

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES EXTRATOS DE LEVEDURAS (INSUMOS) NO CRESCIMENTO CELULAR DE *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* CEPA 101

JUAN CARLOS MEDEIROS SOARES¹, IZADORA ALMEIDA PEREZ², EDUARDO DOS SANTOS MACEDO COSTA³, CLAIRE TONDO VENDRUSCOLO⁴, KARINE LASTE MACAGNAN⁵, ANGELITA DA SILVEIRA MOREIRA^{6*}

¹Universidade Federal de Pelotas – medeirossjuan@gmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – izadora_perez@hotmail.com;

³Universidade Federal de Pelotas – eduardodossantosmacedocosta@gmail.com;

⁴Empresa Biopolix Materiais Tecnológicos Ltda. – biopolix@biopolix.com.br;

⁵Universidade Federal de Pelotas – karinemacagnan@hotmail.com;

⁶Universidade Federal de Pelotas – angelitadasilveiramoreira@gmail.com.

1. INTRODUÇÃO

Xanthomonas arboricola pv *pruni* são microrganismos com formato de bastonetes curtos e afinados com 0,4 – 0,6 x 0,8 – 0,9 µm, aeróbicos, gram-negativos e possuem um flagelo que lhes conferem a capacidade de locomoção (RODRIGUES, 2010; TESSMANN, 2002). A bactéria causa uma doença chamada mancha bacteriana, que causa lesões em folhas, frutas, troncos e galhos de árvores do gênero botânico *prunus* (Morales, 2017).

Esse microrganismo é um importante objeto de estudo pois produz, em determinadas condições, um polissacarídeo denominado goma xantana, que desempenha diversas funções de grande importância para indústrias de variados setores da sociedade, como a indústria de alimentos, fármacos, de higiene e do petróleo (BORGES, et. al., 2008; LUVIELMO, et. al., 2009).

Dentre os fatores de crescimento da bactéria *X. arboricola* pv *pruni*, a relação entre carbono e nitrogênio possui grande influência tanto na multiplicação do microrganismo em si quanto na produção da goma. Elevados teores de nitrogênio no meio influenciam positivamente o processo de crescimento celular, tornando-o mais veloz (SILVEIRA, et. al., 2010).

Além disso, o extrato de levedura que será inserido no meio de cultura está diretamente ligado ao sucesso de crescimento do microrganismo em questão, já que esse extrato é o meio pelo qual o nitrogênio é gerado no ambiente microbiológico.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento bacteriano de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*, cepa 101, utilizando meio de cultivo complexo adicionado de diferentes extratos de levedura, e determinar o teor de nitrogênio durante o crescimento bacteriano nos diferentes meios de cultivo.

2. METODOLOGIA

2.1 Microrganismo

Para o estudo utilizou-se a linhagem de *Xanthomonas arboricola* pv pruni, cepa 101, a qual pertence à bacterioteca do Laboratório de Biopolímeros/CDTec da Universidade Federal de Pelotas.

2.2 Crescimento celular – inóculo

Formou-se o pré-inóculo a partir de suspensão de células obtidas por repiques multiplicativos em meio SPA sólido (HAYWARD, 1964), a 28°C e 72 h. O pré-inóculo (10 mL) foi inoculado em Erlenmeyers de 250mL contendo 45mL de meio Yeast Malt (YM) (JEANES, 1974), que variou quanto ao tipo de extrato de levedura adicionado na composição (3 g.L⁻¹); incubou-se em agitador incubador orbital a 28°C e 150 rpm por 24 h. O extrato de levedura utilizado neste trabalho como controle (1) foi de marca consolidada no mercado nacional e já utilizado anteriormente por nosso grupo de estudo na produção de xantana pruni, e outros 5 extratos (Procelys by Lesaffre®, Campinas, Brasil), não testados anteriormente para produção de xantana Pruni, foram estudados, sendo: 560PW (2), 810PW (3), 845MG (4), 851MG (5), 861PW (6).

Foram coletadas amostras nas 24 h de cultivo para avaliar o crescimento celular pela contagem de colônias através de diluição e plaqueamento expresso em unidades formadoras de colônias por mililitros (UFC.mL⁻¹).

2.3 Determinação de teor de nitrogênio

O teor de nitrogênio (mg.dL⁻¹) no meio YM foi avaliado por kit comercial de Ureia CE ref 27 (Labtest®) no tempo 0 e em 24 h de crescimento celular. Os caldos fermentados foram centrifugados a 10.000 g por 10 min, e o sobrenadante foi utilizado para a análise.

2.4 Análise estatística

As médias dos resultados foram avaliadas em triplicata e analisadas estatisticamente pelo teste de Tukey p<0,05 no programa Statistix 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento celular

Os resultados para o crescimento celular podem ser verificados na Tabela 1. Foi observado que os diferentes extratos de levedura utilizados no meio de cultivo foram satisfatórios para o crescimento celular e não demonstraram diferenças estatísticas em relação ao tratamento controle.

A concentração de nitrogênio (mg.dL⁻¹) no meio de cultivo com os diferentes extratos de levedura no tempo 0 e após 24h de crescimento celular pode ser observada na tabela 2. O uso dos extratos de levedura 4, 6 e o controle (1) resultaram em maior disponibilidade de nitrogênio no meio de cultivo no tempo inicial e ao final.

Pode-se observar ainda que houve um aumento na concentração de nitrogênio, cerca de 3,2 a 4,3 vezes em relação ao tempo 0 em todos os tratamentos. Esse aumento pode ser devido à morte e degradação celular, uma vez que as células microbianas são compostas de bases nitrogenadas.

Tabela 1. Concentração celular (UFC.mL^{-1}) do inóculo da *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 101 em meio YM adicionado de diferentes extratos de levedura após 24h de cultivo.

Tratamentos	UFC.mL^{-1}
1 – Controle*	$5,0^{\text{A}} \times 10^{10} \pm 1,0$
2 – 560PW	$3,3^{\text{A}} \times 10^{10} \pm 0,9$
3 – 810PW	$4,1^{\text{A}} \times 10^{10} \pm 0,7$
4 – 845MG	$4,8^{\text{A}} \times 10^{10} \pm 0,6$
5 – 851MG	$3,1^{\text{A}} \times 10^{10} \pm 1,1$
6 – 861PW	$5,2^{\text{A}} \times 10^{10} \pm 1,1$

*Extrato de levedura padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística em relação ao tratamento (coluna) pelo teste de *Tukey* $p<0,05$.

Apesar do crescimento celular mensurado por contagem bacteriana (UFC.mL^{-1}) não ter tido diferença estatística entre os meios de cultivo, pode-se observar que os maiores valores numéricos também foram obtidos com os extratos 4, 6 e 1 (controle). Isso indica que uma maior disponibilidade de nitrogênio influencia positivamente no crescimento celular da cepa avaliada.

Tabela 2. Concentração de nitrogênio (mg.dL^{-1}) no meio YM com diferentes extratos de levedura no tempo 0 e após 24h de cultivo *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 101.

Tratamentos	0 h	24 h
1 – Controle*	$11,09^{\text{A}} \pm 1,00$	$47,51^{\text{A}} \pm 4,42$
2 – 560PW	$9,39^{\text{B}} \pm 1,03$	$38,74^{\text{B}} \pm 1,51$
3 – 810PW	$9,79^{\text{B}} \pm 0,21$	$31,41^{\text{C}} \pm 3,65$
4 – 845MG	$12,04^{\text{A}} \pm 0,70$	$44,49^{\text{A}} \pm 2,22$
5 – 851MG	$9,11^{\text{B}} \pm 0,18$	$34,18^{\text{BC}} \pm 1,04$
6 – 861PW	$11,01^{\text{A}} \pm 0,84$	$45,27^{\text{A}} \pm 0,15$

*Extrato de levedura padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística em relação ao tratamento (coluna) pelo teste de *Tukey* $p<0,05$.

4. CONCLUSÃO

Os diferentes extratos de levedura avaliados são substitutos adequados para o crescimento celular para a bactéria *Xanthomonas arboricola* pv pruni cepa 101, pois não causaram diferença significativa de crescimento microbiológico quando comparado ao extrato tradicional. Extratos que proporcionaram maior concentração

inicial de nitrogênio também resultaram em maior concentração final no caldo fermentado, com resultados equivalentes ao extrato controle.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORGES, C. D; VENDRUSCOLO, C. T. Goma Xantana: Características e condições operacionais de produção. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v.29, n.2, p 171-188, 2008.
- HAYWARD, A. C. Bacteriophage sensitivity and biochemical type in *Xanthomonas malvacearum*. **Journal of General Microbiology**, v.33, p. 287-298, 1964.
- JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides - New hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Tecnology**, v. 28, p. 34-40, 1974.
- LUVIELMO, MM; SCAMPARINI, ARP. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos tecnológicos**. V.5, n1, p. 50-67, 2009.
- MORALES, G. N. **Integrated management of bacterial spot disease of stone fruits caused by *Xanthomonas arboricola* pv. Pruni: development of a disease forecasting system**. 2017. 179f. Doctoral Thesis. Universitat de Girona.
- RODRIGUES, A. Á. **Avaliação da genotoxicidade e caracterização de xantana produzida por *Xanthomonas arboricola* pv pruni**. 2010. 64f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas.
- SILVEIRA, M. S.; PINTO, G. A. S; RODRIGUES, S. Estudo dos efeitos dos componentes do meio de cultura para crescimento celular de *Xanthomonas campestris* NYDA B-10. In: **XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA**. Ceará, 2010.
- TESMANN, C. **Caracterização molecular de *Xanthomonas campestris* pv. Pruni pela técnica de RAPD e prognóstico da produção e qualidade da xantana**. 2002. 46f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas.