

Prospecção de actinobactérias com potencial ação bioherbicida⁽¹⁾

Bárbara Ventura Ferreira⁽²⁾, Mikaelly Sousa Marins⁽³⁾, Ivanildo Evódio Mariel⁽⁴⁾ e Alexandre Ferreira da Silva⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Trabalho financiado pelo CNPq. ⁽²⁾ Estudante de graduação, Universidade Federal de São João del-Rei, bolsista PIBIC/CNPq. ⁽³⁾ Bolsista, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. ⁽⁴⁾ Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Resumo – A busca por formas sustentáveis de manejo de plantas daninhas é um desafio crucial na Ciência de Plantas Daninhas, impulsionando a prospecção de novas moléculas herbicidas de origem microbiana. A resistência das plantas daninhas aos herbicidas convencionais intensifica a necessidade de soluções inovadoras. Neste contexto, as actinobactérias, reconhecidas por produzir compostos bioativos, destacam-se como potenciais bioherbicidas. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade herbicida do sobrenadante de 53 estirpes de actinobactérias da Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos (CMMF) da Embrapa Milho e Sorgo, utilizando pepino (*Cucumis sativus*) como planta indicadora. As actinobactérias foram isoladas, reativadas em meio sólido e cultivadas em meio líquido M21 por 15 dias a 28 °C e 120 RPM. As sementes de pepino, desinfestadas com Peróxido 3%, germinaram em tubos de ensaio contendo algodão esterilizado embebido nos sobrenadantes filtrados. A germinação foi monitorada por 7 dias em câmara de crescimento a 28 °C ± 2, com fotoperíodo de 12-12 horas. Foram utilizados três controles: água estéril, meio de cultura não inoculado e glifosato. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com seis repetições. Os dados foram submetidos à ANOVA e, em caso de significância, ao teste de Scott-Knott a 5%. Com o objetivo de demonstrar a eficácia de controle de cada uma das cepas, os dados e as médias foram apresentados em gráfico de dispersão. Com base na análise estatística, os tratamentos puderam ser agrupados em quatro níveis de controle. Destaque para nove tratamentos que mostraram efeitos semelhantes ao glifosato. Os resultados indicam que as actinobactérias produzem compostos com potencial herbicida, sendo uma alternativa promissora para o controle biológico e a prospecção de novas moléculas. Novos testes devem avaliar o espectro de controle e a seletividade desses compostos em culturas de interesse econômico.

Termos para indexação: controle biológico, planta daninha, manejo sustentável.

Prospecting for actinobacteria with potential bioherbicidal action

Abstract – The search for sustainable ways of weed management is a crucial challenge in Weed Science, driving the exploration of new herbicide molecules of microbial origin. The resistance of weeds to conventional herbicides intensifies the need for innovative solutions. In this context, actinobacteria, recognized for producing bioactive compounds, stand out as potential bioherbicides. The objective of this study was to evaluate the herbicide activity of the supernatant of 53 strains of actinobacteria from the Collection of Multifunctional and Phytopathogenic Microorganisms (CMMF) of Embrapa Milho e Sorgo, using cucumber (*Cucumis sativus*) as an indicator plant. Actinobacteria were isolated, reactivated in solid medium and cultured in liquid M21 for 15 days at 28 °C and 120 rpm. The cucumber seeds, disinfested with 3% peroxide, germinated in test tubes containing sterile cotton soaked in filtered supernatants. Germination was monitored for 7 days in a growth chamber at 28 °C ±2, with a photoperiod of 12-12 hours. Three controls were used: sterile water, uninoculated

culture medium and glyphosate. The statistical design used was completely randomized, with six replications. The data were submitted to ANOVA and, in case of significance, to the Scott-Knott test at 5%. In order to demonstrate the control effectiveness of each strain, the average data were presented in a scatter plot. Based on statistical analysis, the treatments could be grouped into four control levels. Highlight for nine treatments that showed glyphosate-like effects. The results indicate that actinobacteria produce compounds with herbicide potential, being a promising alternative for biological control and prospecting of new molecules. New tests should evaluate the control spectrum and selectivity of these compounds in crops of economic interest.

Index terms: biological control, weeds, sustainable management.

Introdução

O manejo de plantas daninhas é uma prática essencial na agricultura para garantir a produtividade e a qualidade das culturas. Entre os métodos disponíveis, destacam-se os controles preventivo, mecânico, físico, químico e biológico (Silva et al., 2007). O controle químico, por ser amplamente utilizado, tem gerado preocupações devido ao seu impacto ambiental e aos riscos à saúde humana, especialmente quando realizado de forma inadequada (Deuber, 2006). A contaminação do solo e da água, a redução da biodiversidade e a resistência das plantas daninhas aos herbicidas são problemas recorrentes que reforçam a necessidade de alternativas mais sustentáveis (Fischer et al., 2018).

Dentro deste contexto, o controle biológico emerge como uma alternativa promissora, oferecendo uma abordagem que minimiza os impactos negativos ao meio ambiente e à saúde humana. Este método utiliza organismos vivos ou seus metabólitos para suprimir populações de plantas daninhas, alinhando-se às práticas de manejo integrado de pragas (MIP) que buscam reduzir a dependência de produtos químicos (Silva et al., 2018). Pesquisas recentes têm intensificado a investigação sobre o uso de microrganismos como agentes de biocontrole, especialmente na área de matologia.

Entre os microrganismos com potencial para o controle biológico, as actinobactérias destacam-se por sua ampla diversidade genética e capacidade de produzir metabólitos secundários com propriedades bioativas, como compostos antimicrobianos e fitotóxicos (Wellington; Toth, 1992; Taguchi et al., 1993). Esses metabólitos podem inibir o crescimento de plantas, o que torna as actinobactérias uma alternativa viável e ecologicamente sustentável ao controle químico de plantas daninhas. Essas bactérias são encontradas naturalmente no solo e na rizosfera das plantas, onde desempenham um papel crucial no equilíbrio ecológico (Oren; Garrity, 2021).

Dessa forma, estudos prospectivos que avaliem o potencial dos metabólitos secundários produzidos por essas bactérias são de grande importância para analisar o potencial de desenvolvimento de novos bioprodutos. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade herbicida do sobrenadante de 53 estirpes de actinobactérias da Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos (CMMF) da Embrapa Milho e Sorgo, utilizando pepino (*Cucumis sativus*) como planta indicadora.

Os resultados obtidos demonstram o grande potencial das actinobactérias como fonte de novos bioherbicidas para o controle de plantas daninhas de forma mais sustentável e eficiente, estando, portanto, alinhados ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 2 (ODS 2 – Fome Zero e Agricultura Sustentável) da ONU, especificamente à meta 2.4, que visa garantir sistemas sustentáveis de produção de alimentos e implementar práticas agrícolas resilientes (Nações Unidas, 2024).

Material e métodos

No período do estágio no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo, na unidade Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, foram desenvolvidas atividades amparadas pelo orientador Dr. Alexandre Ferreira, com auxílio da analista de laboratório Fabiane Souza e da bolsista de doutorado Mikaely Sousa Marins.

O pepino (*Cucumis sativus*) foi escolhido como planta bioindicadora de folha larga para iniciar os testes. Primeiro foi necessário ajustar a metodologia de desinfestação das sementes, até chegar ao protocolo que não afetasse a germinação e controlasse a proliferação de microrganismos indesejados nas sementes. Foi adotado o seguinte método: as sementes de pepino foram embebidas em peróxido de hidrogênio 3% por 2 minutos; em seguida, lavadas três vezes em água esterilizada por 1 minuto, a cada vez. A última água utilizada foi plaqueada para confirmar a eficiência do processo de limpeza. Após isso, foram deixadas em placa de Petri de vidro autoclavada para secarem, processo todo dentro do fluxo laminar.

Foi necessário encontrar um meio de cultura que não afetasse a germinação das sementes; ao todo foram testados cinco meios de cultura. Eles foram M01 (10g/L de glicerina, 0,3g/L caseína, 3 g/L KNO₃, 2 g/L K₂HPO₄, 2 g/L NaCl, 0,05 g/L MgSO₄.7H₂O, 0,02 g/L CaCO₃, 0,01 g/L FeSO₄.7H₂O, pH=7.8), M03 (10 g/L peptona de soja, 10 g/L glicose, 20 g/L amido, 3 g/L CaCO₃), M19 (5g/L glicerina, 4g/L propionato de sódio, 2g/L KH₂PO₄, 0,1 g/L asparagina, 0,1 g/L MgSO₄.7H₂O, 1 mg FeSO₄.7H₂O, pH=7), M20 (10g/L de glicerina, 0,3g/L caseína, 3 g/L KNO₃, 2 g/L K₂HPO₄, 2 g/L NaCl, 0,05 g/L MgSO₄.7H₂O, 0,02 g/L CaCO₃, 0,01 g/L FeSO₄.7H₂O, pH=7±1) e M21 (10 g/L amido, 1 g/L caseína, 5 g/L NaCl, pH=7.2±0.2).

Ao selecionar o meio M21, este foi preparado líquido, inoculado com as cepas de actinobactérias reativadas, um total de 53. Os erlenmeyers de 50 mL contendo 20 mL de meio de cultura com macerado de actinomiceto, em solução salina, foram incubados em agitação por 15 dias na rotação de 120 rpm a 28 °C. Depois desse período, os meios com actinobactérias foram centrifugados a 8.000 rpm por 10 minutos (Centrífuga HETTICH Zentrifugen Universal 320R 9000RPM), filtrados com suporte de filtração autoclavável (diâmetro de 25 mm) para membrana millipore com poro de 22 mm e transferidos para placas de Petri estéreis descartáveis e identificadas.

O ensaio teve um total de 56 tratamentos, entre os actinomicetos e os controles (água, meio de cultura M21 e glifosato), com três repetições com duas sementes de pepino em cada tubo, totalizando 336 amostras. Os tubos de ensaio foram autoclavados, foi colocada uma pequena quantidade de algodão esterilizado e em seguida as sementes foram totalmente secas e desinfestadas. Os tubos foram umedecidos com 1,6 mL do sobrenadante, do meio de cultura, do glifosato e da água estéril, em seguida, vedados com tampão autoclavado e plástico filme, foram expostos a fotoperíodo 12/12 horas por 7 dias, com temperatura média de 28 °C. No sétimo dia, o desenvolvimento das plântulas de pepino foi avaliado adotando uma escala visual que varia de 1 a 5, sendo 1 ausência de sintomas e 5 morte da plântula.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA); em caso de significância, foram submetidos ao teste de Scott Knott a 5%. Com o objetivo de facilitar a visualização do efeito dos metabólitos secundários sobre as plantas, as médias das notas de fitotoxidez, de cada tratamento, foram apresentadas em um gráfico de dispersão.

Resultados e discussão

Os resultados demonstram a grande diversidade de compostos bioativos produzidos pelas actinobactérias (Figura 1). Com base na análise estatística realizada, é possível agrupar as cepas em quatro grupos de controle (dados não apresentados). Nove tratamentos apresentaram efeito similar ao glifosato (x1, x2).

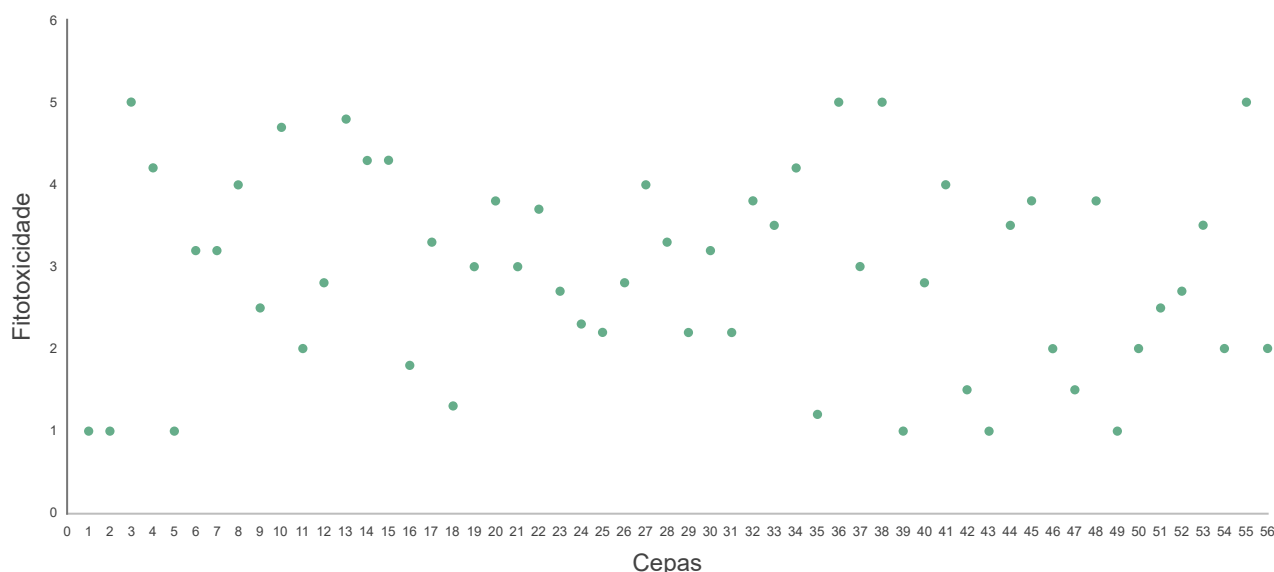


Figura 1. Gráfico de dispersão da avaliação de fitotoxidez dos metabólitos secundários de diferentes cepas de actinomicetos sobre pepino (*Cucumis sativus*) aos 7 dias após incubação.

Embora o estudo não tenha investigado os mecanismos de ação dos compostos, a literatura científica indica que as actinobactérias produzem uma variedade de metabólitos secundários com diferentes modos de ação, incluindo inibição da fotossíntese, interferência no crescimento celular e indução de estresse oxidativo.

A seletividade dos compostos bioativos é um aspecto crucial para o desenvolvimento de bioherbicidas. Novos testes com diferentes culturas de interesse econômico são necessários para avaliar o potencial de fitotoxidade e a seletividade dos compostos identificados. Apesar dos resultados promissores, ainda existem desafios a serem superados para o desenvolvimento comercial de bioherbicidas à base de actinobactérias, como a otimização dos processos de produção, a formulação dos produtos e a realização de testes de campo em larga escala.

Conclusões

Os resultados deste estudo demonstram o grande potencial das actinobactérias como fonte de novos bioherbicidas. A identificação de diversas estirpes com atividade herbicida abre novas perspectivas para o desenvolvimento de estratégias de controle de plantas daninhas mais sustentáveis e eficientes. No entanto, são necessários mais estudos para aprofundar o conhecimento sobre os

mecanismos de ação, a seletividade e a eficácia dos compostos bioativos produzidos por essas bactérias.

Referências

DEUBER, R. **Ciência das plantas infestantes: fundamentos**. Jaboticabal: Unesp, 2006. 148 p.

FISCHER, I. H.; MORAES, M. F. de.; PALHARINI, M. C. de A.; FILETI, M. de S.; CRUZ, J. C. S.; FIRMINO, A. C. Effect of conventional and alternative products on postharvest disease control in avocados. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-29452018408>.

NAÇÕES UNIDAS. **Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 2**: fome zero e agricultura sustentável: erradicar a fome, alcançar a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs/2>. Acesso em: 13 maio 2024.

OREN, A.; GARRITY, G. M. Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 71, n. 10, 005056, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005056>.

SILVA, A. F. da; CONCENCO, G.; ASPIAZÚ, I.; GALON, L.; FERREIRA, E. A. Métodos de controle de planta daninhas. In: OLIVEIRA, M. F. de; BRIGHENTI, A. M. (ed.). **Controle de plantas daninhas: métodos físico, mecânico, cultural, biológico e alelopatia**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. p. 11-33.

SILVA, A. A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; SANTOS, J. B. Métodos de controle de plantas daninhas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007.

TAGUCHI, S.; KIKUCHI, H.; SUZUKI, M.; KOJIMA, S.; TERABE, M.; MIURA, K.; NAKASE, T.; MOMOSE, H. Streptomyces subtilisin inhibitor-like proteins are distributed widely in Streptomyces. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 1, p. 4338-4341, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.59.12.4338-4341.1993>.

WELLINGTON, E. M. H.; TOTH, I. **Course of actinomycetes ecology**. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPAB, 1992. Mimeografado.