

## Meio alternativo à base de extrato de farelo de soja para crescimento de *Bradyrhizobium japonicum*

### Soybean bran extract-based as alternative growth medium for *Bradyrhizobium japonicum*

#### RESUMO

Com o aumento exponencial da população mundial, pode-se dizer que a maior preocupação dos próximos anos será alimentar com eficiência a população. Para isso é imprescindível buscar maneiras de aumentar a capacidade agrícola atual através de um manejo mais efetivo. Neste sentido, a atuação de bactérias fixadoras de nitrogênio em culturas vegetais é fundamental para aumentar a competitividade da agricultura brasileira. Desta forma, sabendo da importância desses micro-organismos para a economia, é essencial encontrar uma maneira de produzi-los de forma mais barata tornando o processo mais viável. Portanto, o presente trabalho teve como principal objetivo avaliar o crescimento da bactéria *Bradyrhizobium japonicum* em meios contendo extrato de farelo de soja, como alternativa ao meio comercial, comumente preparado com extrato de levedura. De acordo com os resultados, verificou-se que o microrganismo apresentou um crescimento ligeiramente maior em relação ao meio comercial, cerca de 5%. Assim, conclui-se que o uso de extrato de farelo de soja em meio de cultura para obtenção de *B. japonicum* é uma alternativa viável e de baixo custo, além do fato de agregar valor à cadeia da agroindústria, uma vez que os resíduos da soja estão disponíveis em grande quantidade na região oeste do Estado do Paraná.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biologia. Agricultura. Economia.

#### ABSTRACT

The exponential world population growth will be the biggest concern for efficiently feed the population in the next years. Therefore, it is essential to look for ways to increase current agricultural capacity through more effective management. In this sense, the performance of nitrogen-fixing bacteria in plant crops are fundamental to increase the competitiveness of Brazilian agriculture. Therefore, knowing the importance of these microorganisms for the economy, it is essential to find a way to produce them cheaper making the process more viable. Therefore, the present study aimed to evaluate the growth of the bacterium *Bradyrhizobium japonicum* in media containing soybean bran extract, as an alternative to commercial medium most commonly prepared with yeast extract. According to the results, it was found that the microorganism showed a slightly higher growth in relation to the commercial environment, about 5%. Thus, the use of soybean extract in culture medium to obtain *B. japonicum* is a viable and low cost alternative, besides adding value to the agroindustry, the residues of soybeans are available in large quantities in the western region Paraná state.

**KEYWORDS:** Biology. Agriculture. Economy.

**Felipe Guerra de Bortoli**  
[felipebortoli@alunos.utfpr.edu.br](mailto:felipebortoli@alunos.utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil

**Priscila Vaz de Arruda**  
[priscilaarruda@utfpr.edu.br](mailto:priscilaarruda@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil

**Danielle Camargo**  
[daniellecamargo@utfpr.edu.br](mailto:daniellecamargo@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

**Direito autoral:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



Página | 2

## INTRODUÇÃO

Com o aumento exponencial da população mundial pode-se dizer que a maior preocupação dos próximos anos será alimentar de forma eficiente a população. Para isso é imprescindível buscar maneiras de aumentar a eficiência agrícola atual, através de um manejo mais efetivo e o desenvolvimento de insumos agrícolas que potencializem essa produção.

Dentre os insumos com potencial para melhora da produtividade pode-se dizer que o uso de inoculantes é o que apresenta maior potencial de expansão. Os inoculantes são produtos agrícolas comerciais constituídos de microrganismos simbióticos que promovem a fixação biológica do nitrogênio atmosférico nas raízes das plantas, dispensando assim o uso de fertilizantes nitrogenados (VARGAS *et al.*, 1982).

Esses produtos vêm sendo usados frequentemente nas lavouras brasileiras, principalmente no cultivo de soja por propiciar a melhoria da fixação biológica de nitrogênio promovida pelos microrganismos diazotróficos, os quais são capazes de suprir sozinhos a necessidade da planta por nitrogênio em todo seu ciclo de vida. Tal característica gera uma economia em fertilizantes nitrogenados de aproximadamente R\$ 27 bilhões por ano somente com a cultura de soja (CONAB, 2017).

A partir disso, a busca por maneiras em tornar o processo de produção destas bactérias de forma mais rentável economicamente tem despertado o interesse nas pesquisas. Assim, o objetivo do presente trabalho é avaliar a substituição de um dos componentes do meio de cultura, tradicionalmente empregado no cultivo de *Bradyrhizobium japonicum*, por insumos mais baratos, como por exemplo, a substituição do extrato de levedura por extrato de farelo de soja. Material este que pode ser obtido após o processamento do grão, que posterior ao esmagamento, extrai o óleo e a massa que fica é tostada e vendida para alimentação animal.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### OBTENÇÃO DO EXTRATO DO FARELO DE SOJA

Para a obtenção do extrato foi utilizada uma técnica de hidrólise do material, baseada em trabalhos prévios de Arruda (2011) para farelo de arroz. A técnica consistiu em submeter cerca de 30 gramas de farelo de soja juntamente com 150 ml de água destilada no interior de um frasco Erlenmeyer de 500 ml à alta pressão e temperatura (1atm/121°C/15min.) em autoclave. Posteriormente, o

material foi centrifugado e o sobrenadante recolhido para a análise de proteína e preparação do meio de cultura.

### ANÁLISE DE PROTEÍNA

A análise proteica do extrato foi realizada seguindo o protocolo da metodologia de Kjeldahl (Moresco, 2016), que se baseia na transformação do nitrogênio presente na amostra em sulfato de amônio por meio de uma digestão ácida, e em nitrogênio amoniacal por destilação em meio alcalino, por fim o nitrogênio da amostra é quantificado através de uma titulação.

Primeiramente 0,5 gramas de amostra foram colocadas em um tubo de digestão juntamente com 1 grama de uma mistura digestora e 25 ml de ácido sulfúrico e deixado a uma temperatura de 400°C durante 4 horas.

Após isso, as amostras foram destiladas no destilador de nitrogênio com hidróxido de sódio 30 %. O destilado foi recolhido em um erlenmeyer já contendo 30 ml de ácido bórico 2 % e 4 gotas de uma mistura de verde de bromotimol e vermelho de metila como indicador.

Recolhido o destilado até um volume final de aproximadamente 75 ml no erlenmeyer esse material foi titulado com ácido clorídrico 0,1 M até atingir a coloração rósea.

### CULTIVO CELULAR

O microrganismo *Bradyrhizobium japonicum*, foi gentilmente cedido pela UTFPR Campus Dois Vizinhos e mantido nos laboratórios da UTFPR-TD em meio contendo glicerol como crioprotetor para armazenamento em freezer comum junto ao banco de cepas existente.

A partir da determinação da quantidade necessária de extrato de farelo de soja para substituir o extrato de levedura foram preparados os meios de cultura em que o microrganismo foi cultivado de acordo a tabela 1.

Tabela 1- Composição do meio de cultura

Componentes	Meio padrão	Meio Alternativo
	g/L	g/L
PEPTONA	5	5
YE	2	0
EXTRATO DE FARELO DE SOJA	0	2
NaCl	5	5
Extrato de carne	1	1

DIGAN, 2016 (modificado)

Com os meios de cultura formulados e sabendo a partir do planejamento inicial que seriam necessários realizar 3 leituras em triplicata foram cultivados nove frascos Erlenmeyer com 50 ml de meio padrão e outros 9 frascos com o

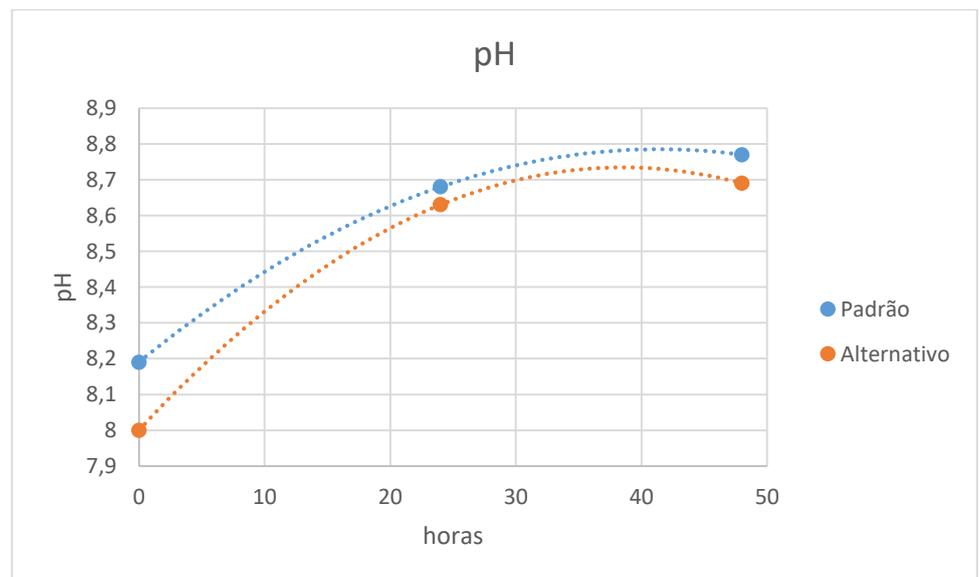
meio teste, meios estes que tiveram a fonte de nitrogênio alterada. Foram inoculados com 5 ml de células e deixados em um incubadora com agitação orbital de 150 rpm e a uma temperatura de 37°C, que são as condições padrões para o cultivo desse tipo de microrganismo segundo a Hungria, 2001.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após os testes de quantificação de nitrogênio pôde-se detectar que o extrato de farelo de soja produzido nas concentrações utilizadas é de 0,347 g / 100g de amostra, esse quantidade de proteínas quando comparada com dados históricos de teor proteico no farelo de soja puro, cerca de 46% de proteína bruta (USDA, 2019) indicam que a transferência de proteína do farelo para o extrato no processo utilizado não teve uma eficiência muito elevada, mostrando um ponto para aperfeiçoamento em trabalhos futuros.

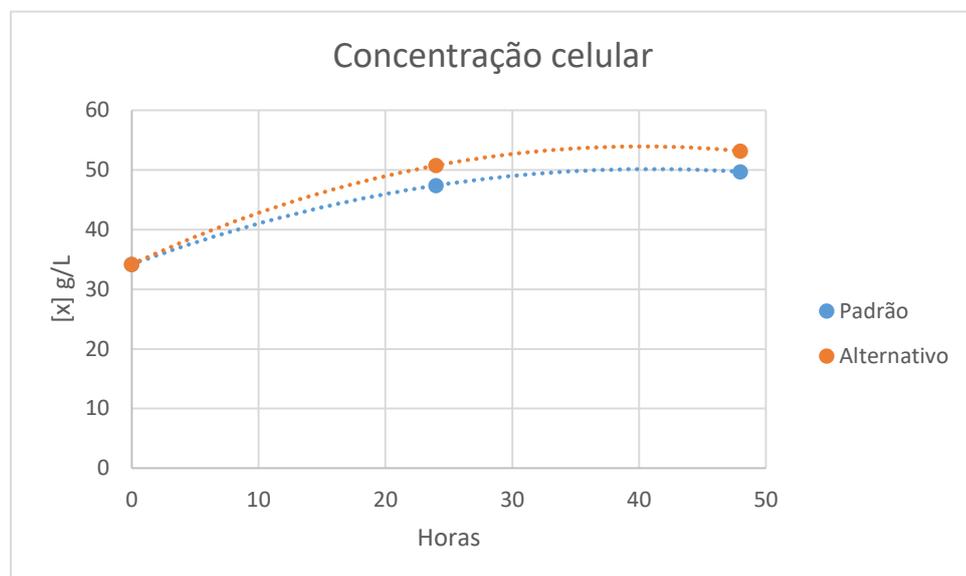
Os dados de variação de pH e concentração celular obtidos durante o cultivo bacteriano estão dispostos nas figuras 1 e 2 abaixo.

Figura 1- Curva de variação de pH



Fonte: Próprio autor

Página | 5 Figura 2- Curva de crescimento bacteriano



Fonte: Próprio autor

Analisando percebe-se que o pH do meio alternativo e do meio padrão é muito semelhante, sendo o meio alternativo levemente mais ácido isso significa que as condições de crescimento que o meio proporciona tanto no alternativo quanto no padrão são muito semelhantes.

Já analisando o crescimento bacteriano mostrado na leitura de concentração celular observa-se que as bactérias se adaptaram ao meio alternativo apresentando um crescimento cerca de 5 % maior, mostrando que existe viabilidade na produção de meios de culturas comerciais utilizando essa matéria prima como fonte de nitrogênio.

Os resultados deste trabalho demonstram a possibilidade da formulação de novos meios de cultivo com rejeitos industriais como matéria prima, gerando uma enorme economia para empresas que atuam no ramo de fermentações aumentando os lucros das empresas e diminuindo o valor final do produto tornando-os mais acessíveis ao consumidor final.

### AGRADECIMENTOS

À equipe de técnicos dos laboratórios de química e microbiologia da UTFPR, em especial a Danielle Camargo, e aos professores do COEBB por todo o auxílio prestado durante a realização deste projeto.

## REFERÊNCIAS

ARRUDA P. V. Ampliação de escala da produção biotecnológica de xilitol a partir do bagaço de cana-de-açúcar. 2011. 168f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Lorena, 2011

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. O comportamento dos preços dos insumos agrícolas na produção de milho e soja. **Compêndio de estudos Conab**, Brasília, v. 7, 2017.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Fixação biológica de nitrogênio na cultura de soja. **Empresa brasileira de pesquisa agropecuária**, Londrina, 2001.

MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2016.

MORESCO, Camila. Aula prática – determinação de proteínas, Composição de alimentos e bromatologia. UTFPR, Toledo, 2016.

U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE (Usa) (Org.). **Food data central: Soy meal, defatted, raw**. Washington: Agricultural Research Service, 2019. Disponível em: <<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/172445/nutrients>>. Acesso em: 19 ago. 2019.

VARGAS, M. A. T.; PERES, J. R. R.; SUHET, A. R. Adubação nitrogenada, inoculação e épocas de calagem para a soja em um solo sob Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, p. 1127 – 1132, 1982.