

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE AROEIRA (*SCHINUS TEREHBINTIFOLIA*) E LOURO (*LAURUS NOBILIS*) SOBRE *RALSTONIA SOLANACEARUM* E *PSEUDOSOLANACEARUM*

¹Fernanda Pereira da Silva, ¹Kenner Moraes Fernandes, ¹Laiane da Silva Maciel, ¹Vitor Zuim, ²Leandro Licursi de Oliveira, ¹André da Silva Xavier.

¹Universidade Federal do Espírito Santo (Campus de Alegre), Alto Universitario, S/N — Guararema, 29500-000 — Alegre — ES, Brasil, fernanda_bio2010@hotmail.com, kennerbio@gmail.com, laianesm@gmail.com, vitorzuim@gmail.com, xavierandre23@hotmail.com.

²Departamento de Biologia Geral — Universidade Federal de Viçosa. Av. Peter Henry Rolfs, S/N, Campus Universitário, 36570-000 — Viçosa/MG, Brasil. E-mail: leandro.licursi@ufv.br.

Resumo

A murcha-bacteriana é uma fitobacteriose causada por *Ralstonia solanacearum* e *pseudosolanacearum* que ocorre em diversas culturas de importância agrônoma como tomateiro, batata inglesa, banana, pimentão, tabaco, eucalipto, dentre outras. O objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade de óleo essencial de aroeira e louro sobre as bactérias fitopatogênicas *Ralstonia solanacearum* e *pseudosolanacearum*. Os ensaios foram conduzidos no laboratório de Biotecnologia Agrícola e Ambiental do NUDEMAFI, e no Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia da UFV. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação e avaliados contra *Ralstonia solanacearum* e *pseudosolanacearum* em placas de petri. Após 24 horas as leituras dos halos de inibição foram realizadas com auxílio de um paquímetro digital e lupa estereoscópica. Observou-se que os óleos de aroeira e louro possuem atividades bactericidas contra *Ralstonia solanacearum* e *pseudosolanacearum*, tendo potencial para o controle alternativo. No entanto, são necessários novos estudos para averiguar a eficácia de novas concentrações e métodos de aplicação.

Palavras-chave: Óleos essenciais. Pragas agrícolas. Bioinseticida. *Schinus terebhintifolia*.

Área do Conhecimento: Ciências biológicas; Microbiologia.

Introdução

As bactérias pertencentes às espécies *R. solanacearum* e *R. pseudosolanacearum* desempenham um importante papel econômico em uma ampla gama de hospedeiros no mundo todo. São mais de 200 espécies de plantas acometidas, dentre elas o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), causando a doença conhecida como murcha-bacteriana (Prior et al., 2016). O ciclo da doença se inicia quando as bactérias infectam as plantas por meio das raízes, colonizam o sistema vascular (xilema), e por meio de diversos mecanismos fisiológicos obstruem os vasos causando a murcha (Prior et al., 2016).

Dentre as fitobacterioses, a murcha-bacteriana tem sido um problema em determinadas áreas da Região Serrana do estado do Espírito Santo, causando grandes danos nas lavouras de tomate, hortaliça de maior expressão social e econômica no Estado (Borel et al., 2010).

A murcha-bacteriana trata-se de uma doença de difícil manejo devido a várias características intrínsecas dos agentes etiológicos, tais como: sobrevivência por longos períodos no solo, ampla gama de hospedeiros e uma grande capacidade de dispersão (Genin et al., 2012). No entanto, devido à dificuldade de controle de algumas pragas, juntamente com a falta de planejamento prévio, o controle químico tem se tornado o principal método de controle, o que acaba gerando problemas com contaminação de alimentos e do ambiente, geração de populações resistentes de pragas e afetando inimigos naturais (Piglowski, 2020).

No Brasil não existem antibióticos ou qualquer agroquímico registrado para o controle de *R. solanacearum* ou *R. pseudosolanacearum* e o brometo de metila utilizado durante vários anos para reduzir populações desses patógenos em solos e substratos foi proibido com base no Protocolo de Montreal (Roskopf et al., 2005). Na ausência de medidas eficientes para a supressão desses

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

patógenos, uma vez infectadas, as plantas precisam ser eliminadas, porém, estratégias como a rotação de culturas, solarização do solo, manejo da água, sanitização do material utilizados nos tratos culturais têm auxiliando na redução dos impactos dessa fitobacteriose no campo (Kurozawa et al., 2005).

Dados os fatores, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade bactericida do óleo essencial de aroeira-vermelha e louro sobre os fitopatógenos *R. solanacearum* e *R. pseudosolanacearum*.

Metodologia

Extração dos óleos

O óleo essencial foi obtido por extração através da hidrodestilação de folhas secas de aroeira e louro. Os ensaios foram conduzidos no laboratório de entomologia do NUDEMAFI, compostos por 3 tratamentos + controle, com 10 repetições, contendo 15 indivíduos cada. Os tratamentos consistiram na aplicação de óleo essencial nos volumes de 10, 15 e 20 microlitros (μ), e o controle, na aplicação de espalhante adesivo Tween 80(R).

Isolados bacterianos e condições de cultivo

Os isolados de *Ralstonia solanacearum* (código B73) e *Ralstonia pseudosolanacearum* (Código B05) utilizados neste estudo, foram gentilmente cedidos pela Coleção de Cultura de Rosa Mariano (CCRM), da Universidade Federal Rural do Pernambuco (UFRPE). Previamente aos ensaios, as bactérias preservadas foram reativadas em meio de cultura Caseína-Peptona-Glicose (CPG) com 1,5% ágar e incubadas à 28 °C por 24h. Em seguida uma suspensão de células foi inoculada em 50 mL de caldo nutriente e mantida overnight em incubadora tipo shaker regulada para a condição de 28 °C $\pm$ 2°C e 180 rpm.

Avaliação da atividade antagônica dos isolados bacterianos selecionados

O ensaio para avaliação do potencial antagonista foi realizado utilizando como tratamentos óleo essencial. Para tanto, placas de Petri foram preparadas pelo método pour plate adicionando-se 25 mL de CPG fundente e 2 mL da suspensão bacteriana ajustada para $DO_{600nm}=0,4$. Em seguida, foram realizados cinco furos (pocinho) em cada placa com auxílio de um furador com diâmetro de 6,35 mm. Alíquotas de 20 μ L do óleo essencial, foram adicionadas nos pocinhos, totalizando 8 repetições por isolado. Para controle negativo, o mesmo procedimento foi realizado em todas as placas, sendo adicionado caldo CPG em substituição à suspensão bacteriana. As placas foram incubadas em estufa incubadora BOD, com temperatura regulada para 28 °C. Depois de 24 horas de inoculação (24h dpi) as leituras dos halos de inibição foram realizadas com auxílio de um paquímetro digital e lupa estereoscópica.

Análises estatísticas

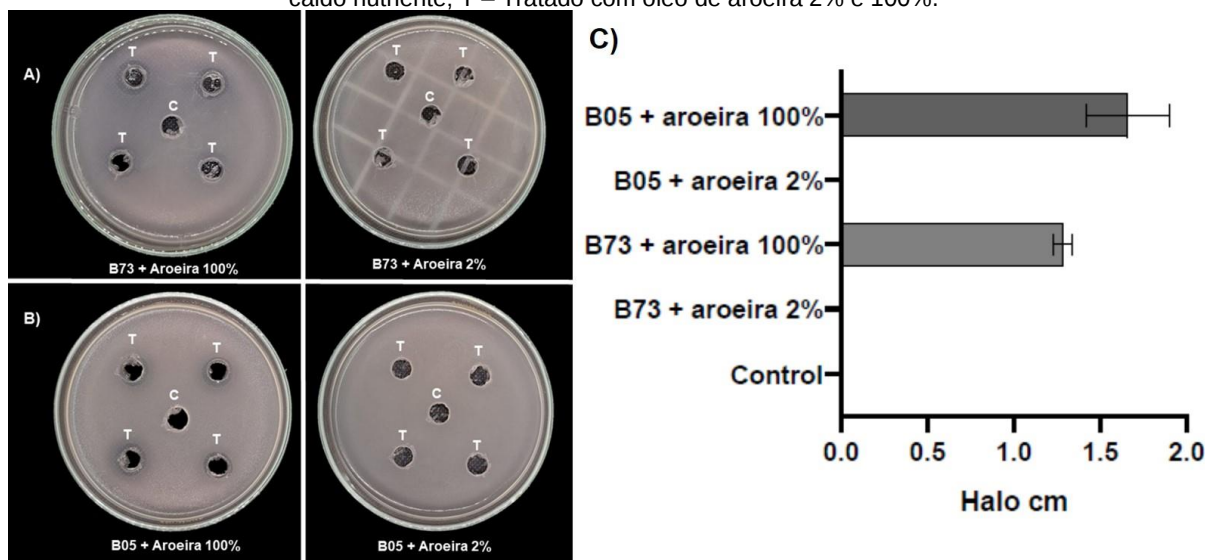
Os resultados obtidos foram analisados com auxílio do programa GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk, à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Um valor $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados

O óleo de aroeira teve atividade antagônica apenas na concentração de 100%, onde formaram halo de inibição maior que 1 cm em *Ralstonia solanacearum* e *pseudosolanacearum*, sendo significativos em relação aos demais ($p < 0,05$, Figura 1).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

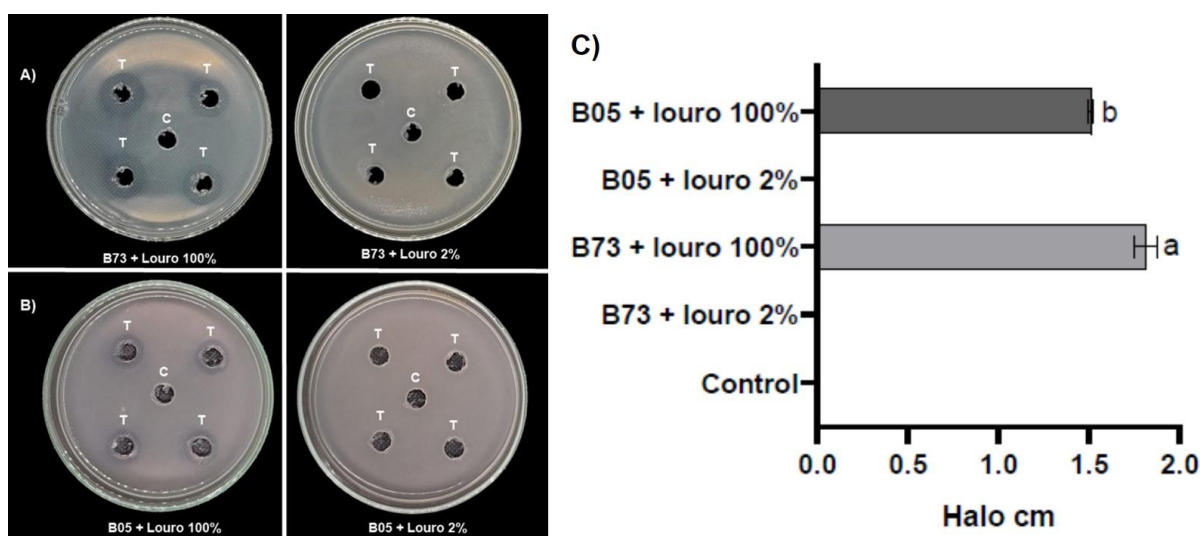
Figura 1 – Avaliação da atividade antagonista do óleo de aroeira testados no crescimento de *Ralstonia solanacearum* (B73) e *Ralstonia pseudosolanacearum* (B05). A) Fenótipo dos halos de inibição de B73. A) Fenótipo dos halos de inibição de B05. (C) Medição dos halos de inibição 24h dpi; Legenda: c - Controle com caldo nutriente; T – Tratado com óleo de aroeira 2% e 100%.



Fonte: o autor (2023).

O óleo de louro apresentou resultados semelhante ao de aroeira, tendo atividade antagonista apenas na concentração de 100%, com formação de halo de inibição maior que 1 cm em *Ralstonia solanacearum* e *pseudosolanacearum*, sendo significativos em relação aos demais ($p < 0,05$). Entretanto, houve diferença significativa na ação inibitória do óleo de louro a 100% entre as bactérias, onde as B73 (*Ralstonia solanacearum*) teve maior inibição ($p < 0,05$, Figura 2).

Figura 2 – Avaliação da atividade antagonista do óleo de louro testados no crescimento de *Ralstonia solanacearum* (B73) e *Ralstonia pseudosolanacearum* (B05). A) Fenótipo dos halos de inibição de B73. A) Fenótipo dos halos de inibição de B05. (C) Medição dos halos de inibição 24h dpi; Legenda: c - Controle com caldo nutriente; T – Tratado com óleo de louro 2% e 100%.



Fonte: o autor (2023).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Discussão

O óleo essencial de aroeira é rico em compostos terpenos como α -pineno, α -felandreno e D-limoneno, responsáveis por suas propriedades antibacterianas (Schubert et al., 2013), como visto em trabalhos com *E. coli*, *Staphylococcus spp*, *S. aureus*, onde o óleo apresentou atividade bactericida (Sousa et al., 2013). Além disso, o óleo de aroeira promoveu inibição de bactérias multirresistentes, exceto para *Pseudomonas aeruginosa* (Lima et al., 2019).

Assim como o óleo de aroeira, estudos mostraram o efeito bactericida do óleo essencial de louro, que inibiu o crescimento de *Escherichia coli* e *Salmonella Enteritidis*, e pode ser usado como um agente para prevenir a proliferação de bactérias (de Lima et al., 2022).

No entanto, é importante observar que mais pesquisas são necessárias para entender completamente as propriedades antimicrobianas do óleo essencial de louro e suas possíveis aplicações.

Conclusão

Os óleos essenciais de aroeira e louro apresentaram atividade bactericida sobre *Ralstonia solanacearum* e *pseudosolanacearum* nas concentrações de 100% e nos métodos de aplicação avaliados. No entanto, são necessários novos estudos a fim de averiguar a dosagem e o método de aplicação ideais, visto que os compostos majoritários do óleo possuem comprovada ação inseticida e acaricida.

Referências

DE LIMA, Willian Artner; FERNANDES, Lidianne Aparecida. Avaliação das atividades de suscetibilidade e sinergismo com o óleo essencial de *Laurus nobilis* (Lauraceae) e fármacos antimicrobianos contra cepas bacterianas. **Revista Fitos**, v. 16, n. 4, p. 431-442, 2022.

LIMA, Carla Vanessa Ribeiro et al. Ação antibacteriana do óleo essencial das folhas de aroeira frente a patógenos multirresistentes. **Diversitas Journal**, v. 4, n. 1, p. 242-252, 2019.

SOUSA, Dyeime Ribeiro de et al. Óleo de aroeira vermelha e de suplementação de vitamina E em substituição aos promotores de crescimento sobre a microbiota intestinal de frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 43, p. 2228-2233, 2013.

SCHUBERT, Ryan Noremborg et al. 14407-Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, 2013.

PRIOR, Philippe et al. Genomic and proteomic evidence supporting the division of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* into three species. **BMC genomics**, v. 17, p. 1-11, 2016.

BOREL, R. M. A.; ABAURRE, M. E. O.; CARMO, CAS. Características socioeconômicas do cultivo do tomateiro no estado do Espírito Santo. **Tomate. Vitória-ES: Incaper**, p. 69-84, 2010.

GENIN, Stéphane; DENNY, Timothy P. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. **Annual review of phytopathology**, v. 50, p. 67-89, 2012.

PIGŁOWSKI, Marcin. Food hazards on the European Union market: The data analysis of the Rapid Alert System for Food and Feed. **Food science & nutrition**, v. 8, n. 3, p. 1603-1627, 2020.

ROSSKOPF, Erin N. et al. Alternatives to methyl bromide: A Florida perspective. **Plant Health Progress**, v. 6, n. 1, p. 19, 2005.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

KUROZAWA, Chukichi. Doenças do tomateiro. **Manual de Fitopatologia-Doencas da Plantas Cultivadas**, p. 607-626, 2005.

Agradecimentos

Ao Centro de Ciências Agrárias Engenharias e ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) da Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, nas dependências dos quais os experimentos ocorreram, bem como o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.