

## OTIMIZAÇÃO DOS ENSAIOS PARA A DETERMINAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DO SOLO

**Lorena Cristina da Mata**, Mestranda CAPS, UEG/CET, [damatalc@gmail.com](mailto:damatalc@gmail.com)  
**Rafaella Medeiros de Siqueira**, Graduanda em Farmácia, UEG/CET, [rafaellamdesiqueira@gmail.com](mailto:rafaellamdesiqueira@gmail.com)  
**Ingrid Maria Landi Santana**, Graduanda em Farmácia, UEG/CET, [ingrid.163@aluno.ueg.br](mailto:ingrid.163@aluno.ueg.br)  
**José Daniel Ribeiro de Campos**, Doutor, UEG/CET, [daniel.campos@ueg.br](mailto:daniel.campos@ueg.br)  
**Alliny das Graças Amaral**, Doutora, UEG/CET, [alliny.amaral@ueg.br](mailto:alliny.amaral@ueg.br)  
**Plínio Lázaro Faleiro Naves**, Doutor, UEG/CET, [plinionaves@ueg.br](mailto:plinionaves@ueg.br)

**Resumo:** A sustentabilidade é cada vez mais demandada na agricultura e o uso de bactérias como inoculantes é uma alternativa promissora. Foi avaliada a curva de crescimento de 6 bactérias isoladas do solo: S04, S39, 110, MT30, MT40 e *Rhizobium radiobacter* ATCC 4720 em caldo LB em diversos tempos de incubação. Todas as bactérias foram capazes de crescer até o 28º dia e foram agrupadas em três perfis de crescimento distintos. MT40 destacou-se com as maiores leituras, seguida da S39 e Rr ATCC 4720. S04, 110 e MT30 apresentaram comportamento distinto com aumento da densidade óptica no 1º dia e queda pronunciada no 2º dia. Em relação a contagem de células viáveis, os resultados foram superiores ao inóculo inicial até o final da incubação, exceto MT40 que apresentou a maior contagem no 4º dia e valores inferiores no final. A relação entre os dois métodos permitiu avaliar a dinâmica das bactérias.

**Palavras-chave:** Bactérias promotoras do crescimento vegetal; Bioinsumos; Inoculantes.

### INTRODUÇÃO

A agricultura moderna está se concentrando nos últimos anos em desenvolver formas de aumentar e melhorar a produção sem prejudicar o ecossistema. Dentre essas formas sustentáveis, estão os bioinsumos, que incluem o uso de bactérias como bioinoculantes (Diniz *et al.*, 2025).

Os micro-organismos interagem com as plantas, colonizando os tecidos e habitando a rizosfera, que é a área do solo em volta das raízes. As bactérias que possuem essa capacidade são denominadas de Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (BPCV), trazendo benefícios por mecanismos diretos e indiretos, auxiliando na produção de hormônios, fixação biológica do nitrogênio, ciclo de sideróforos e ferro e produção de metabólitos secundários, por exemplo (Kibret *et al.*, 2024).

O conhecimento das BPCV e suas capacidades de interação com as plantas podem trazer benefícios para a sustentabilidade da agricultura e potencializar o uso de bioinsumos, nesse sentido o objetivo dessa pesquisa foi acompanhar a cinética de crescimento de cinco bactérias da coleção de micro-organismos do Laboratório de Bioinsumos - Centro de Pesquisa e Pós Graduação da Universidade Estadual de Goiás.

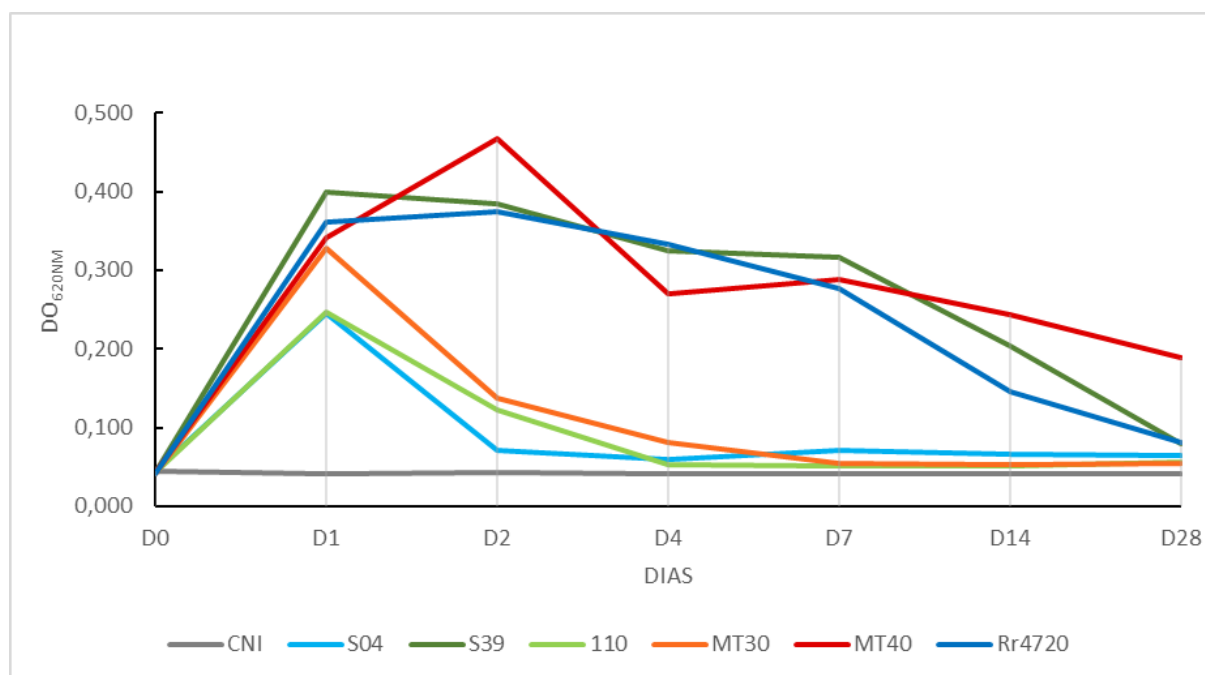
### MATERIAL E MÉTODOS

Alíquotas dos micro-organismos S04, S39, 110, MT30, MT40 e *Rhizobium radiobacter* ATCC 4720 foram reativadas em ágar LB e caldo LB que foram incubados a 28 °C por 24 horas. Após esse período, a pureza dos inóculos foi confirmada em ágar LB e em seguida, 1 mL do caldo LB crescido foi transferido para um tubo com 5 mL de solução fisiológica estéril e após o ajuste da turbidez com a escala 0,5 McFarland, 300  $\mu$ l foram transferidos para um tubo com 2,7 mL de caldo LB estéril. Em seguida, outra diluição foi realizada com o mesmo volume em outro tubo com 2,7 mL de caldo LB. Após fazer as duas diluições, foi transferido 1 mL da diluição final para um frasco de penicilina com 9 mL de caldo LB e o frasco foi homogeneizado e incubado em *shaker* a 28 °C e 140 rpm. Um frasco de controle não inoculado (CNI) foi incluído no ensaio.

A turvação dos caldos de cultura foi determinada pela densidade óptica a 620nm ( $DO_{620nm}$ ) obtida em leitora de microplaca Multiskan FC (Thermo Scientific) nos intervalos D0 (dia zero) do inóculo inicial no início da incubação, D1, D2, D4, D7, D14 e D28. As contagens das bactérias viáveis ( $UFC\ mL^{-1}$ ) nos caldos foram obtidas por meio da diluição e plaqueamento das amostras nos intervalos de D0, D4 e D28 de incubação. Todos experimentos foram realizados em triplicatas independentes e os dados foram inseridos na planilha do *Google Sheets*, para cálculo das médias e desvio padrão.

## RESULTADOS

As bactérias estudadas foram capazes de crescer nas condições avaliadas e as  $DO_{620nm}$  permitiram a construção de uma curva de crescimento (Figura 1). As  $DO_{620nm}$  obtidas no D0 foram semelhantes e no D1 as bactérias S39, Rr4720, MT40 e MT30 apresentaram leituras significativamente maiores que as demais. Entretanto, no D2 apenas a MT40 continuou apresentando aumento da  $DO_{620nm}$ , atingindo a maior leitura do ensaio (0,468). Os isolados S39 e Rr4720 estabilizaram as leituras e os demais apresentaram quedas acentuadas, sendo a S04 com a menor leitura (0,071). No quarto dia, a MT40 apresentou diminuição acentuada da leitura, enquanto que S39 e Rr4720 apresentaram um discreto decréscimo. Os isolados 110 e MT30 também apresentaram leituras menores no D4, enquanto a S04 seguiu estável até o final da incubação e o mesmo fenômeno foi observado para 110 e MT30 a partir do D7. A MT40 apresentou uma diminuição discreta até D14 e uma diminuição mais pronunciada no D28, mas mantendo a maior leitura (0,188) dentre os isolados. A S39 e Rr4720 seguiram em queda até o último dia do ensaio. As  $DO_{620nm}$  dos controles não inoculados permaneceram baixas, confirmando que a esterilidade foi mantida durante todo ensaio.



**Figura 1.** Curva de crescimento das bactérias isoladas do solo.

Em D0 todos os isolados apresentaram crescimento, confirmando que os inóculos estavam viáveis no início do estudo. Os isolados S04 e 110 aumentaram as contagens em D4 e queda em D28. Os isolados S39, MT30 e Rr4720 a queda em D28 foi discreta em relação ao valor de D4. A MT40 alcançou o maior número de células viáveis dentre os isolados com o aumento acentuado em D4 mas com queda considerável em D28, como apresentado na tabela 1.

	S04		S39		110		MT30		MT40		Rr4720	
Dias	MED	DP	MED	DP	MED	DP	MED	DP	MED	DP	MED	DP
D0	3,99	3,48	4,42	3,41	4,05	2,76	4,62	3,91	4,86	4,00	4,09	3,06
D4	7,79	6,69	7,95	7,74	6,29	5,42	4,76	3,77	11,3	9,79	7,08	6,18
D28	4,42	3,41	6,92	5,92	4,92	4,00	5,24	3,86	3,67	2,90	7,08	6,18

**Tabela 1.** Contagem dos micro-organismos viáveis em Log<sub>10</sub>.

## DISCUSSÃO

A correlação entre a turbidez dos caldos devido ao crescimento microbiano ao longo dos dias de incubação e a contagem das bactérias viáveis demonstrou que os isolados S04, 110 e MT30 apresentaram declínio das DO<sub>620nm</sub> até D4 e estabilização até o final do ensaio, enquanto o número de células viáveis dos isolados S04 e 110 apresentaram um decréscimo superior a 1 Log e a MT30 uma diminuição de 0,48 Log. Por outro lado, a MT40 apresentou a maior leitura de viabilidade celular no D4 e a menor contagem no final do ensaio e o mesmo comportamento não foi observado nas leituras da densidade óptica. A *Rhizobium radiobacter* ATCC 4720 manteve o número de células viáveis até o final do ensaio apesar de apresentar queda da DO<sub>620nm</sub> considerável a partir do 4º dia. A S39 por sua vez, apresentou leituras superiores do número de células viáveis no D4, queda maior que 1 Log no final do ensaio e uma correlação positiva com diminuição significativa da densidade óptica a partir do D7 até o D28.

## CONCLUSÕES

A determinação da curva de crescimento de bactérias isoladas do solo com a leitura da densidade óptica em paralelo a contagem das células viáveis nos intervalos, permitiu a verificação do comportamento das culturas bacterianas nas condições avaliadas.

Nosso estudo demonstrou que o comportamento dos isolados é variável e a otimização das condições de cultivo pode ser quesito essencial para o desenvolvimento de bioinsumos.

Destaca-se que o isolado MT40 apresentou crescimento mais acelerado em relação aos outros, com maiores valores de DO<sub>620nm</sub> e UFC mL<sup>-1</sup> e poderia representar uma interessante alternativa como bactéria promotora de crescimento vegetal.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a UEG pela bolsa concedida à primeira autora. A UEG, a plataforma de Pesquisa e Inovação em Bioinsumos. Ao CEBIO-UEG/CEBIO. À FAPEG pela concessão da bolsa de pesquisa.

## REFERÊNCIAS

DINIZ, F.V.; SCHERWINSKI-PEREIRA J.E.; COSTA, F.H.S; CARVALHO, C.M. Effects on plant physiology in response to inoculation of growth-promoting bacteria: systematic review. **Brazilian Journal of Biology**, v. 85, p. e287279, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.287279>. Acesso em: 28 mar de 2025

KIBRET, M; DEVKOTA, K.; BAKRIM, W.B.; EZZARAI, A.; TEREFE, H.; KAROUACH, F.; SOBEH, M.; HAFIDI, M.; KOUISNI, L. Plant growth promoting rhizobacteria mitigate drought and salinity stresses, and improve the physiological and agronomic performances in crops: A systematic review. **CABI Reviews**, v. 19, n. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/cabireviews.2024.0025>. Acesso em: 28 mar. de 2025