11ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS & 8º Simpósio de Pós-Graduação

EFEITO DO AMINOÁCIDO N-ACETILCISTEÍNA ASSOCIADO AO COBRE NO CONTROLE DE *Pseudomonas syringae* pv *garcae*

Luis R. S. P. da COSTA[1]; Roseli dos R. GOULART[2]; Eunice M. BAQUIÃO[3]; Jaqueline A. MARCON[4]; Lucas de O. REIS[5]

RESUMO

A doença bacteriana, tradicionalmente conhecida, como mancha aureolada, vem causando sérios prejuízos a viveiristas e produtores. Além disso as medidas de controle não tem sido eficientes. Nesse sentido, o aminoácido N-acetil cisteína vem apresentando resultados promissores no controle de bacterioses no citrus. Objetivou-se avaliar diferentes concentrações de NAC associado ou não a hidróxido de cobre no controle de *Pseudomonas syringae* pv *garcae in vitro*. Foram utilizados 4 doses de NAC: 0; 3,0; 6,0; 9,0 mg mL^{-1}, com e sem adição de hidróxido de cobre, com 5 repetiçoes, totalizando 40 parcelas. Os tratamentos foram adicionados ao meio de cultura, no qual foram transferidos 100 µL da suspensão bacteriana. Após 48 h, adicionou-se 10 mL de solução salina estéril (0,85%) sobre as placas, e mediu-se a absorbância da suspensão em espectrofotômetro. Houve interação significativa entre as doses de NAC e associação ou não ao hidróxido de cobre. A dose de 9,0 mg mL^{-1} não diferiu estatisticamente do tratamento em que o hidróxido de cobre foi adicionado. NAC na dose 9,0 mg mL^{-1} é eficiente na inibição de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae in vitro*.

Palavras-chave:
Café; Mancha aureolada; Doença; Bacteriose; NAC.

1. INTRODUÇÃO

A ausência de medidas eficientes de controle para *Pseudomonas syringae* pv *garcae* tem resultado em perdas significativas para os produtores, tanto em produção, quanto no excesso de pulverizações afim de controlar a bactéria. O que tem levado pesquisadores a buscar novas alternativas de controle.

Nesse sentido, o aminoácido N-acetil cisteína (NAC), molécula análoga do aminoácido cisteína, é ainda pouco estudada nas ciências agrárias, mas já bem conhecida da medicina para o tratamento de doenças respiratórias, vem sendo estudado no controle de bacterioses de plantas, e vem trazendo resultados interessantes no tratamento de doenças como a clorose variegada do citros (PICCHI; SOUZA, 2012).

O NAC atua desagregando as colônias bacterianas, o que prejudica a colonização vascular na

1 Bolsista PIBIC/FAPEMIG, IFSULDEMINAS – *Campus* Muzambinho. E-mail: luisrodolfo88@gmail.com.
2 Orientador, IFSULDEMINAS – *Campus* Muzambinho. E-mail: roseli.goulart@muz.ifsuldeminas.edu.br.
3 Mestranda, UNESP – *Campus* Botucatu. E-mail: eunicebachiaonr@gmail.com
4,5 Alunos, IFSULDEMINAS – *Campus* Muzambinho. E-mail: jaqueap024@gmail.com

planta e aumenta o contato de bactericidas com as bactérias já dispersas na superfície foliar. A molécula age rompendo as pontes dissulfeto de proteínas das bactérias (MURANAKA et al., 2013).

O biofilme é extremamente importante para as bactérias patogênicas, pois através desse, o patógeno consegue colonizar, se estabelecer e desenvolver-se na planta. Ele protege as bactérias de condições adversas do ambiente, de mecanismos de defesa da planta, ou compostos antimicrobianos, que possam afetar o desenvolvimento da bactéria, tais como cobre (PICCHI; SOUZA, 2012).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar diferentes concentrações de NAC associado ou não a hidróxido de cobre no controle de *Pseudomonas syringae* pv *garcae in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia do IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho.

O experimento foi instalado em esquema fatorial 4 x 2, com 4 doses de NAC, 0; 3,0; 6,0 e 9,0 mg mL^{-1}, com e sem adição de hidróxido de cobre, com 5 repetições, totalizando 40 parcelas.

O isolado 59 de *Pseudomonas syringae* pv *garcae* foi obtido no Departamento de Fitopatologia da UFLA e foi transferido para placas de Petri contendo meio 523, segundo Kado & Heskett (1970) e incubada em BOD a 28°C com fotoperíodo de 12 horas de luz por 48 horas. Após esta etapa, as bactérias foram suspendidas em solução salina (NaCl a 0,85%) estéril e a concentração calibrada para $1,1 \times 10^8$ UFC em espectrofotômetro a 600 nm (OD600), conforme descrito por Oliveira e Romeiro (1990).

Os tratamentos foram adicionados ao meio de cultura, em seguida o meio foi vertido em placa, sobre qual foram transferidos 100 µL da suspensão bacteriana. As placas foram incubadas em BOD como citado anteriormente.

Após 48 h, adicionou-se 10 mL de solução salina estéril (0,85%) sobre as colônias na placa, em seguida mediu-se a absorbância nesta suspensão em espectrofotômetro.

Os dados de absorbância foram submetidos ao teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade no programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011). Estes dados ainda foram tabelados, destacando o percentual de redução do crescimento bacteriano em relação a testemunha.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Houve interação significativa entre as doses de NAC e a associação ou não de hidróxido de cobre no meio de cultura. Observou-se que nas doses de 0,0; 3,0; e 6,0 mg mL^{-1} NAC, a adição de hidróxido de cobre teve efeito determinante na inibição do crescimento bacteriano. No entanto, o

tratamento com 9,0 mg mL^{-1} NAC não diferiu estatisticamente do tratamento onde o hidróxido de cobre não foi adicionado (Tabela 1).

Resultados similares a este foram obtidos por Leite et al. (2015), onde os autores evidenciaram que nas concentrações de 8,0 e 10,0 mg mL^{-1}, houve inibição total do crescimento bacteriano. Estes dados atestam o potencial de uso dessa substância no controle da mancha aureolada do cafeeiro.

Tabela 1*:*Absorbância (OD600) de suspensão de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* cultivada *in vitro* em meio 523 contendo diferentes doses de N-Acetilcisteína e hidróxido de cobre.

Doses de NAC (mg mL^{-1})	Com hidróxido de cobre	Sem hidróxido de cobre
0,0	0 a A	1,26 d B
3,0	0 a A	0,70 c B
6,0	0 a A	0,15 b B
9,0	0 a A	0,00 a A
CV (%)	5,69	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probablidade. Os dados foram transformados para ($\sqrt{x} + 5$).

O íon Cu^{2+} é tóxico as bactérias, quando ele entra em contato com a célula bacteriana, altera a integridade da membrana, bloqueia a funcionalidade das enzimas e ainda atua afetando a síntese de DNA (BEHLAU, 2017).

Quando se analisa os dados de crescimento bacteriano obtidos através da análise de absorbância, nos tratamentos contendo NAC, verifica-se que a adição de NAC ao meio de crescimento na dose de 3,0 mg mL^{-1} reduziu a absorbância em 44,55%, e na dose de 6,0 mg mL^{-1} esta redução foi de 88,02% comparado a testemunha. E a dose de 9,0 mg mL^{-1} inibiu 100% o crescimento de *Pseudomonas syringae* pv. *Garcae* (tabela 2).

Tabela 2: Avaliação de absorbância em espectrofotômetro a 600 nm (OD600).

Doses de NAC (mg mL^{-1})	Absorbância 600 nm	% Redução
0	1,2638	0
3,0	0,7008	44,55
6,0	0,1514	88,02
9,0	0,0	100

Resultados obtidos por Negri; Machado (2012) com NAC para o controle da *Xylella fastidiosa* em citrus sugere que N-Acetilcisteína desagrega as colônias bacterianas e favorece a ação do hidróxido de cobre sobre o patógeno. A ação do NAC seria importante em campo, pois o cobre não apresenta alta eficiência, pela dificuldade do mesmo atingir a bactéria.

4. CONCLUSÕES

A associação do hidróxido de cobre ao meio de cultura inibe 100% do crescimento de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae in vitro,* independente da dose de NAC.

N-Acetilcisteína na dose 9,0 mg mL^{-1} é eficiente na inibição do crescimento de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae in vitro*.

AGRADECIMENTOS

A FAPEMIG pelo fomento disponibilizado e ao IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho por dispor suas intalações para execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS

BEHLAU, F.. **Controle químico de doenças bacterianas.** Araraquara: Fundecitrus, 2017. 28 slides, color. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3355025/mod_resource/content/1/2017.05%20-%20Aula%20-%20Controle%20qu%C3%ADmico%20de%20doen%C3%A7as%20bacterianas%20-%20Franklin%20Behlau.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2019.

FERREIRA, D. F. Sisvar: **A computer statistical analysis system**. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, nov./dez. 2011.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. 1970. **Selective media for isolation of Agrobacterium, *Corynebacterium Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas***. Phytopathology, v. 60, p. 969-976.

LEITE, J. F. B. et al. **Controle alternativo da mancha aureolada do cafeeiro.** 2015. Apresentado na 7ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS. Disponível em: <https://jornada.ifsuldeminas.edu.br/index.php/jcpcs/jcpcs/paper/view/1210>. Acesso em: 23 maio 2019.

MURANAKA, L. S. et al.. **N-Acetylcysteine in Agriculture, a Novel Use for an Old Molecule: Focus on Controlling the Plant–Pathogen *Xylella fastidiosa*.** PLOS ONE. V. 8 issue 8, 2013.

NEGRI, J. D.; MACHADO, M. A.. 2012. **Avanços nas pesquisas para o controle do CVC**. Informativo Centro de Citricultura. Cordeirópolis, número 200.

OLIVEIRA, J. R.; ROMEIRO, R. S.. **Reação de folhas novas e velhas de cafeeiros a infecção por *Pseudomonas cichorii* e *P. syringae* pv. garcae**. Fitopatologia Brasileira, v.15, p.355-356, 1990.

PICCHI, S. C.; SOUZA, A. A.. 2012.. **Biofilme em *Xanthomonas citri subsp. citri*** Informativo Centro de Citricultura. Cordeirópolis, número 207.