Análise comparativa da atividade antimicrobiana de compostos contra *Xylella fastidiosa* nas fases exponencial e estacionária

Patrícia Verardi Abdelnur^{1*} (PG), Alan B. Ribeiro¹ (PG), Maria Fátima das G F. da Silva¹ (PQ), João B. Fernandes¹ (PQ), Paulo C. Vieira¹ (PQ), Alessandra A. de Souza² (PQ), Carolina M. Rodrigues² (PG), Marcos A. Machado² (PQ).

¹ Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, Laboratório de Produtos Naturais, Rod. Washington Luiz Km 235, São Carlos-S.P. ²Centro APTA Citros Sylvio Moreira - IAC, Rod. Anhanguera, Km 158, Cordeirópolis-S.P. *patyvab@yahoo.com.br*

Palavras Chave: C.limonia, compostos fenólicos, MIC.

Introdução

Xylella fastidiosa é uma bactéria fitopatogênica limitada ao xilema, a qual tem sido encontrada em um grande número de plantas hospedeiras e está associada a doenças em diversas culturas de importância econômica, como alfafa, ameixeira, cafeeiro, laranjeira, pessegueiro e videira. No Brasil, esta bactéria é responsável por causar doenças em importantes culturas, como laranjeira, cafeeiro e ameixeira. Em laranjeira causa a doença denominada Clorose Variegada dos Citros (CVC).

A curva de crescimento da Xf apresenta três fases: fase lag (latente), fase log (exponencial), quando a bactéria encontra-se em multiplicação celular (aproximadamente 5 - 7 dias após a inoculação); e fase estacionária, quando a bactéria começa a parar de se multiplicar (a partir de aproximadamente 10 dias após a inoculação) e a partir deste período começa o declíneo celular. O objetivo deste trabalho foi realizar os ensaios antimicrobianos com a bactéria na fase exponencial e início da fase estacionária para verificar a sua resposta nas diferentes situações e a partir deste resultado identificar qual a fase mais adequada para este tipo de ensaio. Contudo, dada a importância econômica das culturas dos citros e as perdas que as doenças causadas pela Xf vêm gerando para os setores envolvidos, este trabalho visa à obtenção de compostos naturais que possuam antimicrobiana frente a Xf em sua fase mais resistente, como uma forma de combate à mesma em qualquer estado de crescimento.

Resultados e Discussão

Realizou-se os ensaios antimicrobianos com as substâncias xantiletina, seselina, 3',4',5',5,7-pentametoxiflavona e limonina (Figura1). As duas cumarinas foram isoladas do *C.limonia*, o limonóide foi isolado do enxerto *C.sinensis* sobre *C.limonia* e o flavonóide foi isolado da *N. paraensis*.

As concentrações utilizadas para o experimento foram 0,5, 0,6, 1,0 e 2,0 mg/mL, utilizouse a bactéria nas fases exponencial e estacionária crescida em meio PW líquido. Antes de iniciar o experimento, mediu-se o OD_{600nm} de cada meio para confirmar a fase de crescimento da bactéria.

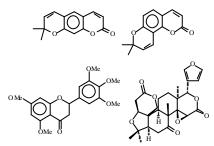


Figura 1. Substâncias ensaiadas contra a *Xf* na fase log e início da fase estacionária.

Os compostos foram adicionados à bactéria nas diferentes fases separadamente, utilizando placas Nunc de poliestireno. Após 24h de adição do composto, foi avaliado o efeito bactericida através da determinação das unidades formadoras de colônias (UFC) com três repetições biológicas. A partir dos dados obtidos, pode-se verificar que os resultados são relativamente próximos e que, portanto não haverá diferenças discrepantes nos MICs obtidos nas duas fases de crescimento. Resultados de literatura têm demonstrado que na fase estacionária as bactérias são mais resistentes a compostos antimicrobiano¹. Contudo não há dados sobre ensaios com substâncias fenólicas isoladas de produtos naturais.

Conclusões

Verificou-se que ambas as fases crescimento apresentaram resultados similares na determinação da concentração mínima inibitória (MIC) frente aos compostos fenólicos. A utilização da fase exponencial para a realização dos ensaios apresenta uma vantagem, pois o tempo necessário para que a bactéria atinja esta fase é menor (5 dias) do que o necessário para que a bactéria atinja à fase estacionária (10 dias). Desta forma, é possível realizar um número maior de ensaios em um tempo menor, o que torna o experimento mais prático. A partir dos resultados obtidos, vem-se ensaiando várias substâncias de diversas classes contra a Xf utilizando-se a fase exponencial.

Agradecimentos

Fapesp, CNPq, CAPES, Centro APTA Citros Sylvio Moreira - IAC.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

Parsek M.R.; Singh, P.K. Annu.Rev.Microbiol. 2003, 57, 677-701.