



AValiação dos Métodos de Antagonismo das Bactérias Endofíticas no Controle de Fungos Contaminantes da Micropropagação do Camu-camuzeiro

EVALUATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA ANTAGONISM METHODS IN CONTROLLING CONTAMINATING FUNGI IN THE MICROPROPAGATION OF CAMU-CAMU

Victor Braz Cabral¹; Caroline Marques Silva²; Edvan Alves Chagas³; Hosana Carolina dos Santos Barreto⁴; Beatriz Emanuela Pereira da Cruz⁵; Deila Cristina Vieira da Silva⁶; Adeine de Souza Ribas⁷, Bruna da Silva Salvador⁸.

¹Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima, CEP: 69.301-970, Brasil. vtorbrz@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. carolinemarques169@gmail.com

³Empresa Brasileira Agropecuária (EMBRAPA-RR), Rodovia BR 174, Km 8 sn., Boa Vista - Roraima Brasil. CEP: 69301-970 edvan.chagas@embrapa.br

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

⁵Universidade 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

⁶Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR-174, Km 12, Monte Cristo, Boa Vista - Roraima, CEP: 69.301-970, Brasil. deilacris16@gmail.com

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

⁸Instituto de Educação e Inovação (IEDi), Av. Ville Roy, 1908 - Caçari, Boa Vista - Roraima, CEP: 69307-725, Brasil. bruna.s.salvador.12@gmail.com

INTRODUÇÃO

O camu-camuzeiro (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh), da família Myrtaceae, se destaca dentre as fruteiras nativas da Amazônia por apresentar grande potencial econômico pelas suas características nutracêuticas e nutricionais. É conhecida por apresentar elevado teor de vitamina C, podendo atingir 7.355,20 mg por 100⁻¹ g de polpa (CHAGAS et al., 2015).

A micropropagação do camu-camuzeiro é viável com técnicas *in vitro*, como organogênese e embriogênese somática (ARAÚJO et al., 2016). Contudo, a contaminação fúngica representa um desafio significativo para o estabelecimento da cultura. (DORIGHELLO et al., 2020).

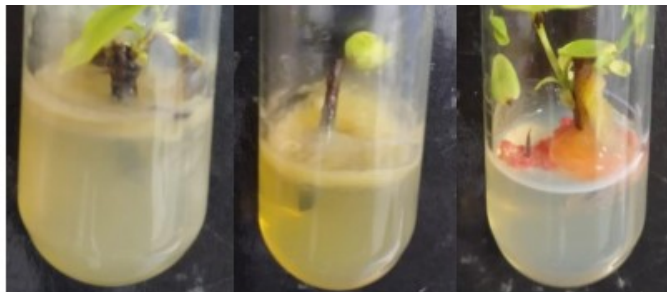
Os microrganismos endofíticos são organismos conhecidos por habitar o interior dos tecidos vivos de uma planta e estão relacionados com controle biológico de pragas e doenças (LOPES et al., 2021). Desse modo, o controle biológico surge como uma estratégia viável para o controle de fungos, uma vez que é uma alternativa ao uso de fungicidas comerciais para controlar doenças na micropropagação (YANG et al., 2020).

Diante disso, objetivou-se avaliar o potencial antagônico de bactérias isoladas de camu-camuzeiro no controle de fungos contaminantes da micropropagação.

METODOLOGIA

O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia de Solos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Os isolados endofíticos foram obtidos a partir de microrganismos que foram identificados na cultura de tecidos. (Figura 1).

Figura 1. Bactérias endofíticas da multiplicação *in vitro* de camu-camuzeiro



Esses microrganismos foram posteriormente isolados e identificados em experimentos anteriores. Foram avaliadas as atividades antagonistas das bactérias *Bacillus safensis* (18B), *Bacillus pumilus* (18M).

No primeiro método foi utilizado a técnica de difusão que consistiu no cultivo do patógeno sobre a cultura do antagonista. Para isto, um disco de 7 mm de BDA (Batata-Dextrose-Ágar), colonizado por *Curvularia* sp. foi alocado no centro da placa de petri, previamente inoculadas com bactérias, *Bacillus safensis* (18B), *Bacillus* sp. (18M) (Figura 3).

No segundo método, a inibição do crescimento de *Curvularia* sp. foi avaliada pela produção de metabólitos termoestáveis por antibiose de *Bacillus safensis* (18B), *Bacillus* sp. (18M). Erlenmeyer com 50 ml de meio BDA foram inoculados com as cepas antagonistas e incubados por 48 horas. Em seguida, foram autoclavados a 121 °C por 15 minutos e transferidos para uma câmara de fluxo laminar para solidificação do meio. Após a solidificação, discos de BDA colonizados por *Curvularia* sp. foram colocados no centro das placas. Como controle, discos de meio BDA colonizados por *Colletotrichum* sp. e *Curvularia* sp. foram adicionados em placas de Petri com BDA. Todos os tratamentos foram mantidos a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. (Figura 3).

Figura 3. Primeiro (1) e segundo método (2) de antagonismo



A avaliação consistiu na medição, auxiliada por um paquímetro, do diâmetro médio das colônias de *Curvularia* sp. ao longo de oito dias após as inoculações. Em seguida, foi calculada a porcentagem de inibição (%I) dos tratamentos em relação à testemunha, utilizando a fórmula: %I = (C



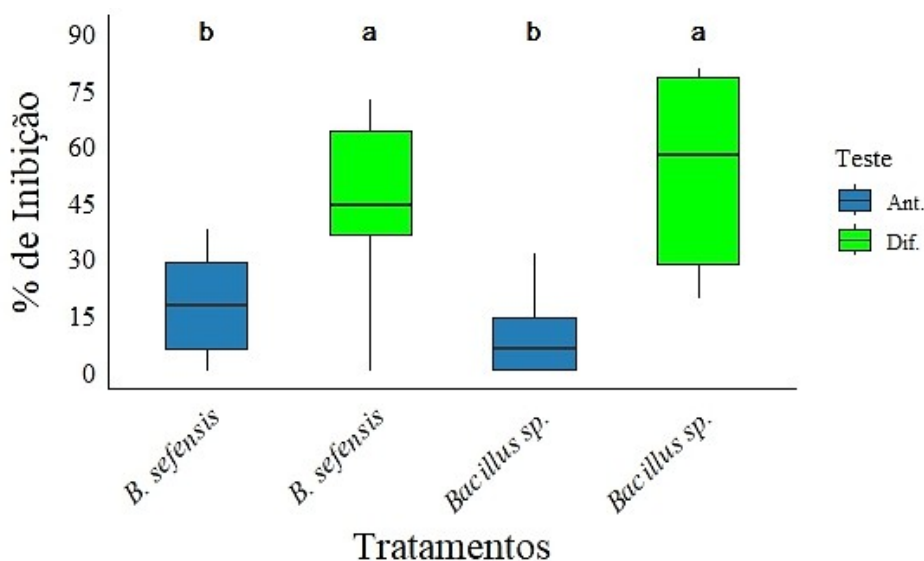
- $T / C \times 100$, onde %I é a porcentagem de inibicao, C é o diametro medio do crescimento micelial da testemunha e T é o diametro medio do crescimento micelial do tratamento controle.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC, com: dois metodos de avaliacao do antagonismo; um tratamento controle; 2 bacterias de *Bacillus safensis* (18B) e *Bacillus* sp. (18M), com dois fungos, *Curvularia* sp., *Colletotrichum* sp., e tres repeticoes. A analise foi realizada pelo Software R versao 4.2.2 (R Development Core Team, 2024). A estatistica e a representacao grafica foram analisadas e geradas pelo pacote AgroR.

RESULTADOS E DISCUSSAO

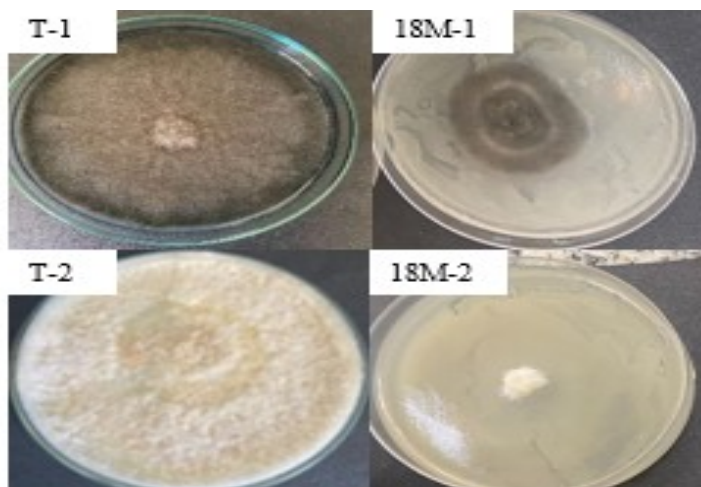
As analises estatisticas foram realizadas usando o teste de Kruskal-Wallis para variancias nao parametricas devido a falta de normalidade e homogeneidade das variancias. Os resultados da analise estatistica indicaram diferencas significativas entre pelo menos um par de grupos, com um valor de p de 0.01987 no teste de Kruskal-Wallis. Em seguida, foi realizado o teste de Dunn para comparacoes multiplas. O teste de Dunn revelou uma diferenca significativa entre os grupos "Antibiose." e "Difusao.", com um valor de p de 0.0012 conforme mostra no (Gráfico 1).

Gráfico 1. Porcentagem de inibicao do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., submetido a diferentes metodos de antagonismo por *Bacillus safensis* (18B) e *Bacillus* sp. (18M),



Em todos os casos analisados, o metodo de difusao revelou valores de inibicao mais elevados em comparacao com o metodo de antibiose. Isso sugere que a inibicao dos fungos é mais eficaz quando mediada por compostos de condicoes diretas produzidos pelas bacterias, com uma taxa de inibicao de aproximadamente até 77% (Figura 4).

Figura 4. *Bacillus* sp. (18M), contra o fungo, *Curvularia* sp., (1), e *Colletotrichum* sp. (2), após sete dias de incubação em câmara de crescimento, por método de difusão (utilizou-se a técnica de cultura fúngica sobre cultura antagonista), e testemunha (T).



Sánchez et al. (2014), comparando métodos de antagonismo, notaram que testes de difusão com confronto direto da cultura fúngica sobre cultura antagonista, bactérias do gênero *Bacillus* sp. expressaram capacidade de inibir o crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides*, entre 62 e 80% de inibição.

Embora o método de antibiose seja menos eficaz do que a difusão, ele ainda demonstra uma atividade inibitória significativa. A eficácia das bactérias varia conforme o método utilizado e o tipo de fungo em questão. Em geral, *Bacillus* sp. exibe taxas de inibição mais altas, especialmente no método de antibiose contra o fungo *Curvularia* sp., e no método de difusão contra ambos os fungos (*Colletotrichum* sp. e *Curvularia* sp.). Como já relatado por Sobrinho et al. (2018), que testando filtrados das culturas bacterianas de *Bacillus* sp., após terem sido submetidos a tratamento térmico não perderam atividade inibitória. Estes autores observaram uma redução significativa do crescimento micelial de diversos fungos fitopatogênicos pela ação de metabólitos termoestáveis produzidos por *B. subtilis*.

CONCLUSÃO

Portanto, os resultados sugerem que, para controle eficaz dos fungos *Colletotrichum* sp. e *Curvularia* sp., a utilização do método de difusão produzidos pelas bactérias *Bacillus safensis* (18B) e *Bacillus* sp. (18M), é a estratégia mais recomendada.

Desse modo, em trabalhos futuros é possível analisar a possibilidade de produzir bioinsumos provenientes de bactérias endofíticas para o controle de doenças de plantas na micropropagação, isolados da mesma espécie frutífera.

AGRADECIMENTO



À Capes pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, M. C. R.; CHAGAS, E. A.; RIBEIRO, M. I. G.; PINTO, S. T. S.; CHAGAS, P. C.; VENDRAME, W.; MOTA FILHO, A. B.; SOUZA, O. M. Micropropagation of caçari under different nutritive culture media, antioxidants, and levels of agar and pH. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 33, p. 1771-1780, 2016.

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.

DORIGHELLO, D. V.; FORNER, C.; CAMPOS, R. M. V. B; BETTIOL, W. Management of Asian soybean rust with *Bacillus subtilis* in sequential and alternating fungicide applications. **Australasian Plant Pathology**, v. 49, n. 1, p. 79-86, 2020.

LOPES, M. J.; SANTOAGO, B. S.; SILVA, I. N.B.; GURGEL, E.S. C. Biotecnologia microbiana: inoculação, mecanismos de ação e benefícios às plantas. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e356101220585-e356101220585, 2021.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing., 2022. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>.

SÁNCHEZ, R.E.; BAUTISTA, M.A.M.; CRISTÓBAL, J.A.; VALENCIA, B.A.; REYES-R.A. Actividad antagonica de filtrados de *Bacillus subtilis* contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). **Revista mexicana de ciencias agrícolas**, v. 5, n. 7, p. 1325-1332, 2014.

SOBRINHO, G. G. R; BRITO, N. D.; SANTOS, M.; NOVAEAS, Q. ATIVIDADE ANTAGONISTA DE *Bacillus subtilis* SOBRE DOIS ISOLADOS DE *Fusarium solani* DO MARACUJAZEIRO, POR DIFERENTES MÉTODOS. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.15 n.28; p. 131-138, 2018.

YANG X; ZHANG, L; XIANG, Y; DU, L; HUANG, X; LIU Y. Comparative transcriptome analysis of *Sclerotinia sclerotiorum* revealed its response mechanisms to the biological control agent, *Bacillus amyloliquefaciens*. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 12576, 2020.