



POTENCIAL DA VIOLACEÍNA DE *Chromobacterium subtsugae* COMO AGENTE BIOLÓGICO NO CONTROLE DE PRAGAS E FITOPATÓGENOS DA SOJA

Bruna Beatriz da Silva Ribeiro¹; Micaela Cristiane Gomes dos Reis² Maria Sueli Soares
Felipe²

¹Biomedicina – Universidade Católica de Brasília;

²Programa de Pós-graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia – Universidade Católica de
Brasília.

E-mail: bruna.beatriz@a.ucb.br; micaelacristiane.reis@gmail.com; msueli@p.ucb.br

RESUMO

A resistência de fitopatógenos e os impactos dos agroquímicos têm impulsionado a busca por bioinsumos sustentáveis. Nesse contexto, a violaceína, pigmento bioativo produzido por *Chromobacterium subtsugae*, destaca-se por seu potencial antimicrobiano e inseticida. Este trabalho teve como objetivo extrair, caracterizar e avaliar suas atividades biológicas frente a pragas e doenças agrícolas. A extração com etanol mostrou-se mais eficiente que acetato/acetona, resultando em concentração média de 4,78 µg/mL, confirmada por HPLC e MALDI-TOF (343 m/z). Nos bioensaios, a violaceína apresentou efeito inseticida dose-dependente contra ninfas de *Euschistus heros* (EC₅₀ = 4,2 µg/ensaio), alcançando até 85% de mortalidade nas doses mais elevadas. Também promoveu inibição de 30,57% do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*, sem efeito sobre *Macrophomina phaseolina*. Esses resultados evidenciam o potencial da violaceína como molécula bioativa para aplicação em bioinsumos agrícolas sustentáveis.

Palavras-chave: Violaceína. *Chromobacterium subtsugae*. Bioinsumos. Fitopatógenos.

INTRODUÇÃO

A agricultura brasileira desempenha papel estratégico na produção global de alimentos, destacando-se pela diversidade e relevância de culturas como soja, milho, arroz, trigo e cana-de-açúcar (Nascimento et al., 2024). Essas culturas são fundamentais para o abastecimento interno e para a geração de divisas por meio das exportações, contribuindo para a segurança alimentar e o desenvolvimento econômico (Sadiku et al., 2024).

Com o crescimento populacional projetado para 2050, a demanda por alimentos poderá aumentar entre 35% e 56%, especialmente por proteínas e lácteos (Van Dijk et al., 2021). Nesse cenário, torna-se essencial compreender os fatores que afetam a produtividade agrícola e desenvolver estratégias sustentáveis (Basso et al., 2024).

A soja se destaca como uma das culturas mais relevantes, mas enfrenta desafios relacionados a doenças como mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), podridão de carvão (*Macrophomina phaseolina*) e insetos-praga como o percevejo-marrom (*Euschistus heros*), que comprometem a produtividade e são de difícil controle (Meyer et al., 2019; Sosa-Gómez et al., 2020). O uso contínuo de pesticidas químicos gera impactos ambientais e resistência, reforçando a necessidade de alternativas sustentáveis, como bioinsumos (Santos et al., 2024).

Nesse contexto, a violaceína, pigmento produzido por *Chromobacterium subtsugae*, apresenta propriedades antimicrobianas e inseticidas promissoras, configurando-se como candidata para aplicação em bioinsumos agrícolas (Cacchio et al., 2023).



OBJETIVO

Objetivo geral

Avaliar a atividade biológica da violaceína produzida pela bactéria *Chromobacterium subtsugae* (CCT 7991 / SBB09) no controle de pragas e doenças de importância agrícola.

Objetivos específicos

- Cultivar a cepa *C. subtsugae* (CCT 7991 / SBB09).
- Testar e otimizar protocolos de produção e extração de violaceína.
- Identificar a violaceína por espectrometria de massas (MALDI-TOF) e cromatografia líquida de alta performance (HPLC).
- Avaliar a atividade antifúngica e inseticida da violaceína frente a fitopatógenos e pragas de interesse agrícola, como *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina* e *Euschistus heros*.

MÉTODO

A cepa *C. subtsugae* (CCT 7991 / SBB09), utilizada neste estudo, foi adquirida da empresa Solubio Tecnologias Agrícolas e armazenada em bags estéreis a 10 °C até sua utilização. O cultivo inicial foi realizado em incubadora shaker, utilizando meio Bug® (Solubio). A bactéria foi inoculada a partir de colônia isolada em meio TSA e transferida para frascos Erlenmeyer contendo 100 mL de meio Bug®, mantidos sob agitação de 200 rpm a 28 °C por 24 horas.

A extração da violaceína foi conduzida em quadruplicata por dois protocolos distintos. No primeiro, o pellet obtido por centrifugação foi ressuspense em etanol $\geq 98,5\%$, submetido à sonicação e novamente centrifugado, sendo o sobrenadante concentrado em rotoevaporador e redissolvido em etanol (Abedin et al., 2024). No segundo protocolo, utilizou-se uma mistura de acetato de etila e acetona (4:1), seguida de separação da fase orgânica, concentração em evaporador rotativo e ressuspensão em etanol (Cortés-Osorio et al., 2017). Para validar a identidade da molécula, foi utilizado um padrão comercial de violaceína ($>98\%$ pureza, Sigma Aldrich), analisado por MALDI-TOF e HPLC. As amostras extraídas foram submetidas às mesmas condições cromatográficas, permitindo a quantificação precisa do composto.

Com o objetivo de otimizar a extração, cultivos adicionais em maior volume (900 mL) foram realizados, ajustando-se a proporção de etanol para aumentar o rendimento do pigmento.

A atividade inseticida foi avaliada em ninfas de segundo estágio de *E. heros*, alimentadas com dieta líquida contendo diferentes doses de violaceína (0,3–6,0 $\mu\text{g}/\text{ensaio}$). Foram estabelecidos três grupos experimentais: controle negativo (meio Bug®), controle positivo (biopesticida Grandevo®) e tratamentos com violaceína. Os insetos foram mantidos em condições controladas de temperatura, umidade e fotoperíodo, e a mortalidade foi monitorada diariamente por sete dias.

Os dados foram analisados no software GraphPad Prism 8.1. A sobrevivência foi avaliada por curvas de Kaplan–Meier e teste de log-rank, enquanto a relação dose-resposta foi determinada por regressão não linear, com cálculo da concentração efetiva média (EC_{50}).

A atividade antifúngica foi testada frente a *S. sclerotiorum* e *M. phaseolina* pelo método de difusão em ágar BDA. Discos de papel filtro receberam violaceína (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ou etanol (controle), posicionados em lados opostos da colônia fúngica. As placas foram incubadas a 25 °C até que o crescimento micelial das colônias controle atingisse a borda da placa. O efeito inibitório foi determinado pelo cálculo da porcentagem de inibição em relação aos controles.

RESULTADOS



A produção de violaceína por *C. subtsugae* SBB09 foi efetiva, permitindo a obtenção de biomassa suficiente para extração do pigmento. Os protocolos testados demonstraram que o uso de etanol como solvente foi mais eficiente que a mistura de acetato de etila/acetona, resultando em maior rendimento e concentração média de 4,78 µg/mL, se comparado aos 0,48 µg/mL respectivamente. A identidade da molécula foi confirmada por espectrometria de massas (MALDI-TOF) e cromatografia líquida de alta performance (HPLC), apresentando o íon molecular característico de violaceína em aproximadamente 343 m/z e tempo de retenção de 13,95 minutos (Durán et al., 2021).

A otimização do processo de extração, com aumento do volume de cultivo, possibilitou maior recuperação do pigmento, validando a reprodutibilidade do método cromatográfico. As análises demonstraram consistência entre as replicatas e linearidade na curva padrão, com coeficiente de correlação superior a 0,98, confirmando a precisão das quantificações.

Nos bioensaios com ninfas de segundo estágio de *E. heros*, observou-se efeito inseticida dependente da dose. As concentrações mais elevadas (4,5 e 6,0 µg/ensaio) resultaram em mortalidade próxima a 85%, enquanto doses intermediárias (1,5 e 3,0 µg/ensaio) promoveram mortalidade gradual. A menor dose (0,3 µg/ensaio) apresentou efeito reduzido, mas ainda superior ao controle. A análise estatística revelou diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,0001$), e a curva dose-resposta ajustada ao modelo logístico indicou uma EC_{50} de 4,2 µg/ensaio, confirmando a atividade inseticida da violaceína contra *E. heros*.

Nos ensaios antifúngicos, a violaceína apresentou efeito inibitório sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, com média de inibição de 30,57%, evidenciando atividade antifúngica sob as condições experimentais aplicadas. Em contrapartida, não foi observada inibição significativa para *M. phaseolina*, indicando seletividade da ação do composto.

Esses resultados confirmam o potencial biotecnológico da violaceína como molécula bioativa para aplicação em bioinsumos agrícolas, demonstrando eficácia no controle de pragas e fitopatógenos e reforçando sua viabilidade como alternativa sustentável aos defensivos químicos convencionais.

CONCLUSÃO

Os resultados confirmam que a violaceína, produzida por *C. subtsugae*, possui potencial para aplicação no controle de pragas e fitopatógenos agrícolas. O pigmento apresentou efeito inseticida contra *E. heros* e atividade antifúngica frente a *S. sclerotiorum*, embora sem ação sobre *M. phaseolina*. As metodologias de extração e caracterização mostraram-se eficientes, destacando o etanol como solvente mais adequado e validando a identidade da molécula por HPLC e MALDI-TOF.

Em síntese, a violaceína demonstra viabilidade como molécula bioativa para o desenvolvimento de bioinsumos sustentáveis, representando uma alternativa promissora aos defensivos químicos convencionais e fornecendo bases para futuras pesquisas voltadas à agricultura.

Contudo, estudos em casa de vegetação e em campo são necessários para confirmar sua eficácia e viabilidade de aplicação em condições reais de cultivo.

REFERÊNCIAS

Abedin, S. M. M., Tarafdar, M. R., Saha, A., Atiqua, Rahim, S., Karim, M. M., & Khan, S. N. (2024). Isolation and characterization of *Chromobacterium violaceum* and antibacterial activities of its metabolite violacein. *Dhaka University Journal of Biological Sciences*, 33(1), 109–119. <https://doi.org/10.3329/dujbs.v33i1.72487>



- Basso, M. F., Neves, M. F., & Grossi-de-Sa, M. F. (2024). Agriculture evolution, sustainability and trends, focusing on Brazilian agribusiness: a review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 7. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1296337>
- Cacchio, P., Pellegrini, M., Farda, B., Djebaili, R., Tabacchioni, S., & Del Gallo, M. (2023). Preliminary indication of the role of AHL-dependent quorum sensing systems in calcium carbonate precipitation in Gram-negative bacteria. *AIMS Microbiology*, 9(4), 692–711. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2023035>
- Cortés-Osorio, N., Cardoso-Cardoso, M.-A., Chavarro-Anzola, V., & Prada-Salcedo, L.-D. (2017). Influence of environmental factors on the production of violacein synthesized by *Janthinobacterium lividum*. *The International Journal of Engineering and Science*, 6(1), 76–83. DOI: 10.9790/1813-0601037683
- Durán, N., Nakazato, G., Durán, M., Berti, I. R., Castro, G. R., Stanisic, D., Brocchi, M., Fávaro, W. J., Ferreira-Halder, C. V., Justo, G. Z., & Tasic, L. (2021). Multi-target drug with potential applications: violacein in the spotlight. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(9), 151. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03120-4>
- Meyer, M. C., Campos, H. D., Godoy, C. V., Utiamada, C. M., Dias, A. R., Filho, D. S. J., Medeiros, F. C. L., Galdino, J. V., Junior, J. N., Silva, L. H. C. P., Sato, L. N., Oliveira, M. C. N., Martins, M. C., & Tormen, N. R. (2019). Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2018/19: resultados sumarizados dos experimentos cooperativos. *Embrapa*. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1110733/1/CT1520L1.pdf>
- Nascimento, R. A., Rezende, V. T., Ortega, F. J. M., Carvalho, S. A., Buckeridge, M. S., Gameiro, A. H., & Rennó, F. P. (2024). Sustainability and Brazilian agricultural production: A bibliometric analysis. *Sustainability*, 16(5), 1833. <https://doi.org/10.3390/su16051833>
- Sadiku, M., Kotteti, C., & Sadiku, J. (2024). Agriculture in Brazil. *International Journal of Engineering Technology and Management Sciences*, 8, 261–269. DOI: 10.46647/ijetms.2024.v08i01.034
- Santos, J. P. dos, Oliveira, A. L. P. de, & Putti, F. F. (2024). Bioinsumos na agricultura: panorama tecnológico das patentes biológicas. *Revista de Gestão e Secretariado*, 15(9), e4137. <https://doi.org/10.7769/gesec.v15i9.4137>
- Sosa-Gómez, D. R., Corrêa-Ferreira, B. S., Kraemer, B., Pasini, A., Husch, P. E., Delfino Vieira, C. E., Reis Martinez, C. B., & Negrão Lopes, I. O. (2020). Prevalence, damage, management and insecticide resistance of stink bug populations (Hemiptera: Pentatomidae) in commodity crops. *Agricultural and Forest Entomology*, 22(2), 99–118. <https://doi.org/10.1111/afe.12366>
- Van Dijk, M., Morley, T., Rau, M. L., & Saghai, Y. (2021). A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2(7), 494–501. <https://doi.org/10.1038/s41538-021-00091-7>

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.