



## MEIO DE CULTURA ALTERNATIVO PARA *METHYLOBACTERIUM SYMBIOTICUM*

Andriele Pavani Ribeiro<sup>1</sup>  
Emanuelle Barbosa de Quadros<sup>2</sup>  
Terimar Facin Ruoso<sup>3</sup>

**Resumo:** As Unidades de Produção Própria (UPP) têm se destacado no agronegócio pela multiplicação de microrganismos de interesse para produção agrícola *On Farm*, oferecendo vantagens econômicas ao produtor. Este estudo experimental e qualitativo objetivou analisar o crescimento da bactéria *Methylobacterium symbioticum* em meio mínimo suplementado com glicose e caseína. Utilizaram-se reagentes estéreis e inoculados, com contagem de UFC/ml realizada a cada 12 horas. Ambos os meios atingiram a concentração ideal de  $>1 \times 10^8$  UFC/ml em 36 horas, mas a glicose mostrou-se mais viável economicamente devido ao seu custo significativamente menor em comparação à caseína. Concluiu-se que a glicose é uma alternativa eficaz e econômica para a produção *On Farm* de *M. symbioticum*.

**Palavras-chave:** *On Farm*, Fixação Biológica de Nitrogênio, Inóculo, Bioinsumos, Metanol.

### 1 INTRODUÇÃO

As Unidades de Produção Própria (UPP) estão em alta no agronegócio para multiplicação de microrganismos *On Farm*, com supervisão técnica ou não dentro da propriedade rurais. (SANTOS; DINNAS; FEITOZA, 2020). O *On Farm* traz consigo ótimas vantagens de baixo custo ao produtor, porém quando não supervisionada por profissionais ou sem a orientação correta, podem não obter o resultado desejado da multiplicação do microrganismo de interesse. Isto se dá por dois motivos: i) contaminação por outros microrganismos e ii) especificidades de cultivo de cada microrganismo não seguidas como protocolo (BOCATII *et al*, 2022).

A *Methylobacterium symbioticum* é uma bactéria inoculante recentemente comercializada, ainda sem protocolos de cultivo em UPP e com especificidades de cultivo muito singulares. Descrita em 2020 na Espanha, a espécie tem características morfológicas

<sup>1</sup> Andriele Pavani Ribeiro. Graduada em Ciências Biológicas UFSM. [andriele.pavani@acad.ufsm.br](mailto:andriele.pavani@acad.ufsm.br)

<sup>2</sup> Emanuelle Barbosa de Quadros. Mestranda no PPG de Agronegócio. [emanubq@gmail.com](mailto:emanubq@gmail.com)

<sup>3</sup> Terimar Facin Ruoso. Professora do Departamento de Ciências da Saúde UFSM. [terminarm@hotmail.com](mailto:terminarm@hotmail.com)



de bacilo Gram negativo e apresenta complexo enzimático nitrogenase que, por sua vez, funciona como catalisador de fixação biológica de nitrogênio no solo. Além disso, é uma bactéria metilotrófica, ou seja, usa metano ou metanol como única fonte de carbono na natureza (PASCUAL *et al.*, 2020)

O ágar de cultivo para essa bactéria é o meio mínimo metanol que, por sua vez, é conveniente para análises laboratoriais, porém pela volatilidade do metanol, não é viável para cultivo em meios de cultura líquidos em curta ou larga escala. Por isso, o objetivo deste trabalho é analisar o comportamento de crescimento da cepa bactéria metilotrófica em meio mínimo suplementado com glicose e meio mínimo suplementado com caseína.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Estudo de caráter experimental e qualitativo, a cepa da bactéria utilizada provém do acervo próprio do Laboratório de Microbiologia da UFSM-PM, o qual também foi o local para o decorrer do experimento.

A Glicose Anidra Pa (Dextrose) e Peptona de Caseína foram os reagentes escolhidos por serem fontes de açúcar e proteína, respectivamente.

Foram autoclavados à 121°C por 15 minutos: um Erlenmeyer contendo meio mínimo com 2% glicose e outro com 2% caseína. Foram adicionados 1ml de inóculo bacteriano contendo aproximadamente  $1 \times 10^8$  UFC/ml em cada um dos meios e colocados por 36 horas no agitador orbital. A contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/ml) foi realizada a cada 12 horas por meio de diluição seriada e cultivo *spread plate* de 0,1 ml das amostras em meio mínimo metanol sólido.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos indicam que *Methylobacterium symbioticum* tem a capacidade de utilizar tanto glicose quanto caseína como fonte de carbono para seu crescimento, sendo que ambos mostram resultados positivos, levando em consideração que um inóculo - para ser efetivo na lavoura – precisa ter a concentração de  $1 \times 10^8$  UFC/ml (GARCÍA DE SALAMONE, 2019).



Ambos atingiram a concentração ideal em 36h de multiplicação, mostrando eficiência já que a bactéria tem crescimento lento em ágar (5-7 dias).

Tabela 1: Resultados de crescimento (UFC/ml) em 36 horas de experimento.

Hora	Meio Mínimo Glicose	Meio Mínimo Caseína
12	4,30E+06	3,31E+07
24	9,80E+07	7,50E+07
36	1,33E+08	1,74E+08

Fonte: Elaboração própria.

Em referência ao custo de produção, para uma multiplicação de 500 litros, seria necessário 10 Kg de glicose ou caseína sendo que a glicose se destaca pela sua precificação baixa – entre 20 e 40 reais por kilo– sem considerável elevação aos custos em relação às caldas de cultivo utilizadas *On Farm* que, por sua vez, são compostos por água sem cloro e açúcar cristal ou mascavo, entre outros ingredientes alimentícios (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, 2022). Já a caseína possui um valor muito elevado, sendo vendido normalmente apenas como reagente para laboratórios, está na faixa de 300-400 reais o kilo, se tornando inviável para a produção *On Farm*, pois eleva os custos e têm resultados muito similares à glicose.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de glicose como fonte de carbono para o cultivo de *Methylobacterium symbioticum* oferece uma alternativa viável para a produção *On Farm*, dada a eficiência da glicose em atingir a concentração ideal de células e seu custo substancialmente menor em comparação com a caseína, é recomendável adotar a glicose juntamente com o meio mínimo para cultivo desta bactéria em UPP.



## REFERÊNCIAS

BOCATTI, C. R.; *et al.* **Microbiological quality analysis of inoculants based on *Bradyrhizobium spp.* and *Azospirillum brasilense* produced “on farm” reveals high contamination with non-target microorganisms.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 53, p. 267-280, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-021-00649-2>.

GARCÍA DE SALAMONE, I.E. *et al.* **Manufacturing and Quality Control of Inoculants from the Paradigm of Circular Agriculture.** 2019. In: Singh, D., Gupta, V., Prabha, R. (eds) Microbial Interventions in Agriculture and Environment. Springer, Singapore. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8383-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8383-0_2).

PASCUAL, J.A. *et al.* ***Methylobacterium symbioticum* sp. nov., a new species isolated from spores of *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum*.** Curr Microbiol 77, 2031–2041 (2020). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02101-4>.

SANTOS, A.; DINNAS, S.; FEITOZA, A. **QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE BIOPRODUTOS COMERCIAIS MULTIPLICADOS ON FARM NO VALE DO SÃO FRANCISCO: DADOS PRELIMINARES.** Enciclopédia Biosfera, v. 17, n. 34, 2020. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2020D/qualidade.pdf>.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. **Multiplicação de microrganismos on-farm: regulamentação, potenciais e riscos.** Disponível em: <https://www.ufsm.br/pet/agronomia/2022/05/10/multiplicacao-de-microrganismos-on-farm-regulamentacao-potenciais-e-riscos>.