

15576 - Indução de faseolina em feijão e na atividade antibacteriana sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* pelo extrato etanólico de própolis

Phaseolin induction in bean and antibacterial activity against Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli by propolis ethanol extract

BALDIN, Diana¹; SCARIOT, Eliziane²; TELAXKA, Fábio J.³; JASKI, Jonas M.⁴; FRANZENER, Gilmar⁵; MOURA, Gabriela S.⁶; GROSSELLI, Mailis A.

1 Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, Campus Laranjeiras do Sul-PR, diana_baldin@hotmail.com; 2 UFFS, lizi.scariot@hotmail.com; 3 UFFS, fabio1910@live.com; 4 UFFS, jonasmjaski@hotmail.com; 5 UFFS, gilmar.franzener@uffs.edu.br; UEM, bismoura@hotmail.com; UFFS, mailis.uffs@gmail.com.

Resumo

A própolis tem sido bastante estudada para fins terapêuticos na saúde humana mas ainda são escassas as informações de seu potencial na proteção de plantas. Assim, esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de extrato etanólico de própolis (EEP) de três regiões do Paraná na atividade direta sobre a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* e na indução da fitoalexina faseolina em feijoeiro. Foram avaliadas as concentrações de 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5 e 5,0% de EEP. Os EEPs induziram a síntese de faseolina e inibiram drasticamente o desenvolvimento da bactéria fitopatogênica. Estes resultados mostram o potencial da própolis tanto através da atividade direta sobre potenciais fitopatógenos como ativando mecanismos de defesa vegetal.

Palavras-chave: Defesa vegetal; Bactéria fitopatogênica; Potencial antimicrobiano.

Abstract: Propolis has been widely studied for therapeutic purposes in human health but there is still little information of their potential in plant protection. Thus, this study aimed to evaluate the effect of ethanol extract of propolis (EEP) in three regions of Paraná in direct activity against the bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and induction of phytoalexin in bean phaseolin. Concentrations of 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 and 5.0% EEP were evaluated. The EEP induced synthesis of phaseolin and dramatically inhibited the development of phytopathogenic bacteria. These results show the potential of propolis both through direct activity on potential pathogens and activating plant defense mechanisms.

Keywords: Plant defense; Phytopathogenic bacteria; Antimicrobial potential.

Introdução

Para proteção contra doenças e selamento de buracos e superfícies irregulares em suas colmeias, as abelhas produzem a própolis, que é uma substância resinosa de cor marrom e odor balsâmico, fabricado a partir de exsudados das plantas (MARCUCCI, 1996).

A própolis tem composição muito complexa, sendo determinada pelas características fitogeográficas existentes ao redor da colmeia (KUMAZAWA *et al.*, 2004). Dentre seus benefícios estão a atividade antimicrobiana (CABRAL *et al.*, 2009; LONGHINI *et al.*, 2007), citotóxica, anti-inflamatória (PEREIRA *et al.*, 2008), imunomodulatória e antioxidante (MOHAMMADZADEH *et al.*, 2007), principalmente para a saúde humana.

Uma importante alternativa para manejo ecológico de doenças de plantas é a indução de resistência, a qual engloba a ativação de mecanismos de defesa latentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (CAVALCANTI et al., 2005). Isso pode envolver diferentes mecanismos de defesa, como a indução de fitoalexinas e enzimas relacionadas a defesa. Diversos extratos naturais, como derivados de plantas e microrganismos, tem mostrado potencial para o controle alternativo de doenças em plantas, ou por sua atividade direta sobre o fitopatógeno ou pela indução de resistência.

Embora a própolis seja muito estudada para saúde humana, são escassas as informações na proteção de plantas e seu efeito sobre a indução de mecanismos de defesa vegetal. Assim, assume importância pesquisas que busquem determinar a contribuição da própolis como controle alternativo de doenças em vegetais, como Bianchini e Bedendo (1998), que demonstrou o efeito antibacteriano da própolis sobre *Agrobacterium tumefaciens*, *Clavibacter michiganensis* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*.

Diante disso, esse trabalho teve por objetivo avaliar o potencial do extrato etanólico de própolis na indução de fitoalexinas em feijoeiro (faseolinas), que representam importante mecanismo de defesa vegetal, além do efeito direto sobre a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, agente causal do crestamento bacteriano em feijão.

Metodologia

O trabalho foi conduzido em laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Laranjeiras do Sul-PR.

Para os ensaios foram avaliados extratos de propólis obtidos de três regiões do estado do Paraná: Laranjeiras do Sul (Centro-Sul), Marechal Cândido Rondon (Oeste) e Maringá (Noroeste). A extração foi realizada baseado em Pereira et al. (2008), mas com adaptações. Para isso, utilizou-se álcool etílico 70%, sendo a proporção com base em peso/peso de própolis bruta e álcool de 16:84%, respectivamente. Após a mistura dos componentes em liquidificador por 1 min, o extrato foi mantido em “repouso” por 15 dias, sendo a seguir filtrado em papel de filtro e diluído em concentrações de 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2,5 e 5%, que foram utilizadas nos bioensaios.

Para a determinação da faseolina foi realizada 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 e mantidas em câmara climatizada a 24°C 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 25°C 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 4°C 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. Água destilada foi utilizada como testemunha.

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 cretamento 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 uma suspensão bacteriana com 10⁸ UFC/mL. Os tubos foram mantidos sob agitação durante 48 h a 27 °C 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.

Os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância seguida de análise de regressão para as concentrações de extratos de própolis utilizadas com auxílio do programa computacional Sisvar.

Resultados e discussões

Os extratos etanólicos de própolis (EEPs) obtidos de diferentes municípios paranaenses promoveram resultados semelhantes sobre a produção da fitoalexina faseolina em feijoeiro. Os EPPs induziram a síntese de faseolina de forma linear, com maior efeito com o aumento na concentração. Este resultado indica o potencial da própolis, obtida de diferentes locais, da indução desse importante mecanismo de defesa em plantas.

Estudos da própolis como alternativa para induzir mecanismos de defesa em plantas ainda são escassos. Essa avaliação da indução de fitoalexinas representa importante ferramenta em estudos envolvendo a ação eliciadora de moléculas de origem biótica ou abiótica (CAVALCANTI et al., 2005). Embora as informações da atividade indutora de defesas em plantas por derivados da própolis sejam escassas, espera-se que esses resultados contribuam para desencadear novos estudos nesse sentido.

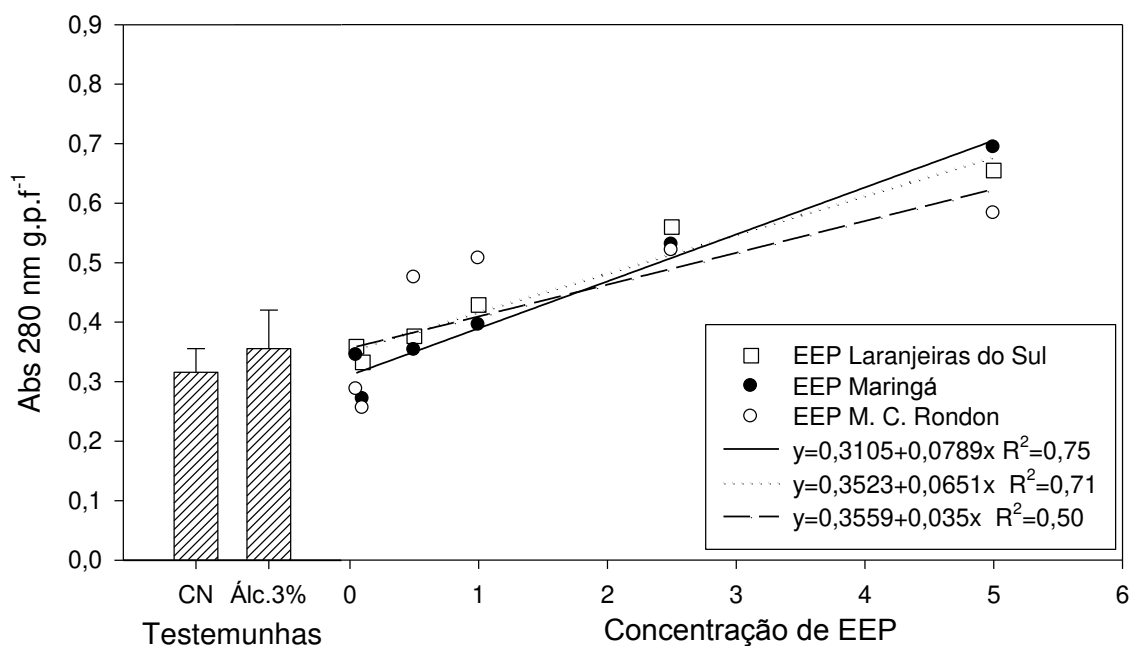


FIGURA 1. Atividade indutora de faseolina em hipocótilos de feijoeiro tratados com diferentes concentrações extrato etanólico de própolis (EEP). Testemunhas: meio caldo nutriente (CN) e meio caldo nutriente 3% álcool.

Com relação ao efeito direto da própolis observou-se também resultados semelhantes entre os EEPs provenientes das diferentes regiões do Paraná. Nesse caso, porém, a própolis promoveu drástica redução no desenvolvimento da bactéria, mostrando efeito linear com maior atividade conforme aumento da concentração.

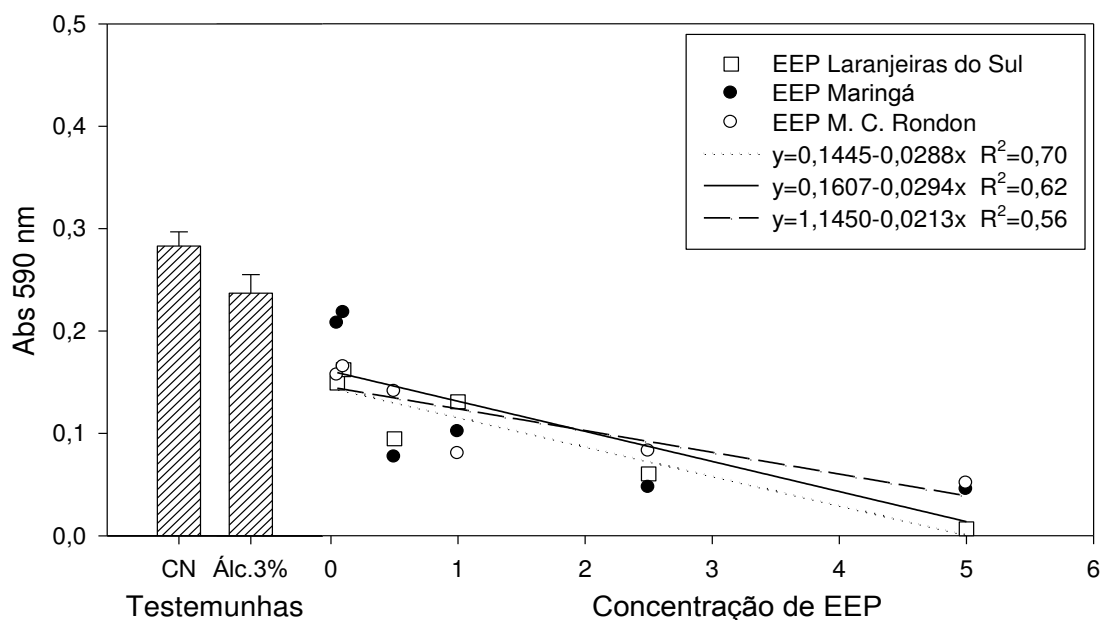


FIGURA 2. Desenvolvimento de cultura de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em diferentes concentrações extrato etanólico de própolis (EEP). Testemunhas: meio caldo nutriente (CN) e meio caldo nutriente 3% álcool.

Alguns trabalhos já mostraram o potencial antimicrobiano da própolis sobre outros fitopatógenos, como algumas bactérias fitopatogênicas (BIANCHINI; BEDENDO, 1998), confirmando seu potencial antimicrobiano.

Conclusões

O extrato etanólico de própolis inibe o desenvolvimento da bactéria causadora do cretamento bacteriano e induz a síntese de fitoalexinas em feijoeiro indicando ser potencial alternativa ecológica para o controle dessa doença.

Referências bibliográficas:

BIANCHINI, L.; BEDENDO, I.P. Efeito antibiótico do própolis sobre bactérias fitopatogênicas. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 1, p 149-152.1998.

CABRAL, I. S. R. et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009.

CAVALCANTI, L.S.; BRUNELLI, K.R.; STANGARLIN, J.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S. et al. (Eds). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba:FEALQ. 2005. p.81-124.

DIXON, R.A. et al. Phytoalexin induction 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.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins Food Chemistry, v.84, n.3, p.329-339, 2004.

LONGHINI, R. et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 388-395, 2007.

MARCUCCI, M.C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Quím Nova**. 1996; 19(5):529-35

MOHAMMADZADEH, S.; et al. Antioxidant power of Iranian propolis extract. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 729-733, jan 2007.

PEREIRA, C. S. et al. Controle da cercosporiose e da ferrugem do cafeeiro com extrato etanólico de própolis. **Revista ceres**, v. 55, n. 5, p. 369-376, 2008.