

Potencial antimicrobiano de extratos de própolis amazônica de *Apis mellifera* L. em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* no estado do Pará, Brasil

Antimicrobial potential of Amazonian propolis extracts from *Apis mellifera* L. in *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in the state of Pará, Brazil

Potencial antimicrobiano de extractos de propóleo amazónico de *Apis mellifera* L. en *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* en el estado de Pará, Brasil

Recebido: 14/11/2020 | Revisado: 21/11/2020 | Aceito: 05/12/2020 | Publicado: 08/12/2020

Daniel Santiago Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9858-4224>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Amazônia Oriental, Brasil

E-mail: daniel.pereira@embrapa.br

Alessandra Keiko Nakasone

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6021-185X>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Amazônia Oriental, Brasil

E-mail: alessandra.nakasone@embrapa.br

Mozaniel Santana de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4076-2443>

Museu Paraense Emílio Goeldi, Brasil

E-mail: mozaniel.oliveira@yahoo.com.br

Luana Cardoso de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3204-8194>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: luanacardoso.oliveira@hotmail.com

Natanael Santiago Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7133-4639>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Brasil

E-mail: natanael@ifce.edu.br

Pollyane da Silva Ports

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1644-017X>

Universidade de Campinas, Brasil

E-mail: pollyports@hotmail.com

Antônio Pedro da Silva Souza Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9213-2139>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Amazônia Oriental, Brasil

E-mail: antonio-pedro.filho@embrapa.br

Joyce Caroline da Silva Teixeira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5281-2906>

Serviço Nacional de Aprendizagem Rural, Brasil

E-mail: joycebuzz20@gmail.com

Jorddy Neves Cruz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0529-3714>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: jorddynevescruz@gmail.com

Aline Carla de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0161-3541>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: alinecarla.edu@gmail.com

Giorgio Cristino Venturieri

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9644-4439>

NATIVO Company, Brasil

E-mail: giorgio@venturieri.com

Rosilene Agra da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9232-7403>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: rosileneagra@hotmail.com

Patrício Borges Maracajá

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4812-0389>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: patriciomaracaja@gmail.com

Marinalva Oliveira Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7068-4055>

Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Brasil

E-mail: marinalvafreitas13@yahoo.com.br

Carlos Iberê Alves Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0859-3528>

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial efeito *in vitro* de extratos de própolis apícola amazônica sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, agente causal da bacteriose da mandioca. As amostras de própolis foram coletadas em apiários com colmeias habitadas por abelhas *Apis mellifera* L. (africanizadas) nos municípios de Santa Izabel e Curuçá, no estado do Pará. Os extratos foram obtidos a partir de maceração estática por 24 h com os solventes hexano, acetato de etila e etanol 80%. Os perfis fenólicos das amostras foram obtidos através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência/Detecção de Arranjo de Diodos/Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray (HPLC/DAD/ESI-EM). A atividade antibacteriana foi verificada com os extratos nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4%. A análise química revelou a presença do kaempferol na amostra de Santa Izabel-PA, do ácido gálico na amostra de Curuçá-PA, e do 3,4-dihidroxibenzoico em ambas amostras. O extrato etanólico a 80% da própolis apícola de Santa Izabel reduziu significativamente o crescimento de *X. axonopodis* pv. *Manihotis*.

Palavras-chave: Apicultura; Amazônia; Mandioca; Compostos fenólicos; Fitopatógeno.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the *in vitro* potential effect of extracts of amazonian bee propolis on the growth of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, causal agent of cassava bacteriosis. The propolis samples were collected in apiaries with hives inhabited by *Apis mellifera* L. (africanized) bees in the municipalities of Santa Izabel and Curuçá, in the state of Pará. The extracts were obtained from static maceration for 24 h with hexane solvents, ethyl acetate and 80% ethanol. The phenolic profiles of the samples were obtained by High Performance Liquid Chromatography/Diode Array Detection/Mass Spectrometry with Electrospray Ionization. The antibacterial activity was verified with the extracts in concentrations of 0.1; 0.2; 0.3 and 0.4%. The chemical analysis revealed the presence of kaempferol in the Santa Izabel-PA sample, gallic acid in the Curuçá-PA sample, and 3,4-dihydroxybenzoic in both samples. The 80% ethanolic extract of the bee propolis from Santa Izabel significantly reduced the growth of *X. axonopodis* pv. *manihotis*.

Keywords: Beekeeping; Amazon; Manioc; Phenolic compounds; Phytopathogen.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial efecto *in vitro* de extractos de propóleo de abeja amazónica sobre el crecimiento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, agente causal de la bacteriosis de la yuca. Las muestras del propóleo fueron colectados en colmenares con colmenas habitadas por abejas *Apis mellifera* L. (africanizadas) en los municipios de Santa Isabel y Curuçá, en el estado do Pará. Los extractos se obtuvieron mediante maceración estática durante 24 h con los disolventes hexano, acetato de etilo y etanol al 80%. Los perfiles fenólicos de las muestras se obtuvieron mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución/ Detección de Arreglo de Diodos/Espectrometría de Masas de Ionización por Electroaspersión (HPLC/DAD/ESI-EM). La actividad antibacteriana se verificó con los extractos en las concentraciones de 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4%. La análisis químico reveló la presencia de kaempferol en la muestra de Santa Isabel-PA, ácido gálico en la muestra de Curuçá-PA, y 3,4-dihidroxibenzoico en ambas muestras. El extracto etanólico al 80% del propóleo de abeja de Santa Isabel redujo significativamente el crecimiento de *X. axonopodis* pv. *manihotis*.

Palabras clave: Apicultura; Amazonia; Yuca; Compuestos fenólicos; Fitopatógeno.

1. Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta da família *Euphorbiaceae* com grande importância econômica para o estado do Pará. O estado é o principal produtor da cultura no Brasil, que no ano de 2018 apresentou uma produção de 3.836.215 t e produtividade de 14.681 kg/há (IBGE, 2018). No entanto, a ocorrência de problemas fitossanitários é um fator limitante para o cultivo da mandioca.

A bacteriose da mandioca, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (Bondar) (Vauterin et al., 1995), é a doença de maior importância econômica da cultura e ocorre em todos os locais onde a mandioca é cultivada (Lozano, 1986). Sintomas primários como resultados de plantio de material infectado, consistem na murcha dos brotos jovens infectados, seguida da morte da planta. Já os sintomas secundários consistem em manchas angulares nas folhas, seguida da queima, desfolha, murcha da parte prematura e morte (Lozano, 1986).

O estudo de métodos alternativos de manejo de doenças de plantas é de grande importância para a implementação de uma agricultura sustentável, tendo em vista os malefícios para a saúde humana e ambiental pelo uso intensivo dos agrotóxicos. Dessa forma,

é necessário buscar medidas mitigadoras que sejam bem produtivas, mas que caminhe a uma agricultura com bases sustentáveis (Lopes & Albuquerque, 2018).

Neste sentido, a própolis apícola, um produto balsâmico (Bankova et al., 2014) obtido de resinas vegetais por abelhas exóticas africanizadas (*Apis mellifera* L.), tem se mostrado um importante aliado no controle de microrganismos indesejáveis (R. C. A. . Pereira & Santos, 2013).

Entre as atividades biológicas reportadas para a própolis apícola, podem ser citadas: antitripanossômica (D. S. Pereira et al., 2017), antimicobacteriana, antiplasmódica, imunomoduladora (Sampietro et al., 2016), antioxidante, citotóxica (Bonamigo et al., 2017), antimicrobiana. E o potencial antibacteriano da própolis apícola é relatado, principalmente, sobre bactérias patogênicas (Boonsai et al., 2014; Rahmatullah et al., 2012). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial efeito *in vitro* de extratos de própolis apícola amazônica sobre o crescimento da fitobactéria *X. axonopodis* pv. *manihotis*, agente causal da bacteriose da mandioca.

2. Metodologia

2.1 Amostras

O experimento foi conduzido, na unidade da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Oriental (CPATU) (1° 28' S; 48° 27' W), Belém, Pará.

Amostras de própolis foram coletadas em apiários com colmeias habitadas por abelhas *Apis mellifera* (africanizadas), distribuídos em região de vegetação da Floresta Amazônica e situados em áreas de predominância vegetal distinta, nos municípios de Santa Isabel e Curuçá, Pará. Em Santa Isabel-PA, o apiário localizava-se em área rural (1° 22' 46,5" S; 48° 7' 51,9" W) ao lado de cultivos das culturas do açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) e cacau (*Theobroma cacao* L.); e em Curuçá-PA, na comunidade Mauara (0° 54' 42,5" S; 47° 52' 22" W) e próximo à áreas de cultivo de pequenas culturas de ciclo longo e curto de agricultores familiares. A coleta das amostras foi realizada através de raspagem das partes internas das colmeias do tipo *Langstroth*. Após a separação das impurezas, cada amostra foi acondicionada em um recipiente fechado, ao abrigo da luz e sob refrigeração abaixo de 0 °C.

Cada uma das amostras foi pesada, triturada e transferida para frascos de Erlenmeyer. Os extratos foram preparados a partir de maceração estática por 24 h com a adição de

solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, acetato de etila e etanol 80%. Após o período de extração, o material foi filtrado em papel de filtro nº 3. A extração foi repetida por mais duas vezes para cada solvente. As soluções resultantes foram concentradas em evaporador rotativo para a obtenção dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico a 80%. Uma fração de 2,5 gramas de cada extrato foi transferida para copos de Becker esterilizados e solubilizada com 25 mL de cada um dos seus respectivos solventes utilizados na extração, obtendo-se a concentração de 10%. Todos os extratos foram acondicionados em frascos de Erlenmeyer e identificados.

2.2 Análise química

Os perfis fenólicos foram obtidos por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência/Detecção de Arranjo de Diodos/Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray (HPLC/DAD/ESI-EM). A análise do perfil dos extratos etanólicos a 80% foi realizada usando um cromatógrafo líquido de alta performance da marca Thermo com um injetor automático, uma alça de amostragem de 20 μL e uma bomba quaternária. Ele foi acoplado a um detector de matriz de diodos e um espectrômetro de massas equipado com uma fonte de ionização por electrospray (ESI) e um analisador de massa ion-trap. O equipamento foi operado em temperatura ambiente de 25 ± 2 °C. Os dados cromatográficos foram obtidos e processados no software Xcalibur. A coluna cromatográfica utilizada era de fase reversa (150 x 2,1 mm) e tinha tamanho de partícula de 1,9 μm (Thermo Scientific Hypersil GOLD). O método cromatográfico foi baseado em (Nováková et al., 2008), com pequenas modificações. A fase móvel consistiu do uso de solução aquosa de ácido fórmico 0,1% (A) e acetonitrila (B). O gradiente de eluição começou em uma proporção de 95:5 a uma taxa de fluxo de 0,32 mL.min⁻¹. A concentração de "A" diminuiu para a condição de 50:50 em 5 min e, a partir de 6 min, voltou gradualmente à condição inicial de 95:5, o que exigiu 20 min. Permaneceu nesta condição por mais 2 min para que as condições iniciais fossem restauradas.

A detecção dos compostos foi realizada usando um detector DAD (operando a 210, 260, 300 e 325 nm) e um espectrômetro de massas com uma fonte ESI operando no modo negativo (temperatura capilar de 350 °C, voltagem capilar 2,5 kV, voltagem do cone 5 kV) He e N₂ foram usados como gás de colisão e gás nebulizador (unidade arbitrária), respectivamente. Os compostos presentes nas amostras foram identificados com base no tempo de retenção, espectro de absorção e co-cromatografia, os quais foram comparáveis aos

padrões e resultados de espectros de massas, que auxiliaram na confirmação das estruturas químicas dos compostos.

2.3 Bioensaio

A bactéria *X. axonopodis* pv. *manihotis* foi obtida de folhas mandioca com sintomas típicos da bacteriose, e pertence à coleção de culturas de fitobactérias do Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA – CPATU. Para o ensaio, o patógeno foi reativado a partir de cultura estoque em meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970) e incubação a 28 °C por 24 h.

A atividade antibacteriana dos extratos de própolis apícola foi verificada incorporando-os ao meio de cultura 523 fundente, com concentrações finais de 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4%, e distribuídos em placas de Petri. Após a solidificação do meio, foram depositadas alíquotas de 100 µL da suspensão bacteriana com $Abs_{540} = 0,1$ e diluição seriada em NaCl 0,85% até 10^{-6} , sendo espalhadas com alças de Drigalski estéreis. Como tratamento controle foi utilizado o meio de cultura sem adição de extrato. As placas foram incubadas a 28 °C por 48 h. Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento e as placas foram avaliadas através da contagem do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

2.4 Desenho experimental e análises estatísticas

Os testes de Lilliefors e Shapiro-Wilk foram aplicados para verificar a normalidade, seguidos pelas análises de variância e testes de média de Tukey ($\alpha = 0,5$). Em todos os testes, $\alpha = 0,05$ foi utilizado como valor de significância. Os dados foram avaliados por análise fatorial de três fatores: origem da própolis (2) x solventes (3) x concentrações (4). Assim, as parcelas foram constituídas pelos tratamentos com extratos de própolis de duas origens diferentes no estado do Pará (Santa Isabel do Pará e Curuçá), obtidos com três solventes diferentes (hexano, acetato de etila e etanol 80%), nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4%, e um tratamento controle, totalizando 25 tratamentos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), sendo que os dados, com três repetições, foram submetidos à análise de variância, pelo teste F, utilizando-se o teste de Tukey para comparação de médias e o teste t para os coeficientes das equações de regressão, com o auxílio do aplicativo software SISVAR 5.3 (Ferreira, 2010) e de planilha eletrônica.

3. Resultados e Discussão

3.1 Composição química

As amostras de própolis apresentaram pouca diferença na sua composição química em termos de compostos fenólicos (Tabela 1), isso pode estar relacionando ao fato das coletas terem sido realizadas em áreas de municípios da mesma região, no Nordeste Paraense, compartilhando, ambas as amostras, na sua composição de variabilidade um dos compostos.

Tabela 1. Compostos fenólicos identificados nas amostras de própolis de *Apis mellifera*.

Origem das amostras	Tipo de extração	Compostos	[M-H] ⁻ m/z	M ²
Santa Isabel-PA	Extração por soxhlet	3,4-dihidroxibenzoico	[153]	[153] 109
		Kaempferol	[285]	[285] 217, 151
Curuçá-PA	Extração por soxhlet	Ácido gálico	[169]	[169] 125
		3,4-dihidroxibenzoico	[153]	[153] 109

Fonte: Autores, (2020).

A composição química da própolis é variável não apenas devido à variabilidade das fontes vegetais, mas também dependendo da espécie de abelha, iluminação, altitude e disponibilidade de alimento. No entanto, a composição geral da maioria das amostras de própolis bruta é semelhante (Toreti et al., 2013).

Em geral a composição química da própolis é complexa e pode ser formada desde compostos voláteis de baixo peso molecular a compostos de maior massa e elevada polaridade como exemplo os compostos fenólicos (Bertrams et al., 2013). Outros relatos científicos tem demonstrado que as atividades biológicas apresentadas por extratos de própolis está diretamente ligada a sua composição química (Silva et al., 2012; Szweda et al., 2015; Catchpole et al., 2015), um exemplo é o trabalho de Castro et al. (2014), em que foi avaliada a atividade antioxidante de seis amostras de própolis e verificada que as frações que apresentaram a maior concentração de compostos como o ácido cafeico, éster benzílico de ácido cafeico e quercetina apresentaram as maiores atividades antioxidantes em todos os métodos analisados, resultados semelhantes podem ser observados no trabalho de

(Siripatrawan; Vitchayakitti; Sanguandeeikul, 2013) com extratos de própolis da em própolis coletado na Tailândia.

3.2 Efeito inibitório em *Xantomonas axonopodis* pv. *manihotis*

Na avaliação do efeito *in vitro* de extratos de própolis apícola amazônica sobre o crescimento de *X. axonopodis* pv. *manihotis*, a análise de variância, aplicada sob os extratos de diferentes origens, obtidos com três diferentes solventes e em quatro concentrações, mostrou efeito significativo para o contraste entre o controle e os extratos de própolis (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância do crescimento de *Xantomonas axonopodis* pv. *manihotis* sob efeito de extratos de própolis apícola de diferentes origens, obtidos com três solventes distintos, e em quatro concentrações.

Fator de variação	Graus de liberdade	Quadrados médios
Controle vs. extratos	1	72,80**
Origem	1	128,00**
Solvente	2	533,39**
Concentração	3	190,54**
Origem x solvente	2	93,17**
Origem x concentração	3	8,11 ^{n.s.}
Solvente x concentração	6	54,15**
Origem x solvente x concentração	6	19,67 ^{n.s.}
Erro	50	9,23
Coefficiente de variação (%)		18,04
Média		16,84

** , * : significância a 1, 5%; ^{n.s.}: não-significância.

Fonte: Autores, (2020).

Apenas o extrato etanólico a 80% da própolis apícola de Santa Izabel reduziu significativamente o crescimento de *X. axonopodis* pv. *manihotis*, com inibição de 62,71% em relação ao controle (Tabela 3).

Tabela 3. Efeito de extratos de própolis apícola de diferentes origens, obtidos com três solventes distintos, e em quatro concentrações, sobre o crescimento de *Xantomonas axonopodis* pv. *manihotis* (média ± desvio padrão).

Origem	Solvente		
	Hexano	Acetato de etila	Etanol 80%
Santa Izabel	19,42±4,76bA ^{ns}	18,42±3,09bB ^{ns}	8,08±3,00aB**
Curuçá	17,92±7,35bA ^{ns}	21,58±4,06aA ^{ns}	14,42±4,46cA ^{ns}
Controle	21,67±5,13		

Médias seguidas por letras distintas na linha (minúsculas) e na coluna (maiúsculas) diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ^{ns}: não-significância. **, *: significância a 1% (Teste F) para o contraste entre controle e o respectivo extrato.

Fonte: Autores, (2020).

O efeito do extrato etanólico a 80% da própolis apícola de Santa Izabel corrobora com o resultado de Baldin et al. (2014), em que extratos etanólicos de própolis obtidos de três regiões do estado do Paraná, demonstraram inibições drásticas do crescimento de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, patógeno responsável pelo crestamento bacteriano em feijão. Bem como, corrobora com os resultados obtidos para extratos etanólicos de própolis apícola no controle de bactérias patogênicas ao homem, tais como: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Helicobacter pylori*, *Shigella flexneri* e *Mycobacterium tuberculosis* (Muli & Maingi, 2007; Okińczyc et al., 2020; Souza et al., 2017).

O potencial antibacteriano do extrato de própolis já foi verificado para outras bactérias fitopatogênicas, tais como: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *P. corrugata*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *X. campestris* pv. *vesicatoria*, *X. translucens* pv. *undulosa*, *X. axonopodis* pv. *phaseoli* e *X. campestris* pv. *campestris*.

O efeito do extrato etanólico a 80% da própolis apícola de Santa Izabel pode ser explicado por sua composição a partir de diferentes compostos polares capazes de inibir o crescimento da bactéria. A utilização de solventes de diferentes polaridades influenciou diretamente na composição dos extratos a partir da afinidade sobre os compostos presentes na própolis. O hexano foi capaz de extrair os compostos apolares da matriz, o acetato de etila extraiu os compostos de médias polaridade, e o etanol 80% extraiu os compostos polares.

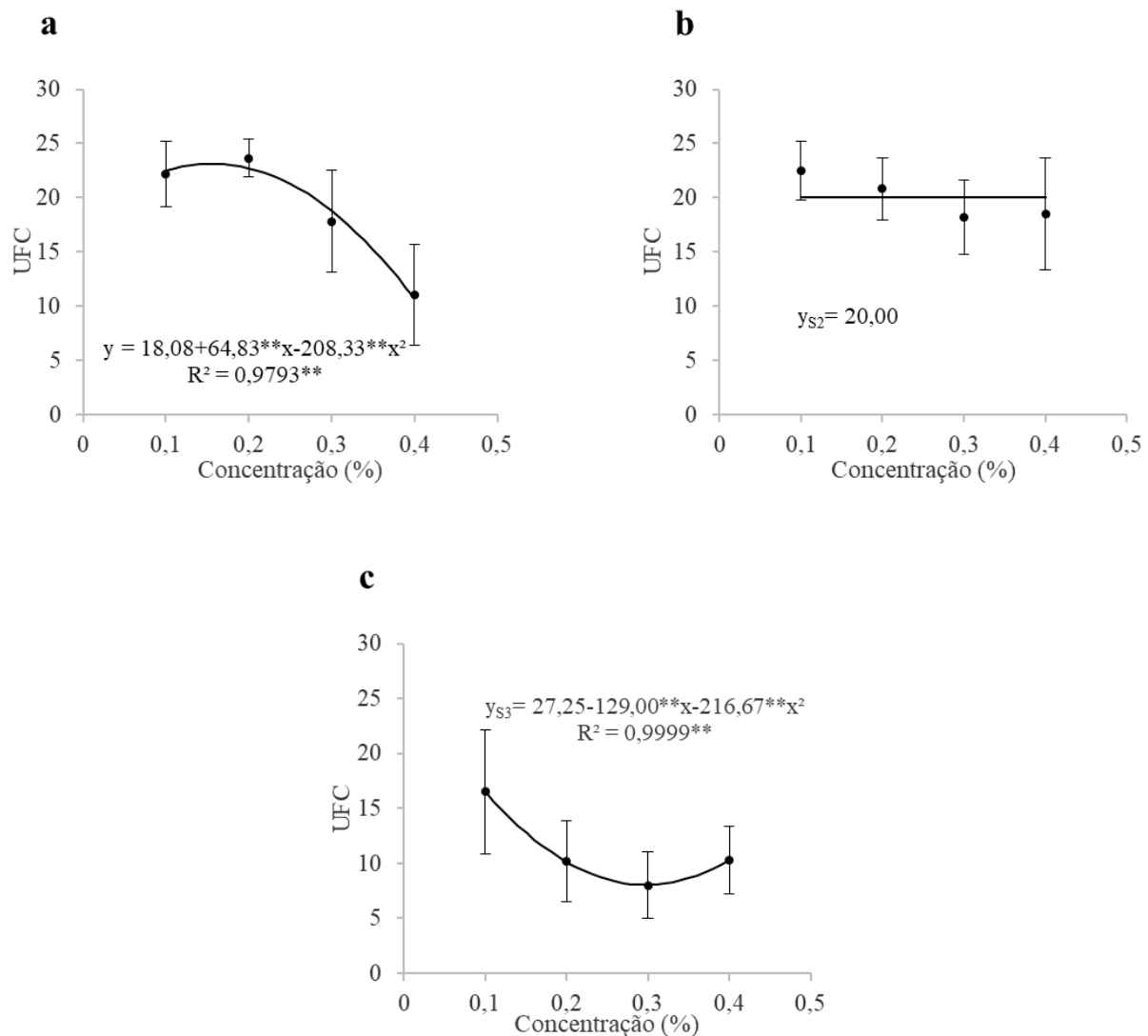
O conceito de polaridade está relacionado com a ligação entre os átomos de uma molécula. Uma molécula polar é formada por átomos com diferença na eletronegatividade,

quanto maior a diferença na eletronegatividade entre os átomos, mais polares serão as ligações (Murphy et al., 2005). A eletronegatividade é a capacidade que um átomo tem de atrair os elétrons que ele está compartilhando em uma ligação, o átomo com maior eletronegatividade possui carga parcial negativa e o átomo menos eletronegativo possui carga parcial positiva, formando um momento de dipolo. Um composto com momento de dipolo é polar, e um composto sem momento de dipolo é apolar.

A presença do flavonoide kaempferol, detectado apenas na amostra da própolis apícola de Santa Izabel, pode ter sido determinante pela atividade demonstrada pelo extrato etanólico a 80%. Huang et al. (2015) indicaram que o kaempferol mostrou efeitos no controle *in vitro* de *S. aureus*, apresentando um excelente potencial bactericida, e que seus compostos e derivados poderiam ser usados no desenvolvimento de novos inibidores bióticos de bactérias. Esta teoria foi comprovada posteriormente por Lin et al. (2020) em seu estudo em que foram testados compostos derivados e semissintéticos do kaempferol também em *S. aureus*. Com relação ao efeito bactericida do ácido gálico, Li et al. (2019) demonstraram efeito antibacteriano de um derivado de ácido gálico-quitosana contra *Escherichia coli* e *S. aureus*.

Na análise entre os efeitos do solvente e as concentrações utilizadas, foi verificada a dependência entre as duas variáveis (Tabela 2). As curvas de UFC x concentração foram ajustadas para cada solvente utilizado (Figura 1), em que é possível perceber que a redução do crescimento bacteriano foi variável com o aumento da concentração para todos os extratos. Para os extratos hexânicos (Figura 1a), inicialmente, houve uma diminuição da atividade até a concentração de 0,2%, e em seguida, um aumento até 0,4%. Enquanto que para os extratos acetato de etila (Figura 1b) e etanólicos a 80% (Figura 1c), houve um aumento da atividade até a concentração de 0,3%, seguida de uma diminuição até 0,4%. Vale destacar que todos os extratos demonstraram efeito sobre a bactéria, como é demonstrado pelas curvas, porém a atividade significativa foi verificada somente para o extrato etanólico a 80% da própolis apícola de Santa Izabel (Tabela 3).

Figura 1. Efeito de extratos de própolis apícola de diferentes origens, obtidos com três solventes distintos em função da concentração do extrato sobre o crescimento de *Xantomonas axonopodis* pv. *manihotis*. (a) Extrato hexânico; (b) Extrato acetato de etila; (c) Extrato etanólico a 80%.



Barras verticais representam os limites superior e inferior correspondentes ao valor de um desvio padrão para mais e para menos. * e ** indicam significância a 5% e 1%, respectivamente. Fonte: Autores, (2020).

Baldin et al. (2014) em seu estudo sobre a atividade antibacteriana do extrato etanólico da própolis sobre *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, verificou efeito linear com maior atividade conforme aumento da concentração, diferentemente do que foi demonstrado no presente trabalho, em que o extrato etanólico a 80% da própolis apícola de Santa Izabel demonstrou efeito variável com maior atividade até a concentração de 0,3%.

O efeito inibitório do extrato da própolis em diferentes concentrações também foi verificado por Bianchini e Bedendo (1998), em que as bactérias fitopatogênicas *Agrobacterium tumefaciens*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* e *X. axonopodis* pv. *phaseoli* foram completamente inibidas pelo extrato na concentração de 10%.

4. Considerações Finais

O extrato etanólico a 80% da própolis de Santa Izabel reduziu o crescimento de *Xantomonas axonopodis* pv. *manihotis*, com o aumento do efeito inibitório diretamente proporcional até a concentração de 0,3%. Os compostos polares extraídos com o etanol 80% da própolis apícola de Santa Izabel, como o flavonoide kaempferol identificado somente nesta amostra, podem ser os responsáveis pela atividade observada, configurando o extrato como uma alternativa no controle da bactéria.

Referências

- Bankova, V., Popova, M., & Trusheva, B. (2014). Propolis volatile compounds: Chemical diversity and biological activity: A review. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 28. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-28>
- Bertrams, J., Müller, M. B., Kunz, N., Kammerer, D. R., & Stintzing, F. C. (2013). Phenolic compounds as marker compounds for botanical origin determination of German propolis samples based on TLC and TLC-MS. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86(1), 143–153. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2013.086.020>
- Bonamigo, T., Campos, J. F., Oliveira, A. S., Torquato, H. F. V., Balestieri, J. B. P., Cardoso, C. A. L., Paredes-Gamero, E. J., de Picoli Souza, K., & dos Santos, E. L. (2017). Antioxidant and cytotoxic activity of propolis of *Plebeia droryana* and *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) from the Brazilian Cerrado biome. *PLOS ONE*, 12(9), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183983>
- Boonsai, P., Phuwapraisirisan, P., & Chanchao, C. (2014). Antibacterial activity of a cardanol from thai *Apis mellifera* propolis. *International Journal of Medical Sciences*, 11(4), 327–336. <https://doi.org/10.7150/ijms.7373>

Castro, C., Mura, F., Valenzuela, G., Figueroa, C., Salinas, R., Zuñiga, M. C., Torres, J. L., Fuguet, E., & Delporte, C. (2014). Identification of phenolic compounds by HPLC-ESI-MS/MS and antioxidant activity from Chilean propolis. *Food Research International*, 64, 873–879. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.050>

Catchpole, O., Mitchell, K., Bloor, S., Davis, P., & Suddes, A. (2015). Antiproliferative activity of New Zealand propolis and phenolic compounds vs human colorectal adenocarcinoma cells. *Fitoterapia*, 106, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.09.004>

IBGE. (2018). *Produção Agrícola Municipal 2018*. <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html>.

Kado, C. I., & Heskett, M. G. (1970). Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60(6), 969–976. <https://doi.org/10.1094/Phyto-60-969>

Lopes, C. V. A., & Albuquerque, G. S. C. de. (2018). Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. *Saúde Em Debate*, 42(117), 518–534. <https://doi.org/10.1590/0103-1104201811714>

Lozano, J. C. (1986). Cassava Bacterial Blight: A Manageable Disease. *Plant Disease*, 70(12), 1089. <https://doi.org/10.1094/pd-70-1089>

Muli, E. M., & Maingi, J. M. (2007). Antibacterial activity of *Apis mellifera* L. propolis collected in three regions of Kenya. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 13(3), 655–663. <https://doi.org/10.1590/S1678-91992007000300008>

Murphy, S. E., Raulinaitis, V., & Brown, K. M. (2005). Nicotine 5'-oxidation and methyl oxidation by P450 2A enzymes. *Drug Metabolism and Disposition*, 33(8), 1166–1173. <https://doi.org/10.1124/dmd.105.004549>

Nováková, L., Solich, P., & Solichová, D. (2008). HPLC methods for simultaneous

determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 27(10), 942–958. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.08.006>

Okińczyc, P., Paluch, E., Franiczek, R., Widelski, J., Wojtanowski, K. K., Mroczek, T., Krzyżanowska, B., Skalicka-Woźniak, K., & Sroka, Z. (2020). Antimicrobial activity of *Apis mellifera* L. and *Trigona* sp. propolis from Nepal and its phytochemical analysis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 129, 110435. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110435>

Pereira, D. S., De Holanda-Neto, J. P., De Oliveira, M. S., Pereira, N. S., Maracajá, P. B., & Souza Filho, A. P. D. S. (2017). Phytotoxic potential of the geopropolis extracts of the jandaira stingless bee (*Melipona Subnitida*) in weeds. *Revista Caatinga*, 30(4), 876–884. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n407rc>

Pereira, R. C. A., & Santos, O. G. (2013). *Plantas Condimentares: Cultivo e Utilização*. Embrapa Agroindústria Tropical.

Rahmatullah, M., Rahman, T., & Jahan, R. (2012). Anti-malarial plants used in folk medicine in Bangladesh. In L. R. M. K. Rai, Geoffrey A. Cordell, Jose L. Martinez, Mariela Marinoff (Ed.), *Medicinal Plants: Biodiversity and Drugs* (1st ed., pp. 241–290). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b12527-10>

Sampietro, D. A., Sampietro Vattuone, M. M., & Vattuone, M. A. (2016). Immunomodulatory activity of *Apis mellifera* propolis from the North of Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.028>

Silva, J. C., Rodrigues, S., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2012). Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1790–1795. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.097>

Siripatrawan, U., Vitchayakitti, W., & Sanguandeeikul, R. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of Thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(1), 22–27. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03152.x>

Souza, A. L., Martínez, F. P., Ferreira, S. B., & Kaiser, C. R. (2017). A complete evaluation

of thermal and oxidative stability of chia oil: The richest natural source of α -linolenic acid. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 130(3), 1307–1315. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6106-x>

Szweda, P., Gucwa, K., Kurzyk, E., Romanowska, E., Dzierżanowska-Fangrat, K., Zielińska Jurek, A., Kuś, P. M., & Milewski, S. (2015). Essential Oils, Silver Nanoparticles and Propolis as Alternative Agents Against Fluconazole Resistant *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida krusei* Clinical Isolates. *Indian Journal of Microbiology*, 55(2), 175–183. <https://doi.org/10.1007/s12088-014-0508-2>

Toreti, V. C., Sato, H. H., Pastore, G. M., & Park, Y. K. (2013). Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 13. <https://doi.org/10.1155/2013/697390>

Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., & Swings, J. (1995). Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45(3), 472–489. <https://doi.org/10.1099/00207713-45-3-472>

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Daniel Santiago Pereira – 30%
Alessandra Keiko Nakasone – 10%
Mozaniel Santana de Oliveira – 5%
Luana Cardoso de Oliveira – 5%
Natanael Santiago Pereira – 7%
Pollyane da Silva Ports – 7%
Antônio Pedro da Silva Souza Filho – 2%
Joyce Caroline da Silva Teixeira – 2%
Jorddy Neves Cruz – 2%
Aline Carla de Medeiros – 2%
Giorgio Cristino Venturieri – 2%
Rosilene Agra da Silva – 2%
Patrício Borges Maracajá – 7%
Marinalva Oliveira Freitas – 7%
Carlos Iberê Alves Freitas – 10%