



POTENCIAL DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS NO CONTROLE ANTAGÔNICO DE MICRORGANISMOS CONTAMINANTES NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE CAMU-CAMUZEIRO (*Myrciaria dubia* (KUNTH) MCVAUGH)

POTENTIAL OF ENDOPHYTIC BACTERIA IN THE ANTAGONISTIC CONTROL OF CONTAMINANT MICROORGANISMS IN THE *IN VITRO* MULTIPLICATION OF CAMU- CAMU (*Myrciaria dubia* (KUNTH) MCVAUGH)

Beatriz Emanuela Pereira¹; Pollyana Cardoso Chagas²; Hosana Carolina dos Santos Barreto³; Caroline Marques Silva⁴; Victor Braz Cabral⁵; Vanessa Barbosa Nascimento⁶; Denise Pinho Moreira⁷; Karolaine Lima de Sousa⁸.

¹Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima. CEP: 69.301-970, Brasil. beatriz.e.p.c@gmail.com. Apresentador do trabalho.

²Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima, CEP: 69.301-970, Brasil. pollyana.chagas@ufrr.br

³Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima, CEP: 69.301-970, Brasil. hosana.barreto@ufrr.br

⁴Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima. CEP: 69.301-970, Brasil. carolinemarques169@gmail.com

⁵Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima, CEP: 69.301-970, Brasil. vtorbraz@gmail.com

⁶Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima, CEP: 69.301-970, Brasil. vanessabarbosa.n@gmail.com

⁷Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima. CEP: 69.301-970, Brasil. denamoreira18@gmail.com

⁸Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima. CEP: 69.301-970, Brasil. karolaine.sousalima@gmail.com

INTRODUÇÃO

No Brasil, há uma grande variedade de fruteiras nativas, especialmente na Região Norte, entre as quais se destaca o camu-camuzeiro (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh), atualmente considerado a maior fonte natural de vitamina C, podendo atingir 7.355, 20 mg.100g⁻¹ de polpa (CHAGAS et al., 2015).

A estaquia, é um método comum de cultivo e tem se mostrado ineficiente para a multiplicação em larga escala do camu-camuzeiro. Esse problema pode ser minimizado ou resolvido com o uso de técnicas de cultivo *in vitro* em condições assépticas, em espaço físico reduzido e em qualquer época do ano. Porém, enfrenta altas taxas de contaminação por fungos, exigindo protocolos específicos de desinfestação para espécies nativas. (ARAÚJO et al., 2021).

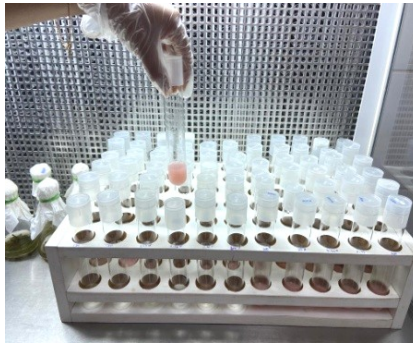
Esposito-Polesi (2020) afirma que há uma atribuição arbitrária de contaminação a todo microrganismo encontrado na micropropagação, sendo necessária a correta diferenciação entre contaminação microbiana e manifestação endofítica. Nesse contexto, a seleção e uso de bactérias antagonistas no controle de doenças em grandes culturas agrícolas tem sido amplamente estudado para minimizar ou substituir o uso de agentes químicos no cultivo *in vitro* (GABARDO et al., 2020).

Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar o potencial antagonístico de bactérias endofíticas no controle de fungos contaminantes na micropropagação.

METODOLOGIA

O teste de antagonismo foi realizado com base no método de pareamento de colônias descrito por Johnson e Curl (1972). Foram selecionados fungos contaminantes mais frequentes da micropropagação e bactérias com potencial antagonista (Figura 1).

Figura 1. Explantes da micropropagação do camu-camuzeiro



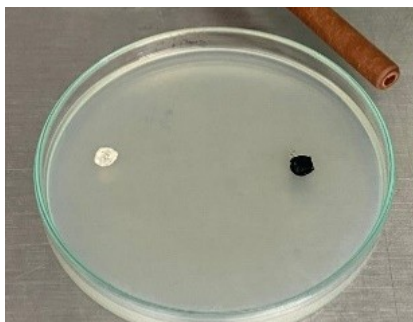
Essas bactérias isoladas em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) sete dias antes da instalação do experimento (Figura 2).

Figura 2. Isolamento de bactérias endofíticas



Discos de cultura dos antagonistas (17A) *Bacillus pumilus*, (18B) *Bacillus Safensis*, (18N) *Bacillus Subtilis*, e do contaminante (4.3) *Curvularia* spp. ($\varnothing = 5$ mm) foram colocados em lados opostos e equidistantes em placas de Petri (a 5 mm da borda) contendo BDA. As placas foram então dispostas em uma bancada, à temperatura ambiente, com um fotoperíodo de 12 horas claro/escuro.

Figura 3. Discos de cultura da bactéria e do contaminante



A avaliação foi iniciada a partir de 24 horas da instalação do experimento, medindo-se diariamente o crescimento radial (mm) das colônias, até o crescimento completo da testemunha na placa. Com os dados obtidos foi determinada a percentagem de inibição do crescimento radial do patógeno nos tratamentos, em relação à testemunha, de acordo com a equação de Ezziyyani et al. (2004):

$$PICR = \frac{(R1 - R2)}{R1}$$

Sendo PICR= % de inibição de crescimento micelial, R1= Raio da testemunha e R2= Raio do tratamento.

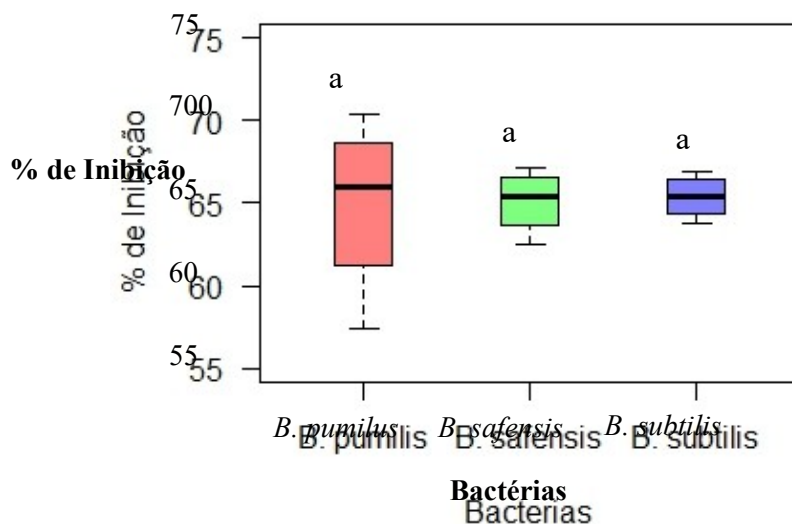
Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 3 bactérias (18B) (17A) *Bacillus pumilus*, (18B) *Bacillus Safensis*, (18N) *Bacillus Subtilis*, e 1 fungo (4.3) *Curvularia* spp. e 4 repetições. Utilizando o Software R versão 4.2.2 (R Development Core Team, 2024). As análises estatísticas e gráficas foram realizadas com o pacote AgroR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No método de pareamento, as bactérias (17A) *Bacillus pumilus*, (18B) *Bacillus Safensis*, (18N) *Bacillus Subtilis* não apresentaram diferença significativa estatisticamente ($p=0.981$), quando testadas no fungo *Curvularia* spp. Inibindo assim o fungo em 64,92%, 65,11% e 65,38% respectivamente (Figura 4).

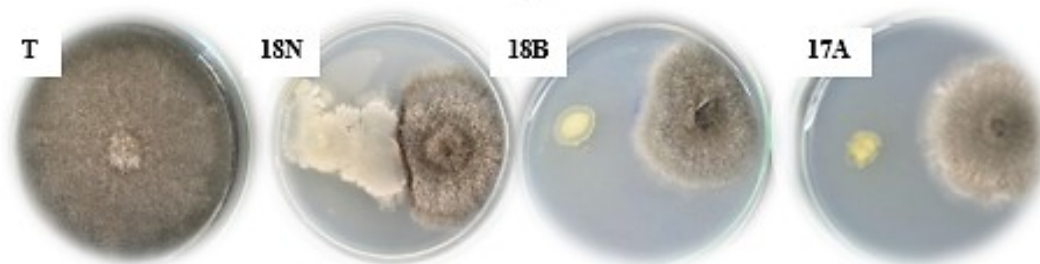
Figura 4. Percentual médio de inibição do crescimento radial (PICR) de (17A) *Bacillus pumilus*, (18B) *Bacillus Safensis*, (18N) *Bacillus Subtilis* contra o fungo *Curvularia* spp.



No trabalho realizado por Zambrano et al. (2022), foi analisada a porcentagem de inibição pelo método de pareamento em diferentes espécies do gênero *Bacillus*. Nesse estudo, verificou-se a capacidade de inibição entre essas espécies e a produção de compostos antifúngicos, os quais

apresentaram uma inibição do crescimento micelial do fungo *Sclerotium* spp. em 53,7% e 29,2%. Esses resultados corroboram com este experimento, onde bactérias do gênero *Bacillus* mostraram-se eficazes na inibição de fungos patogênicos, atingindo uma porcentagem de inibição superior a 50% (Figura 5).

Figura 5. Antagonismo das (17A) *Bacillus pumilus*, (18B) *Bacillus Safensis*, (18N) *Bacillus Subtilis*, após sete dias de incubação em câmara de crescimento, por método de pareamento contra os fitopatógenos de *Curvularia* spp. (A) testemunha (T).



Bach et al., (2022), observando os genomas das cepas de *B. pumilus*, *B. safensis*, analisou que essas bactérias possuem muitas características em comum e que os genomas avaliados abrigam muitos genes relacionados a estilos de vida associados a plantas, destacando o potencial para o desenvolvimento de inoculantes com cepas dessas espécies, especialmente para o biocontrole de fitopatógenos fúngicos.

CONCLUSÃO

As bactérias (18B) *Bacillus Safensis*, (18N) *Bacillus Subtilis*, (17A) *Bacillus pumilus*, testadas no método de pareamento apresentaram atividades antagonistas na inibição de crescimento micelial do fungo contaminantes de *Curvularia* spp.

Desse modo, os resultados preliminares sugerem que a inoculação de explantes de camu-camuzeiro com bactérias endofítica pode oferecer uma nova abordagem promissora para melhorar o crescimento e controle de doenças durante a micropropagação.

AGRADECIMENTO

À Capes pelo auxílio financeiro.

REFERENCIAS

ARAÚJO, M. D. C. D. R.; CHAGAS, E. A.; VENDRAME, W.; RIBEIRO, M. I. G.; MOURA, E. A. D.; TAVEIRA, D. L. L.; CHAGAS, P.C; GRIGIO, M. L. Callus induction and pro-embryogenic mass formation in *Myrciaria dubia*, an important medicinal and nutritional plant. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. e25442131, 2021.

BACH, E.; RANGEL, C. P.; RIBEIRO, I. D. A.; PASSAGLIA, L. M. P. Pangenome analyses of *Bacillus pumilus*, *Bacillus safensis*, and *Priestia megaterium* exploring the plant-associated features of



bacilli strains isolated from canola. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 297, n. 4, p. 1063-1079, 2022.

CHAGAS, E.A.; LOZANO, R.M.B.; CHAGAS, P.C.; BACELAR-LIMA, C.G.; GARCIA, M.I.R.; OLIVEIRA, J.V.; ARAÚJO, M.D.C.D.R. Variabilidade intraespecífica de frutos de camu-camu em populações nativas na Amazônia Setentrional. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.15, n. 4, p. 265-271, 2015.

ESPOSITO-POLESI, N. P. Contaminação versus manifestação endofítica: implicações no cultivo *in vitro* de plantas. **Rodriguésia**, v. 71, p. e00562018, 2020.

GABARDO, G.; DALLA PRIA, M.; PRESTES, A. M. C.; DA SILVA, H. L. *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos *in vitro*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55870-55885, 2020.

JOHNSON, L. F.; CURL, A. **Methods for research on the Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens**, 1972, 247p.

EZZIYYANI, M.; SÁNCHEZ, C. P.; REQUENA, M. E.; RUBIO, L.; CASTILLO, M. E. C. Biocontrol por *Streptomyces rochei*-Ziyani-, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsica*. IN: **Anales de biología**. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia, n. 26, p. 61-68, 2004.

R Core Team, 2024. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2024.

ZAMBRANO, M. A. R.; CASTANHARO, G. R. P.; DE SOUZA AGUIAR, R. W.; JUNIOR, A. F. C. Atividade antagonista *in vitro* de *Sclerotium* sp. por *Bacillus* sp. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. e380111335351-e380111335351, 2022.