

Determinação da relação ótima entre carbono e nitrogênio para o cultivo da linhagem *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111)

Maythsulene Inácio de Sousa Oliveira¹, Marina Teixeira Arriel², Marcio Vinicius de Carvalho Barros Cortes³, Marta Cristina Corsi de Filippi⁴, Valácia Lemes Silva-Lobo⁵, Edmilson Cardoso da Conceição⁶

A rizobactéria *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) tem o potencial de promover o crescimento e suprimir a brusone em plantas de arroz. No desenvolvimento de um produto microbiano, a fermentação é a principal etapa, sendo assim, alguns fatores desta etapa devem ser controlados, como aeração, temperatura, pH e nutrientes, pois interferem diretamente no processo fermentativo e, conseqüentemente, na obtenção da biomassa. Objetivou-se determinar os parâmetros fisiológicos relacionados: 1- crescimento de *P. fluorescens* (BRM 32111), através da análise da curva de crescimento bacteriano; e 2- a relação quantitativa entre carbono (C) e nitrogênio (N), necessários para o máximo rendimento do processo fermentativo. O ensaio 1 foi realizado em triplicata e em delineamento inteiramente casualizado. Constituiu-se de Erlenmeyers de 500 mL, contendo 200 mL de meio mínimo (M9) modificado (glicose contendo relação carbono e nitrogênio 3:1) inoculados com 1 mL de suspensão bacteriana, mantidos a 28 °C, sob agitação constante a 150 rpm. Para obter a curva de crescimento microbiano, leituras foram realizadas em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 620 nm, a cada uma hora, durante 72 horas, e os dados das medidas da leitura óptica foram adequados à equação $k = Ln(A/A_0) \cdot t^{-1}$, em que: "A₀" é a absorvância no tempo zero e "A" é a absorvância no tempo "t". O ensaio 2 investigou a relação carbono nitrogênio (C:N) utilizando um desenho experimental fatorial 2² completo (RCCD), com oito réplicas no ponto central, totalizando dezesseis ensaios. Glicose e cloreto de amônia foram utilizados como fontes de carbono e nitrogênio, respectivamente, em cinco proporções: 3,1:1; 3,5:1; 4,5:1; 5,5:1 e 5,9:1 e o pH ajustado para 6,6; 7,0; 8,0; 9,0 e 9,4. Para condução do ensaio, Erlenmeyers de 250 mL com 100 mL de meio mínimo, contendo a relação C:N 4,5:1, pH 8,0, foi inoculado com três alçadas de colônia bacteriana e mantido sob agitação constante a 150 rpm por 24 horas a 30 °C. Posteriormente, transferiu-se 1 mL da suspensão para cada um dos 16 Erlenmeyers, com os respectivos tratamentos. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas, durante 72 horas, em espectrofotômetro, no comprimento de onda 620 nm. Os testes foram realizados aleatoriamente e os dados foram analisados estatisticamente usando o software Action®, com 95% de nível de confiança. A curva de crescimento foi considerada para a obtenção da densidade óptica celular e determinação do estado fisiológico das células, sendo a taxa de crescimento de 0,302 h⁻¹. A partir da curva de crescimento obtida, observou-se que as células entram em fase exponencial após aproximadamente cinco horas, enquanto para atingir a fase estacionária foram necessárias em torno de dez horas. A análise dos fatores (C:N e pH) para a resposta do crescimento bacteriano foi realizada e observada através das curvas de superfície de resposta. As análises demonstraram que a proporção C:N ótima para o crescimento da linhagem BRM 32111 encontra-se entre 4,0:1 a 4,5:1 e o pH próximo a 8,0. Além disso, o planejamento fatorial indicou que a interação entre C:N e pH influenciou diretamente no crescimento da linhagem estudada. De modo geral, as células bacterianas necessitam de uma relação C:N 3:1, no entanto, esta proporção varia de acordo com a espécie estudada. Diante da busca pela otimização do processo e o desenvolvimento de um bioproduto comercial, encontramos a relação de C:N e pH ótimas.

¹ Doutoranda em Inovação Farmacêutica, Universidade Federal de Goiás, bolsista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, maythsulene@gmail.com

² Mestranda em Agronomia, Universidade Federal de Goiás, estagiária da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, marina.arriel@hotmail.com

³ Farmacêutico, mestre em Bioquímica, analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, marcio.cortes@embrapa.br

⁴ Engenheira-agrônoma, Ph.D. em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, cristina.filippi@embrapa.br

⁵ Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, valacia.lobo@embrapa.br

⁶ Doutor em Ciências Farmacêuticas, professor da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, edcardosoufg@gmail.com