15555 - Atividade antibacteriana e indução de fitoalexinas em feijão por preparados homeopáticos do óleo essencial de *Eucalyptus globulus*

Antibacterial activity and phytoalexins induction in bean by homeopathic of Eucalyptus globulus essential oil

TELAXKA, Fábio Junior; JASKI, Jonas Marcelo; BALDIN, Diana; SCARIOT, Eliziane; GROSSELLI, Mailis Aparecida; MOURA, Gabriela Silva; FRANZENER, Gilmar

[1]Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, fabio1910@live.com; [2]UFFS, jonasmjaski@hotmail.com; [3]UFFS, ; diana_baldin@hotmail.com; [4]UFFS, lizi.scariot@hotmai.com; [5]UFFS, mailis.uffs@gmail.com; [6]UEM, bismoura@hotmail.com; [7]UFFS, gilmar.franzener@uffs.edu.br. BR 158, km 7, Cep. 85301-970, Cx. P. 106, Laranjeiras do Sul-PR.

Resumo
O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de preparados homeopáticos de óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre o desenvolvimento bacteriano de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* e na indução de fitoalexinas em hipocótilos estiolados de feijão. Foram avaliadas as dinamizações de 1, 6, 12, 24 e 30CH em álcool 30%. Os preparados homeopáticos não afetaram a síntese de fitoalexinas mas apresentaram efeito estimulante sobre a bactéria, indicando o envolvimento de outros mecanismos que não o efeito direto sobre o fitopatógeno.
Palavras-chave: Indução de resistência; *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*; faseolina.

Abstract
The aim of this study was to evaluate the effect of homeopathic preparations of *Eucalyptus globulus* essential oil on bacterial growth of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and phytoalexins induction in etiolated beans hypocotyls. The potencies of 1, 6, 12, 24 and 30% alcohol 30CH were evaluated. The homeopathic preparations did not affect the synthesis of phytoalexins but showed stimulating effect on the bacteria, indicating the involvement of other mechanisms than the direct effect on the pathogen.
Keywords: Resistance induction*; Xanthomonas axonopodis* pv*. phaseoli;* phaseolin.

Introdução

A homeopatia é reconhecida como especialidade médica desde 1980 pelo Conselho Federal de Medicina (TEIXEIRA, 2006). No entanto, seu uso na agricultura se reduz a um número limitado de informações se comparada aos estudos médicos homeopáticos (BETTI et al., 2007).

Preparados homeopáticos podem promover alterações fisiológicas em vegetais com ganhos no crescimento e no acúmulo de metabólitos secundários (BONATO et al., 2009). A homeopatia estimula o sistema de defesa das plantas, promovendo aumento na resistência à doenças e pragas (REZENDE, 2008). Nesse contexto, a homeopatia pode contribuir em diferentes aspectos na agricultura de base ecológica (ROSSI, 2007).

A homeopatia pode representar importante opção no controle alternativo de doenças

em plantas, envolvendo diferentes mecanismos (TOLEDO et al. 2011). Trabalhos já realizados mostram o potencial de preparados homeopáticos na indução de mecanismos de defesa como da enzima peroxidase (MEINERZ et al., 2010) e da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijoeiro (OLIVEIRA et al., 2011). As fitoalexinas são compostos antimicrobianos de baixo peso molecular relacionados a defesa vegetal podendo ser induzidos na planta por agentes bióticos ou abióticos.

Embora diversos trabalhos mostram o potencial de plantas medicinais no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela capacidade de induzir o acúmulo de fitoalexinas, indicando a presença de moléculas com características elicitoras (BONALDO et al., 2004), ainda são poucas as informações de preparados homeopáticos desses derivados.

Assim, esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de preparados homeopáticos do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* no desenvolvimento da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv*. phaseoli* e na indução de fitoalexinas em hipocótilos estiolados de feijão.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido em laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul-PR. Os preparados homeopáticos foram obtidos a partir do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* nas dinamizações homeopáticas de 1, 6, 12, 24 e 30CH em álcool de cereais a 30%. Para o ensaio de fitoalexinas e atividade bacteriana os preparados foram diluídos em 1:100 em água destilada para ambos.

O efeito antibacteriano foi avaliado no desenvolvimento da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv*. phaseoli*, isolada de folhas de feijoeiro naturalmente infectadas e com sintomas típicos de crestamento bacteriano, sendo cultivada em meio ágar nutriente. Em tubos de ensaio estéreis contendo meio de cultura caldo nutriente (5 g de peptona e 3 g de extrato de carne/1000mL de água destilada), foram adicionadas os tratamentos e 50 µL de suspensão bacteriana com 10^8 UFC/mL. Os tubos foram mantidos sob agitação durante 48 h a 27 ºC e determinada a absorbância a 590 nm. Nesta determinação cada tratamento teve como amostra de referência (branco) uma repetição sem a bactéria e como testemunhas apenas meio caldo nutriente com 0,1% de álcool.

A determinação da faseolina foi realizada conforme a metodologia proposta por Dixon et al. (1983), com algumas modificações. Sementes de feijão variedade IPR-Colibri foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 1% por 5 minutos. Em seguida, foram lavadas em água destilada estéril, semeadas em areia esterilizada por autoclavagem a 120^{o}C por uma hora e mantidas em câmara climatizada a 24ºC em escuro por sete dias. Após esse período, foram cortados 5 cm dos segmentos de hipocótilos estiolados das plântulas, lavados em água estéril e

mantidos sobre papel absorvente por 30 minutos. Quatro segmentos de hipocótilo (aproximadamente 1g) foram transferidos para placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água destilada estéril. Sobre os hipocótilos, foram pulverizados os tratamentos. As placas de Petri foram mantidas a 25ºC em escuro por 48 horas. Após esse período os hipocótilos foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL de etanol, sendo estes mantidos a 4ºC por 48 horas para a extração da fitoalexina formada, sendo então agitados por uma hora. O teor de faseolina formada foi medida em espectrofotômetro a 280 nm. Álcool a 0,1% foi utilizado como testemunha.

Os *ensaios* foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade de erro com auxílio do programa computacional Assistat.

Resultados e Discussão

No ensaio de atividade antibacteriana houve efeito estimulante no desenvolvimento da bactéria nas dinamizações 1, 6, 12, 24, 30CH, em relação a testemunha contendo 0,1% de álcool (Figura 1). No entanto, o tratamento com óleo essencial a 1% mostrou inibição da atividade bacteriana com redução no desenvolvimento do fitopatógeno. Esse resultado comprova o efeito antimicrobiano do óleo essencial de *E. globulus*. É possível que a ausência de efeito antimicrobiano dos preparados homeopáticos nesse trabalho possam envolver outros mecanismos que não a ação direta sobre o fitopatógeno, mas que possam favorecer o desenvolvimento da microbiota em agroecossistemas.

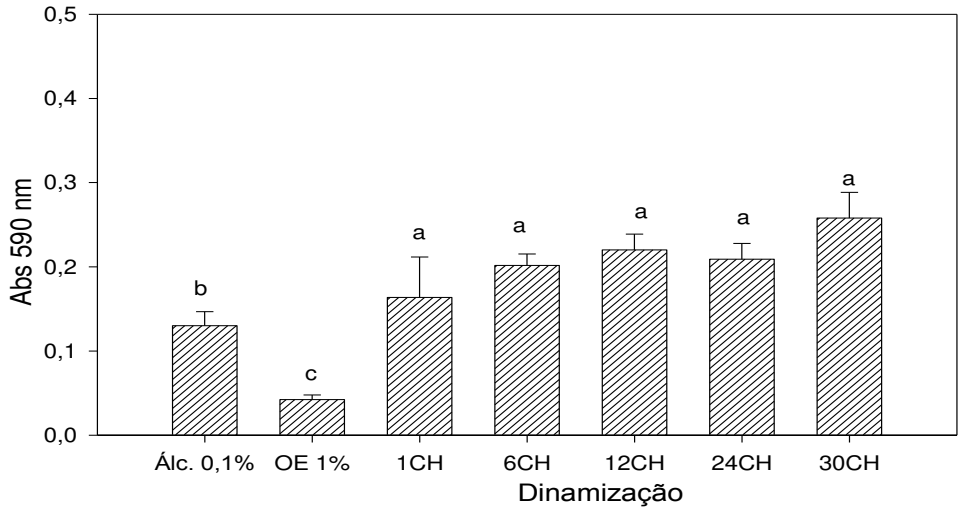

Figura 1. Efeito de preparados homeopáticos do óleo essencial (OE) de *Eucalyptus globulus* no desenvolvimento da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv*. phaseoli.* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média.

Quanto a indução de faseolina, não houve resultado significativo, não diferindo os tratamentos homeopáticos com a testemunha (Figura 2). Em um dos poucos trabalhos realizados nesse sentido, Oliveira et al. (2011) observaram atividade de preparados homeopáticos de *Corymbia citriodora* na indução da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijoeiro. Possivelmente a composição distinta do óleo essencial de *E. globulus* não ativa essa rota metabólica em feijoeiro.

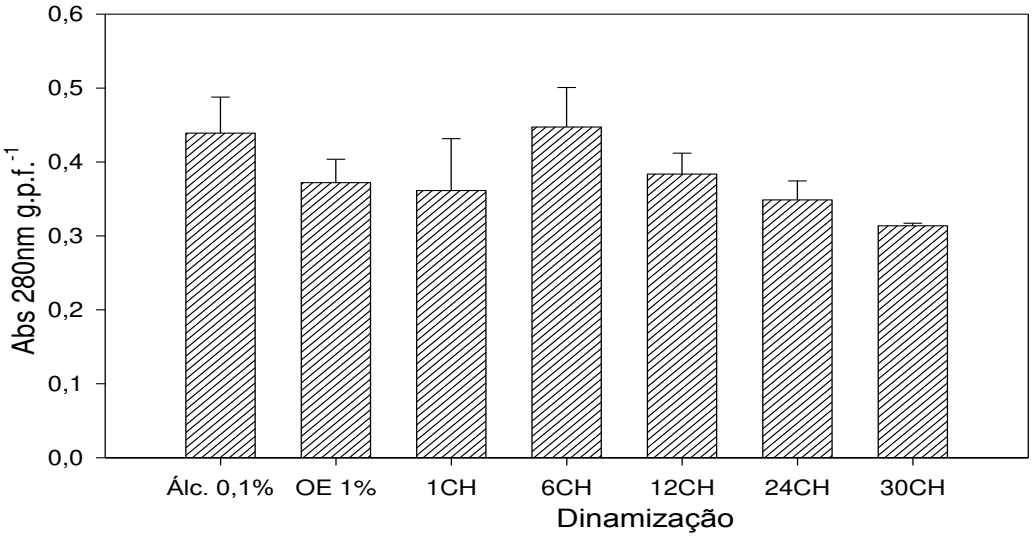

Figura 2. Acúmulo de fitoalexinas em hipocótilos de feijão tratados com preparados homeopáticos do óleo essencial (OE) de *Eucalyptus globulus.* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média.

Os preparados homeopáticos, nas condições desse trabalho, mostraram efeito sobre a bactéria, estimulando a multiplicação. Embora na indução de fitoalexinas em feijoeiro os preparados homeopáticos não apresentaram efeito, maiores estudos nesse sentido tornam-se importantes para compreender possíveis mecanismos de ação desses preparados homeopáticos em agroecossistemas.

Referências

BETTI, L. et al. Effects of homeopathic dilutions on plants and the potencial use of homeopathy on plant diseases. **Fitopatologia Brasileira**. 32: 75-77, 2007.

BONATO, C.M.; PROENÇA, G.T.; REIS, B. Homeopathic drugs *Arsenicum album* and *Sulphur* affect the growth and essential oil content in mint (*Mentha arvensis* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy.** v.31, p.101-105, 2009.

BONATO, C.M. Mecanismo de atuação da homeopatia em plantas. In: Seminário Brasileiro de Homeopatia na Agropecuária Orgânica. **Anais.** p.17-44, 2004.

BONALDO, S.M. et al. Fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.128-134, 2004.

DIXON, R.A. et al. Phytoalexin indution in french bean: intercellular transmission of elicitation in cell suspension cultures and hypocotyl sections of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology,** v.71, n.2, p.251-256, 1983.

MEINERZ, C.C. et al. Atividade de peroxidase na indução de resistência de tomateiro contra *Alternaria solani* por medicamentos homeopáticos. **Anais do XIX Encontro Anual de Iniciação Científica.** p.1-4, 2010.

OLIVEIRA, J.S.B. et al. Indução de fitoalexinas em hipocótilos de feijoeiro por preparados homeopáticos de *Eucalyptus citriodora.* **Cadernos de Agroecologia,** v.6, n.2, p.1-5, 2011.

REZENDE, J. M. **Cartilha de homeopatia**: Instruções práticas geradas por agricultores sobre o uso da homeopatia no meio rural. 2ª ed. 2008.

ROSSI, F. et al. Aplicação de preparado homeopático no controle da tiririca em área agroecológica. **Revista Brasileira de Agroecologia,** v.2, n.1, p.870-873, 2007.

TEIXEIRA, M.Z. Homeopatia: ciência, filosofia e arte de curar. **Revista de Medicina** (São Paulo), 85(2): 30-43, 2006.

TOLEDO, M.V.; STANGARLIN, J.R.; BONATO, C.M. **Homeopathy for the control of plant pathogens.** In: MÉNDEZ-VILAS, A. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Badajoz: Formatex. p.1063-1067, 2011.