

Isolamento e inoculação da bactéria *Leuconostoc Mesenteróides*

José Guilherme Lopes do Carmo Figueiredo, Rosinaldo Soncela, Ricardo Pini Caramit¹

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul – Nova Andradina - MS

jose.figueiredo@novaandradina.org - rosinaldo.soncela@ifms.edu.br

Resumo

Atualmente o Brasil é um dos líderes produtores de cana de açúcar (*Saccharum officinarum*) e seus derivados, por meio da industrialização da matéria prima, tem fundamental importância para o agronegócio brasileiro, devido a vasta gama de subprodutos e por cumprir um papel social muito importante na contratação de mão-de-obra e geração de empregos. Porém há a presença de fatores limitantes da produção, onde que o intuito desta pesquisa foi buscar um meio viável para controle da bactéria (*Leuconostoc mesenteroides*), (dextrana) que atua na contaminação de colmos a partir do momento do corte e posteriormente no beneficiamento, devido a exposição do material a agentes microbianos. A bactéria a ser estudada implica na diminuição da produção de glicose e sacarose, assim consequentemente gerando perdas significativas na produção total. Controle da contaminação no campo, durante o corte, transporte e processo industrial é fundamental para diminuir o impacto no processo industrial (Oliveira et al., 2002). O intuito do presente trabalho foi caracterizar a espécie de bactéria *Leuconostoc mesenteróides* utilizando reação de gram, juntamente com as características morfológicas encontradas na literatura para isolar esta cepa em meio de cultura específico para teste posterior de seguidas concentrações de CuSO_4 como forma de controle, já que o mesmo tem caráter anti-bacteriano.

Palavras-chave: *L. mesenteroides*, características, reação de gram.

Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), tem fundamental importância econômica e social na geração de empregos, renda e matéria prima (RODRIGUES, 2010). Segundo a Conab (2018) cerca de 633,26 milhões de toneladas de cana-de-açúcar foram produzidas na safra de 2017/2018. No entanto existem diversos fatores limitantes na produção, onde a dextrana que são polímeros de glicose produzidos a partir de sacarose e por bactérias da espécie *Leuconostoc mesenteróides* afetam a qualidade do açúcar e consequentemente sua eficiência industrial no momento do beneficiamento, ocasionando mais especificamente perda de sacarose, aumento na viscosidade do caldo e dificuldade de filtração no processo industrial (OLIVEIRA et al. 2002). A contaminação ocorre mais especificamente pela penetração de microrganismos no colmo, através de rachaduras antes ou

mesmo durante o corte da cana, no momento da colheita, como também no processo industrial que acaba por contaminar a cana presente na área formando dextranas, (ALVAREZ & CARDENTY, 1988 apud OLIVEIRA, 2002). Visando a melhorar a qualidade do açúcar e a eficiência industrial, a presente pesquisa tem como objetivo realizar o levantamento e controle da bactéria *Leuconostoc mesenteróides* em área canavieira nas imediações do Vale do Ivinhema.

Metodologia

A pesquisa foi desenvolvida junto aos laboratórios de biologia e química do no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (IFMS) - Campus Nova Andradina, Rodovia MS 473, KM 23 - Fazenda Santa Bárbara. Primeiramente foi realizada uma diagnose visual da região canavieira de Nova Andradina, onde os colmos apresentavam-se com características visualmente semelhantes à infecção por bactérias do gênero *L. mesenteroides* (Figura 1), sendo assim foram feitas a coleta do material para análises e posteriormente realizar o isolamento da bactéria.



Figura 1. Colmos contaminados.

Após a coleta dos colmos foi realizado a maceração do material para desintegrar o tecido afetado. Em seguida foram preparadas placas de petry com meio de cultura específico (ágar MRS *lactobacillus*). Após o preparo das placas foi realizado o esfregaço do material macerado nas placas (Mulet et al., 2010). Após o isolamento da bactéria a mesma foi diluída em água destilada estéril (ADE), na concentração de 1 mg em 500 micro litros, em seguida em cada placa de petry foi distribuído 100 microlitros da solução e realizado o esfregaço, nas mesmas placas foram adicionados 4 discos de papel filtro embebidos na solução de sulfato de cobre (figura 2).

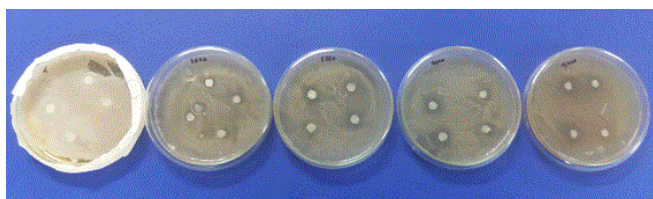


Figura 1. Placas de petry com os discos contendo sulfato de cobre.

A solução de sulfato de cobre (CuSO_4) foi preparada diluindo 0, 3, 5, 7 e 9 mg.L^{-1} .

Depois de inoculadas as placas foram acondicionadas na estufa BOD a 28°C, por 24 horas. Após as 24 horas com o auxílio de um paquímetro foram realizadas a medida dos halos formados em cada disco de papel contendo a solução de sulfato de cobre. Também foi realizada a reação de gram, onde as colônias bacterianas iniciais foram transferidas com alça de repicagem para uma lâmina de microscopia contendo uma gota de solução de KOH a 3%, e homogeneizado o material por 10 segundos para verificação da formação de muco (Ryu, 1940).

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são apresentados os valores médios das medidas dos halos para os diferentes tratamentos.

Observa-se que no tratamento 1 não ocorreu a formação do halo, o que já era esperada e nos tratamentos 2 a 5 a ocorrência do halo, mostrando que o sulfato de cobre exerce uma função bactericida.

TABELA 1 – Médias dos halos formados pela inibição do sulfato de cobre sobre o crescimento de *Leuconostoc mesenteroides*.

Tratamento	Média (cm)
1 (0 mg.L^{-1})	0,000a
2 (3 mg.L^{-1})	0,175b
3 (5 mg.L^{-1})	0,143b
4 (7 mg.L^{-1})	0,235b
5 (9 mg.L^{-1})	0,175b

Na Tabela 1 podemos observar que os tratamentos 2, 3, 4 e 5 foram iguais para o teste de Tukey (1%). Contudo observa-se uma tendência que quando aumentamos a concentração de 7 para 9 mg.L^{-1} , ocorre uma redução na eficiência do sulfato de cobre. Os componentes bactericidas tem um

comportamento de reduzir a eficiência em doses muito elevadas.

Considerações Finais

O sulfato de cobre mostrou-se um potencial bactericida na contenção do desenvolvimento da *Leuconostoc mesenteroides*.

Agradecimentos

Ao IFMS/CNPq pela concessão das bolsas PIBIT.

Referências

RODRIGUES, Luciana. **A cana-de-açúcar como matéria-prima para a produção de biocombustíveis: impactos ambientais e o zoneamento agroecológico como ferramenta para mitigação.** Juiz de Fora. 2010. Disponível em: <http://atividaderural.com.br/artigos/5601927a79cad.pdf> Acesso em: 28 de Julho de 2018.

ALVES, Fernanda. **Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar.** Piracicaba. 2012. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-20052013-163950/pt-br.php> Acesso em: 28 de Julho de 2018.

PEDUZZI, Pedro. **Produção de cana de açúcar diminui 3,6%.** Brasília. 2018. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2018-04/conab-producao-de-cana-de-acucar-diminui-36> Acesso em: 29 de Julho de 2018.

RINALDI, Danilo. TAMANINI, Carolina. VOLL, Cristiano. HAULY, Maria. **Fatores que interferem na produção de dextrana por microrganismos contaminantes da cana de açúcar.** Londrina. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semexatas/article/view/1541> Acesso em: 28 de Julho de 2018.

VETTORI, Mary. **Purificação da dextranasacarase de *L. Mesenteroides* ft045b, produção de dextrana de massa molar média controlada, produção de ácido ascórbico α -glicosídeo e do composto bromo-dextrana.** Rio Claro. 2014. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/134127/000856555.pdf?sequence=1> Acesso em: 30 de Julho de 2018.