PRESERVAÇÃO DE BACILLUS SPP. PELO MÉTODO CASTELLANI

COSTA, Cintia Aparecida [1]; DE MELO, Gabriel Augusto Costa Soares [2]; OLIVEIRA, Daniel Estevam do Amaral[3], OLIVEIRA, Vitoria Estevam do Amaral[4], PONTES, Nadson de Carvalho[5]; FUJINAWA, Miriam Fumiko [6]

[1] Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos - GO. cintia.aparecida@estudante.ifgoiano.edu.br; [2] Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos - GO. gabriel.costa2@estudante.ifgoiano.edu.br;[3] Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos - GO. daniel.estevam@estudante.ifgoiano.edu.br; [4] Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos – GO, vitoria.estevam@estudante.ifgoiano.edu.br; [5] Orientador – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos - GO. nadson.pontes@ifgoiano.edu.br; [6] Orientadora – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Morrinhos - GO. miriam.fujinawa@ifgoiano.edu.br

RESUMO: A manutenção de coleções de culturas de agentes de controle biológico, como *Bacillus* spp., demanda métodos eficientes e economicamente viáveis em laboratórios institucionais. O presente trabalho objetivou validar a eficiência e a viabilidade a médio prazo do método Castellani (preservação em água destilada estéril) para isolados de *Bacillus* spp., além de integrar bolsistas e estudantes voluntários dos cursos Técnico em Agropecuária e Bacharelado em Agronomia na rotina prática laboratorial de fitopatologia. O monitoramento microbiológico foi conduzido no IFGoiano – Câmpus Morrinhos por meio de testes trimestrais de sobrevivência. O método de Castellani mostrou-se altamente eficaz, mantendo a viabilidade celular, a pureza biológica e as características morfológicas originais das culturas bacterianas testadas, sem demandar custos operacionais. Adicionalmente, as atividades práticas capacitaram os estudantes em técnicas fitopatológicas essenciais.

Palavras-chave: Controle biológico. Conservação de culturas. Água destilada estéril. Biocontrole.

INTRODUÇÃO

O uso excessivo de defensivos químicos no controle de doenças de plantas tem impulsionado a seleção de fitopatógenos resistentes em condições de campo. Diante deste cenário, o controle biológico surge como uma alternativa sustentável no manejo de doenças do tomateiro, destacando-se a utilização de bactérias do gênero *Bacillus* spp. como agentes de biocontrole e promotores de crescimento vegetal (LANNA FILHO et al., 2010).

A manutenção adequada e a preservação de longo prazo desses isolados bacterianos em coleções laboratoriais são fundamentais para garantir a disponibilidade de materiais viáveis para fins experimentais e didáticos. No entanto, muitos métodos tradicionais exigem subcultivos constantes ou equipamentos de alto custo (SOLA, 2011).

Neste contexto, métodos de preservação simples e econômicos, como o método de Castellani (armazenamento em água destilada estéril) (CASTELLANI, 1939), necessitam de validação constante para garantir que não ocorram mutações ou perda de vigor. Além do ganho científico, a rotina de manutenção de uma coleção de microrganismos laboratorial constitui um ambiente pedagógico propício para a formação de recursos humanos.

A inserção de estudantes de nível médio técnico e cursos superiores das ciências agrárias em projetos de pesquisa permite a indissociabilidade entre teoria e prática. O objetivo deste trabalho foi validar o método Castellani para a preservação de *Bacillus* spp. e avaliar a viabilidade das culturas, promovendo simultaneamente o treinamento prático de bolsistas e voluntários do curso Técnico em Agropecuária e superior em Agronomia em rotinas laboratoriais fitopatológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas e no Laboratório de Fitopatologia (LAFIP) do Instituto Federal Goiano – Câmpus Morrinhos. Foram utilizados isolados bacterianos do gênero *Bacillus* spp., previamente reativados e purificados em meio Nutriente Ágar (NA) por 24 horas a 28 °C.

O delineamento envolveu o treinamento prático e supervisionado de bolsistas de iniciação científica e discentes voluntários do curso Técnico em Agropecuária e superior em Agronomia, abordando desde a preparação de meios de cultura

até técnicas de inoculação, testes de patogenicidade e hipersensibilidade, isolamento e reisolamento.

Para a validação, três metodologias de preservação foram testadas comparativamente de acordo com protocolo adaptado de Nogueira (2009):

Método Castellani: alíquotas de suspensão bacteriana em fase logarítmica de crescimento foram inoculadas diretamente em tubos de vidro contendo 1 mL de água destilada autoclavada;

Óleo Mineral: culturas jovens crescidas em tubos de ensaio com meio NA inclinado foram completamente cobertas com óleo mineral previamente esterilizado (121 °C, 1 atm por 30 minutos) e desidratado em estufa;

Papel Filtro: discos de papel filtro estéreis (4 mm de diâmetro) foram imersos em suspensão bacteriana enriquecida com leite desnatado estéril (10% p/v) como crioprotetor, seguidos por secagem sob vácuo.

O monitoramento microbiológico e as avaliações de viabilidade e pureza biológica foram realizados trimestralmente através do método de plaqueamento por esgotamento em meio NA, registrando-se o tempo de recuperação (horas) e a presença de contaminação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As atividades laboratoriais integradas demonstraram que a inserção dos estudantes do ensino técnico na rotina fitopatológica promoveu a apropriação de conhecimentos práticos sobre biossegurança, assepsia e manejo de microrganismos, fortalecendo a formação profissional dos jovens.

No monitoramento biológico, o método Castellani validou-se como uma excelente alternativa de armazenamento. As colônias de *Bacillus* spp. preservadas em água destilada estéril mantiveram taxas elevadas de recuperação celular, com crescimento rápido e vigoroso observado nas primeiras 24 horas após o plaqueamento. Além disso, o método Castellani não registrou perdas por contaminação externa, dada a ausência de manipulações frequentes na coleção.

Em contrapartida, o método de preservação em papel filtro demandou maior nível de habilidade técnica na sua confecção e apresentou taxas flutuantes de recuperação a depender do tempo de dessecação. O método com óleo mineral apresentou boa estabilidade, porém mostrou-se operacionalmente mais complexo e laborioso para a rotina diária em comparação à simplicidade da água estéril. A estabilidade biológica de bactérias em água, sem a indução de mutações deletérias, corrobora as dinâmicas de sobrevivência celular em meios oligotróficos descritas na literatura de conservação de microrganismos (SOLA, 2011).

CONCLUSÃO

O método de Castellani validou-se como o sistema mais eficiente, prático e de menor custo para a preservação de curto a médio prazo de isolados de *Bacillus* spp., assegurando alta viabilidade celular, pureza das culturas.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal Goiano – Câmpus Morrinhos e ao CNPq pelo suporte financeiro através da concessão de bolsas de Iniciação Científica e pela disponibilização da infraestrutura laboratorial essencial para a execução desta pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTELLANI, A. **Viability of some pathogenic fungi in distilled water**. Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 42, n. 24, p. 270-276, 1939

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; SOLA, R. M. **Biocontrole de enfermidades de plantas por espécies do gênero *Bacillus***. Revista de Ciências Agrárias, v. 33, n. 1, p. 287-295, 2010.

NOGUEIRA, R. **Manual de Métodos Práticos em Fitopatologia e Conservação de Microrganismos**. Morrinhos: IF Goiano, 2009. 120 p.

SOLA, R. **M. Manutenção e Conservação de Culturas Bacterianas em Laboratórios de Microbiologia. Jaguariúna**: EMBRAPA, 2011. 45 p.