LMC44a) aplicadas de forma individualizada. Quatro substratos foram testados: fibra de coco, bagaço de cana triturado, turfa e vermiculita. Todos foram umedecidos e autoclavados a 121 °C por 20 min (duas vezes). A quantificação do número de células cultiváveis das estirpes foi feita por três métodos: 1) método de espalhamento em placa (*spread plate*), 2) microgota; ambos utilizando meio sólido para contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs) usando quatro meios de cultivo: LGI (semi-específico para quantificação da Na-BR11145), LGI-P (Gd-BR11281 e Pt-BR11366), NFB 3 x indicador (Hs-BR11335), SYP com indicador verde de bromocresol (Bv-LMC44a). O método 3 foi a contagem do número mais provável (NMP) utilizando três diferentes meios semissólidos sem adição de nitrogênio (JNFb, LGI e LGI-P caldo) apenas para as estirpes diazotróficas. Além disto foi medido o pH final do substrato. A seleção de meios de cultivo propiciou a contagem tanto utilizando alíquota de 0,1 mL nos meios sólidos, como a aplicação de microgota (10 µL), para as quatro diazotróficas. O Bv-LMC44a apresentou crescimento rápido e a contagem só é efetiva até 12 h após a inoculação de 100 µL no espalhamento, não se adaptando à contagem por microgota. Além disto o meio selecionado foi o SYP com 20 g L⁻¹ de ágar, visando conter o crescimento rápido e sobreposição das colônias. Os testes feitos com o meio semissólido LGI-P não permitiram a diferenciação de Gd-BR11281 da Pt-BR11366, sendo necessário posterior cultivo usando meio sólido Batata-P. As cinco estirpes mantiveram número superior a 10⁸ UFC mL⁻¹ (espalhamento) utilizando bagaço de cana, fibra de coco, e vermiculita como substratos; com exceção de Gd-BR11281 após 30 dias de tempo de prateleira. O menor pH foi observado na fibra de coco (média 5,78). Bv-LMC44a mantém populações 10 vezes menores independentemente do substrato. Os resultados mostraram que bagaço de cana, fibra de coco e vermiculita são substratos promissores para a manutenção da culturabilidade bacteriana, podendo ser utilizados para o desenvolvimento de novos bioinsumos, além de serem vantajosos em termos econômicos.

Palavras-Chave (até 3 palavras): Meios de cultivo, Inoculante, Culturabilidade.

Agradecimento aos financiadores do projeto: FINEP projeto 01.13.0295.00

Pesquisador Orientador: Veronica Massena Reis