

Estudo químico das substâncias sinalizadoras produzidas pela bactéria *Pantoea agglomerans*, isolada da doença da pinta branca do milho.

Armando M. Pomini¹ (PG), Luzia D. Paccola-Meirelles² (PQ), Anita J. Marsaioli¹ (PQ).
anita@iqm.unicamp.br

¹ Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, CEP 13083-970, Campinas – SP. ² Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, CP 6001, CEP 86051-990, Londrina – PR.

Palavras Chave: *Pantoea agglomerans*, quorum-sensing, acil-homosserina lactonas.

Introdução

A doença da pinta branca do milho surgiu no Brasil no início da década de 1980 e atualmente está distribuída em praticamente todas as regiões produtoras do país. Em condições favoráveis, a doença pode levar à senescência das folhas, um ciclo vegetativo reduzido e perdas na produção, que podem chegar até 63 % em rendimento de grãos.¹

Neste trabalho, reportamos o isolamento da espécie bacteriana *Pantoea agglomerans* das lesões em folhas de milho atacadas pela doença. Avaliou-se ainda a produção de metabólitos da classe das acil-homosserina lactonas pela bactéria, reconhecidamente empregados em mecanismos de comunicação intercelular bacteriana.²

Resultados e Discussão

A bactéria *P. agglomerans* foi isolada de lesões do tipo anasarca de folhas de milho cultivado na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina, em dezembro/2003. A espécie foi identificada através do seqüenciamento e análise filogenética de fragmentos do gene rRNA 16S. Testes biológicos de aspersão sobre folhas de milho e ensaios em câmaras de micro-humidade comprovaram a atividade patogênica da cepa.

O extrato em acetato de etila do meio de cultivo de *P. agglomerans* mostrou atividade biológica positiva em testes de expressão de enzimas β -galactosidase pela cepa biossensora *Agrobacterium tumefaciens* NTL4(pZLR4), indicando a possível produção de substâncias sinalizadoras da classe das acil-homosserina lactonas (acil-HSLs).³

O extrato foi em seguida fracionado por cromatografia em coluna clássica, e as frações reunidas por semelhança em cromatografia em camada delgada. A análise das frações por CG-EM revelou a ocorrência de *N*-butanoil-HSL (majoritário) e *N*-hexanoil-HSL (traços) (Figura 1). A ocorrência destes metabólitos foi confirmada pela co-injeção em CG-EM com substâncias sintéticas. Em seguida, a configuração absoluta da (S)-(-)-*N*-butanoil-HSL natural foi determinada por análises em CG-FID com fase estacionária quiral heptakis- β -ciclodextrina, pela co-²⁹ Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

injeção com o produto sintético racêmico e enantiomericamente puro (S). Testes biológicos com produtos sintéticos e natural com o biossensor *A. tumefaciens* NTL4(pZLR4) comprovaram a atividade biológica observada com o extrato do meio de cultivo de *P. agglomerans*.

Avaliou-se ainda a atividade biológica de extratos obtidos de folhas de milho sadio e contaminado pela bactéria *P. agglomerans*, cultivados em casa de vegetação, bem como extratos de folhas de milho coletados em campo e apresentando sinais da doença. Foram observadas atividades biológicas positivas em todos os extratos, incluindo o obtido a partir de folhas saudáveis.

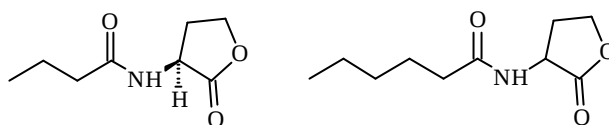


Figura 1. Acil-HSLs identificadas no cultivo de *P. agglomerans*.

Conclusões

Este trabalho relata o primeiro caso de isolamento da bactéria *P. agglomerans* da doença da pinta branca do milho. O estudo químico dos caldos de cultivo desta bactéria permitiu identificar duas substâncias da classe das acil-HSLs, sendo que uma delas teve sua configuração absoluta estabelecida. Testes biológicos mostraram ainda a possível presença desta classe de substâncias em folhas de milho, hipótese esta que se encontra em fase de avaliação experimental.

Agradecimentos

O grupo agradece à Fapesp pelo apoio financeiro e bolsa concedida (proc. 03/09357-7).

¹ Paccola-Meirelles, L. D., Ferreira, A. S., Meirelles, W. F., Marriel, I. E., Casela, C. R. *J. Phytopath.* **2001**, 149, 275.

² Whitehead, N. A., Barnard, A. M. L., Slater, H., Simpson, N. J. L., Salmond, G. P. C. *FEMS Microbiol. Rev.* **2001**, 25, 365.

³ Pomini, A. M., Manfio, G. P., Araújo, W. L., Marsaioli, A. J. J.
Agric. Food Chem. **2005**, 53, 6262.